ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ნანული აბუაშვილი

ლეიკოპენიის ექსპერიმენტულ მოდელზე ბერძნული კაკლის უღლების ექსტრაქტით თეთრი თაგვების სისხლის მორფო-ფუნქციური მახასიათებლების კორექციის უნარის შესწავლა

სამაგისტრო პროგრამა „გამოყენებითი ბიომეცნიერებები და ბიოტექნოლოგია“

გამოყენებითი ბიომეცნიერებებისა და ბიოტექნოლოგიის მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამაგისტრო ნაშრომი შესრულებულია ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის, ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტის, ბიოლოგიის დეპარტამენტის, მორფოლოგიისა და ბიოქიმიის მიმართულებებზე

ხელმძღვანელები: პროფ. დიანა ძიძიგური

ბიოლოგიის მეც. დოქტორი,

პროფ. ნანა კოშორიძე

ბიოლოგიის მეც. დოქტორი,

თბილისი, 2019 წ.

სარჩევი

ანოტაცია ---------- 3

შესავალი ---------- 4

1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. სისხლის შემადგენლობა და ფუნქციები ---------- 6

1.2. ლეიკოპენია მისი გამომწვევი მიზეზები და მკურნალობის ხერხები---- 6

1.3. ლეიკოციტების ზოგადი დახასიათება, წარმოქმნა და მომწიფება -------- 8

1.4 ბერძნული კაკლის ქიმიური შემადგენლობა და სამკურნალო თვისებები -9

1.5 პრო და ანტიოქსიდანტური სისტემის ზოგიერთი მახასიათებლები ------ 11

1.5.1 აზოტის ოქსიდი ----------13

1.5.2 კატალაზა ----------16

2. მასალა და მეთოდები

2.1. კვლევის ობიექტი და ჯგუფები ----------18

2.2 კაკლის უღლების ექსტრაქტიან ფხვნილის დამზადება----------18

2.3 ლეიკოპენიის ექსპერიმენტული მოდელის შემუშავება----------18

2.4 კაკლის უღლების ექსტრაქტის მომზადება ----------18

2.5 პერიფერიულ სისხლში ლეიკოციტების საერთო რაოდენობის განსაზღვრა---19

2.6 NO რაოდენობის განსაზღვრა----------19

2.7 კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა ----------19

3. კვლევის შედეგები და განხილვა

3.1. თეთრ თაგვების პერიფერიულ სისხლში ლეიკოციტების რაოდენობის ცვლილებაზე ბერ ძნული კაკლის უღლების წყლიან ექსტრაქტის მოქმედების შესწავლა ----------21

3.2. ლეიკოპენიის პირობებში თეთრი თაგვების სისხლში კატალაზას აქტიურობაზე კაკლის უღლების ექსტრაქტის ზეგავლენის შესწავლა.----------24

3.3 ბერძნული კაკლის უღლების ექსრტრაქტის ზეგავლენა თეთრი თაგვების სისხლში NO-ს რაოდენობაზე ლეიკოპენიის პირობებში. ----------26

დასკვნები ----------28

გამოყენებული ლიტერატურა----------29

ანოტაცია

თეთრ თაგვებში ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციით გამოწვეული ლეიკოპენიის ექსპერიმენტულ მოდელზე ჩატარებულია პერიფერიულ სისხლში ლეიკოციტების განახლებაზე ბერძნული კაკლის უღლების წყლიანი ექსტრაქტის ორგანიზმში სხვადასხვა გზით შეყვანის ეფექტურობის შედარებითი შესწავლა. ასევე შესწავლილია ანტიოქსიდანტური სისტემის და პროოქსიდაციური პროცესების ზოგიერთი მახასიათებლის(NO და კატალაზა) ცვლილებებზე კაკლის უღლების ექსტრაქტის მოქმედება. გამოკვლევებით დადგენილ იქნა, რომ კაკლის უღლების ექსტრაქტით მიელოპოეზის სუპრესიის კორექცია მიიღწევა მხოლოდ მისი ორგანიზმში პერორალური გზით შეყვანის შემთხვევაში. გამოვლინდა ასევე, რომ ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციის საპასუხოდ კაკლის უღლების ექსტრაქტს გააჩნია ფერმენტ კატალაზას აქტიურობის ცვლილებების და ანტიოქსიდანტური სისტემის კორექციის უნარი. ბერძნული კაკლის უღლების ექსტრაქტს ახასიათებს NO-ს რაოდენობრივი ცვლილებების და შესაბამისად, გაძლიერებული ოქსიდაციური პროცესების კორექციის უნარი.

Nanuli Abuashvili

Suummary

The study of improvement of white mouse blood morphofunctional parameters by treatment with juglans regia septa extract in the experimental model of leukopenia

Annotation

The study of Juglans regia water extract effect on leukocyte count in peripheral blood has been performed on leukopenia experimental model obtained by single injection of cyclophosphan in nonlinear mice. Different ways of administration were used. We also studied the effect of walnut extract on some parameters (NO, catalase) of antioxidant system and prooxydative processes. It has been established, that the correction of myelopoiesis suppression can be achieved only by taking the walnut water extract perorally. It also has been shown, that in response to single injection of cyclophosphan the walnut extract can change the activity of catalase and correct the antioxidant activity. The extract of Juglans regia also causes the quantitative changes of NO and thus, corrects the enhanced oxidative processes.

შესავალი

ლეიკოპენია, როგორც პათოლოგიური პროცესი, რომლისთვისაც დამახასიათებელია სისხლში ლეიკოციტების რაოდენობის დაქვეითება, შეიძლება გამოწვეული იყოს სხვადასხვა მიზეზით. ის აუცილებლად ვლინდება, მაგალითად, სიმსივნით დაავადებულ პაციენტებში სხივური და/ან ქიმიოთერაპიის შემდეგ როგორც სიცოცხლისთვის საშიში ძირითადი გართულება, რაც დაკავშირებულია ორგანიზმის იმუნური პასუხის დაქვეითებასთან(1,2,3). აქედან გამომდინარე, დღემდე აქტუალურია იმუნოკორექციის უნარის მქონე ბუნებრივი, მათ შორის, მცენარეული წარმოშობის ნაერთების ძიება. განსაკუთრები დიდია ინტერესი ბერძნული კაკლის მიმართ. ასე მაგალითად, აღნიშნული მცენარის ფოთლებიდან და სხვა ნაწილებიდან მიღებული პრეპარატები გამოიყენება სხვადასხვა დაავადების სამკურნალოდ. არანაკლებ საინტერესოა ხალხური მედიცინის მიღწევები, რომელთა თანახმად, სამკურნალო ეფექტები გააჩნია ასევე კაკლის უღელს. სხვადასხვა გზით დამზადებული კაკლის უღლების ექსტრაქტების დადებითი ეფექტები აღწერილია დაავადებათა ფართო სპექტრისთვის . თეთრი ზრდასრული თაგვების ლეიკოპენიის ექსპერიმენტულ მოდელზე ნაჩვენებია, რომ ბერძნული კაკლის უღლების ექსტრაქტს გააჩნია მიელოპოეზის სუპრესიის კორექციის უნარი ციკლოფოსფანის ერთი- და ორჯერადი ინექციის შემდეგ. კერძოდ, ნაჩვენები იქნა, რომ კაკლის უღლების წყლიანი ექსტრაქტის დადებითი ექსტრაქტი აჩქარებს სხვადსხვა რიგის უჯრედების არამხოლოდ დიფერენცირების პროცესს, არამედ გააჩნია ბლასტური ფორმების გაყოფს სტიმულაციის უნარიც(4) .

ციტოტოქსიკური პრეპარატების ზემოქმედებით ძვლის ტვინში არამხოლოდ წინამორბედი უჯრედების დაღუპვის, არამედ მათი დაყოფის შესაძლო შეფერხების გამო, აღარ ხდება იმუნოკომპეტენტური უჯრედების რიცხოვნობის ფიზიოლოგიური განახლება და შენარჩუნება. შესაბამისად, ადგილი აქვს იმუნიტეტის აღდგენის უნარის დაქვეითებას, რაც ხელს უწყობს ინფექციური დაავადებების განვითარებას და რის შემდეგაც ვლინდება ლეიკოპენიის სიმპტომები. ქიმიოთერაპიის შემდეგ განვითარებული ლეიკოპენიის დროს ყველა სისხლმბადი ორგანოების დაზიანების გამო სისხლში მცირდება არამხოლოდ ლეიკოციტების, არამედ თრომბოციტების და ერითროციტების რაოდენობაც. ცნობილია, რომ უჯრედის დაზიანების შედეგად პათოლოგიური პროცესების ერთ-ერთი მახასიათებელია თავისუფალი რადიკალების გენერაცია. უჯრედებში მათი სიჭარბე ინიცირებს ლიპიდების ზეჟანგურ ჟანგვით პროცესებს,

რომელიც თავის მხრივ მემბრანის, ცილების და დნმ-ს სერიოზულ დაზიანებას იწვევს. ევოლუციის პროცესში ლიპიდებისზეჟანგვითი პროცესების თავიდან აცილების მიზნით ცოცხალი ორგანიზმების უჯრედებში ჩამოყალიბდა დაცვის მრავალკომპონენტიანი სისტემა- ენდოგენური ანტიოქსიდანტური სისტემა, რომლის ბიოლოგიური როლი მდგომარეობს აქტიური ჟანგვითი მეტაბოლიტების შემცირებაში.

ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე სამუშაოს მიზანი იყო თეთრი თაგვების სისხლში ანტიოქსინდატური და პროოქსიდაციური სისტემების ზოგიერთი მახასიათებლის ცვლილებაზე კაკლის უღლების ექსტრაქტის მაკორეგირებელი მოქმედების უნარის გამოკვლევა ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციის შემდეგ.

თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. სისხლის შემადგენლობა და ფუნქციები

სისხლი მეზენქიმური წარმოშობის, შინაგანი არის შემაერებელი ქსოვილია, რომელიც შედგება პლაზმისა და ფორმიანი ელემენტებისაგან. ფორმიან ელემენტებს მიეკუთვნება ერითროციტები, ლეიკოციტები და თრომბოციტები. სისხლის პლაზმისა და უჯრედების მოცულობის თანაფარდობა დაახლოებით არის 60/40. ფორმიანი ელემენტების მოცულობის შეფარდებას სისხლის საერთო მოცულობასთან ჰემატოკრიტი ეწოდება და დაახლოებით 40 %-ს შეადგენს. სისხლის ფუნქციებია: 1. ტროფიკული - საკვები ნივთიერებების ტრანსპორტი; 2. სასუნთქი -ქსოვილების მომარაგება ჟანგბადით, ნახშირმჟავას და სხვა ნივთიერებათა ცვლის პროდუქტების გამოყოფა; 3. დამცველობითი - ანტისხეულების გამომუშავება, ფაგოციტოზი; 4. ჰუმორული - ჰორმონების ტრანსპორტი; 5. თერმორეგულაცია; 6. ჰომეოსტაზი - ორგანიზმის შინაგანი გარემოს შედგენილობისა და ფიზიკური მახასიათებლების მუდმივობის დაცვა (5). სისხლის პლაზმა თხევადი უჯრედშორისი ნივთიერებაა, რომელიც შეიცავს 90-93% წყალს და 7-10% ორგანულ და არაორგანულ ნივთიერებას. ორგანული ნივთიერებებიდან 6% ეკუთვნის ცილებს. პლაზმაში წარმოდგენილია სამი სახის ცილა: ალბუმინები - სატრანსპორტო ცილები; გლობულინები - იმუნური პასუხის ცილები და ცილები რომლებიც მონაწილეობენ სისხლის შედედებაში (მაგ: ფიბრინოგენი). პლაზმის ცილების სინთეზი, იმუნოგლობულინის გარდა, ხდება ღვიძლში. მათი რაოდენობა და შედგენილობა სისხლში მუდმივია. სისხლის შედედებაში ასევე მონაწილეობენ თრომბოციტები. სისხლძარღვის დაზიანების შემთხვევაში გამოყოფენ თრომბოციტურ ფაქტორ-3-ს, რომელიც ფიბრინოგენის ფიბრინად გარდაქმნით კოლტის წარმოქმნას იწვევს (6).

1.2 ლეიკოპენია მისი გამომწვევი მიზეზები და მკურნალობის ხერხები

ლეიკოპენია არის სისხლში თეთრი უჯრედების - ლეიკოციტების ნაკლებობა, განსაკუთრებით კი გრანულოციტების. არსებობს თანდაყოლილი, ანუ გენეტიკურად განპირობებული და ასევე შეძენილი ლეიკოპენია. ტერმინები ლეიკოპენია და ნეიტროპენია ხშირად იხმარება, როგორც თანამონაცვლე ტერმინები. უჯრედთა რაოდენობრივი კლება შეიძლება განპირობებული იყოს ორი მიზეზით: 1. ლეიკოციტები იღუპებიან ნორმაზე უფრო სწრაფად და 2. შემცირებულია მათი წარმოქმნის ინტენსივობა ძვლის ტვინში.

ამასთან, შეიძლება, რომ ეს ორივე მიზეზი ერთდროულად არსებობდეს. ლეიკოპენია შეიძლება გამოიწვიოს ვირუსულმა ინფექციებმა , რის გამოც შენელებულია ძვლის ტვინში უჯრედების წარმქმნის ფუნქცია. ყველაზე უფრო ხშირად ლეიკოპენიის მიზეზებია: ინფექციები, ციტოტოქსიკური პრეპარატები, ჰიპერსპლენიზმი და მეგალობლასტოზი. ლეიკოპენიის მთავარი საფრთხე მდგომარეობს იმაში, რომ ამ დროს იზრდება ინფექციური დაავადებების განვითარების რისკი. ლეიკოპენიის მენეჯმენტი მოიცავს გამომწვევი მიზეზის იდენტიფიკაციას და ეფექტურ ანტიმიკრობულ თერაპიას, განსაკუთრებით კი მაშინ, როცა საქმე გვაქვს სერიოზულ სისტემურ ინფექციასთან (7). ლეიკოპენიის გამომწვევი მიზეზი შეიძლება იყოს ავტოიმუნური დაავადება, სხვადასხვა ქიმიური პრეპარატები (ქიმიოთერაპია და სხივური თერაპია), ასევე იმ ვიტამინების დეფიციტი, რომლებიც საჭიროა ძვლის ტვინის ნორმალური ფუნქციონირებისთვის. კლინიკურად ყველაზე უფრო ხშირად ლეიკოპენიას იწვევენ პრეპარატები, რომლებიც შეიცავენ: ფენოთიაზინს, შარდმდენ საშუალებებს (დიურეტიკებს), ანტითიროიდულ აგენტებს და ტკივილგამაყუჩებელ საშუალებებს. განსაკუთრებით უნდა ავღნიშნოთ ქიმიოთერაპიული პრეპარატები, რომლებიც პირდაპირ აზიანებენ ღეროვან უჯრედებს ძვლის ტვინში, ბლოკავენ დნმ-ის რეპლიკაციას და ანელებენ უჯრედთა გაყოფას, აფერხებენ პურინებისა და პირომიდინების მეტაბოლიზმს, ანადგურებენ მიტოზური თითისტარას ძაფების მიკროტუბულებს, ხელს უშლიან რნმ-ის ფორმირებას და აფერხებენ ტრანსკრიფციისა და ტრანსლაციის პროცესებს. ქიმიოთერაპიის შემდეგ, ლეიკოპენიის განვითარებამდე აღინიშნება დაყოვნების პერიოდი. ამ პერიოდის სიგრძე დამოკიდებულია ძვლის ტვინში ნეიტროფილების მარაგზე და საშუალოდ რვიდან თოთხმეტ დღემდე მერყეობს (8). ლეიკოპენიას იწვევს ასევე სხვადასხვა ფსიქოტროპული პრეპარატები. კლოზაპინისა და კარბამაზეპინის მიღების პარალელურად აუცილებელია სისხლში უჯრედების რაოდენობის კონტროლი (9) .ლეიკოპენიის მიზეზი შეიძლება ასევე იყოს ლეიკემია ანუ ძვლის ტვინის სიმსივნე და ელენთის ჰიპერფუნქცია - როცა ელენთა იწყებს სისხლის უჯრედების დროზე ადრე განადგურებას. თანდაყოლილი გენეტიკური დარღვევებიდან აღსანიშნავია, მაგალითად კოსტმანის სინდრომი, რომელიც ვლინდება ახალშობილებში და დაკავშირებულია ნეიტროპენიასთან ანუ ნეიტროფილების არასაკმარის რაოდენობასთან. ლეიკოპენიის ფუნქციური კლასიფიკაციისას განსაკუთრებით აღსანიშნავია კომბინირებული გრანულოციტოპენია. მისი საუკეთესო მაგალითია მწვავე ლეიკოპენია სეფსისთან ერთად. ამ დროს გრანულოციტოპოეზი შეზღუდულია და სეფსისი კი ხელს უწყობს პერიფერიული გრანულოციტების განადგურებას (8).

ლეიკოპენიის სამკურნალოდ აქტიურად გამოიყენება სხვადასხვა პრეპარატები, მაგალითად გლუკოკორტიკოიდები და ციტოსტატიკური იმუნოდეპრესანტები, მაგრამ ფიქსირდება მათი ძალიან ბევრი უკუჩვენება. პაციენტებს, რომლებიც იღებენ ამ პრეპარატებს, აღენიშნებათ ტემპერატურის მომატება, გულ-სისხლძარღვთა სისტემის პრობლემები და ტვინში სისხლის მიმოქცევის დარღვევა. შესაბამისად, დღეისათვის განსაკუთრებული ყურადღება ეთმობა მცენარეული წარმოშობის პრეპარატებს, რადგან მათ პრაქტიკულად არ გააჩნიათ უკუჩვენებები. მაგალითად, იოდდეფიციტიან ბავშვებს, რომლებსაც აღენიშნებათ ლეიკოპენია, უნიშნავენ პრეპარატ იოდოზირს. ეს პრეპარატი წყალმცენარისგან მზადდება და გარდა იმისა რომ მაღლა სწევს ჰემოგლობინის დონეს, ასევე არ ახასიათებს გვერდითი მოვლენები (10,11,12). აღსანიშნავია კიდევ ერთი პრეპარატი, პარაგონი, რომელიც შეიცავს მიხაკისა და კაკლის ქერქის ექსტრაქტს. პარაგონი გამოიყენება პარაზიტების წინააღმდეგ და ასევე ახასიათებს ლეიკოციტარული ფორმულის დარეგულირების უნარი (13). მცენარეებისგან დამზადებულ პრეპარატებს შორის ერთ-ერთი გამორჩეული ადგილი უჭირავს იუგორს, რომელიც შეიცავს ბერძნული კაკლის როგორც ქერქიდან, ისე ფოთლებიდან მიღებულ 9 სახის ექსტრაქტს. ნაჩვენებია, რომ იუგორს აქვს ანტიჰელმინითური, ბაქტერიოციდული, შაქრის დამწევი თვისებები და ამასთანავე გამოიყენება ლეიკოპენიის სამკურნალოდ (11).

1.3. ლეიკოციტების ზოგადი დახასიათება, წარმოქმნა და მომწიფება

ციტოპლაზმური გრანულებისა და ბირთვის მორფოლოგიის მიხედვით ლეიკოციტები იყოფიან 2 ტიპად: გრანულოციტები (ნეიტროფილები, ეოზინოფილები და ბაზოფილები) და აგრანულოციტები (მონოციტები და ლიმფოციტები). გრანულოციტებში გვხვდება 2 ტიპის გრანულები: ლიზოსომური ანუ აზუროფილური და სპეციფიკური, რომლებიც იღებებიან ნეიტრალური, ფუძე და მჟავე საღებავებით. მათი ბირთვი პოლიმორფული და დანაწევრებულია. რაც შეეხება აგრანულოციტებს, მათი ბირთვი სფეროსებურია და ციტოპლაზმა შეიცავს აზუროფილურ გრანულებს. ამ უჯრედების სიცოცხლის ხანგრძლივობა ერთმანეთისგან საკმაოდ განსხვავდება. მაგალითად, ნეიტროფილების სიცოცხლის ხანგრძლივობაა 4 დღე, ეოზინოფილების 1-2 კვირა, ბაზოფილებისა კი რამდენიმე თვეა. აგრანულოციტებმა შეიძლება იცოცხლონ როგორც რამდენიმე საათი, ისე რამდენიმე წელიც კი. გრანულოციტებში გოლჯის კომპლექსი და ენდოპლაზმური ბადე სუსტად არის განვითარებული, მცირეა მიტოქონდრიების რაოდენობაც. ისინი ჩვეულებრსამებრ იღუპებიან შემაერთებელ ქსოვილში. ყოველ დღე

მოზრდილ ადამიანში აპოპტოზის გზით მილიარდობით ნეიტროფილი იღუპება. აგრანულოციტები არ შეიცავენ სპეციფიკურ გრანულებს, მაგრამ შეიცავენ აზუროფილურ გრანულებს (ლიზოსომებს). ბირთვი არის სფერული ან დაკბილული, მაგრამ არა დანაწევრებული.

ლეიკოციტთა ჰემოპოეზი ძვლის ტვინში არსებული პლურიპოტენტური ღეროვანი უჯრედებიდან იწყება. ვითარდება 2 მთავარი ხაზი: მიელოიდური, რომლისგანაც წარმოიქმნება ერითროციტები, თრომბოციტები და ლეიკოციტები და ლიმფოიდური, რომლისგანაც მხოლოდ T და B ლიმფოციტები წარმოიქმნება. ლეიკოპოეზის დროს, მიელოიდური ღეროვანი უჯრედიდან პროგენიტორული უჯრედი წარმოიქმნება, რომელისგანაც შემდგომში მიელობლასტი და მონობლასტი ვითარდება. მონობლასტიდან პრომონოციტი და შემდეგ მონოციტი მიიღება. მიელობლასტისგან კი პრომიელოციტი წარმოიქმნება. პრომიელოციტისგან კი მიიღება მიელოციტები. ამ ეტაპზე უჯრედთა მიტოზური აქტიობა ჩერდება და იწყება მომწიფების სტადია. მიელოციტებისგან მეტამიელოციტები წარმოიქმნება, რომლებისგანაც საბოლოოდ ნეიტროფილები, ეოზინოფილები და ბაზოფილები მიიღება. მომწიფებული უჯრედები ჯერ ძვლის ტვინში არსებულ ე.წ. საწყობში გადადიან და შემდეგ უკვე კაპილარების მეშვეობით ერთვებიან ცირკულაციაში. რაც შეეხება T და B ლიმფოციტებს, მათი წარმოქმნის წყაროა თიმუსი და ძვლის ტვინი. აქ ლიმფობლასტის 2 ან 3 ჯერ გაყოფის შემდეგ ლიმფოციტი მიიღება, რომელიც ერთვება ცირკულაციაში და მიგრირებს პერიფერიული ლიმფური ორგანოებისკენ (14).

1.4 ბერძნული კაკლის ქიმიური შემადგენლობა და სამკურნალო თვისებები

ბერძნული კაკალი (Juglans regia) მერქნიანი მცენარეა და სიმაღლით დაახლოებით 20 მეტრამდე იზრდება. ყვავილობს ივნისში, ხოლო ნაყოფი მწიფდება ოქტომბერში. ყვავილები არის ერთსქესიანი და იმტვერება ქარის მეშვეობით. თითოეული ყვავილი არის მამრობითი ან მდედრობითი სქესის, მაგრამ ორივე სქესის ყვავილები შეიძლება იყოს ერთსა და იმავე მცენარეში. იგი ზომიერად სითბოს მოყვარული ხემცენარეა, რომელიც ჩვენს ქვეყანაში ვრცელდება ზღვის დონიდან 1600–1700 მ.–მდე. უძლებს დაახლოვებით 20-22 გრადუს ყინვას. ჩვენთან ველური კაკლის ყველაზე დიდი კორომია მდინარე ალაზნის ნაპირებზე, პანკისი ხეობაში და ჯუმას ყურეში. კაკალის სამშობლოდ ირანი და შუა აზიის ქვეყნები ითვლება. ის მოხსენებულია ჯერ კიდევ ძვ.წ.აღ. VI-IV საუკუნეებში, როგორც „სიცოცხლის ხე“, „სამეფო რკო“, „ღვთიური რკო“. ისტორიული წყაროებით, იგი

საქართველოში ანტიკურ პერიოდშია შემოტანილი და ჩვენი აგროკულტურის განუყოფელი ნაწილია. ცნობილია, რომ ბერძნული კაკალი მდიდარია სხვადასხვა ნივთიერებებით. მაგალითად, მისი ნაყოფი შეიცავს: ცხიმებს (45-77%) , ცილებს (8-21%), B1 ვიტამინსა და A პროვიტამინს. რაც ყველაზე მნიშვნელოვანია მისი ფოთლები და სხვა ნაწილები მდიდარია 2 ძირითადი ნაერთით: იუგლონით და მთრთიმლავი ნივთიერებებით. (15,16,17)

მწიფე ნაყოფი არის საკვები და გამოიყენება საკონდიტრო ნაწარმის, ნამცხვრების დასამზადებლად. დაფქული ნაყოფი გამოიყენება როგორც არომატიზატორი ტკბილი და ცხარე კერძების მომზადებისას. მისგან ასევე იღებენ საკვებ ზეთს, რომელიც გამოირჩევა სასიამოვნო სურნელით და გამოიყენება კულინარიაში სხვადასხვა სალათების მომზადებისას. თუმცა ეს ზეთი მალფუჭებადია და არ შეიძლება მისი დიდხანს შენახვა. საკვებად გამოიყენება ასევე კაკლის ნაჭუჭი და ფოთლები. დაფქული ნაჭუჭი არის ერთ-ერთი მთავარი ინგრედიენტი „აგნოლოტის“ მაკარონის კერძის, ფოთლებისგან კი ჩაისაც აკეთებენ. (18,19) Juglans regia-ს აქტიურად გამოიყენებენ ხალხურ მედიცინაში. მას აქვს ანტიმიკრობული, ანტიჰელმინიური და ანტიდიარიული თვისებები.(20,21) თურქულ ხალხურ მედიცინაში ახალი ფოთლები გამოიყენებოდა სხვადასხვა სახით. მას იდებდნენ შიშველ სხეულზე სიცხის დასაწევად და ასევე იდებდნენ დასიებულ სახსარზე ტკივილის შესამსუბუქებლად.(22,23). ირანულ მედიცინაში კაკლის გულს იყენებდნენ კუჭ-ნაწლავის ანთების სამკურნალოდ.(24) პალესტინაში კი ის გამოიყენებოდა დიაბეტის, ასთმისა და სისხლძარღვების დაავადების წინააღმდეგ.(25,26).

კაკლის ფოთლებისა და ნაყოფისგან დამზადებულ წყლიან ექსტრაქტს აქვს ანტიბაქტერიული და ანტივირუსული თვისებები. ნაჭუჭის წყლიანი და სპირტული ექსტრაქტი გამოირჩევა ანტიოქსიდანტური თვისებებით. ნაჩვენებია, რომ კაკალში შემავალ პოლიფენოლურ ნაერთებს აქვთ ანტი დიაბეტური მოქმედების უნარი. ფოთლებისგან დამზადებული საკვების მოხმარებამ თაგვებში, რომელთაც ჰქონდათ ალოქსანით ინდუცირებული დიაბეტი, მნიშვნელოვნად შეამცირა სისხლში შაქრის რაოდენობა. პანკრეასის ჰისტომორფოლოგიურმა გამოკვლევამ კი აჩვენა, რომ შეინიშნება B-უჯრედების რეგენერაცია. ფოთლების მეთანოლიანმა ექსტრაქტმა კი დასწია სისხლში გლუკოზის დონე. (27,28)

Juglans regia-ს ძირითადი კომპონენტია იუგლონი, რომელსაც ანტისიმსივნური მოქმედება ახასიათებს. ნაჩვენებია, რომ იუგლონს ახდენს თაგვებში კუჭ-ნაწლავის

კარცენოგენეზის ინჰიბირებას, რომელიც გამოწვეულია აზოქსიმეთანით. დამტკიცებულია, რომ იუგლონი არის პოტენციური ციტოტოქსიური აგენტი in vitro გარემოში, ადამიანის სიმსივნის წინააღმდეგ, მათ შორის აღსანიშნავია მსხვილი ნაწლავის სიმსივნე (HCT-15), ლეიკემია(HL-60), დოქსორუბიცინ-რეზისტენტული ლეიკემია(HL-60R). (29,30). ახლახან ჩატარებული კვლევების თანახმად, in vivo გარემოში, იუგლონი ახდენს ზრდის ინჰიბირებას და აპოპტოზის ინდუცირებას სარკომაში და 180 SGC-7901 უჯრედებში.(31). ფოთლებისა და ნაჭუჭის ექსტრაქტი კი მოქმედებს როგორც ზრდის ინჰიბიტორი თირკმლის სიმსივნის დროს A-498 და 769-P უჯრედულ ხაზებში. აღანიშნავია რომ ამ უჯრედულ ხაზებზე განსაკუთრებული ანტიპროლიფერაციული ეფექტებით გამოირჩევა კაკლის ფოთლების ექსტრაქტი, მაგალითად ნაჭუჭის ექსტრაქტთან შედარებით(32).

1.5. პრო და ანტიოქსიდანტური სისტემის ზოგიერთი მახასიათებლები

ცნობილია, რომ ნებისმიერი სტრესის შედეგად ცოცხალი ორგანიზმის უჯრედში იწყება საპასუხო რეაქციები, კერძოდ თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვა, უჯრედშიდა კალციუმის რაოდენობრივი ცვლილებები, ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დაქვეითება და სხვა. საბოლოოდ მთავრდება მთელი რიგი პათოლოგიების ჩამოყალიბებით (33). უკანასკნელ წლებში განსაკუთრებული ყურადღება ეთმობა ამ ფაქტორების გავლენის შესწავლას გულ-სისხლძარღვთა სხვადასხვა ტიპის დაავადებების ფორმირების პროცესში (34). უჯრედში გამუდმებით მიმდინარეობს ჟანგვა-აღდგენითი რეაქციები, რომელიც საფუძვლად უდევს ქიმიური ენერგიის წარმოქმნას, რთული ციკლური აღნაგობის მქონე ნივთიერებების ბიოსინთეზსა და მათ დეგრადაციას. ყოველ უჯრედს გააჩნია თავისი რედოქს-სტატუსი, რომელიც დამოკიდებულია ჟანგვითი და აღდგენითი რეაქციების ინტენსივობაზე (35). ის ძირითადი ნივთიერებები, რომლებიც განსაზღვრავენ უჯრედის ჟანგვა-აღდგენით სტატუს 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 (36). იმ შემთხვევაში, როდესაც ოქსიდაციური სტრესი უჯრედის სასიცოცხლო ფუნქციებზე მოქმედებს, მაგალითად იწვევს ცვლილებებს დნმ-ის 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. ოქიდაციური სტრესის ინიცირებაში მნიშვნელოვანი როლი აკისრია ჟანგბადის აქტიურ ფორმებს (ROS), რომელთა ბიოლოგიური ეფექტი, კონცენტრაციის შესაბამისად, შეიძლება იყოს რეგულატორული ან ტოქსიური. ROS მოიცავს, როგორც თავისუფალ რადიკალებს (O2 - ,OH-) ასევე არარადიკალურ ფორმებს (მაგ.H2O2,) (37). 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 (38). ფიზიოლოგიურ პირობებში ROS-ს დიდი მნიშვნელობა აქვს, რადგან ისინი ჩართული არიან ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების წარმოქმნასა და ბაქტერიებისა და ვირუსების გაუვნებელყოფის პროცესში, ასევე ნივთიერებათა ცვლაში და სხვა მნიშვნელოვან პროცესებში. მცენარეულ და ცხოვლურ უჯრედში დაბალ და საშუალო კონცენტრაციის პირობებში ასრულებენ მეორადი მესენჯერის როლს (39-41). ROS-ინდუცირებული დნმ-ს ჟანგვითი პროცესები ყველაზე ხშრად იწვევს მუტაციების წარმოქმნას, რაც თავის მხრივ განაპირობებს გენომურ არასტაბილურობას და პირდაპირ უწყობს ხელს კანცეროგენეზის განვითარებას (42). 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 (43,44). როგორც უკვე ავღნიშნეთ, ჭარბი რაოდენობით ჟანგბადის აქტიური ფორმები (ROS) აინიცირებს ოქსიდაციური სტრესის განვითრებას, რომელიც მთავარ როლს ასრულებს დაბერების, ათეროსკლეროზის, გულის იშემიური დაავადების, მისი სარქველების დაზიანების, გულის უკმარისობის და სხვა დაავადებების პათოგენეზში. გარდა ზემოთ აღნიშნულისა, ჟანგბადის აქტიური ფორმების ჭარბმა კონცენტრაციამ შესაძლოა უარყოფითად იმოქმედოს უშუალოდ ანტიოქსიდანტური სისტემის ფერმენტების ნორმალურ ფუნქციონირებაზე (45,46). რეაქციული ჟანგბადის გაუვნებელყოფისთვის უჯრედში ფუნქციონირებს ე.წ. ანტიოქსიდანტური სისტემა. ამ

სისტემის ფუნქციონირების შედეგად ადგილი აქვს ოქსიდაციური პროცესების შეფერხებას. ანტიოქსიდანტური სისტემის ფუნქციონირებში 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 (47,48) . 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 გლუტატიონპეროქსიდაზას მოქმედებით წარმოქმნილი წყალბადის ზეჟანგიდან და აღდგენილი გლუტათიონიდან წარმოიქნას წყლის მოლეკულა. რეაქციის შედეგად ადგილი აქვს გლუტათიონის დაჟანგვას. გარდა აღნიშნულისა, წყალბადის ზეჟანგმა ნეიტრალური მოლეკულის სახით შეიძლება დატოვოს უჯრედი (49,50). გარდა ფერმენტული სისტემებისა, ციტოპლაზმაში არსებობს სხვადასხვა დაბალმოლეკულური ნივთიერებები, რომელთაც ასევე აქვთ ანტიოქსიდანტური თვისებები. ასეთებია ასკორბინის მჟავა, უბიქინონი, α-ტოკოფეროლი და სხვ. (51)

1.5.1 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 (52-58).

აზოტის ოქსიდი აქტიურად მონაწილეობს მრავალ ფიზიოლოგიურ და ბიოქიმიურ პროცესში. უჯრედში NO-ს სინთეზი ამინომჟავა L-არგინინიდან ხდება და რეაქციას

ფერმენტი NO-სინთაზა (NOS) აკატალიზებს. რეაქცია მიმდინარეობს NADPH-ისა და O2-ის თანაობისას, შედეგად კი მიიღება ციტრულინი, NADP+ და NO. ცნობილია NOS-ის რამოდენიმე იზოფორმა: ნეირონული NOS (nNO-S, ტიპი I), ენდოთელური NOS (eNO-S

ტიპი III) და ინდუციბელური NOS (iNO-Sტიპი II). ეს უკანასკნელი ძირითადად ფაგოციტებში გვხვდება, თუმცა სამივე ფერმენტი თითქმის ყველა ქსოვილშია წარმოდგენილია. აუცილებელია აღინიშნოს, რომ ნებისმიერი ქსოვილი, რომელთაც აქვთ NO-ს წარმოქმნის უნარი სხვადასხვა ფიზიოლოგიური მდგომარეობის დროს, შეიძლება შეიცავდეს NOS-ის ერთზე მეტ ფორმას(59-62). nNOS და eNOS მუდმივად აწარმოებენ NO-ს სინთეზს სხვადასხვა სიგნალების საპასუხოდ. აღსანიშნავია მათ აქტივობაზე უჯრედშიდა კალციუმის კონცენტრაციის გავლენა, რომელიც პროცესის ეფექტორად გვევლინება. ამასთან, NO-ს სინთეზის გაზრდა შესაძლოა აღნიშნული იონისგან დამოუკიდებლადაც განხორციელდეს(63).

გარეგანი აგენტების მიერ ინიცირებული პროცესის შედეგად სეკრეტირებული აზოტის ოქსიდი წარმოადგენს თავისუფალ რადიკალს და ძლიერ ტოქსიკური ნართია. აღსანიშნავია, რომ მას შეუძლია გამოიწვიოს დნმ-ის დაზიანება და რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების დეგრადაცია(64-69). საკუთრივ NO-ს სიცოცხლის ხანგრძლივობა მცირეა, თუმცა მას დიდი მნიშვნელობა აქვს მრავალი უჯრედული რეაქციის წარმართვისათვის. ამ რეაქციათა რიგს მიეკუთვნება: რკინა-შემცველი ფერმენტების დაჟანგვა (რიბონუკლეოტიდ-რედუქტაზა და აკონიტაზა), ხსნადი გუანილატციკლაზას აქტივაცია (სისხლძარღვების გლუვი კუნთების მოდუნება), ცილების ADP-რიბოზილირება, მათი გოგირდოვანი ჯგუფების ნიტროზილირება და რკინა-რეგულატორული ფაქტორების აქტივაცია(70).

სხვადასხვა პათოლოგიურ მდგომარეობაში NO მოქმედებს პერიფერიული სისხლის მონონუკლეარულ უჯრედებზე და ახდენს NF-kB-ს აქტივაციას, რომელიც iNOS-ის გენის ექსპრესიის გაძლიერების მოდულატორია(71). აღსანიშნავია, ის ფაქტიც, რომ აუტონომიური ნერვული სისტემის ზოგიერთი მოტორული ნეირონი NO-ს გამოყოფს, როგორც ნეირომედიატორს(72,73). თანამედროვე სამეცნიერო ლიტერატურაში აქტიურად მიმდინარეობს მსჯელობა NO-ს, როგორც აპოპტოზის პროცესში მონაწილე მნიშვნელოვანი

მოლეკულის შესახებ(74). თუმცა, დღესდღეობით NO-ს ზუსტი როლი ორგანიზმში ჯერ-ჯერობით დაუზუსტებელია, რადგან ის ჩართულია, როგორც დადებით, ისე უარყოფით

პროცესებშიც და შესაბამისად, აზოტის ოქსიდი ერთგავარად ორმაგი მოქმედების უჯრედულ მედიატორს წარმოადგენს, რომელსაც გადამწყვეტი როლი ენიჭება

მრავალი პროცესის წარმართვაში(75). აზოტის ოქსიდის სასიგნალო ფუნქციის განსახორციელებლად მოლეკულურ სამიზნეს წარმოადგენს ხსნადი გუანილატციკლაზა. აზოტის ოქსიდი ააქტივებს გუანილატციკლაზას ჰემში შემავალი რკინის დაკავშირებით, რასაც მოსდევს უჯრედში cGMP-ს შეცველობა. 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(76). NO-ს სამიზნეა ასევე ცილების შემადგენლობაში არსებული სულფჰიდრილური ჯგუფები, რომლებთან ურთიერთქმედებით წარმოიქმნება ნიტროზოთიოლი. ნიტროზილირებული ჰემოგლობინი ბუნებრივი ტრანსპორტერია, რომელიც ქმნის NO-ს მარაგს. გულის კუნთის უჯრედებში აზოტის ოქსიდი უკავშირდება მემბრანაში არსებული რიანოდინის რეცეპტორის HS- ჯგუფს და იწვევს მის გააქტივებას. ეს უკანასკნელი წარმოადგენს კალციუმის არხს(77). ჭარბი რაოდენობით აზოტის ოქსიდის დაგროვებამ შეიძლება გამოიწვიოს მიტოქონდიის სუნთქვის ჯაჭვის I და IV კომპლექსების ინჰიბირება, რაც თავის მხრივ უჯრედის ენერგეტიკული გამოფიტვის წინაპირობას წარმოადგენს(78). 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(79). 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(80).

1.5.2. კატალაზა

1818 წელს ლუის ჯ. სენარდმა ივარაუდა, რომ მის მიერ ცოცხალ სისტემებში აღმოჩენილი წყალბადის პეროქსიდი (H2O2) უნდა იშლებოდეს რაღაც ნივთიერების

მიერ, მაგრამ მხოლოდ 1900 წელს ოსკარ ლოეუმ დაარქვა აღნიშნულ სუბსტანციას სახელი - კატალაზა და აღმოაჩინა, რომ ის მრავალ მცენარესა და ცხოველში გვხვდება(81). შემდგომში ფერმენტის კვლევისათვის სხვადასხვა მეთოდი იქნა გამოყენებული, რომელთა მეშვეობითაც საბოლოოდ მოხდა მისი დახასიათება(82-85). ჭარბი რეაქციული ჟანგბადის გაუვნებელყოფისთვის უჯრედში ფუნქციონირებს ე.წ. ანტიოქსიდანტური სისტემა. ამ სისტემის ფუნქციონირების შედეგად ადგილი აქვს ოქსიდაციური პროცესების შეფერხებას. ანტიოქსიდანტური სისტემის ფუნქციონირებში 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. 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 ($O2^-$) გადადის ელექტრონეიტრალურ ფორმაში - H2O2, რომელიც შემდგომ ფერმენტ კატალაზას მეშვეობით შესაძლოა გარდაქმნას წყლად (H2O) და თავისუფალ ჟანგბადად (O2). ფერმენტი კატალაზა წარმოადგენს ტეტრამერს და ნანახია თითქმის ყველა ცოცხალ ორგანიზმში. კატალაზა შეიცავს ოთხ პორფირინ-ჰემის (რკინა) ჯგუფს, რაც საშუალებას აძლევს მას შევიდეს რექციაში წყალბადის პეროქსიდთან. 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(86). ფერმენტის არარსებობისას ვითარდება ისეთი ტიპის აუტოსომურ-რეცესიული დაავადება, როგორიცაა აკატალაზემია(87). დარღვევები, რომლებიც მოქმედებს ფერმენტის აქტივობაზე და მისი მაკოდირებელი გენის ექსპრესიაზე, განაპირობებს ინდივიდთა მგრძნობელობის ზრდას სიმსივნური პროცესებისადმი, დნმ-ის ჟანგვით დაზიანებას და სხვა პათოლოგიურ პროცესებს(88,89) .

ზემოთქმულიდან გამომდინარე, უჯრედის ანტიოქსიდანტური სისტემის სხვადასხვა ინჰიბიტორი, მაგალითად, ჭარბი თავისუფალი რადიკალები (რომელთაც შეუძლიათ გამოიწვიონ ფერმენტების აქტიური ცენტრების დაჟანგვა და შესაბამისად მათი ინაქტივაცია), სხვადასხვა დამაზიანებელი ფაქტორები (რადიაცია, ტემპერატურის მომატება, pH-ის კრიტიკული ცვლილება, გენეტიკური მასალის დაზიანება და სხვა) უარყოფით ზეგავლენას ახდენს უჯრედის და ზოგადად ცოცხალი სისტემის ნორმალურ ფუნქციონირებაზე, რაც შესაძლოა დასრულდეს აპოპტოზური და/ან ნეკროზული მექანიზმების გააქტივებით.

თავი 2. მასალა და მეთოდები

2.1 კვლევის ობიექტი და მასალა

ექსპერიმენტებში გამოყენებული იყო 48 არახაზოვანი თეთრი თაგვი (20-25 გ). ცხოველები დაყოფილი იყო ოთხ ჯგუფად:
ციკლოფოსფამიდის ინექცია ხდებოდა ინტრაპერიტონეალურად 350 მგ/კგ-ზე (Artym Jolanta et al. 2004). 7-8 მგ ციკლოფოსფამიდს ვხსნიდით 100 მკლ საინექციო წყალში, ინექციას ვახდენდით ერთჯერადად.

2.2 კაკლის უღლების ექსტრაქტიან ფხვნილის დამზადება

21 გრამ კაკლის უღლებს ვუმატებდით 400 მლ მდუღარე წყალს და ექსტრაქციისთვის წყლის აბაზანაზე ვდგამდით. დუღილის პროცესს ვასრულებდით სითხის საწყისი მოცულობის განახევრებისთანავე. მიღებულ ექსტრაქტს ვყინავდით თხევად აზოტში და ვაშრობდით ლიოფილიზატორში. მიღებულ ფხვნილს ვხსნიდით გამოხდილ წყალში (20 მგ ფხვნილი - 6 მლ H2O).

2.3. ლეიკოპენიის ექსპერიმენტული მოდელის შემუშავება.

ლეიკოპენის ექსპერიმენტული მოდელის მისაღებად თაგვებს ინტრაპერიოტონიულად უკეთდებოდათ ციკლოფოსფამიდის ინექცია. ფლაკონში გვქონდა 200მგ ფხვნილი, ვხსნიდით 2,5 მლ დისტილირებულ წყალში და 100 მკლ -ში გვქონდა 8 მგ ციკლოფოსფანი. 0,1 მლ -ს ვიღებდით და შეგვყავდა ცხოველებში ერთჯერადად.

2.4. კაკლის უღლების ექსტრაქტის მომზადება.

28 გ კაკლის უღლებს ვუმატებდით 440 მლ მდუღარე წყალს და ვდგამდით ექსტრაქციისთვის წყლის აბაზანაზე. დუღილის პროცესი სრულდება საწყისი მოცულობის განახევრებისას. მიღებულ ექსტრაქტს ვინახავდით მაცივარში +4 C ტემპერატურაზე 2 დღის განმავლობაში. ცხოველებში ექსტრაქტი (0,2 მლ) შეგვყავდა პერორალურად ყოველდღიურად, დღეში ორჯერ სპეციალური ზონდის მეშვეობით.

2.5. პერიფერიულ სისხლში ლეიკოციტების საერთო რაოდენობის განსაზღვრა.

ანესთეზირებული ცხოველების დეკაპიტაციის შედეგად აღებული 20 მკლ სისხლი გადაიტანებოდა 400 მკლ 3%-იან ძმარმჟავას ხსნარში და ყოვნდებოდა 20წთ-ით ოთახის ტემპერატურაზე. სინჯის გარკვეული მოცულობა თავსდება გორიაევის კამერაში და სინათლის მიკროსკოპის საშუალებით (მცირე გადიდებაზე, ობიექტივი 20, ოკულარი 10) ლეიკოციტების რაოდენობას ვითვლიდით სტანდარტული პროტოკოლის მიხედვით.

2.6. აზოტის ოქსიდის რაოდენობის განსაზღვრა

NO-ს რაოდენობა განისაზღვრა Miranda et al.-ის მოდიფიცირებული მეთოდით [Miranda K. M., Espey M. G., Wink D. A. A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. Nitric Oxide. 5, 1, pp. 62-71; 2001]. ექსპერიმენტის საწყის ეტაპზე საჭიროა ნიმუშების დეპროტეინიზაცია, რისთვისაც 100 μლ ნიმუშს ემატება ამავე მოცულობის 0.3 N NaOH, კარგად შერევის შემდეგ ახდენენ ინკუბაციას 5 წთ-ის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე. შემდგომ ეტაპზე არსებულ სუსპენზიაში ემატება 100 μლ 5% $ZnSO_4$, შერევის შემდეგ საჭიროა ინკუბაცია 5 წთ-ის განმავლობაში ოტახის ტემპერატურაზე. ინკუბაციის შემდგომ ნიმუშები ცენტრიფუგირდება 3000 ბრ/წთ 4°C 15 წთ. საბოლოოდ დეპროტეინიზირებული სუპერნატანტის 100 μლ-ს ემატება 200 μლ გრისის რეაგენტი.

გრისის რეაგენტი მზადდება უშუალოდ ცდის წინ შემდეგი მეთოდიკით: 0,25% VCl_3, 0,1% სულფანილამიდი და 0,05% N-(1-Naphthyl)-ethylene diamine (NEDD) გახსნილი 0,5 N HCl-ში. ნარევი ინკუბირდება 30 წთ-ის განმავლობაში 37°C-ზე და შუქშთანთქმა იზომება სპექტრომეტრულად 540 ნმ ტალღის სიგრძეზე (გაზომვისათვის ვიყენებდით Multiscan GO მიკროპლანშეტურ სპექტრომეტრს, Thermo Fischer Scientific, ფინეთი). სტანდარტული მრუდის ასაგებად გამოიყენებოდა $NaNO_2$-ის სხვადასხვა კონცენტრაციები.

2.7. ფერმენტ კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა

ფერმენტ კატალაზას აქტივობა განისაზღვრა Goth-ის მოდიფიცირებული მეთოდით [Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. Clin Chim Acta. 1991; 196:143– 151]. ფერმენტული აქტივობის განსაზღვრის მეთოდი

დამყარებულია წყალბადის ზეჟანგის (H_2O_2) თვისებაზე, წარმოქმნას მოლიბდატის მარილებთან მყარი ფერადი კომპლექსი.

ექსპერიმენტის მიმდინარეობა:

1. საცდელ სინჯარაში (Sample) 0.05 მლ საკვლევ მასალას ემატებდა 1 მლ სუბსტრატი (65 μM/მლ H_2O_2 60 mM ფოსფატურ ბუფერში, pH 7.4);
2. ბრმა სინჯ 1-ში (B1) ემატება 1 მლ სუბსტრატი, 1 მლ ამონიუმის მოლიბდატი (32.4 mM) და ამის შემდეგ შეაქვთ 0.05 მლ ნიმუში;
3. ბრმა სინჯ 2-ში (B2) ემატება 1 მლ სუბსტრატი, 0,05 მლ ფოსფატური ბუფერი (Na-K ფოსფატის ბუფერი, pH 7.4) და 1 მლ ამონიუმის მოლიბდატი;
4. ბრმა სინჯ 3-ში (B3) ემატება 1,05 მლ ფოსფატური ბუფერი და 1 მლ ამონიუმის მოლობდატი;

სინჯარებში შესაბამისი ხსნარების შეტანის შემდეგ ნარევს კარგად ურევენ და აინკუბირებენ 2 წთ-ის განმავლობაში 37°C-ზე. რის შემდეგაც საცდელ სინჯარაში ემატება 1 მლ ამონიუმის მოლიბდატი, ურევენ და ახდენენ ინკუბაციას 2 წთ-ის განმავლობაში.

შუქშთანთქმა იზომება სპექტრომეტრულად 405 ნმ ტალღის სიგრძეზე (გაზომვისათვის ვიყენებდით Multiscan GO მიკროპლანშეტურ სპექტრომეტრს, Thermo Fischer Scientific, ფინეთი). გაზომვა ხდება ბრმა სინჯ 3-ის მიმართ.

კატალაზას აქტივობის გამოსათვლელად გამოიყენება შემდეგი ფორმულა:

$$kU/L = \frac{A_{B1} - A_{sample}}{A_{B2} - A_{B3}} * 271$$

თავი 3. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

3.1. პერიფერიულ სისხლში ლეიკოციტების განახლებაზე ბერძნული კაკლის უღლების წყლიანი ექსტრაქტის ორგანიზმში სხვადასხვა გზით შეყვანის ეფექტურობის შედარებითი შესწავლა

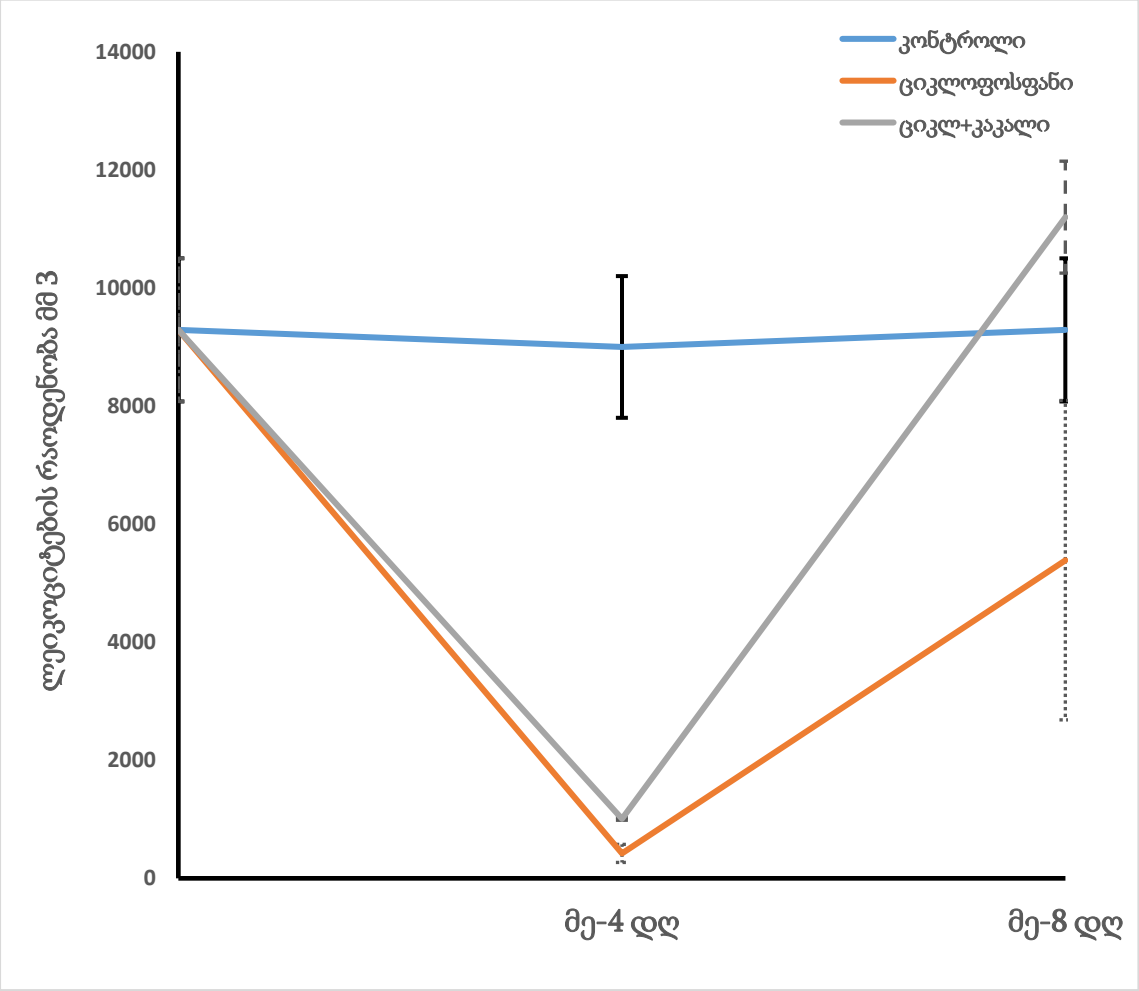
თეთრ თაგვებში ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციით გამოწვეული ლეიკოპენიის ექსპერიმენტულ მოდელზე ჩატარებული იყო პერიფერიულ სისხლში ლეიკოციტების განახლებაზე ბერძნული კაკლის უღლების წყლიანი ექსტრაქტის ორგანიზმში სხვადასხვა გზით შეყვანის ეფექტურობის შედარებითი შესწავლა.

შერჩეული იყო ექსტრაქტის შეყვანის ორი გზა: 1. სპეციალური ზონდით პერორალური შეყვანა და 2. ინტრაპერიტონეალური ინექციები. ინექციებისთვის წინასწარ მოვახდინეთ კაკლის უღლების ექსტრაქტის ლიოფილიზაცია. ლიოფილიზაციის შემდეგ მიღებული ფხვნილი იხსნებოდა დისტილირებულ წყალში ისეთი რაოდენობით, რომელიც იძლეოდა საწყისი წყლიანი ექსტრაქტის ანალოგიურ შთანთქმას ტალღის სიგრძეზე 550ნმ. ამგვარად განისაზღვრა შესაყვანი სითხის მოცულობა, რომელიც შეადგენს 20მკლ.

ლიოფილიზირებული ფხვნილიდან დამზადებული ხსნარის ინექციის სახით შესაყვანად ასევ, საწყისი ექსტრაქტის პერორალურად შეყვანის ეფექტურობის შესაფასებლად ექსპერიმენტული ცხოველები (40 თეთრი ზრდასრული თაგვი) დაყოფილი იყო 4 ჯგუფად: 1. საკონტროლო ჯგუფი - ინტაქტური ცხოველები; 2. I საცდელი ჯგუფი - ცხოველები, რომელთაც ერთჯერადად გაუკეთდათ ინტრაპერიტონეალურად ციკლოფოსფანის ინექცია; 3. II საცდელი ჯგუფი - ცხოველები, რომელთაც პეროლარული გზით ერთი კვირის განმავლობაში დღეში ორჯერ ეძლეოდათ კაკლის უღლების ექსტრაქტი 20მკლ. 4. III საცდელი ჯგუფი - ცხოველები, რომელთაც ერთი კვირის განმავლობაში დღეში ორჯერ ასევე ინტრაპერიტონეალურად უკეთდებოდათ კაკლის უღლების ექსტრაქტის ლიოფილიზირებული ფხვნილის წყალხსნარის ინექციები. II და III საცდელი ჯგუფის ცხოველებში კაკლის უღლების ექსტრაქტის მიწოდება დაწყებული იყო ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციის გაკეთების შემდეგ.

ექსპერიმენტი გრძელდებოდა 8 დღის განმავლობაში. მასალას (პერიფერიული სისხლი) ვიღებდით ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციიდან მე-4 და მე-8 დღეებზე და გორიავის კამერაში ვითლიდით ლეიკოციტების საერთო რაოდენობის ცვლილებას.

სურათზე 1 წარმოდგენილია საკონტროლო, პირველი და მეორე საცდელი ჯგუფების ცხოველების პერიფერიულ სისხლში ლეიკოციტების საერთო რაოდენობის ცვლილებების ამსახველი მრუდები.

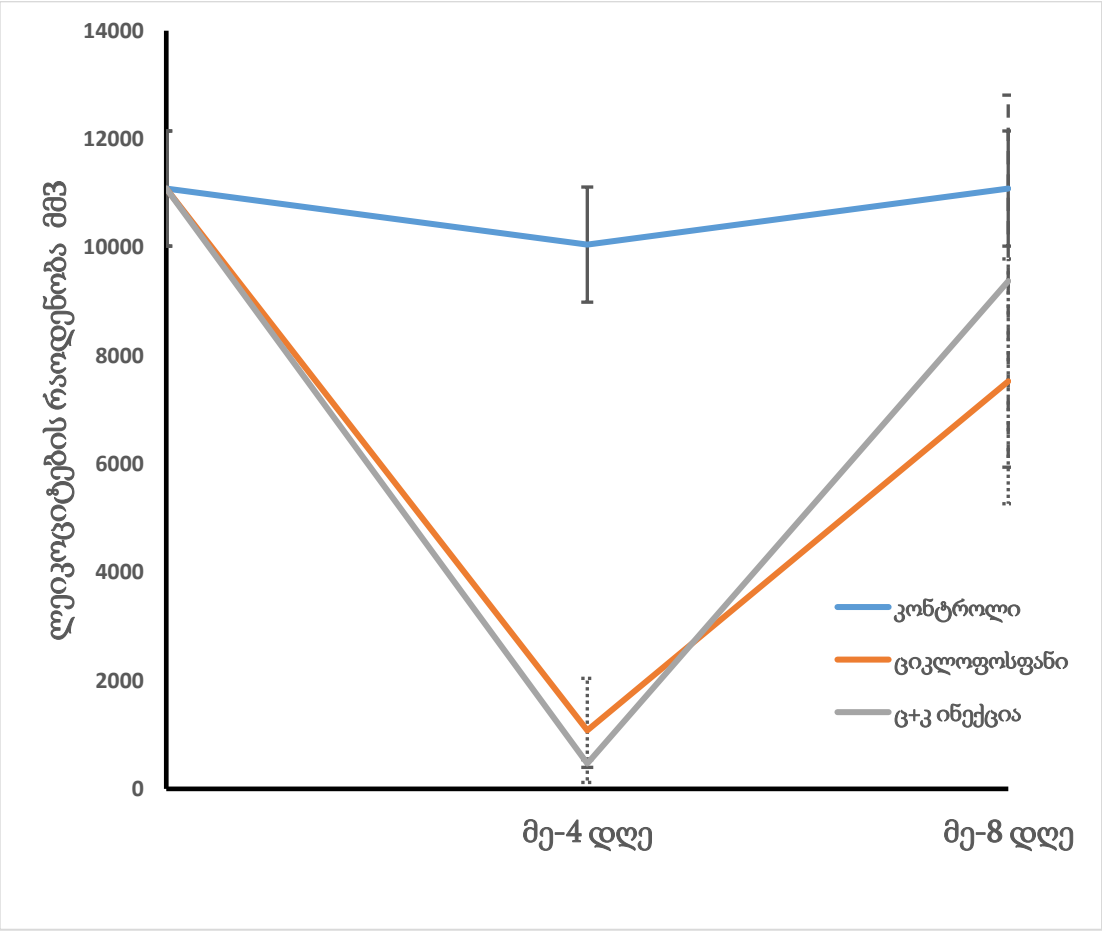


სურათი 1. ინტაქტური და საცდელი ჯგუფის ცხოველების პერიფერიულ სისხლში ლეიკოციტების რაოდენობრივი ცვლილება დინამიკაში

სურათიდან 1, ნათლად ჩანს, რომ ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექცია თეთრი ზრდასრული თაგვების პერიფერიულ სისხლში ლეიკოციტების საერთო რაოდენობის დაქვეითებას იწვევს. ინექციიდან მე-4 დღეს აღნიშნული ჯგუფის ცხოველების

პერიფერიულ სისხლში მათი რაოდენობა მინიმუმამდე ეცემა. ინექციიდან მე-8 დღეს ფიზიოლოგიური განახლების გზით ლეიკოციტების საერთო რაოდენობა იზრდება, თუმცა, ვერ აღწევს საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების მაჩვენებელს.

განსხვავებული სურათი დაიმზირება მეორე საცდელი ჯგუფის ცხოველების შემთხვევაში. კერძოდ, როგორც სურათიდან ჩანს კაკლის უღლების ექსტრაქტის პერორალურად შეყვანიდან მე-4 დღიდან პირველ საცდელ ჯგუფთან შედარებით, აღინიშნება ლეიკოციტების რაოდენობის უფრო სწრაფი ზრდა. უფრო მეტიც, მე-8 დღეს აღნიშნული ჯგუფის ცხოველების პერიფერიულ სისხლში ლეიკოციტების საერთო რაოდენობა აღემატება არამხოლოდ პირველი საცდელი ჯგუფის ცხოველების, არამედ საკონტროლო ჯგუფის შესაბამის მაჩვენებლებსაც. მიღებული შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ კაკლის უღლებიდან წყლიანი ექსტრაქტის პერორალური გზით მიღება ხელს უწყობს და აჩქარებს ლეიკოციტური ფორმულის ნორმალიზაციის პროცესს (სურ. 1).



სურათი 2. ინტაქტური და საცდელი ჯგუფის ცხოველების პერიფერიულ სისხლში ბერძნული კაკლის უღლების წყლიანი ექსტრაქტის ინექციის შედეგად ლეიკოციტების რაოდენობრივი ცვლილება დინამიკაში.

მეორე სურათზე წარმოდგენილია კაკლის უღლების ექსტრაქტის ინექციების სახით შეყვანის შედეგად მიღებული მონაცემები. სურათიდან ჩანს, რომ ორგანიზმში კაკლის უღლების ექსტრაქტის წყალხსანარის ინექციის გზით შეყვანის შემთხვევაში, არ მიიღწევა მისი ზემოთ აღწერილი დადებითი ეფექტები.

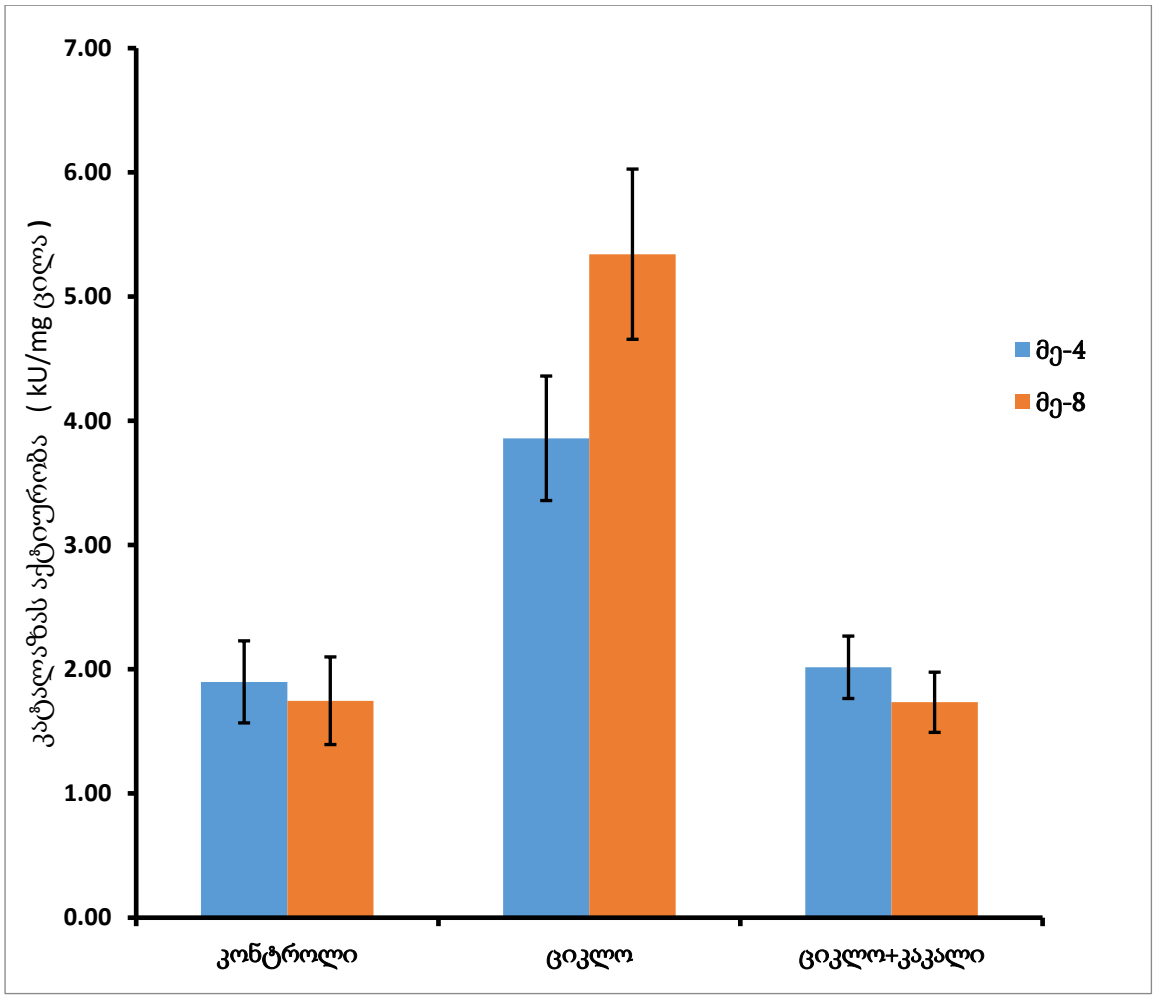
3.2. თეთრი ზრდასრული თაგვების სისხლში კატალაზას აქტიურობაზე კაკლის უღლების ექსტრაქტის გავლენის შესწავლა ნორმასა ლეიკოპენიის პირობებში

კვლევის შემდგომ ეტაპზე მიზნად დავისახეთ შეგვეფასებინა ცვლილებები, რომლესაც შესაძლოა იწვევდეს თეთრი ზრდასრული თაგვების სისხლის ანტიოქსიდანტური სისტემის ფუნქციონირებაში ციტოტოქსიკური პრეპარატის ინექცია და პარარელურად გამოგვევლინა კაკლის უღლების შესაძლო დადებითი ეფექტები. ამ მიზნით შევაფასეთ აღნიშნული სისტემის ერთ-ერთი ფერმენტის - კატალაზას აქტიურობის ცვლილებები. კატალაზა, როგორც ანტიოქსიდანტური ფერმენტი, როგორც ცნობილია ჩართულია სუპეროქსიდ რადიკალის ($O2^-$) ელექტრონეიტრალური ფორმის ($H2O2$) გარდაქმნის პროცესში. კატალაზას მეშვეობით წყალბადის ზეჟანგი გარდაიქმნება წყლად ($H2O$) და თავისუფალ ჟანგბადად ($O2$).

ექსპერიმენტული ცხოველები (30 თეთრი ზრდასრული თაგვი) დაყოფილი იყო 3 ჯგუფად: 1. საკონტროლო ჯგუფი - ინტაქტური ცხოველები; 2. I საცდელი ჯგუფი - ცხოველები, რომელთაც ერჯერადად გაუკეთდათ ციკლოფოსფანის ინექცია; 3. II საცდელი ჯგუფი - ცხოველები, რომელთაც პეროლარული გზით ერთი კვირის განმავლობაში დღეში ორჯერ ეძლეოდათ კაკლის უღლების ექსტრაქტი მლ. საცდელი ჯგუფის ცხოველებში კაკლის უღლების ექსტრაქტის მიწოდება დაწყებული იყო ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციის გაკეთების შემდეგ.

ექსპერიმენტი ამ შემთხვევაშის გრძელდებოდა 8 დღის განმავლობაში. მასალას (პერიფერიული სისხლი) ვიღებდით ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციიდან მე-4 და მე-8 დღეებზე და ვსაზღვრავდით ფერმენტ კატალაზას აქტიურობას.

ციკლოფოსფანის ინექციიდან მე-4 დღეს თეთრი თაგვების სისხლში დაახლოებით 2-ჯერ იზრდება კატალაზას აქტიურობა, რომელიც შენარჩუნებულია მე-8 დღესაც. კაკლის უღლების ექსტრაქტის პერორალური შეყვანის შემთხვევაში, აღნიშნული აქტიურობა არ ვლინდება. კატალაზას აქტიურობა საკონტროლო მაჩვენებლის დონეზე რჩება.



სურათი3. ბერძნული კაკლის უღლების ექსრტრაქტის ზეგავლენა პერიფერიული სისხლში ფერმენტ კატალაზას აქტიურობის ცვლილებაზე ლეიკოპენიის პირობებში

მიღებული შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ ბერძნული კაკლის უღლების ექსტრაქტს გააჩნია ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციის საპასუხოდ კატალაზას რაოდენობრივი ცვლილებების კორექციის უნარი.

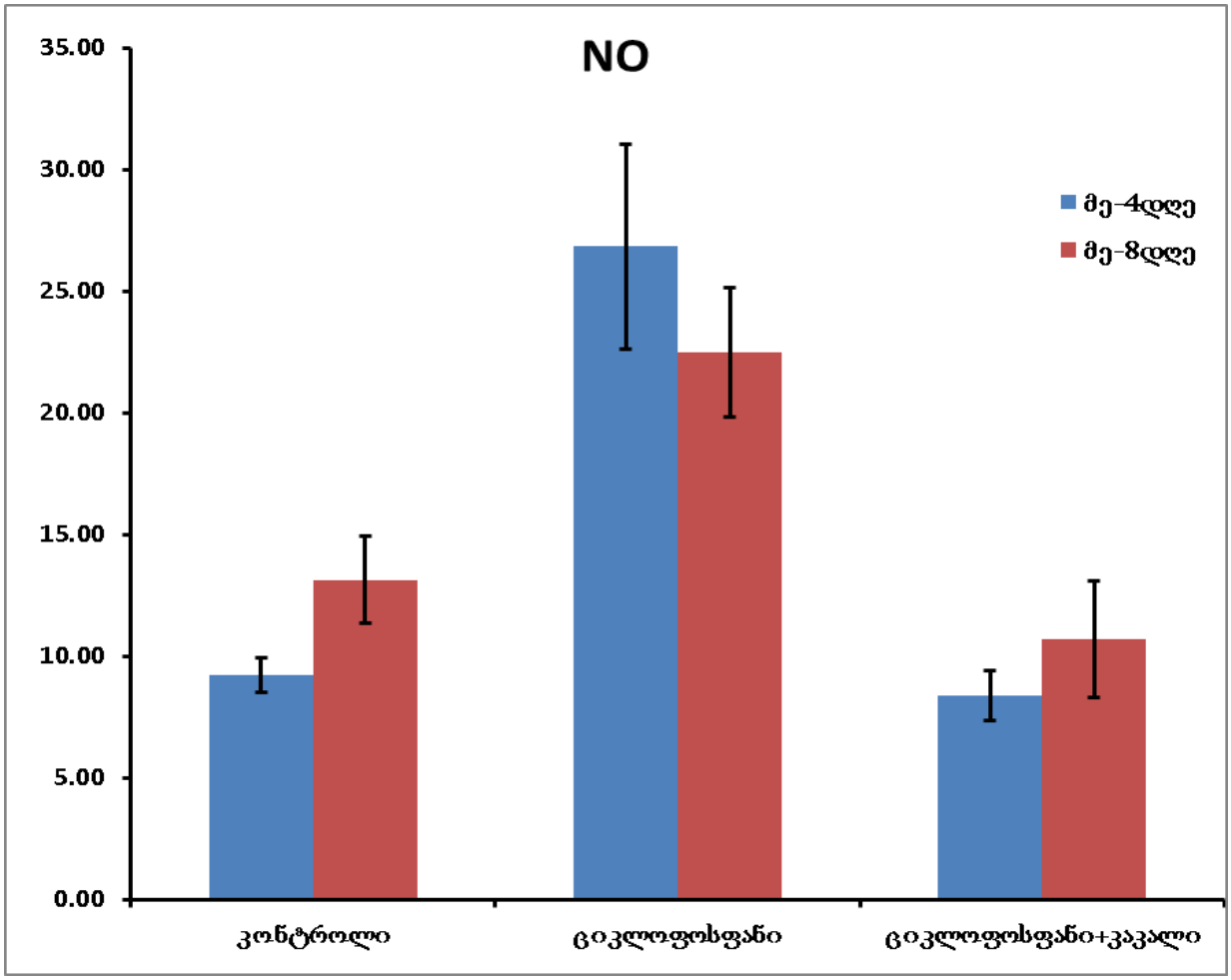
თავი 3.3 თეთრი ზრდასრული თაგვების სისხლში NO -ს რაოდენობრივ ცვლილებებზე კაკლის უღლების ექსტრაქტის გავლენის შესწავლა ნორმასა ლეიკოპენიის პირობებში

სხვადასხვა აგენტების ზეგავლენით, როგორც ცნობილია ორგანიზმში ძლიერდება ძლიერდება ზეჟანგური ჟანგვის პროცესები და ადგილი აქვს ოქსიდაციური სტრესის ჩამოყალიბებას. აქედან გამომდინარე, საინტერესოდ მივიჩნიეთ შეგვეფასებინა ციკლოფოსფანის ინექციის საპასუხოდ ერთ-ერთი ისეთი ნაერთის რაოდენობრივი ცვლილებები, რომელიც ფიზიოლოგიურ კონცენტრაციებში ნორმალურ მეტაბოლურ რეაქციებში იღებს მონაწილეობას, მაღალ კონცენტრაციებში ხდება ტოქსიკური და უჯრედული კომპონენტების ნგრევას განაპირობებს. ამ თვალსაზრისით ყურადღება შევაჩერეთ აზოტის ოქსიდზე, რომელიც მრავალ პროცესში მონაწილეობს, თუმცა, დღესდღეობით NO-ს ზუსტი როლი ორგანიზმში ჯერ-ჯერობით დაუზუსტებელია, რადგან ის ჩართულია, როგორც დადებით, ისე უარყოფით პროცესებშიც და შესაბამისად, აზოტის ოქსიდი ერთგავარად ორმაგი მოქმედების უჯრედულ მედიატორს წარმოადგენს, რომელსაც გადამწყვეტი როლი ენიჭება მრავალი პროცესის წარმართვაში.

ექსპერიმენტული ცხოველები (30 თეთრი ზრდასრული თაგვი) დაყოფილი იყო 3 ჯგუფად: 1. საკონტროლო ჯგუფი - ინტაქტური ცხოველები; 2. I საცდელი ჯგუფი - ცხოველები, რომელთაც ერჯერადად გაუკეთდათ ციკლოფოსფანის ინექცია; 3. II საცდელი ჯგუფი - ცხოველები, რომელთაც პეროლარული გზით ერთი კვირის განმავლობაში დღეში ორჯერ ეძლეოდათ კაკლის უღლების ექსტრაქტი მლ. საცდელი ჯგუფის ცხოველებში კაკლის უღლების ექსტრაქტის მიწოდება დაწყებული იყო ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციის გაკეთების შემდეგ.

ექსპერიმენტი ამ შემთხვევაშის გრძელდებოდა 8 დღის განმავლობაში. მასალას (პერიფერიული სისხლი) ვიღებდით ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციიდან მე-4 და მე-8 დღეებზე და ვსაზღვრავდით NO-ს რაოდენობრივ ცვლილებებს პაჰანისა და სხვათა მოდიფიცირებული მეთოდით ( ).

სურათზე 4 წარმოდგენილია მრუდები, რომლებიც ასახავს ბერძნული კაკლის უღლების ექსტრაქტის ზეგავლენას პერიფერიულ სისხლში NO რაოდენობის ცვლილებაზე ლეიკოპენიის პირობებში. სურათიდან ჩანს, რომ ციკლოფოსფანის ინექციიდან მე-4 დღეს საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით დაახლოებით 2-ჯერ იზრდება NO-ს რაოდენობა ზრდასრული თეთრი თაგვების სისხლში. კაკლის უღლების ექსტრაქტის პერორალური შეყვანის შემთხვევაში NO რაოდენობა საკონტროლო მაჩვენებლის დონეზე რჩება (სურ.4).



სურათი 4. ბერძნული კაკლის უღლების ექსტრაქტის ზეგავლენა პერიფერიულ სისხლში NO რაოდენობის ცვლილებაზე ლეიკოპენიის პირობებში

დასკვნები:

1. ბერძნული კაკლის უღლების ექსტრაქტით თეთრ თაგვებში ციკლოფოსფანის ინექციით გამოწვეული მიელოპოეზის სუპრესიის კორექცია მიიღწევა მხოლოდ მისი ორგანიზმში პერორალური გზით შეყვანის შემთხვევაში.
2. ბერძნული კაკლის (Juglans regia) უღლების ექსტრაქტს გააჩნია თეთრი ზრდასრული თაგვების სისხლში ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციით გამოწვეული კატალაზას აქტიურობის ცვლილებების კორექციის და შესაბამისად, დაქვეითებული ანტიოქსიდანტური სისტემის ნორმალიზაციის უნარი.
3. ბერძნული კაკლის უღლების ექსტრაქტისათვის დამახასიათებელია თეთრი ზრდასრული თაგვების სისხლში ციკლოფოსფანის ერთჯერადი ინექციით გამოწვეული NO-ს რაოდენობრივი ცვლილებების და შესაბამისად, გაძლიერებული ოქსიდაციური პროცესების კორექციის უნარი.

1. The correction of myelopoiesis suppression in white mice caused by the single injection of cyclophosphan can be achieved only by administrating the walnut water extract perorally.
2. In response to single injection of cyclophosphan to adult white mice the extract of Juglans regia septa can correct the changes caused by the activity of catalase, and therefore normalize the depressed antioxidant system.
3. In response to single injection of cyclophosphan to adult white mice the extract of Juglans regia septa causes the quantitative changes of NO and thus, corrects the enhanced oxidative processes.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Агеева Т.К. Гомеопатические препараты в арсенале лечебных средств// Новая аптека,- 2001.- №9.-С.51-56

2. Алексеев Ю.Б., Вехов В.Н., Тапочка Г.П. и др. Травянистые растения СССР. В 2-х т.т. М., Мысль.-1971.- т.2.- с. 164;

3. Алюшин М. Т., Костенникова З. П. Проблемы развития гомеопатической медицины // Фармация. 1993. - № 5. - С. 43-45;

Ахрем А.А., Кузнецов А.И. Тонкосолйная хроматография .- М.: Наука, 1965.-С. 19-55.

4.2016 D Dzidziguri, M Rukhadze, I Modebadze, E Bakuradze, M Kurtanidze, V Giqoshvili The study of the immune corrective properties of greek walnut (juglans regia l.) septa on the experimental model of leukopenia. Georgian medical news,3 (252), 84-89.

5. Mesher Anthony 2013; Абрамов М. Г. 1985; Улумбекова Э. Г. 1998

6. Гольдберг Д. И. и Е. Д. Гольдберг. 1971; Кассирский И.А., Г.А. Алексеев. 197

7. Deshpande RR, et al. Antimicrobial Activity Of different extracts of Juglans Regia L. against Oral Microflora. Int. J. Pharm. Sci., 2011, 3:200-201

8. Shah T.I, et al. Prelimnary phytochemical evaluation and anti-bacterial potential of different leaf extracts of *Juglans regia*: A ubiquitous dry fruit from Kashmir-India. Int.J.Pharm.Sci.Rev.Res; 19(2), Mar-Apr 2003; 93-96.

9. Fujita T, et al. Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in Middle and West Black Sea regions. Econ. Bot., 1995, 49: 406-422.

10.Yesilada E. Biodiversity in Turkish Folk Medicine. In: Sener, B. (Ed.), Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiversity and Innovative Utilization. Kluwer Academic/Plenum Publishers, London, 2002, pp. 119–135.

11.Kim HG, et al. Growth-inhibiting activity of active component isolated from Terminalia chebula fruits against intestinal bacteria. J. Food Prot., 2006, 69:2205-2209.

12.Jaradat NA. Medical plants utilized in Palestinian folk medicine for treatment of diabetes mellitus and cardiac diseases. J. Al-Aqsa Unv., 2005, 19:1-28

13.Kaileh Mb, et al. Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity J. Ethnopharmacol., 2007, 113: 510-516

14.Basic Histology – by L.Meshcer MC Graw Hill Education, Thirteen edition, 2013

15.Anderson PM., Marcovic SN., Sloan JA., et al. Aerosol granulocyte macrophage – colony stimulating factor: a low-toxicity, lung- specific biological theraphy in patients with lung metastases. Clin Cancer Res. 1999;5:2316-2323.

16. Espinosa A.H. Beck, Lee C.H, Zhu S., Montgomery K.D., Marinelli R.J. et al. Coordinate exspression of colony-stimulating factors-1 and colony stimulating factor-1 related proteins is associated with poor prognosis in gynecological and nongynecological leiomyisarcoma. Am J Pathol. 2009, 174 (6): 2347-2356.

17. Dzidziguri D., Rukhadze M., Modebadze I., Bakuradze E., Kurtanidze M., Giqoshvili V. The study of immune corrective properties of greek walnut (Juglans regia L.) septa on the experimental model of leukopenia. Georgian medical news, No 3 (252) Март 2016. ISSN 1512-0112. ТБИЛИСИ-NEW YORK. P: 84-89.

18Can Fam Physician 1984; 30:1835-1839.

19 Vincent W. Ing. The Etiology and Management of Leukopenia

20Sedky K, Lippmann S. Psychotropic medications and leukopenia. Curr Drug Targets. 2006 Sep;7(9):1191-4.

21А. Крылов, Б. М. Тайц. Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. 2005, №4 с 25-27.

22. Лечение перегородками грецких орехов www. medvirus.ru

23. Stephan Ladisch., David G. Poplack., and Joan M. Bull. Acceleration of Myeloid Recovery from Cyclophosphamide – induced Leukopenia by Pretreatment with Bacillus Calmette – Guerin.//Cancer Research 38, 1049- 1051, April 1978.

24. Ореховые перегородки-Аиф Здоровье, №28 (568) 2005, www.molodoy.ru

29

25 Junkueira's basic hystology. 13th eddition. P 251-260. 2013. ISBN: 978-0-07-180720-3

2http://www.pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Juglans+regia

27 მირზაშვილი ვ., ქართული საბჭოთა ენციკლოპედია, ტ. 5, თბილისი 1980 წელი.
28 Hemery, G. E. (1998). "Walnut seed-collecting expedition to Kyrgyzstan in Central Asia". Quarterly Journal of Forestry.
29 Facciola. S. Cornucopia - A Source Book of Edible Plants. Kampong Publications 1990 ISBN 0-9628087-0-9
30 Hedrick. U. P. Sturtevant's Edible Plants of the World. Dover Publications 1972 ISBN 0-486-20459-6
31 Deshpande RR, et al. Antimicrobial Activity Of different extracts of Juglans Regia L. against Oral Microflora. Int. J. Pharm. Sci., 2011, 3:200-201.
32 Shah T.I, et al. Prelimnary phytochemical evaluation and anti-bacterial potential of different leaf extracts of Juglans regia: A ubiquitous dry fruit from Kashmir-India. Int.J.Pharm.Sci.Rev.Res; 19(2), Mar-Apr 2003; 93-96.

33. Witko-Sarsat V. Friedlander M, Advanced oxidation protein products asnovel markers of oxidative stress in ischemia. J. Neurochem 2000; 22: 342-350.
34. 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.
35. Witko-Sarsat V. Friedlander M, Advanced oxidation protein products asnovel markers of oxidative stress in ischemia. J. Neurochem 2000; 22: 342-350.
36. 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.
37. Apel, Klaus, and Heribert Hirt. "Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction." Annu. Rev. Plant Biol. 55 (2004): 373-399.
38. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. The Journal of physiology. 2003 Oct 1;552(2):335-44.

39. 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.
40. 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.
41. 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.

42. 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.

43. Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. Free Radical Biology and Medicine. 2010 Mar 15;48(6):749-62.

44. 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.

45. 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.

46. Sahiner, U.M. and Cansin Sackesen, M.D., 2012. Oxidative stress and antioxidant defense.

47. 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.

48. Irshad M, Chaudhuri PS. Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body. Indian journal of experimental biology. 2002 Nov;40(11):1233-9.

49. 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.

50. 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.

51. 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.

52. 1.Stuehr DJ. Structure-function aspects in the nitric oxidesyn thases. Annu Rev Pharmacol Toxicol 1997; 37:339–59.

53. Ferreiro CR, Chagas AC, Carvalho MH, Dantas AP, Sca -vone C, Souza LC, et al. Expression of inducible nitricoxide synthase in increased in patients with heart failuredue to ischemic disease. Braz J Med Biol Res 2004; 37:1313–20.

54. Andrew PJ, Mayer B. Enzymatic function of nitric oxidesynthases. Cardiovasc Res 1999; 43: 521–31.

55. Barouch LA, Harrison RW, Skaf MW, Rosas GO, CappolaTP, Kobeissi ZA, Hobai IA, Lemmon CA, Burnett AL O'Rourke B, Rodriguez ER, Huang PL, Lima JA, Berko -witz DE, Hare JM. Nitric oxide regulates the heart by spatialconfinement of nitric oxide synthase isoforms. Nature2002; 416(6878): 337–9.

56. Balligand JL, Kobzik L, Han X, Kaye DM, Belhassen L, O'Hara DS, Kelly RA, Smith TW, Michel T. Nitric oxidedependent 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.

57. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. Biochem J 2001; 357: 593–615.

58. Andrew PJ, Mayer B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. Cardiovasc Res 1999; 43: 521–31.

59. 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.

60. 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.

61. Rabelink TJ, Luscher TF. Endothelial nitric oxide syntha - se: host defense enzyme of the endothelium. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006; 26: 267–1.

62. Korth HG, Sustmann R, Thater C, Butler AR, Ingold KU. On the mechanism of the nitric oxide synthase-catalyzed conversion of N omega-hydroxyl-L-arginine to citrulline and nitric oxide. J Biol Chem 1994; 269(27): 17776–9

63. Phil Dash "Nitric Oxide", Basic Medical Sciences, St.George's, University of London

64. Wink, DA; et.al. (1991) "DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors" Science 254 (5034): 1001–3

65. Nguyen, T; Brunson D, Crespi CL, Penman BW, Wishnok JS, Tannenbaum SR (1992) "DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro". Proc Natl Acad Sci USA 89 (7): 3030–4.

66. Li, CQ; Pang B, Kiziltepe T, Trudel LJ, Engelward BP, Dedon PC, Wogan GN (2006). "Threshold Effects of Nitric Oxide-Induced Toxicity and Cellular Responses in Wild-Type and p53-Null Human Lymphoblastoid Cells". Chem Res Toxicol 19 (3): 399–406.

67. Hibbs, JB; Taintor RR, Vavrin Z, Rachlin EM (1988). "Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule". Biochem Biophys Res Commun 157 (1): 87–94.

68. Shami, PJ; Moore, JO; Gockerman, JP; Hathorn, JW; Misukonis, MA; Weinberg, JB (1995). "Nitric oxide modulation of the growth and differentiation of freshly isolated acute non-lymphocytic leukemia cells". Leukemia research 19 (8): 527–33.

69. Surks, HK (2007). "cGMP-dependent protein kinase I and smooth muscle relaxation: a tale of two isoforms". Circulation research 101 (11): 1078–80.

70. Http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/N/NO.html

71Kaibori M., Sakitani K., Oda M., Kamiyama Y., Masu Y. and Okumura T. (1999). "Immunosuppressant FK506 inhibits inducible nitric oxide synthase gene expression 104 at a step of NF-κB activation in rat hepatocytes". J. Hepatol. 30 (6): 1138–1145.

72. Butler A. and Nicholson R.; "Life, death and NO." Cambridge 2003. ISBN 978-0- 85404-686-7

73. Stadtman ER (August 1992) "Protein oxidation and aging" Science 257 (5074): 1220– 4.

74. Gorczyniski and Stanely, Clinical Immunology. Landes Bioscience; Austin, TX. ISBN 1570596255

75. Ho YS, Magnenat JL, Gargano M, Cao J (1 October 1998). "The nature of antioxidant defense mechanisms: a lesson from transgenic studies". Environ. Health Perspect.106 (Suppl 5): 1219–28.

76. 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.

77. 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

78. Liu VWT, Huang PL. Cardiovascular roles of nitric oxide:a review of insights from nitric oxide synthase gene disruptedmice. Cardiovas Res 2008; 77: 19–29.

79. 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.

80. 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.

81. Chelikani P, Fita I, Loewen PC (January 2004) "Diversity of structures and properties among catalases" Cell. Mol. Life Sci. 61 (2): 192–208.

82. Murthy MR, Reid TJ, Sicignano A, Tanaka N, Rossmann MG (October 1981) "Structure of beef liver catalase" J. Mol. Biol. 152 (2): 465–499.

83. Goodsell DS (2004-09-01) "Catalase" Molecule of the Month. RCSB Protein Data Bank.

84. Chelikani P, Fita I, Loewen PC (January 2004) "Diversity of structures and properties among catalases" Cell. Mol. Life Sci. 61 (2): 192–208.

85. Maehly A, Chance B (1954) "The assay of catalases and peroxidases" Methods Biochem Anal. Methods of Biochemical Analysis 1: 357–424.

86. 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

87. Ogata M, Mizugaki J. Residual catalase in Japanese type acatalasemia. Cell Structure and Function. 1978;3(4):279-92.

88. Fiskum G. 2000 Mitochondrial participation in ischemic and traumatic neural cell death. Journal of Neurotrauma, Volume 17, Issue 10, Pages 843–855

89. Ichas F and Mazat JP. 1998. From calcium signaling to cell death: two conformations for the mitochondrial permeability transition pore. Switching from low- to high- conductance state. Biochimica et Biophysica Acta, Volume 1366, Issues 1–2, Pages 33–50.