ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტის ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა
ფაკულტეტი ფიზიკის მიმართულება

წამლის გადამტანი ლიპოსომები

ნაშრომი შესრულებულია ფიზიკის ბაკალავრის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად

სტუდენტი: თამარ ქურდაძე

ხელმძღვანელი:

პროფესორი თამაზ მძინარაშვილი

თბილისი ●2019

ანოტაცია:

დღესდღეობით DPPC ლიპოსომების ინტენსიური კვლევა მიმდინარეობს,რადგან ისინი არიან უნიკალური წამლის ტრანსპორტერები.მათი შესწავლა მიმდინარეობს კიბოს საწინააღმდეგო თერაპიული აგენტების ტრანსპორტირებისთვის.ქვემოთ განვიხილავ ლიპოსომების ფიზიკურ თვისებებს,სტრუქტურას,მასტაბილიზებელ ძალებს,მათ გამოყენებასა და უპირატესობებს ჰიდროფობული და ჰიდროფილური ანტიოქსიდანტური ვიტამინების მეტად ექფექტურობისთვის. გაგაცნობთ ჩემს მიერ ჩატარებულ სპექტროფოტომეტრიულ ექსპერიმენტსა და კვლევის შედეგებს.

Annotation:

Nowadays, DPPC liposomes are intensively researched by scientists, since they are unique drug transporters and they are used as a vesicles for unti- cancer therapuetical agents. Below are the physical properties of the liposomes, the structure, stabilizing forces, their use and advantages for hydrophobic and hydrophilic antioxidant vitamins for more efficiency. I will introduce the spectrophotometric experiment conducted by me, and the research results.

სარ ჩევი

შესავალი 4

თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა 5

1.1 ლიპოსომები ზოგადი დახასიათება 5

1.2 ფიზიკური თვისებები 6

1.3.ლიპოსომების უპირატესობები 7

1.4.უარყოფითი თვისებები 8

1.5 ლიპოსომის შემადგენლობა, სტრუქტურა და მასტაბილიზებელი ძალები 9

1.6 წამლის გადაცემის გზები ლიპოსომიდან ქსოვილზე 14

1.7 თავისუფალი რადიკალები და ანტიოქსიდანტები 15

1.8 ვიტამინი C 20

1.8.1 ლიპოსომური C ვიტამინის უპირატესობები 21

1.9 ვიტამინი E 22

1.9.1 E ვიტამინის მოქმედება კანზე 23

თავი II. კვლევის მეთოდები 24

2.1 ცენტრიფუგირების მეთოდი 24

2.2 სპექტოფოტომეტრიული მეთოდი 27

2.2.1 ლამბერტ-ბერის კანონი და მოლეკულის სპექტრი 27

თავი III. ექსპერიმენტული ნაწილი 31

3.1 ექსპერიმენტის მიზანი 31

3.2 ექსპერმინენტი 31

დასკვნა 34

გამოყენებული ლიტერატურა 35

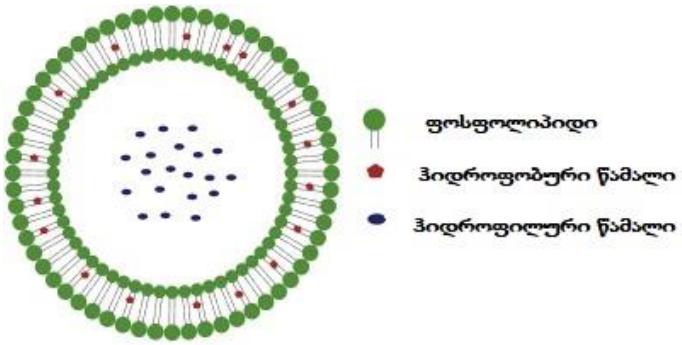
შესავალი

როგორც ვიცით, დაავადების კერები ლოკალურადაა ქსოვილზე და ორგანოზე განლაგებული.სისხლის ორგანიზმში ცირკულაციის გამო წამალი მეტნაკლებად თანაბრად ნაწილდება მთელ ორგანიზმში,ამის გამო საჭიროა წამლის დოზის გაზრდა,რაც თავისთავად იწვევს უკუჩვენებებს. ასევე ცნობილია,რომ სისხლის იმუნური სისტემის შემადგენელ კომპონენტებს ახასიათებთ უნარი დაშალონ გარკვეული ნაერთები.ეს ზრდის რისკს,რომ წამალი დაიშლება მანამ ვიდრე ის განსაკურნებელ ორგანომდე მიაღწევს. ამ ფაქტს განსაკუთრებით დიდი ზიანის მოტანა შეუძლია მაშინ,როდესაც მკურნალობა მიმდინარეობს ისეთი ტოქსიკური მედიკამენტებით,რომლებიც ლოკალურად კურნავენ დაზიანებულ ორგანოს,ან თვით დაავადებას,მაგრამ გლობალურად აზიანებენ მთელ ორგანიზმს.ვინაიდან ტრადიციული მეთოდებით მკურნალობა გარკვეულ რისკებთანაა დაკავშირებული,საჭირო გახდა ისეთი წამლის ტრანსპორტერის შექმნა,რომელიც მედიკამენტს მიიტანდა დანიშნულების ადგილამდე საჭირო კონცენტრაციით, არ შეეხებოდა სხვა ორგანოებს და დაიცავდა წამალს ფერმენტული ცილებისაგან.მასში შესაძლებელი იქნებოდა როგორც ჰიდროფილური,ასევე ჰიდროფობური წამლების განთავსება. აქ ჩვენ განვიხილავთ წამლის გადამტან ლიპოსომებს, მათ თვისებებს , ასევე მათი პრაქტიკული გამოყენების მაგალითებს ანტიოქსიდანტი ვიტამინაებისთვის როგორიცაა C და E . კვლევის სპექტოფოტომეტრიულ მეთოდს და მიღებული შედეგების ანალიზს .

თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა

1.1 ლიპოსომები ზოგადი დახასიათება

სახელწოდება „ლიპოსომა“ წარმოიშვა ორი ბერძნული სიტყვისაგან: „Lipos” ნიშნავს ცხიმს და “Soma” ნიშნავს სხეულს. ლიპოსომა არის ძალიან მცირე ზომის ვეზიკულა, რომელიც აგებულია იგივე მატერიალებისგან, რომელთაგანც აგებულია უჯრედული მემბრანა. ის სფეროსებური ვეზიკულაა, რომელიც შედგება ფოსფოლიპიდური ბიშრესაგან, პირველად აღწერა ბრიტანელმა ჰემატოლოგმა 60-იან წლებში, ბაბრაჰამის ინსტიტუტში, კემბრიჯში. ლიპოსომა აღმოაჩინეს, როცა Bangham და R. W. Horne ცდიდნენ ინსტიტუტის ახალ ელექტრონულ მიკროსკოპს მშრალ ფოსფოლიპიდებზე. მსგავსება პლაზმოლემასთან იყო ცხადი და მიკროსკოპის სურათები იყო პირველი რეალური მტკიცებულება, რომ უჯრედული მემბრანა ლიპიდური ბიშრეს წარმოადგენდა.



სურათი 1.1

1.2 ფიზიკური თვისებები

ლიპოსომები წარმოადგენენ ბიოშეთავსებად წამლის გადამტან ნანოსისტემებს, რომელთაც შეუძლიათ მათში მოთავსებული წამლების დაცვა სხვადასხვა ფაქტორების ზემოქმედებისგან. მათში როგორც ჰიდროფობური ასევე ჰიდროფილური წამლებიც თავსდება. შესაბამისად, დიდია ინტერესი ლიპოსომების კვლევისა, როგორც წამლის გადამტანი ეფექტური საშუალებებისა. მათი წარმოება არის ადვილი და დღეისათვის ის გამოიყენება მეცნიერების სხვადასხვა სფეროებში მათემატიკისა და თეორული ფიზიკის ჩათვლით, ბიოფიზიკაში, ქიმიაში, ბიოქიმიაში, ბიოტექნოლოგიაში, გენურ ინჟინერიაში და ბიოლოგიაში. ლიპოსომები ,როგორც წამლის გადამტანი სისტემები პროგრესირდა ჩვეულებრივი ვეზიკულებიდან "მეორე თაობის" ლიპოსომებით, რაც გულისხმობს ლიპიდური შემადგენლობის მოდულირებას სისხლში ხანგრძლივი ცირკულაციისთვის, ასევე ზომის, ზედაპირული მუხტის ცვლილების, აგრეთვე ისეთი აქტიური მოლეკულების (მაგ, გლიკოლიპიდები, ცილები) ინტეგრაციით, რომელიც საშუალებას მისცემს ლიპოსომას დაუკავშირდეს უჯრედს რეცეპტორული გზით, რაც უკვე ლიპოსომას მიზანმიმართულს ხდის .

ცხადია, რომ ასეთი წამლის გადამტანი ლიპოსომები რამდენიმე კრიტერიუმს უნდა აკმაყოფილებდნენ.ისინი უნდა იყვნენ მცირე (ნანო = 1 x 10^{-9} მ) ზომის, სტაბილურები, არატოქსიკურნი და ბიოდეგრადირებადნი.ლიპოსომის ზომა შეიძლება იცვლებოდეს 15 ნმ–დან 1000 ნმ–მდე და კიდევ უფრო მეტიც – ცოცხალი უჯრედის ზომამდეც.

წამლის გადამტანი ნანოსისტემების საშუალებით შესაძლებელია თერაპიული აგენტების მიწოდება დაზიანებულ ქსოვილებთან უცვლელი სახით.

მათ მიერ გადაიტანება: ანტისიმსივნური პრეპარატები, ანტიჰიპერტენზიული აგენტები, იმუნომოდულატორები, ჰორმონები, პროტეინები, დნმ, ანტისხეულები და სხვა.სამიზნე ადგილებში მიწოდებული წამლის კონცენტრაცია იზრდება, ხოლო სხვა ადგილებში, სადაც არაა გათვალისწინებული წამლის მიწოდება, – მცირდება ან საერთოდ არარსებულია.

1.3.ლიპოსომების უპირატესობები

რამდენიმე ფაქტორის გამო აქვთ ლიპოსომებს უპირატესობა წამლის მიწოდების მხრივ.

1.აღსანიშნავია მათი ქიმიური მსგავსება ბიოლოგიურ მემბრანებთან . ადამიანის უჯრედული მემბრანის უმეტეს ნაწილს შეადგენს ლიპიდები, კონკრეტულად კი – 20–80%–ს, მემბრანის ტიპის მიხედვით. ამიტომ, ლიპოსომები ნეგატიურ რეაქციებს არ იწვევენ ადამიანის ორგანიზმში მოხვედრისას.

2.მეორე უპირატესობას წარმოადგენს მათი უნივერსალობა. ლიპიდების ნახევრად სინთეტური ხასიათის გამო, მომზადების სხვადასხვა პროტოკოლების გამოყენებით, შესაძ-ლებელია შევცვალოთ მათი ქიმიური შემადგენლობაც და ფიზიკური თვისებებიც. ლიპოსომები იმგვარად შეიძლება დამზადდეს, რომ მათში მოვათავსოთ ჰიდროფობური წამლებიცა და ჰიდროფილური წამლებიც.

3.მათი დეგრადაცია იმავე გზებით ხდება, რა გზებითაც წარმოებს ბიოლოგიური მემბრანების დეგრადაცია. შესაბამისად, ისინი წარმოადგენენ უსაფრთხო საშუალებას წამლის გადასატანად და მათ ფართო გამოყენება ჰპოვეს ბიოსამედიცინო სფეროში.

4. ლიპოსომები ზრდიან პრეპარატის ეფექტურობას და თერაპევტულ მაცვენებელს,ისინი ზრდიან სტაბილურობას ენკაფსულირების მეშვეობით,არიან

არატოქსიკურნი,მოქნილნი,ბიოთავსებადნი,სრულიად ბიოდეგრადირებადნი,და არაიმუნოგენურნი სისტემური და არასტისტემური ადმინისტრაციისთვის.

5. .ლიპოსომები ამცირებენ ენკაფსულირებული აგენტების ტოქსიკურობას (ამფოტერიცინ B,Taxol), ლიპოსომები ამცირებენ მგრძნობიარე ქსოვილების ზემოქმედებას ტოქსიკურ პრეპარატებთან.

6. .მათ აქვთ უნარი გვერდითი მოვლენებისაგან თავის აცილების.

7.არიან თერმოსტაბილურნი.

1.4.უარყოფითი თვისებები

მას შემდეგ,რაც პრეპარატის შემცველი ლიპოსომები ადმინისტრირტება,ისინი მოგზაურობას იწყებენ მთელს სხეულში.იდეალურად უკავშირდებიან სამიზნე ქსოვილებს,სადაც ისინი ათავისუფლებენ წამალს.ხშირ შემთხვევაში ლიპოსომის შიგნით განთავსებულია მაღალ ტოქსიკური პრეპარატი,როგორებიცაა ქიმიოთერაპიული წამლები,რათა ჯანსაღი ქსოვილები არ დაზიანდეს . თუმცა,კვლევებმა აჩვენა,რომ ლიპოსომაში განთავსებული წამლის 10 %–ზე ნაკლები აღწევს დანიშნულების ადგილამდე.ხშირად ლიპოსომა იშლება მანამ,სანამ ის მიაღწევს კიბოს კერას,შედეგად წამალი ვრცელდება ორგანოებში, ღვიძლისა და ელენთას ჩათვლით,რაც ტოქსიკურ გვერდით მოვლენებს იწვევს.მიუხედავად ამისა,სიმსივნის ქიმიოტერაპიის ტრადიციული მეთოდით მკურნალობა ბევრად უფრო მწვავე შედეგებს იწვევს და მას ბრუტალურადაც მიიჩნევენ თანამედროვე მეცნიერები,ამიტომაც დღესდღეობით ინტენსიური კვლევა მიმდინარეობს ლიპოსომების მოდერნიზაციისთვის,რათა ისინი უფრო გამძლენი იყვნენ წამლის ტრანსპორტირებისთვის.

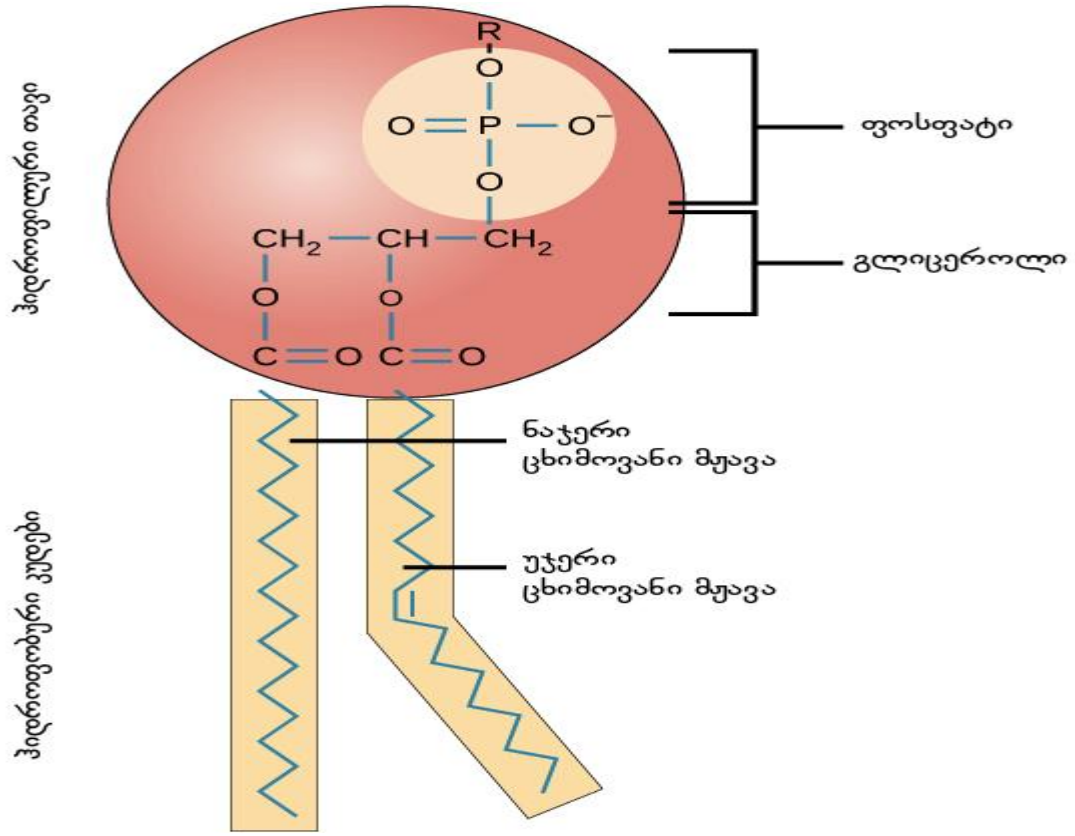
1. დაბალი ხსნადობა,ხანმოკლე სიცოცხლის ხანგრძლივობა(half-life)

2. ხანდახან ფოსფოლიპიდი ახდენს ჟანგვისა და ჰიდროლიზის მსგავს რეაქციას.

3. ხანდახან ლიპოსომაში ხდება ენკასულირებული პრეპარატის გაჟონვა .

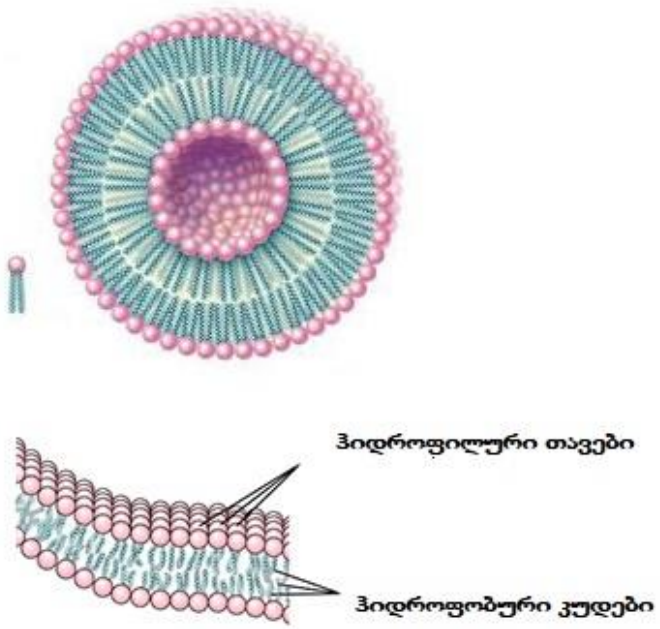
1.5 ლიპოსომის შემადგენლობა, სტრუქტურა და მასტაბილიზებელი ძალები

ლიპოსომა შედგება ფოსფოლიპიდების ორმაგი შრისგან.ფოსფოლიპიდი არის ამფიპათიკური ლიპიდი,რაც ნიშნავს იმას, რომ ასეთ ლიპიდს გააჩნია ჰიდროფილური (წყლისმოყვარული,პოლარული) თავი და ჰიდროფობური (წყლისმოძულე,არაპოლარული) კუდი.(იხ. სურათი 1.2)



სურათი 1.2

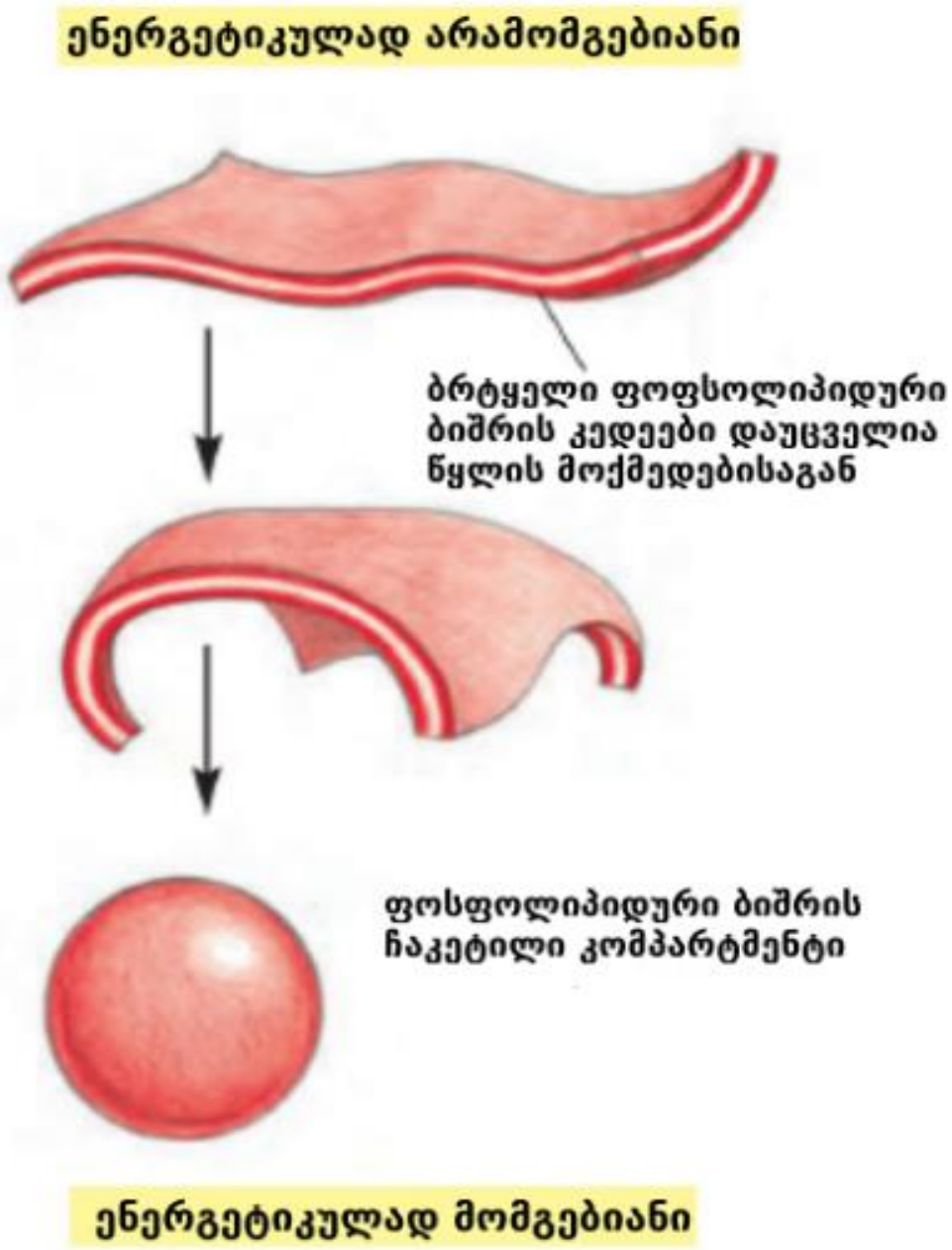
ფოსფოლიპიდი შეიცავს ფოსფატის ჯგუფის შემცველ ჰიდროფილურ თავს და ორ ჰიდროფობულ მჟავების გრძელ კარბოჰიდრატული ჯაჭვების კუდს, რომელიც კარბოქსილური ჯგუფებით ბოლოვდება.



სურათი 1.3

პლაზმურ მემბრანაში, ლიპიდები ძირითადად წარმოდგენილია ფოსფოლიპიდების სახით. მაგალითად: ფოსფატიდილეთანოლამინი და ფოსფატიდილქოლინი. რახან პლაზმური მემბრანა ესაზღვრება წყალს ორივე მხრიდან, მისი შემადგენელი ფოსფოლიპიდები იმგვარად ლაგდებიან და წარმოქმნიან ბიშრეს (იხ. სურათი 1.3) , რომ ფოსფოლიპიდების თავები ორივე მიმართულებით(გარეთ და შიგნით) წყლისკენაა მიმართული, ხოლო ჰიდროფობური კუდები – ერთმანეთისკენ მიმართული. ფოსფოლიპიდების წყალთან დამოკიდებულების ორი განსხვავებული უნარი – ამფიფილობა – არის ლიპიდური ბიშრის წარმოქმნის საფუძველი. ფოსფოლიპიდები წყალში დამატებისას სპონტანურად, დამოუკიდებლად წარმოქმნიან ვეზიკულებს. ლიპიდების მოლეკულები წყლიან ფაზაში წარმოქმნიან აგრეგაციებს თავისუფალი ენერგიის, δG შემცირებისათვის, მთელი ეს სისტემა ამისთვის ცდილობს გაზარდოს ჰიდროფილური ინტერაქცია და შეამციროს ჰიდროფობული ურთიერთქმედება.

(იხ. სურათი 1.4)


ენერგეტიკულად არამომგებიანი
ბრტყელი ფოფსოლიპიდური ბიშრის კედეები დაუცველია წყლის მოქმედებისაგან
ფოსფოლიპიდური ბიშრის ჩაკეტილი კომპარტმენტი
ენერგეტიკულად მომგებიანი

სურათი 1.4

ჯაჭვები ერთმანეთთან ურთიერთქმედებენ ლონდონ-ვან დერ ვაალსის რომელიც ამცირებს თავისუფალ ენერგიას, მიღებულს წყალისაგან არაპოლარული ფაზისკენ გადასვლით, ამავე დროს პოლარული თავების ჰიდრატაცია აგრეთვე ამცირებს ΔG,რადგან ისინი ურთიერქმედებენწყლის მოლეკულებთან და წარმოქმნიან წყალბადურ ბმებს.

ბიშრის წარმოქმნის ფიზიკური მექანიზმებია: ჰიდროფობული ეფექტი, ცხიმოვანი მჟავის კუდები ერთმანეთთან ურთიერთქმედება და ლიპიდების თავები ურთიერთქმედებენ წყლის მოლეკულებთან წყალბადური ბმების საშუალებით.
1) ჰიდროფობული ეფექტი იწვევს წყლის ფაზიდან ზეთის გამოყოფას. ვინაიდან წყლის მოწესრიგებულ სტრუქტურაში ლიპიდების ცხიმოვანი მჟავების ნახშირბადური ჯაჭვების ლოკალიზაცია ენერგეტიკულად არ არის მომგებიანი, ლიპიდების ჰიდროფობული კუდები განიდევნებიან წყლის მიერ, მაშინ როდესაც ლიპიდების ჰიდროფილური თავები იზიდავენ წყალს.

2)კუდებს შორის ვან დერ ვაალსური კავშირი ზოგადად,ლიპიდების სტაბილობა ლიპიდურ ბიშრეში სუსტი არაკოვალენტური ურთიერთქმედებებით განისაზღვრება.ლიპიდური კუდების კარბოჰიდრატული ჯგუფები ურთიერთქმედებენ ერთმანეთთან ვან დერ ვაალსის ძალით რაც განაპირობებს მათ შორის კავშირის სიმტკიცეს და შესაბამისად მემბრანის სტაბილურობას.

ლონდონის დიესპერსიული ძალები სუსტი მოლეკულათშორისი კავშირის მაგალითია. თუმცა, წყალბადური ბმებისგან განსხვავებით, ისინი ნებისმიერ ატომს ან მოლეკულას შორის შეიძლება, ჩამოყალიბდეს და მათი არსებობა ელექტრონთა განაწილების დროებით დისბალანსზეა დამოკიდებული.

როგორ ხდება ეს? ელექტრონები მუდმივად მოძრაობენ, ამიტომ ზოგ მომენტში ატომის ან მოლეკულის ელექტრონები ერთად იკრიბება, რაც მოლეკულის ერთ ნაწილში ნაწილობრივ უარყოფით მუხტს ქმნის (და ნაწილობრივ დადებითს —

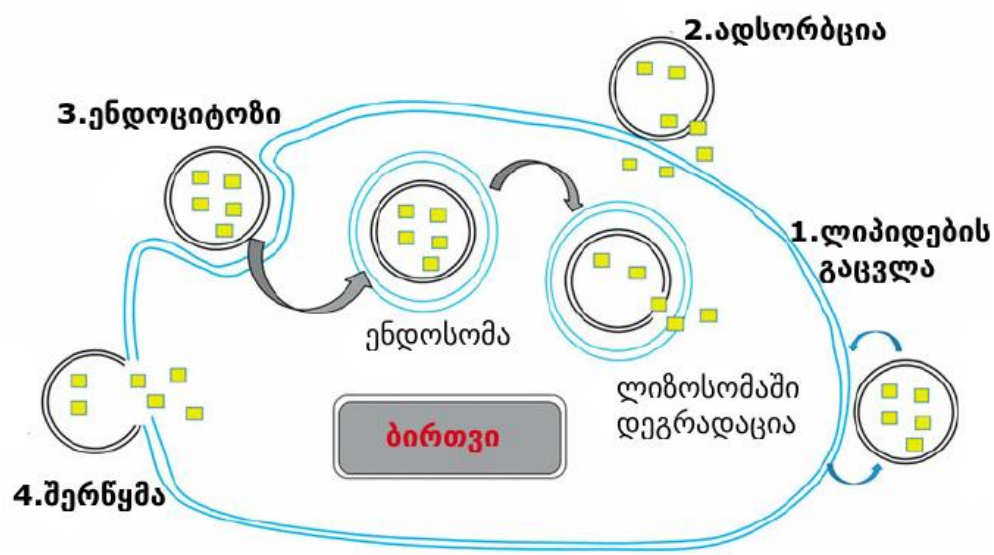
მეორე ნაწილში). თუ მუხტების ასეთი არათანაბარი განაწილების დროს მოლეკულა ძალიან ახლოს მოხვდა მეორე მოლეკულასთან, ამან შეიძლება, მასშიც გამოიწვიოს მუხტების გადანაწილება. შედეგად, ორივე მოლეკულას უჩნდება დროებითი დადებითი და უარყოფითი მუხტები და ისინი ერთმანეთს მიიზიდავს.

წყალბადური ბმები და ლონდონის დისპერსიული ძალები, ორივე ვან დერ ვაალსის ძალებს მიეკუთვნება,

3)თავებს შორის ელექტროსატიკური ძალები და თავსა და წყალს შორის- წყალბადური ბმები
ფოსფოლიპიდის ჰიდროფილური თავები ელექტროსტატიკური ძალების საშუალებით ურთიერთქმედებენ ერთმანეთთან და ისინი ასევე ამყარებენ კავშირებს წყალთან (რადგან ჰიდროფილურები არიან შეუძლიათ წყალთან ურთიერთქმედება)და წყალთან ურთიერთქმედებენ წყალბადური ბმების საშუალებით და წყალბადური ბმების რაოდენობის ზრდა მემბრანის ფორმირებას და სტაბილიზაციას უწყობს ხელს.

1.6 წამლის გადაცემის გზები ლიპოსომიდან ქსოვილზე

ლიპოსომების ურთიერთქმედებამ უჯრედულ მემბრანასთან შეიძლება მიიღოს ოთხი სხვადასხვა ფორმა .



სურათი 1.5

1. ლიპიდების ურთიერთგაცვლა მემბრანებს შორის.

2. მარტივი ადსორბცია. ამ დროს ნანოგადამტანის ლიპიდური ბიშრე შეიძლება დეგრადირდეს მექანიკური შეჯახებით ან ფერმენტების აქტივობით. შედეგად აქტიური წამლები გამოთავისუფლდებიან ექსტრაცელარულ სითხეში, საიდანაც ისინი დიფუზიით განჭოლავენ უჯრედის მემბრანას და გადავლენ ციტოპლაზმაში.

3. ლიპოსომა შეიძლება "შთანთქოს" უჯრედმა. (ამ პროცესს ეწოდება ფაგოციტოზი / ენდოციტოზი) და ლიპოსომასთან ერთად უჯრედის შიგნით აღმოჩნდება ის ნივთიერებები, რომელიც მან მიიტანა.

4. ასევე ლიპოსომა შეიძლება შეერწყას უჯრედის მემბრანას და გახდეს მისი ნაწილი, ხოლო მის მიერ მიტანილი ნივთიერებები "ჩაიღვაროს" უჯრედის ციტოპლაზმაში. შერწყმის პროცესი შეიძლება გაძლიერებულ იქნას ფუზოგენური ლიპიდების დამატებით ლიპოსომის მემბრანაში.

ზემოთ ჩამოთვლილი ოთხივე სახის ინტერაქცია დამოკიდებულია ლიპიდურ შემადგენლობაზე, უჯრედების ტიპზე, წარმოდგენილ რეცეპტორეპზე, სამიზნე ვექტორებზე და ა.შ.

1.7 თავისუფალი რადიკალები და ანტიოქსიდანტები

ატომის ყველაზე მთავარი სტრუქტურული განსაკუთრებულობა, რაც განაპირობებს მის ქიმიური ქცევას არის ელექტრონების რიცხვი მის გარე შრეზე. ყოველი ელემენტი მიისწრაფვის ენერგეტიკულად მომგებიანი და მდგრადი რვაელექტრონიანი ელექტრონული შრის ფორმირებისაკენ. ატომებს, რომელთაც აქვთ სავსე გარე ელექტრონული შრე, აქვთ ტენდენცია არ შევიდნენ ქიმიურ რეაქციებში და მათ ინერტული ელემენტები ეწოდებათ, მაგალითად ნეონი (Ne), არგონი (Ar), კრიპტონი (Kr), ქსენონი (Xe). ვინაიდან ატომები მიისწრაფვიან მაქსიმალური სტაბილურობისაკენ, ისინი ცდილობენ შეივსონ თავიანთი გარე შრე:

ელექტრონების გაცემით ან მიერთებით დაამყარონ იონური ბმა (ანიონსა და კათიონს შორის აღიძვრება ელექტროსტატიკური მიზიდვის ძალები, რომელიც ამ იონების შეკავშირებას, ანუ ქიმიური ბმის წარმოქმნას განაპირობებს)

ერთმანეთში საზიარო ელექტრონული წყვილის წარმოქმნით დაამყარონ ბმა, რომ შეივსონ გარე შრე.

ატომებს შორის საზიარო ელექტრონული წყვილების საშუალებით მყარდება კოვალენტური ბმა.

როცა გარედან ენერგიის ზემოქმედებით წყდება ეს ბმა, ისე რომ მოლეკულას ან მის ნაწილს უჩნდება გაუწყვილებელი ელექტრონი, წარმოიქმნება ქიმიურად ძლიერ რეაქტიული თავისუფალი რადიკალები. ამ თვისებასთან ერთად მათ აქვთ პარამაგნეტიზმის და ჯაჭვური რეაქციის განხორციელების უნარი. თავისუფალი რადიკალები "თავს ესხმიან" უახლოეს სტაბილურ მოლეკულას, რათა "წაგლიჯონ" ელექტრონი. როცა "მსხვერპლი" მოლეკულა კარგავს ელექტრონს, ის თავად გადაიქცევა რადიკალად და ა.შ. მიმდინარეობს ჯაჭვური რეაქცია. ამ რეაქციის კასკადს საბოლოოდ შეუძლია გაანადგუროს ცოცხალი უჯრედი მისი ძირითადი ფუნქციური მაკრომოლეკულების; ლიპიდების, ცილების, დნმ-ის დესტრუქციის გზით.

ზოგი თავისუფალი რადიკალის წარმოქმნა მეტაბოლიზმის ბუნებრივი პროცესია (მიტოქონდრიაში ენერგეტიკული მოლეკულის, ATP სინთეზი). ზოგჯერ სხეულის იმუნური სისტემის უჯრედები (სისხლის თეთრი უჯრედები) მიზნობრივად ქმნიან ჟანგბადის აქტიურ ფორმებს (ROS) ორგანიზმში შემოჭრილი ვირუსებისა და ბაქტერიების გასანეიტრალებლად. მაგრამ სხვადასხვა ფაქტორებით ან გარემოს გავლენით, როგორიცაა დაბინძურება, დასხივება, სიგარეტის კვამლი, პესტიციდები, შეიძლება აგრეთვე წარმოიქმნან თავისუფალი რადიკალები.

ჟანგბადის აქტიური ფორმები უჯრედში წარმოიქმნება სუნთქვითი ჯაჭვის მიმდინარეობისას 4 ელექტრონის თანმიმდერვული მიერთებით 1 მოლეკულა ჟანგბადთან. პროცესის საბოლოო პროდუქტია წყალი, მაგრამ შეიძლება მოხდეს ელექტრონის გაჟონვა სატრანსპორტო ჯგუფიდან. მაგალითად Fe+2-ის დაჟანგვისას Fe+3-მდე, ელექტრონი შეიძლება მიუერთდეს ჟანგბადს. ამის შედეგად წარმოიქმნება სუპეროქსიდრადიკალი .O2– , რომელსაც შეუძლია ჩაერთოს შემდგომი გარდაქმნების ჯაჭვში O–2 + H2O → O2 + OH– და წარმოქნას სხვა რადიკალები, როგორიცაა მაღალტოქსიკური ჰიდროქსილის რადიკალი OH– .

გარემო ფაქტორის მაგალითად შეგვიძლია მოვიყვანოთ ულტრაიისფერი რადიაციით გამოწვეული რეაქციათა ჯაჭვი:

1) ვინაიდან უჯრედის 70 % წყლისაგან შედგება, შეიძლება მოხდეს წყლის რადიოლიზი და წყლის მოლეკულამ დაკარგოს ელექტრონი, აგრეთვე წარმოიქმნება იონიზირებული მოლეკულა $H_2O + h\nu \rightarrow H_2O^+ + e^-$

2) ამოტყორცნილი ელექტრონი ძალიან სწრაფად ურთიერთმქედებს გარემომცველ წყლის მოლეკულებთან, წარმოიქმნება ძლიერ აღგზნებული მოლეკულა $H_2O + e^- \rightarrow H_2O^-$

3) რომელიც თავის მხრივ განიცდის დისოციაციას და წარმოქმნის უაღრესად აქტიურ ჰიდროქსილის რადიკალსა და ატომური წყალბადის რადიკალს $H_2O^+ \rightarrow H^+ + OH\cdot$

4) ჟანგბადის თანაობისას წარმოიქმნებია რადიოლიზის სხვა პროდუქტებიც, რომელთაც გააჩნიათ დამჟანგავი თვისებები, მაგალითად წყალბადის ზეჟანგი $H_2O^- \rightarrow OH^- + H\cdot$; $2\ OH\cdot \rightarrow H_2O_2$

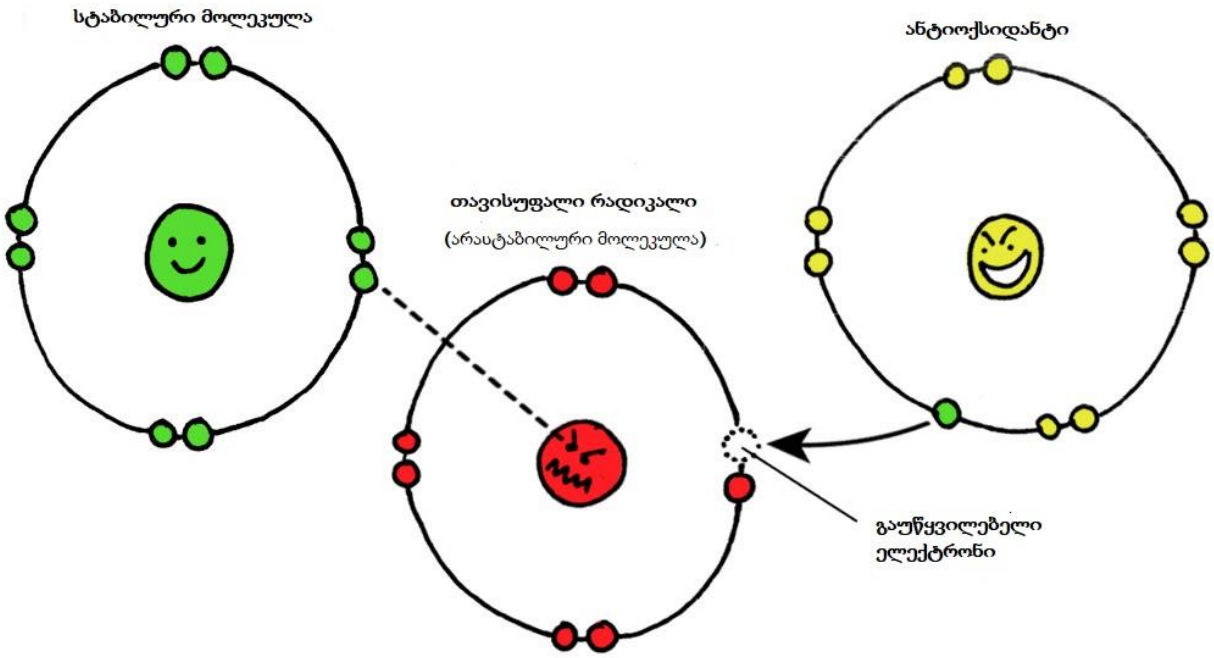
5) წყალბადის ზეჟანგმა შეიძლება იმოქმედოს რკინის ატომთან $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH\cdot + OH^-$ (ფენტონის რეაქცია) და გამოიწვიოს ჰიდროქსილის რადიკალით დნმ-ის მუტაცია.

უჯრედში ანალოგიურ სიტუაციაში პროცესი მიმდინარეობს გაცილებით რთულად, ვიდრე წყლის დასხივების დროს, რადგან მშთანთქმელ ნივთიერებას, წყლის გარდა, აქ წარმოადგენენ დიდი ბიოორგანული ნივთიერებები, რომლებიც ზიანდებიან ან რადიაციის უშუალო ზემოქმედების შედეგად, ან წყლის რადიოლიზის აქტიური პროდუქტების ზემოქმედებით. ამ დროს წარმოქმნილ ორგანულ რადიკალებს, ასევე გააჩნიათ შეუწყვილებელი ელექტრონები და,

შესაბამისად, ძალიან რეაქტიულები არიან. გააჩნიათ რა დიდი ენერგია, მათ შეუძლიათ ადვილად გაწყვიტონ სიცოცხლისათვის მნიშვნელოვანი ქიმიური კავშირები, დააზიანონ ბიომაკრომოლეკულები და გამოიწვიონ მრავალი დაავადებები, მაგალითად კუნთების დისტროფია (დიუშენის დაავადება), პარკინსონი, ათეროსკლეროზი, სიმსივნე და ა.შ. არსებობს სიბერის ახსნის თავისუფალ-რადიკალური თეორიაც (The free radical theory of aging).ადამიანს ბუნებრივად გააჩნია ამ ჯაჭვური რეაქციების ტერმინაციის (დასრულების) მთელი სისტემა. ზოგადად მოლეკულებს, რომელთაც შეუძლიათ თავისუფალი რადიკალების ინჰიბირება (გაუვნებელყოფა) ან სხვადასხვა პროდუქტის დაცვა ჟანგვისაგან, ანტიოქსიდანტები ეწოდებათ. ანტიქოსიდანტი არის საკმარისად სტაბილური მოლეკულა, რომ გასცეს ელექტრონი და გაანეიტრალოს რადიკალი, ისე, რომ თვითონ არ გადაიქცეს რადიკალად. ზოგი ანტიოქსიდანტი, გლუტათიონის ჩათვლით სინთეზირდება სხეულში მეტაბოლიზმის შედეგად, ზოგს კი შეიცავს საკვები პროდუქტი ვიტამინების სახით.

ჟანგბადის აქტიური ფორმებისაგან უჯრედებს იცავს:

ა) ანტიოქსიდანტური ფერმენტები (ცილები), რომელთაც განეკუთვნება სუპეროქსიდ დისმუტაზა, კატალაზა და გლუტათიონპეროქსიდაზა. სუპეროქსიდ დისმუტაზა (სოდ) გვხვდება ციტოზოლსა (უჯრედის შიგნით) და მიტოქონდრიებში და წარმოადგენს უჯრედის დაცვის I ხაზს, ვინაიდან სუნთქვის ჯაჭვიდან ელექტრონების გაჟონვის შემთხვევაში, თავდაპირველად წარმოიქმნება სწორედ სუპეროქსიდური რადიკალები, რომელთაც სოდ გარდაქმნის წყალბადის ზეჟანგად. წყალბადის ზეჟანგს კი თავის მხრივ შლის ფერმენტი კატალაზა წყლისა და ჟანგბადის მოლეკულებად. გლუტათიონ პეროქსიდაზა ახორციელებს როგორც წყალბადის ზეჟანგის ინაქტივაციას, ასევე ლიპიდების ჰიდროზეჟანგებს.



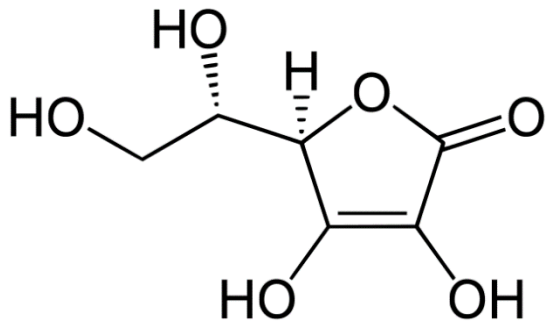
სურათი 1.6

ბ) ვიტამინი E და ვიტამინი

C. ვიტამინი E ძლიერი ანტიოქსიდანტია და შეუძლია თავისუფალი რადიკალების ინაქტივირება უშუალოდ უჯრედის მემბრანის ჰიდროფობურ შრეში და ამ გზით ზეჟანგური ჟანგვის აცილება. ვიტამინ C (ასკორბინის მჟავა) ანტიოქსიდაციის პროცესში მონაწილეობს ორი განსხვავებული მექანიზმით: 1) ვიტამინი C აღადგენს ვიტამინ E-ს დაჟანგულ ფორმას და ამ გზით ის მას კვლავ აქტიურს ხდის რადიკალების მიმართ. 2) ვიტამინი C როგორც წყალში ხსნადი ვიტამინი ურთიერთქმედებს ჟანგბადის აქტიურ ფორმებთან – .O2– , H2O2 და OH· – და იწვევს მათ ინაქტივირებას.

1.8 ვიტამინი C

ვიტამინ C ან ასკორბინის მჟავა. **ქიმიური ფორმულა:** C6H8O6. **მოლეკულური მასა:** 176.12 გრ/მოლი



სურათი 1.7 ვიტამინ C-ს სტრუქტურა

ვიტამინი C, ცნობილია ასევე როგორც L-ასკორბინის მჟავა, არის წყალში ხსნადი ვიტამინი. ადამიანს, ძუძუმწოვართა უმრავლესობისგან განსხვავებით, არ აქვს უნარი დაასინთეზოს ასკორბინის მჟავა, ამიტომ ვიტამინ C უნდა მიღოს საკვებიდან. საკვების კულინარიული დამუშავებით ვიტამინის გარკვეული ნაწილი იშლება. მისი წყაროა ცოცხალი ხილი და ბოსტნეული.

ვიტამინ C საჭიროა კოლაგენის ბიოსინთეზისთვის და ნეიროტრანსმიტერებისთვის; ვიტამინ C აგრეთვე ჩართულია ცილების მეტაბოლიზმში. კოლაგენი არის მთავარი კომპონენტი შემაერთებელი ქსოვილის, რომელიც თამაშობს არსებით როლს ჭრილობის შეხორცებაში. ვიტამინ C ასევე არის ფიზიოლოგიური ანტიოქსიდანტი და აგრეთვე შეუძლია სხვა ანტიოქსიდანტის რეგენერაცია, ალფა-ტოკოფეროლის (ვიტამინი E) ჩათვლით. მიმდინარეობს კვლევები ვიტამინ C ანტიოქსიდანტურ შესაძლებლობაზე შეზღუდოს თავისუფალი რადიკალებით გამოწვეული დაზიანებები, და ამით პრევენცია მოახდინოს ან შეაჩეროს სიმსივნური კერები, გულ-სისხლძარვთა და სხვა დაავდებები, რომლებიც გამოწვეულია ოქსიდანტური (ჟანგვითი) სტრესით.

ბიოსინთეზისა და ანტიოქსიდანტურ ფუნქციათა გარდა, ვიტამინ C მნიშვნელოვან როლს ასრულებს იმუნურ სისტემაში და აგრეთვე ხელს უწყობს მცენარეული საკვებიდან მიღებული არაჰემური რკინის აბსორბციას (ნაწლავებში ასკორბინის მჟავა აღადგენს Fe+2 -ს Fe+3– მდე, რაც აადვილებს მის შეწოვას ორგანიზმის მიერ). ვიტამინ C ნაკლებობა იწვევს სურავანდს, რომელიც გამოიხატება სისუსტეში, დაღლილობაში, შემაერთებელი ქსოვილის რღვევასა და კაპილარების სიმყიფეში.

1.8.1 ლიპოსომური C ვიტამინის უპირატესობები

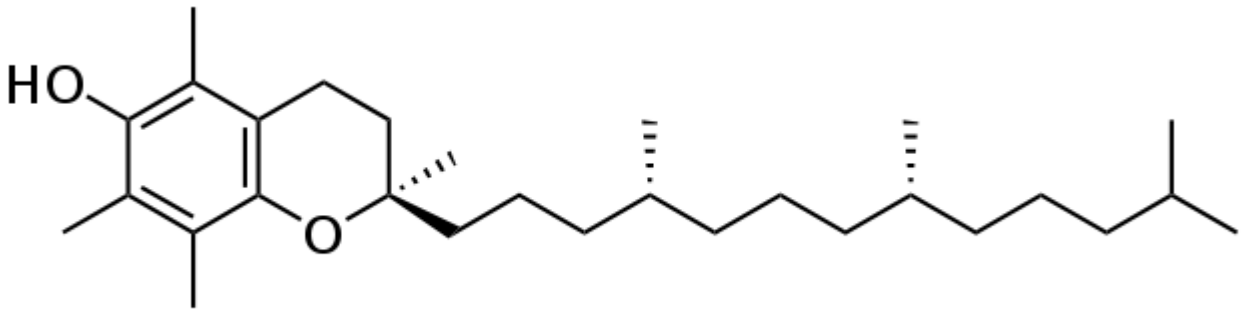
ჩვენს სხეულს მხოლოდ იმდენი C ვიტამინის შეწოვა შეუძლია,რამდენსაც საკვების გადამტანი წაიღებს მომნელებელი სისტემიდან სისხლძარღვებამდე და შემდეგ სისხლძარღვებიდან ქსოვილამდე.ორგანიზმის მიერ შთანთქმული არალიპოსომური c ვიტამინის პროცენტული მაჩვენებელი საგრძნობლად მცირდება მისი დოზის ზრდასთან ერთად.მაგალითად: 20 მგ–იდან,19 მგ(ანუ 98%) შეიწოვება,ხოლო 12 000 მგ–იდან კი – მხოლოდ 1 920მგ (რაც 16 %–ია მხოლოდ).ჭარბი რაოდენობით C-ს მიღება კი კუჭის დისტერსს იწვევს.

C ვიტამინი არის წყალში ხსნადი,ამიტომაც მისი ჭარბი რაოდენობის მიღებისას ორგანიზმი მას მოინელებს და არ შეინახავს ჭარბ დოზას.ამიტომაც ამდენი ვიტამინის შემცველი აბები,ფხვნილები და საკვებიც კი უშედეგოდ ტოვებს ორგანიზმს.ლიპოსომაში განთავსებული C ვიტამინი სრულიად დაცულია მომნელებელი სისტემისაგან.იგი ტრანსპორტირდება სისხლძარღვებამდე,რათა ქსოვილებმა შეიწოვონ იგი.ასე, რომ მაღალდოზირებული ვიტამინისგან ვიღებთ სასურველ შედეგს ისე ,რომ თავიდან ვიცილებთ კუჭის დისტრესს.

1.9 ვიტამინი E

ქიმიური ფორმულა: C29H50O2

მოლეკულური მასა: 430.71 გრ/მოლი



სურათი 1.7 ვიტამინ E-ს სტრუქტურა

არის საერთო სახელწოდება ცხიმში ხსნადი ანტიოქსიდანტური თვისების მქონე ნოვთიერებებისა. ბუნებრივად ვიტამინ E-ს რვა ქიმიური იზოფორმა არსებობს (ალფა-, ბეტა-, გამა-, დელტა-ტოკოფეროლი და ტოკოტრიენოლის ფორმები), რომელთაც სხვადასხვა ბიოლოგიური აქტივობა გააჩნია, მათგან ალფა – (ან α-) ტოკოფეროლი არის აუცილებლად საჭირო ადამიანისთვის.

უჯრედის გარემოსგან გამომყოფი "კედლის", მემბრანის ინტეგრალური ნაწილია ცხიმები, რომლებიც შეიძლება დაზიანდნენ თავისუფალი რადიკალების (რეაქტიული ჟანგბადის ფორმების (ROS) მიერ გამოწვეული

ლიპიდური ზეჟანგვითი რეაქციებით. α-ტოკოფეროლი ზედგამოჭრილია პეროქსილის რადიკალების შესაჩერებლად. ვიტამინ E მოქმედების მექანიზმი დამყარებულია მის თვისებაზე, გადასცეს H-ს ატომი (წყალბადი) ლიპიდების პეროქსიდებს (ROOH') და აღადგინოს ისინი ჰიდროპეროქსიდებამდე (ROOH) და ამით აღკვეთოს ლიპიდების დაჟანგვის ჯაჭვური რეაქცია. როცა რადიკალის მოქმედებით α-ტოკოფეროლი ნეიტრალიზდება, ანუ იჟანგება და მისი ანტიოქსიდანტური თვისება ეცემა, სხვა ანტიოქსიდანტს, ვიტამინ C შეუძლია მისი რეგენერირება. მეცნიერები იკვლევენ ვიტამინ E შესაძლებლობებს თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნის შეზღუდვისა და სხვა მექანიზმებს, რათა შესაძლებელი გახდეს თავისუფალ რადიკალებთან დკავშირებული ქრონიკული დაავადებების პრევენცია და შეჩერება.

1.9.1 E ვიტამინის მოქმედება კანზე

როდესაც ჩვენს კანზე მოქმედებს ულტრაიისფერი სხივები(დიდი ოდენობით),კვამლი,გამონაბოლქვი,დაბინძურებული ჰაერი და ასე შემდეგ,წარმოიქმნება თავისუფალი რადიკალები,რომლებიც აზიანებს კოლაგენს,დნმ–ს და კანის ქსოვილებს,რაც ცხადია იწვევს ნაოჭებისა და შავი წერტილების გაჩენას.

1.ვიტამინი E იბრძვის თავისუფალი რადიკალების გასანეიტრალებლად.იგი იცავს კანს დაბერებისგან უნარჩუნებს მას ჰიდრატაციას, სიმშვიდეს და ერთგვაროვნებას. თავისუფალი რადიკალები ართულებენ დაზიანებული კანის (შრამებისა და ნაწიბურების) მოცილებას.

2.ვიტამინი E ამცირებს შრამის ზომას ან მთლიანად აქრობს ნაწიბურს. იგი ასრულებს მთავარ როლს კრემებსა და ლოსიონებში როგორც ანტიოქსიდანტი.ის არბილებს კანს და უფრო გლუვს ხდის მას.

3.კვლევებმა აჩვენა,რომ ის უებარი საშუალებაა ატიპიური დერმატიტის დროს,რაც იწვევს კანის სიწითლეს,ქავილს და მის გაღიზიანებას. უნდა აღინიშნოს,რომ ვიტამინის მიღება სასურველია C ვიტამინთან ერთად,ვინაიდან ეს ორი ვიტამინი ერთად გუნდურად იცავს და აჯანსაღებს კანს,რადგან,როდესაც ვიტამინი E ასრულებს თავის როლს და აუვნებლებს თავისუფალ რადიკალს,ამ დროს დგება C ვიტამინის ჯერი.ის აქტივაციას უწევს E ვიტამინს და უზრუნველყოფს მის მრავალჯერად მოქმედებას.

თავი II. კვლევის მეთოდები

2.1 ცენტრიფუგირების მეთოდი

ცენტრიფუგირება ემყარება სედიმენტაციის პრინციპს. სედიმენტაცია არის ნაწილაკთა დალექვა ბლანტ ხსნარში გრავიტაციული ძალის გავლენით, ცენტრიდანულ ველში. სხვადასხვა ნაწილაკს სხვადასხვა სედიმენტაციის სიჩქარე ახასიათებს.

სედიმენტაციის სიჩქარე დამოკიდებულია ცენტრიდანულ აჩქარებაზე, ნაწილაკის რადიუსზე, ნაწილაკის სიმკვრივეზე და სასუსპენზიო არის სიბლანტეზე. რაც უფრო მეტია ნაწილაკის (ან მოლეკულის) მასა, მით მეტია სედიმენტაციის სიჩქარე. რაც უფრო მაღალია ხსნარის სიმკვრივე, მით უფრო მცირეა ნაწილაკის მოძრაობის სიჩქარე ე.ი., მით უფრო მცირეა სედიმენტაციის სიჩქარე. ცენტრიფუგაში მოქმედი გრავიტაცია (ცენტრიდანული აჩქარება) გამოითვლება ფორმულით:

$G= \omega\ ^2r / g = 4\ \pi\ ^2n^2r/ 3600/ g$

სადაც:

G - "relative centrifugal force" (RCF) – პარამეტრია,რომელიც გვიჩვენებს თუ რამდენჯერ იზრდება ნიმუშის (NP) წონა, ω არის ბრუნვის კუთხური სიჩქარე (რად/წმ), n (rpm-revolutions per minute) არის ბრუნვის სიჩქარე (ბრ/წთ), r – როტორის რადიუსი (მეტრებში), g - დედამიწის ზედაპირის გრავიტაციული მუდმივა 9,8 მ/წმ².

როგორც უკვე ავღნიშნეთ, სედიმენტაციის სიჩქარე დამოკიდებულია ცენტრიდანულ აჩქარებაზე. ჩვეულებრივ, ცენტრიდანული აჩრაქება გამოისახება g ერთეულებში როგორც ტოლობიდან ჩანს, ცენტრიდანული აჩქარება დამოკიდებულია r – რადიუსის (ბრუნვის ცენტრამდე მანძილი ან როტორის რადიუსი) სიდიდეზე. რადგან ცენტრიფუგის ტიპისაგან დამოკიდებულების მიხედვით იცვლება r ე.ი., როტორის რადიუსი, შესაბამისად იცვლება დამოკიდებულება G და n სიდიდეებს შორის. ამიტომ მეთოდებში ყოველთვის მითითებულია G და შემდეგ ექსპერიმენტატორს, ცენტრიფუგის ტიპისგან დამოკიდებულებით, თვითონ გადაჰყავს G ბრუნვათა რიცხვში . რადგან ცენტრიდანულ ველში სხვადასხვა ზომის, ფორმისა და სიმკვრივის ნაწილეკების სედიმენტაციის სიჩქარე სხვადასხვაა და შესაბამისად სხვადასხვაა ნაწილაკების დასალექად საჭირო დრო, ამიტომ ცენტრიფუგირების მეთოდის საშუალებით შესაძლებელია ქსოვილთა ჰომოგენატიდან უჯრედული ორგანელების თანმიმდევრობით გამოყოფა: პირველ რიგში გამოიყოფათვით უჯრედები და მისი ფრაგმენტები, შემდეგ ბირთვები, ქლოროპლასტები, მიტოქონდრიები, მიკროსომები და ბოლოს რიბოსომები. ჭარბი გრავიტაცია აზიანებს უჯრედებს და

შეიძლება გამოიწვიოს მათი დაშლა.

სურათი 2.1 – ცენტრიფუგა

ცენტრიფუგა არის დანადგარი, რომელიც ორი ძირითადი ნაწილისგან – მოტორისა და როტორისაგან შედგება. როტორი წამოეცმევა მოტორის ღერძზე და ამ ღერძის მეშვეობით იწყებს ბრუნვას. ჰომოგენატი თავსდება ცენტრიფუგის სინჯარებში, რომელიც, თავის მხრივ, თავსდება როტორში და ბრუნავს როტორთან ერთად. ცენტრიდანულ გარემოში სხვადასხვა სიდიდის, ზომისა და სიმკვრივის ნაწილაკები სხვადასხვა სიჩქარით ილექებიან. უნდა გვახსოვდეს, რომ სანამ სინჯარებს როტორში მოვათავსებდეთ, ისინი წყვილ-წყვილად უნდა გავაწონასწოროთ სასწორის გამოყენებით და ერთნაირი წონის წყვილი სინჯარა უნდა მოვათავსოთ როტორის ღრმულებში ერთმანეთის საპირისპიროდ.

2.2 სპექტოფოტომეტრიული მეთოდი

თუ განვიხილავთ სინათლის მოძრაობას ხსნარში, რომელშიც გახსნილია ბიომაკრომოლეკულები და თუ დაუშვებთ,რომ სინათლე ეჯახება (ურთიერთ-ქმედებს) ხსნარში არსებულ მოლეკულებს, მაშინ ურთიერთქმედების შედეგად შეიძლება მიღებული იყოს შემდეგი: სინათლე შეიცვლის მოძრაობის მიმართულებას, ანუ გაიბნევა ან ბიომოლეკულა შთანთქავს მასზე დაცემულ სინათლეს, ანუ სინათლის ენერგია მთლიანად გადაეცემა მოლეკულას და სინათლე აღარ „გამოვა“ მოლეკულიდან. ამ დროს სინათლის სხივი „გაჩერდება“ და ფოტონი გაქრება (ხსნარის გარეთ სინათლე არ გამოვა), ხოლო მისი ენერგია დარჩება ბიომოლეკულაში.მოლეკულამ, რომელმაც შთანთქა სინათლე მისი შინაგანი ენერგია გაიზრდება, თანაც ზუსტად იმ რაოდენობით რა ენერგიაც ქონდა სინათლეს. როგორც აღინიშნა მოლეკულას შეუძლია შთანთქოს ან არ შთანთქოს მასზე დაცემული გარკვეული ტალღის სიგრძის სინათლე. მოლეკულას ან მოლეკულის ნაწილს, რომელსაც გააჩნია უნარი ხილული ან ახლო ულტრაიისფერი სინათლე შთანთქოს და გადავიდეს ენერგეტიკულად მაღალ, აღგზნებულ მდგომარეობაში, ქრომოფორული მოლეკულა, ან უბრალოდ ქრომოფორს (სინათლისადმი მგრძნობიარე მოლეკულას) უწოდებენ. გასაგებია, რომ სინათლის შთანქმისას მოლეკულის ენერგია გაზრდილი იქნება სტაციონარულ, ან ძირითად ენერგეტიკულ დონესთან შედარებით. ეს მდგომარეობა მოლეკულისთვის არის არა სტაბილური, მოლეკულა დიდხანს ვერ შეინარჩუნებს ამ მდგომარეობას და იგი საბოლოოდ დაუბრუნდება საწყის, ძირითად ენერგეტიკულ მდგომარეობას.

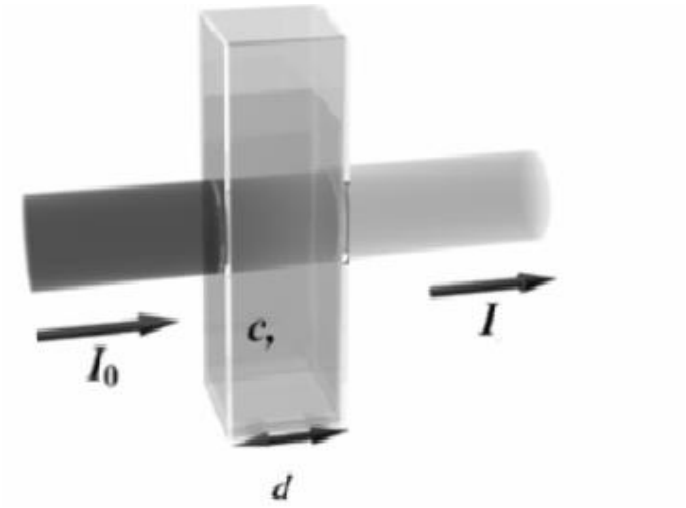
2.2.1 ლამბერტ-ბერის კანონი და მოლეკულის სპექტრი

სხვადასხვა ტიპის და შემადგენლობის მოლეკულები შთანთავენ სხვადასხვა ტალღის სიგრძის სინათლეს, რომელიც განპირობებული იქნება მოლეკულის ენერგეტიკული დონეების სხვადასხვაობით, რომელიც განსხვავებულ

მოლეკულებს სხვადასხვა აქვთ. აქედან გამომდინარეობს, განსხვავებული მოლეკულები განსხვავდებიან არა მარტო ქიმიური შემადგენლობით, არამედ მათი ენერგეტიკული დონეებითაც – ყველა მოლეკულას აქვს თავისი დამახასიათებელი ენერგეტიკული დონეები. მოლეკულის მიერ სინათლის ენერგიის შთანთქმა მოხდება მხოლოდ იმ შემთხვევაში თუ დაცემული სინათლის ტალღის სიგრძე ისეთია, რომლის შესაბამისი ენერგიის მნიშვნელობა λ=hc/(E2- E1) დაემთხვევა მოლეკულის ელექტრონული დონეებს შორის სხვაობას – ელექტრონული, რხევითი და ბრუნვითი დონეების ჩათვლით.

მოლეკულის გადასვლა ელექტრონულ ენერგეტიკულ დონეებს შორის გულისხმობს იმას, რომ ხდება ელექტრონების გადანაცვლება ერთი ორბიტიდან მეორე ორბიტაზე. აბსორბციული სპექტროსკოპიის ამოცანას წარმოადგენს საკვლევი მოლეკულების სპექტრის გადაღება და მისი ანალიზი.მოლეკულის სპექტრში მაქსიმალური შთანთქმის წერტილს შეესაბამება სინათლის ტალღის სიგრძე, რომლის ენერგია შთაინთქა მოლეკულების ყველაზე დიდმა რაოდენობამ, თანაც ყველაზე დიდი ალბათობით.

მოლეკულის სპექტროსკოპულად დახასიეთებისას, როგორც წესი იყენებენ ორ პარამეტრს სინათლის ტალღის სიგრძეებს, სადაც დაიმზირება შთანთქმის მაქსიმუმები (λmax) და მოლეკულის მიერ სინათლის კუთრ შთანთქმის მნიშვნელობებს. მოლეკულის მიერ სინათლის ენერგიის შთანთქმის ეფექტურობა არის დამოკიდებული მოლეკულების ქიმიურ შემადგენლობაზე, სტრუქტურაზე და მოლეკულის გარემო არსებულ გარემოს თვისებებზე. მოლეკულის მიერ სინათლის შთანთქმის რაოდენობრივი აღწერისათვის არსებობს კანონი, რომელიც ცნობილია ლამბერტ-ბერის კანონის სახელით. მოცემულია სპექტროსკოპული d სიგანის კიუვეტა,(იხ სურათი 2.2)



სურათი 2.2

სადაც მოთავსებულია საკვლევი c კონცენტრაციის ხსნარი, რომელსაც ეცემა I0 ინტენსივობის სინათლე, ხსნარი შთანთქავს სინათლეს და კიუვეტიდან გამოსული სინათლის ინტენსივობა ემორჩილება შემდეგ კანონს: I = I0·10-εdc,

სადაც ε – შთანთქმის კოეფიციენტია, რომელსაც სხვანაირად შთანთქმის ექსტინციის კოეფიციენტს ეძახიან. იმისდა მიხედვით თუ როგორ ერთეულებში განისაზღვრება ხსნარის კონცენტრაცია, შესაბამისად შთანთქმის კოეფიცინტსაც კონცენტრაციის ერთეულის სახელით მოიხსენიებენ. d სიგანის და c კონცენტრაციის ხსნარში გამავალი სინათლის სხივის ინტენსივობების ცვლილება ,მაგალითად, ხსნარის შთანთქმის მოლარული ექსტინციის კოეფიციენტის მნიშვნელობა ნიშნავს თუ როგორია ერთი მოლარული კონცენტრაციის ხსნარის შთანთქმა ერთსანტიმეტრიანი სისქის კიუვეტაში. ისევე როგორც არსებობს ექსტინციის კოეფიციენტი – პროცენტული, მოლალული და სხვა, რომელთა შინაარსიც მსგავსია მოლარული ექსტინციის კოეფიცინტისა. თუ მოლეკულას გააჩნია შთანთქმის მაქსიმუმის რამდენიმე უბანი, შესაბამის ტალღის სიგრძეზე, მაშინ შესაძლებელია თითეული ტალღის სიგრძისთვის მიეთითოს ექსტინციის კოეფიციენტის მნიშვნელობები. როგორ დგინდება მოლეკულისათვის ექსტინციის კოეფიცინტი? ამისათვის საჭიროა მოცემული მოლეკულის

ოპტიკური შთანთქმა (d = 1 სანტიმეტრის სიგრძის კიუვეტაში), რომელიც ნორმირებული იქნება ხსნარის კონცენტრაციაზე (გაყოფილი c-ზე) და მიღებული რიცხვი იქნება მოცემულ ტალღის სიგრძეზე მოლეკულის ექსტინციის კოეფიციენტის მნიშვნელობა. თუ $I = I0 \cdot 10^{-\varepsilon dc}$, ფორმულას ჩავწერთ შემდეგნაირად $I0/I=10^{\varepsilon dc}$ და გავალოგარითმებთ ტოლობას, მივიღებთ ფორმულას: $Lg(I0/I)=\varepsilon dc$,

ტოლობის მარცხენა მხარეს, lg(I0/I), უწოდებენ ხსნარის მიერ სინათლის შთანთქმის სიდიდეს და აღნიშნავენ OD-თი რასაც განსაზღვრავს სპექტროფოტომეტრი. გასაგებია, რომ OD პარამეტრით შესაძლებელია დახასიათდეს საკვლევი ობიექტის შთანთქმის უნარიანობა. შთანთქმის კოეფიციენტის აბრევიატურა გამომდინარეობს ინგლისური სიტყვისაგან - optical density, ანუ ოპტიკური სიმკვრივე OD=lg(I0/I) (რაც განისაზღვრება სპექტროფოტომეტრზე). ზოგჯერ OD –ს ნაცვლად იხმარება უბრალოდ D-საც (density). გარდა ოპტიკური შთანთქმისა, ხშირად ხსნარის ოპტიკური თვისებების დამახასიათებელ სიდიდეთ გამოიყენებენ ოპტიკურ გამჭვირვალობის პროცენტს T-საც, რომელიც განისაზღვრება ფორმულით: $T=I/I0 \cdot 100\%$,

თავი III. ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 ექსპერიმენტის მიზანი

ჩვენი კვლების მიზანი იყო ჰიდროფობული E ვიტმინის ლიპოსოსომაში განთავსება .ასევე თეორიულად მიღებული E ვიტამინის უმცირესი დოზის გადამოწმება ლიპოსომაში.თეორიის მიხედვით,ჩვენს მიერ გამოყენებულ ლიპოსომაში(დიამეტრი =220 ნმ) არის 373 376 ფოსფოლიპიდი. აქედან ზედა შრეზე თავსდება1,07 ჯერ მეტი ვიდრე ქვედა შრეზე.ანუ ზედა შრის ფოსფოლიპიდების რიცხვი შეადგენს 193 600,ქვედა–176 776.

m/м=N/Na ფორმულით ვითვლით,რომ 3 მგ ფოსფოლიპიდში არის 24,3*10^17 ცალი ფოსფოლიპიდი.აქედან ზედა შრის ფოსფოლიპიდების რიცხვი იქნება დაახლოებით 12,6*10^17 ცალი.E ვიტამინის რიცხვიც ამდენივე უნდა იყოს.m/м=N/NA ფორმულიდან გამომდინარე განვსაზღვრავთ,რომ 0,9მლგრ Eვიტამინი გვჭირდება.

3.2 ექსპერმინენტი

ჩვენს მიერ გამოყენებულ E ვიტამინის შემცველი ზეთოვანი ხსნარი შეიცავდა 1მლ–ში 300მგ ალფა ტოკოფეროლ აცეტატს. რადგან, ჩვენ გვჭირდებოდა 0,9მგ,ამიტომ მისი პროპორციული მოცულობა უნდა გვეპოვა.

1მლ——300მგ

X-----0,9მგ X=0.003მლ

1მლ—300მგ

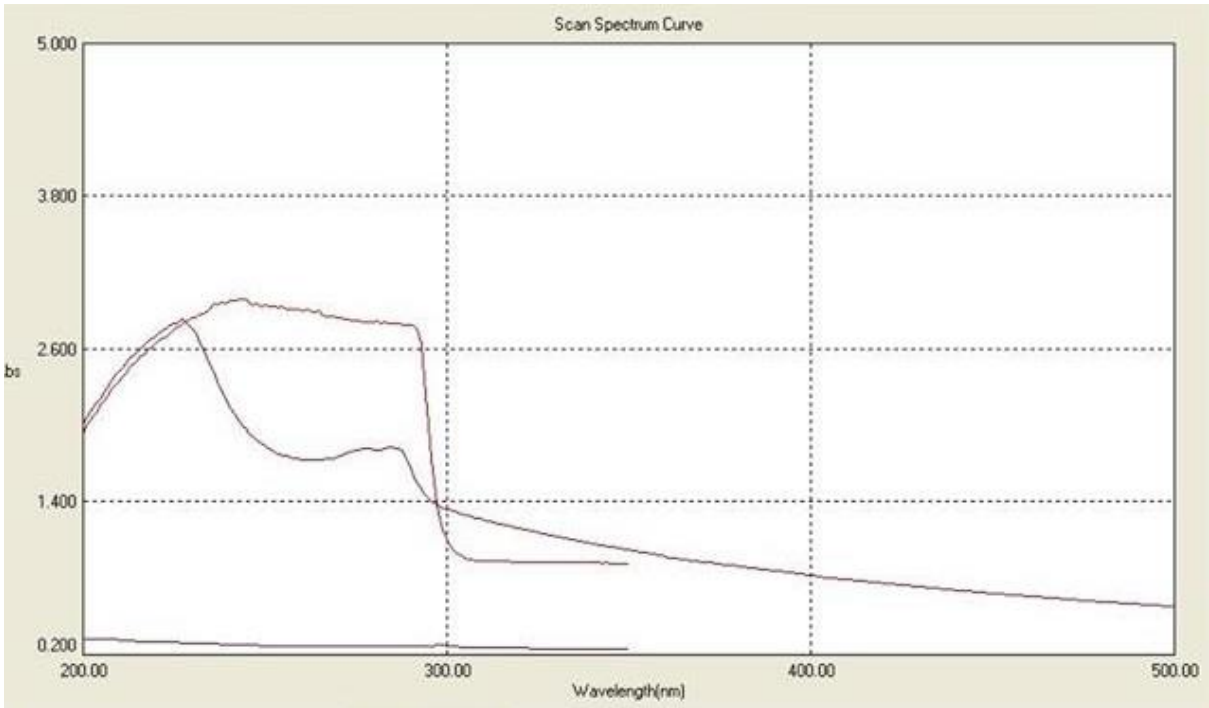
X---18მგ, X=0,06მლ 18მგ–ის შემცველი E ვიტამინის ხსნარის შესაბამისი მოცულობა დავთვალეთ,რომ 0.06მლ–ია.

რადგან 0.003 მლ E ვიტამინის ამოღება არ შეგვეძლო,ამიტომაც 20ჯერ მეტი დოზა -18მგ ავიღეთ,რომელიც მოცულობით 0.06მლ–ია (ეს რაოდენობა პრაქტიკულად განხორციელებადი და მეტად კომფორტული იყო ჩვენთვის)

0.06მლ(ვიტ)+0,97მლ(გამხს)=1მლ (ვიტამინი გავხსენით გამხსნელში,ქლოროფორმში) დოზა გავანახევრეთ,რადგან განახევრებული ჩვენთვის ხელსაყრელ რაოდენობა ალფა ტოკოფეროლს შეიცავდა.

0.03+0.47=0.5 მიღებულ სუსპენზიაში არის 9მგ E ვიტამინი .ჩვენ კი 10 ჯერ ნაკლები 0.9 გვჭირდება,ამიტომაც ამ ხსნარიდან ამოვიღეთ 0.05მლ,სადაც არის ჩემთვის სასურველი 0.9მგ ვიტამინი E. ამოღებულ სუსპენზიას დავუმატეთ 3მგ ფოსფოლიპიდი და ამით გამოვიდა ის თანაფარდობა რაც გვსურდა რომ მიგვეღო.

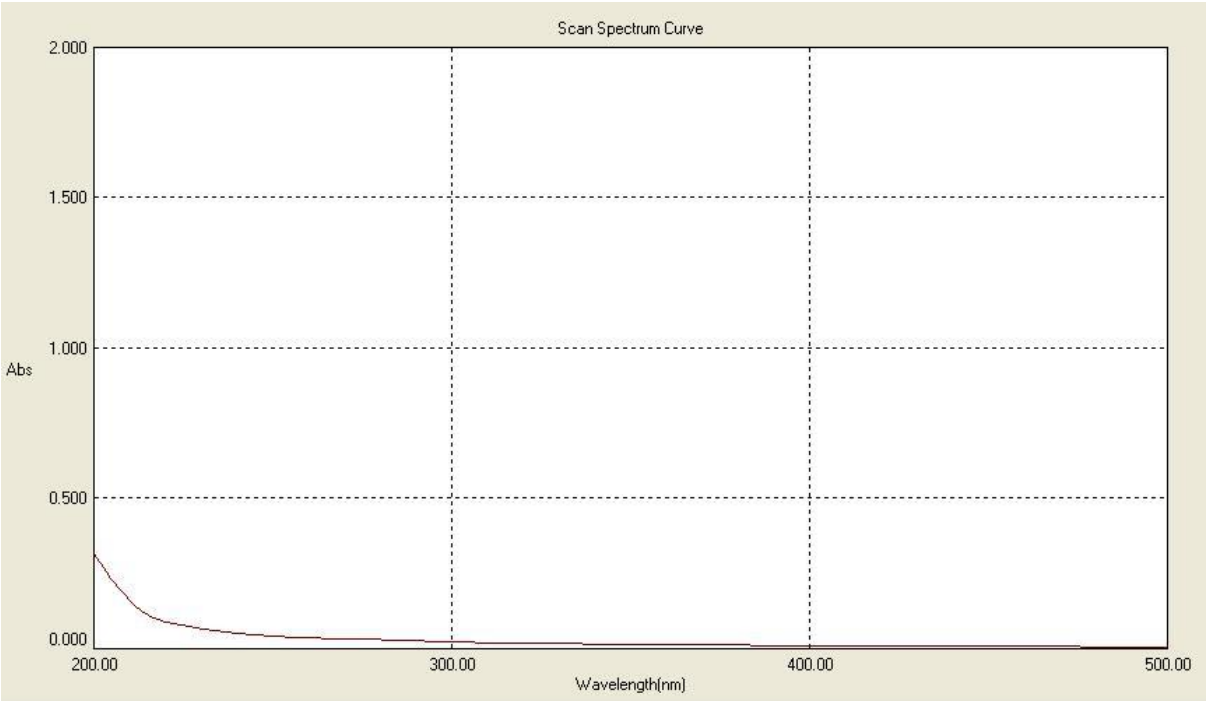
ამ ყველაფერს დავამატეთ დისტილირებული ადუღებული წყალი,რათა დამზადდეს ლიპოსომები და მათში E ვიტამინიც მოთავსდეს. შემდეგ ეს ყველაფერი ვანჯღრიეთ მანამ,სანამ ერთგვაროვანი სითხე არ მივიღეთ.მიღებული სუსპენზიის სპექტროფოტომეტრიული სურათი კი ასეთია.(იხ, სურათი 2.3)



სურათი 2.3 დაულექავი სუსპენზიის სპექტოფორომეტრიული სურათი

შემდეგ 10 წუთის განმავლობაში დავაცენტრიფუგირეთ.მივიღეთ ნალექი,რომელიც იმის მანიშნებელია,რომ ლიპოსომები გაკეთდა და მასში ვიტამინიც ჩაჯდა.შემდეგ მიღებული სუსპენზია მოვათავსეთ სპექტოფოტომეტრში და გადავიღეთ შთანთქმის სპექტრი.

(იხ. სურათი 2.4)



სურათი 2.4

დასკვნა

1.ჩემი მიზანი იყო დამენახვებინა DPPC ლიპოსომების უდიდესი მნიშვნელობა თანამედროვე მედიცინის განვითარებაში.მათი აშკარა უპირატესობა ქიმიოთერაპიული წამლების ტრანსპორტირებაში და სიმსივნესთან ბრძოლაში.

2.ანტიოქსიდანტური C და E ვიტამინების ლიპოსომაში განთავსების მნიშვნელობა და მათი მოქმედების გზები.

3.ექსპერიმენტული კვლევის მიზანი იყო თეორიულად მიღებული უმცირესი დოზის ჰიდროფობული E ვიტამინის DPPC ლიპოსმაში განთავსება.

4.ექსპერიმენტი ჩატარდა ბიოფიზიკის კათედრის ლაბორატორიაში .

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Dendrimer, Liposomes, Carbon Nanotubes and PLGA Nanoparticles: One Platform Assessment of Drug Delivery Potential - Nishi Mody et al., 2014.
2. Liposome: classification, preparation, and applications – Akbarzadeh et al. Nanoscale Research Letters, 2013
3. Interaction of liposomes on endothelial cells - Rok Podlipec, Janez Štrancar, 2010
4. Design of liposomal formulations for cell targeting - Eugénia Nogueira et al, 2015
5. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health - Lien Ai Pham-Huy at al. 2008
6. Himanshu A, Sitasharan P, Singhai AK: Liposomes as drug carriers. IJPLS 2011, 2(7):945–951.
7. Kataria S, Sandhu P, Bilandi A, Akanksha M, Kapoor B, Seth GL, Bihani SD: Stealth liposomes: a review. IJRAP 2011, 2(5):1534–1538.
8. Mayer LD, Bally MB, Hope MJ, Cullis PR: Techniques for encapsulating bioactive agents in to liposomes. Chem Phys Lipids 1986, 40:333–345.
9. Kagawa Y. and Racker E. (1974). J. Biol. Chem. 246: 5477.
10. Enoch H.G. and Strittmatter P. (1979). Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 76: 145.
11. Maierhofer G. (June 1985). Am. Clinical Products. 33.