აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

ნინო საღინაძე

oqsidaciuri stresis gavlena cxovelTa qcevaze

ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი
დისერტაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:
ნოდარ მითაგვარია
ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,
საქართველოს მეცნიერებათა
ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსი.

ქუთაისი
2017

სარჩევი

შესავალი. ნაშრომის ზოგადი დახასიათება	3
თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა	12
თავი 2. კვლევის მეთოდოლოგია, მასალა და გამოყენებული მეთოდები	35
თავი 3. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა	43
დასკვნები	80
გამოყენებული ლიტერატურა	82

შესავალი

ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

პრობლემის აქტუალობა

ოქსიდაციური სტრესის პრობლემა ინტენსიურად შეისწავლება დაწყებული გასული საუკუნის სამოციანი წლებიდან და მისმა აქტუალობამ, შეიძლება ითქვას, რომ დღეისათვის პიკს მიაღწია. ალბათ რთულია მოინახოს რომელიმე პათოლოგიური მდგომარეობა, რომელსაც თან არ სდევდეს, ან რომლის განვითარებაში არ იყოს ჩართული ეს მოვლენა. მაგ. ნეიროდეგენერაციული დარღვევები, სიმსივნური დაავადებები, იშემიური კასკადის განვითარება, პარკინსონის და ალცჰეიმერის დაავადებები და სხვ. [Ramalingam, Kim, 2012; Nunomura et al., 2005; Halliwell, Barry, 2007; Valko et al., 2007; Singh et al., 1995}.

ნებისმიერი სტრესული სიტუაცია შესაძლოა გახდეს ორგანიზმში მნიშვნელოვანი ფუნქციური დარღვევების საფუძველი: ადრენალინისა და კორტიზოლის დიდძალი დაგროვების შედეგად ირღვევა ნივთიერებათა ცვლა, ხდება აქტიური დამაზიანებელი აგენტების ე.წ. თავისუფალი რადიკალების ინტენსიური წარმოქმნა, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს მრავალი სახის პათოლოგიური პროცესის განვითარება.

თავისი არსით ოქსიდაციური სტრესი არის თავისუფალი რადიკალების მასიური წარმოქმნა [Yoshikawa, Naito. 2002]. ამ პროცესის ყველა შესაძლო გამშვები მექანიზმი ბოლომდე შესწავლილი არ არის, თუმც ზოგიერთი მათგანი, შეიძლება ითქვას, რომ ცნობილია.

წლების განმავლობაში თავისუფალ რადიკალებს განიხილავდნენ, როგორც უცილობელი ზიანის მომტან ფაქტორს, რომელიც აღმოცენდა და ჩამოყალიბდა მაშინ, როდესაც ორგანიზმების უმეტესობა სიცოცხლის აერობულ ფორმაზე

გადავიდა. მაგრამ, ამასთან ერთად, უკვე დაგროვილია გარკვეული ინფორმაცია თავისუფალი რადიკალებით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესის სხვაგვარ ეფექტებზეც. მაგალითად, ორგანიზმის ინფიცირების პირობებში მიკროორგანიზმების მოსასპობად განვითარებული იმუნური პასუხი წარმოადგენს ფაგოციტებიდან უძლიერესი ოქსიდანტის - წყალბადის ზეჟანგის „გამოტყორცნას“. ცნობილია აგრეთვე, რომ ოქსიდაციური სტრესისადმი რეზისტენტობის მატება ასოცირდება სიცოცხლის ხანგრძლივობასთან [Larsen, 1993]. კერძოდ, დადგენილია, რომ დაბალი დოზების ოქსიდაციური სტრესი, ინდუცირებული, მაგალითად, სითბური შოკით, ანელებს დაბერების პროცესს [Kurapti et al., 2000, Ristow, Schmeisser, 2011].

ფაქტიურად აქ ადგილი აქვს ისეთ მოვლენას, როგორიცაა „ჰორმეზისი“. ეს ტერმინი შემოვიდა ძველი ბერძნულიდან და ნიშნავს „მოძრაობაში მოყვანას, წაქეზებას, დაჩქარებას“. ბიომედიცინის თვალსაზრისით ჰორმეზისით აღწერენ ისეთ მოვლენას, როდესაც დაბალი დოზის ტოქსინების, ან სხვა სტრესოგენული ფაქტორების საპასუხოდ ორგანიზმში ვითარდება ბიოლოგიურად დადებითი რეაქცია. იგულისხმება ადაპტური სტრეს-რეაქცია, რომელიც უზრუნველყოფს უჯრედების მდგრადობას ამ რეაქციის მასტიმულირებელი აგენტის უფრო ძლიერი (დამღუპველი) დოზებისადმი.

უკანასკნელი წლების განმავლობაში ინტერესი ჰორმეზისის მოვლენისადმი უაღრესად გაიზარდა [Calabrese et al., 2010; Bruchey, Gonzales-Lima, 2008] ვინაიდან სტრესი შეიძლება იყოს გამოწვეული როგორც ფიზიკური, ისე ქიმიური და ფსიქოლოგიური ფაქტორებით. დღეისთვის უკვე შეისწავლიან რადიაციულ ჰორმეზისსაც, ანუ დაბალი დოზებით დასხივების დამცველ ეფექტებს [Jiuliano, Watson, 2012].

ჩვენი კვლევის მიზანს წამოადგენდა ვირთაგვებზე ცდებში შეგვესწავლა ორი განსხვავებული მეთოდით (ჰიპერთერმიით და წყალბადის ზეჟანგით) გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესის გავლენა ცხოველთა ქცევაზე და ამ დროს ჰორმეზისის ფენომენის აღმოცენების შესაძლებლობა და მისი როლი ცხოველთა ქცევის

ცვლილებებში. ამ ორი მეთოდის შერჩევა ეფუძნებოდა იმ მოსაზრებებს, რომ, როგორც ჰიპერთერმიას, ისე წყალბადის ზეჟანგს ორგანიზმი იყენებს დაცვითი რეაქციების განვითარებისას მრავალი პათოლოგიური პროცესის დროს. ამასთან ერთად, ჰიპერთერმული ზემოქმედება ფართოდ გამოიყენება ონკოლოგიურ კლინიკაში, როგორც დამოუკიდებლად, ისე (უმეტესწილად) სხივურ და ქიმიოთერაპიასთან ერთად კომბინაციაში. ამასთან დაკავშირებით საჭიროდ მიგვაჩნია დამატებით აღვნიშნოთ შემდეგი.

ჰიპერთერმია მწვავე მდგომარეობაა, რომელიც წარმოიშობა, როდესაც სხეული გამოიმუშავებს, ან შთანთქავს იმაზე მეტ სითბოს, ვიდრე მოიხმარს. ეს ჩვეულებრივ გამოწვეულია მაღალი ტემპერატურის ხანგრძლივი ზემოქმედების შედეგად. საბოლოოდ სხეულის სითბოს მარეგულირებელი მექანიზმები გადაიტვირთება და ეფექტურად ვერ უმკლავდება ცხელებას, რაც იწვევს სხეულის ტემპერატურის არაკონტროლირებად მატებას.

ჰიპერთერმიის შესაძლებლობა ავთვისებიან სიმსივნეებზე რადიაციული ეფექტის გაზრდის მიზნით პირველად აღწერილი იყო 1910 წელს. ეს უკვე კარგად ცნობილი და გამოყენებული მეთოდი ხელახლა იქნა აღმოჩენილი ე.წ. "მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის“ სახელწოდებით 1960-იანი წლების დასაწყისში.

ჰიპერთერმია, როგორც უკვე აღინიშნა, თითქმის ყოველთვის გამოიყენება კიბოს მკურნალობის სხვადასხვა ფორმებთან ერთად, როგორიცაა სხივური თერაპია და ქიმიოთერაპია. ჰიპერთერმიამ შეიძლება გარკვეული კიბოს უჯრედები უფრო მგრძნობიარე გახადოს რადიაციის მიმართ, ან ზიანი მიაყენოს იმ სხვა კიბოს უჯრედებს, რომლებსაც რადიაცია ვერ აზიანებს [Hildebrandt et al., 2002]. მას ასევე შეუძლია გაზარდოს ეფექტი ზოგიერთი ანტისიმსივნური პრეპარატისა, რომელიც თავის მხრივ ზრდის მკურნალობის ეფექტს - ე.წ. ჰიპერთერმიის სინერგეტიკული ეფექტი [Schildkopf et al., 2010]. აღმოჩნდა, რომ ციტოსტატიკური პრეპარატები აშკარად მოქმედებს უფრო აგრესიულად 40 ° C -ზე მეტ ტემპერატურაზე, ვიდრე სხეულის ნორმალური ტემპერატურის ფარგლებში.

კარგად არის ცნობილი, რომ უმეტესობა ბიოლოგიური ქსოვილებისა, გარდა ცენტრალური ნერვულისა, მდგრადია ჰიპერთერმული ზემოქმედების მიმართ და შეიძლება გადარჩეს 44 ^{0}C ტემპერატურაზეც კი. რაც შეეხება ცენტრალურ ნერვულ სისტემას (ცნს), გამოქვეყნებულ მონაცემებში არსებობს მნიშვნელოვანი განსხვავება ერთი და იგივე ტემპერატურით გამოწვეულ შეუქცევად ზიანთან დაკავშირებით [Sminia et al., 1994; Matsumi et al., 1994].

მრავალწლიანი კვლევის ანალიზმა აჩვენა, რომ ცნს-ში ლოკალური ჰიპერთერმიით (41 ^{0}C) გამოწვეული ზიანი დიდწილად განპირობებულია ცერებრული არტერიული სისხლძარღვების თრომბოზით და კონსტრიქციით, რაც იწვევს კარგად გამოხატულ მორფოლოგიურ ცვლილებებს ტვინის ქსოვილში [Mitagvaria et al., 2016].

მოვლენების ასეთი განვითარება მისაღებია სიმსივნური ქსოვილისათვის, მაგრამ სავსებით მიუღებელია ნორმალური ქსოვილისათვის.

ჩვენთვის უცნობია, თუ როგორია ჰიპერთერმული ზეგავლენა (განსაკუთრებით იმ შემთხვევაში, თუ მთელი სხეულის ჰიპერთერმიაა) ტვინის ფუნქციებზე, მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებზე და ასევე სისხლის რეოლოგიურ თვისებებზე. მაგრამ, რაც ჩვენ ზუსტად ვიცით, არის ის, რომ ჰიპერთერმია იწვევს ინდუციბელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას (iNOS) გააქტიურებას, რომელიც წარმოშობს ოქსიდაციურ სტრესს [Grasso et al., 2003].

ყოველივე ზემოაღნიშნულის გათვალისწინებით ჩვენ გადავწყვიტეთ დასწავლისა და მეხსიერების პროცესებზე მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის ეფექტი შეგვესწავლა აზოტის ოქსიდის სხვადასხვა სინთაზების (NOS)(სელექციური და არასელექციური) ინჰიბირების ფონზე. ჩავთვალეთ, რომ ეს არამარტო მოგვცემდა შესაძლებლობას გამოგვევლინა თავის ტვინის ფუნქციების შესაძლო დარღვევები ოქსიდაციური სტრესის პირობებში, არამედ განგვესაზღვრა ამ დარღვევების ფიზიოლოგიური მექანიზმები და ამასთან ერთად ზოგიერთი უცნობი, როგორც საზიანო, ისე სამკურნალო ასპექტი.

კვლევის მიზნები და ამოცანები

ორი განსხვავებული მეთოდით (ჰიპერთერმიით და წყალბადის ზეჟანგით) გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესის ცხოველთა ქცევაზე გავლენის და ამ დროს ჰორმეზისის ფენომენის აღმოცენების შესაძლებლობის და მისი როლის შესწავლა ცხოველთა ქცევის ცვლილებებში.

1. თეთრი ვირთაგვების ცალკეულ ჯგუფებზე მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის (4 კვირის განმავლობაში) 4 საათიანი დღეგამოშვებითი ექსპოზიციით ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის დოზა-ეფექტზე დამოკიდებული ცხოველთა ჰორმეზული ქცევის და მისი დარღვევის შესწავლა. მიღებული შედეგების მიხედვით ექსპოზიციის ხანგრძლივობის ცვლილებები.

ქცევითი ექსპერიმენტების დასრულების შემდეგ სხვადასხვა ჯგუფებში მიღებული შედეგების მიხედვით სისხლის რეოლოგიური თვისებების ანალიზი;

2. თეთრი ვირთაგვების ცალკეულ ჯგუფებზე 4 კვირის განმავლობაში 0.1%, 0.2% წყალბადის ზეჟანგის ხსნარის (სასმელი წყლის მაგივრად) ორგანიზმში შეყვანით ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის დოზა-ეფექტზე დამოკიდებული ცხოველთა ჰორმეზული ქცევის და მისი დარღვევის შესწავლა. მიღებული შედეგების მიხედვით ხსნარის კონცენტრაციის ცვლილებები.

ცდების ამ სერიაშიც ქცევითი ექსპერიმენტების დასრულების შემდეგ სხვადასხვა ჯგუფებში მიღებული შედეგების მიხედვით სისხლის რეოლოგიური თვისებების ანალიზი.

3. პირველ პუნქტში მითითებული ცდების ჩატარება, მხოლოდ არა ინტაქტურ ცხოველთა ჯგუფებზე, არამედ:

3.1. აზოტის ოქსიდის სინთაზას წინასწარი, ნიტრო-L-არგინინ-მეთილის ეთერით არასელექციური ინჰიბირების ფონზე;

3.2. აზოტის ოქსიდის ინდუციბელური სინთაზას წინასწარი, ამინოგუანიდინით სელექციური ინჰიბირების ფონზე;

3.3. აზოტის ოქსიდის სინთაზას წინასწარი, ნიტრო-L-არგინინ-მეთილის ეთერით არასელექციური ინჰიბირების და აზოტის ოქსიდის დონორის L-არგინინის შეყვანის კომბინირებული მოქმედების ფონზე;

ნაშრომის სამეცნიერო სიახლე

1. ნაშრომში პირველად იქნა აღწერილი ოქსიდაციური სტრესით (გამოწვეული, როგორც მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით, ისე წყალბადის ზეჟანგის ქრონიკული შეყვანით) სტიმულირებული ჰორმეზისის ფენომენის ქცევითი მანიფესტაცია თეთრ ვირთაგვებში, რაც ადრე მხოლოდ დროზოფილებზე იყო ნაჩვენები. შესაბამისად, ამ ნაშრომში მიღებული ექსპერიმენტული შედეგები და მათი განზოგადება ასევე წარმოადგენს მეცნიერულ სიახლეს.

2. დადგენილია, რომ ჰორმეზული მექანიზმის სტიმულირება შესაძლებელია გამოყენებული იყოს არა მარტო ამა თუ იმ სახის სტრესისადმი ადაპტაციის მიზნით, არამედ ასევე მრავალი პათოლოგიური პროცესის (მათ შორის სიმსივნური) მკურნალობის მიზნითაც.

3. მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესი შესაძლოა გამოყენებული იყოს, როგორც ერთ-ერთი ყველაზე ეფექტური და იოლად გამოყენებადი ჰორმეზისის მექანიზმის გამშვები (ტრიგერული) საშუალება.

4. ყველა შემთხვევაში, როდესაც ვიყენებთ ოქსიდაციური სტრესით ჰორმეზული მექანიზმის ამოქმედებას, კრიტიკული მნიშვნელობა აქვს იმას, რომ ამ მიზნით გამოყენებული სტრესოგენური ფაქტორის დოზა (იქნება ეს ჰიპერთერმია, წყალბადის ზეჟანგი თუ სხვა) არ გასცდეს ჰორმეზულ დიაპაზონს.

5. ჩვენ მიერ მიღებული შედეგების თანახმად მიგვაჩნია, რომ მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით მკურნალობისას, როგორც ონკოლოგიურ, ისე სხვა სახის კლინიკაში, ტემპერატურის ზედა ზღვარი არ უნდა აღემატებოდეს **40^{0}C**-ს. თანახმად

ლიტერატურაში არსებული მონაცემებისა ხშირად გამოიყენება ჰიპერთერმიის ე.წ. „პიკური დოზა“ – **44ºC** და უფრო მაღალიც [Сувернев, 2007].

რაც შეეხება წყალბადის ზეჟანგს, მისი კონცენტრაცია სასმელ წყალში არ უნდა აღემატებოდეს 0.1%-ს და მიღების ხანგრძლივობა კი - 1 თვეს (რა თქმა უნდა ლაპარაკია საკვების ხარისხის წყალბადის ზეჟანგზე, რომელიც იწარმოება 35% კონცენტრაციით).

6. თუ რაიმე მიზეზით, ორგანიზმში მოხდა ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას ინჰიბირება და, შესაბამისად, მკვეთრად შემცირდა აზოტის ოქსიდის პროდუცირება, მისი ეგზოგენური კომპენსაცია შესაძლებელია ორგანიზმში მისი დონორის L-არგინინის შეყვანით, რომლიდანაც, მიუხედავად აზოტის ოქსიდის სინთაზას ინჰიბირებისა, მაინც ხდება აზოტის ოქსიდის გენერაცია ე.წ. „არგინინული პარადოქსის“ მოვლენის ხარჯზე.

პრაქტიკული მნიშვნელობა

როგორც წინა პუნქტში („**ნაშრომის სამეცნიერო სიახლე“)** მოტანილი მასალა მეტყველებს, ნაშრომში მიღებული ძირითადი შედეგები და მათი ანალიზის საფუძველზე გამოტანილი სამეცნიერო დასკვნები უმეტესწილად ატარებს მკვეთრად გამოხატულ პრაქტიკულ მნიშვნელობას, რომელთა დანერგვა და გამოყენება კლინიკურ პრაქტიკაში უაღრესად მიზანშეწონილია.

დისერტაციის მოკლე შინაარსი:

დისერტაცია მოიცავს საკვლევი პრობლემის შესახებ არსებული ლიტერატურის მიმოხილვას, ექსპერიმენტებში გამოყენებული მეთოდების აღწერას, მიღებულ შედეგებს, მათ განხილვას და დასკვნებს, რომელთა ჩამოყალიბება შესაძლებელი გახდა ჩატარებული კვლევის შედეგად.

დისერტაციის სრული მოცულობა შეადგენს 94 გვერდს, და მოიცავს 16 სურათს, 1 ცხრილს და 150 დასახელების ციტირებული ლიტერატურის სიას.

ნაშრომის აპრობაცია

ი.ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრის თავის ტვინის სისხლის მიმოქცევის და მეტაბოლიზმის განყოფილების გაფართოებული სემინარი . ოქმი №7 2016 წლის 8 სექტემბერი

ნაშრომში მოყვანილი ძირითადი შედეგები მოხსენებულ იქნა სხვადასხვა სამეცნიერო ფორუმზე და სასწავლო პროგრამით გათვალისწინებულ კოლოქვიუმებზე.

სამეცნიერო ფორუმებზე და კოლოქვიუმებზე მონაწილეობა:

1. ნ. საღინაძე. „ სხვადასხვა მოდალობის სტრეს-ფაქტორებისადმი ბიოლოგიურ სისტემათა მდგრადობის და დადებითი რეაქციების განვითარების, ანუ ჰორმეზისის მოვლენის მექანიზმების შესწავლის მნიშვნელობა.“

   მოხსენება, ეროვნული სამეცნიერო კონფერენცია „ფიზიოლოგიისა და

   ბიომედიცინის აქტუალური პრობლემები“-ქუთაისი, 2014

2. ნ.მითაგვარია,მ. მანწკავა, მ. დევდარიანი, მ. ნებიერიძე, ლ. დავლიანიძე, ნ. მომცელიძე, ნ.საღინაძე, ლ. გუმბერიძე, ი. ქვაჩაკიძე,ლ. სიხარულიძე

Phisiological Prerequisites for Application of Hiperthermia in Cancer Treatment.

I საერთაშორისო კონფერენცია რეოლოგიაში. ქუთაისი 2015

3. კოლოქვიუმი I „ოქსიდაციური სტრესის წარმოშობის ძირითადი მიზეზები და მექანიზმები“. თბილისი 2015

4 . კოლოქვიუმი II „ცხოველთა ქცევის შემსწავლელი ექსპერიმენტული

მეთოდების თავისებურებათა ანალიზი“ თბილისი 2015

პუბლიკაციები:

დისერტაციაში მიღებული ძირითადი შედეგები გამოქვეყნებულია **4** სამეცნიერო ნაშრომში :

1. Сагинадзе Н.А., Саканделидзе Р.В., Митагвария Н.П. Поведенческие эффекты оксидативного стресса. Georgian Medical News, 2015, March, 240, 3, 78-82.

2. N.Mitagvaria, I. Lazrishvili, M.Devdariani, L. Davlianidze, M. Nebieridze, N. Saghinadze, I.Kvachakidze, L. Gumberidze, N. Sikharulidze. Hormesis - a basis for homeostasis in the presence of stressors. An example of hyperthermic stress. Journal of Biological Physics and Chemistry, 2015, 15, 187-193.

3. საღინაძე ნ., გუმბერიძე ლ., დავლიანიძე ლ., დევდარიანი მ., ქვაჩაკიძე ი., მომცელიძე ნ., მანწკავა მ., ნებიერიძე მ., სიხარულიძე ნ., მითაგვარია ნ.
ოქსიდაციური სტრესით გამოწვეული ცვლილებები ცხოველთა ქცევაში. საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის მაცნე, ბიომედიცინის სერია, 2015, 41, 5-6, 221-227

4. ნ. საღინაძე, რ. საკანდელიძე, ნ. მითაგვარია. ოქსიდაციური სტრესის დადებითი და უარყოფითი ეფექტები, ანუ თავისუფალი რადიკალების დუალური როლი (მოკლე მიმოხილვა). საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის მაცნე, ბიომედიცინის სერია. 2016 , 42, 5-6, 261-271

თავი პირველი.

ლიტერატურის მიმოხილვა

ოქსიდაციური სტრესი და თავისუფალი რადიკალები

ადამიანის არსებობა თანამედროვე ტექნოგენური ცივილიზაციის პირობებში, საუკუნეების განმავლობაში ადამიანსა და ბუნებას შორის ჩამოყალიბებული ურთიერთობების რღვევა, როგორც წესი, იწვევს სტრესული სიტუაციების განვითარებას, მათ დაგროვებას და ფაქტიურად, ცხოვრების განუყოფელ კომპონენტად ჩამოყალიბებას. ასეთ სიტუაციას, საბოლოო ჯამში, მივყავართ ორგანიზმში სერიოზულ ფუნქციონალურ დარღვევებამდე.

ნივთიერებათა და ენერგიის ცვლის დარღვევას, აქტიური დამაზიანებელი აგენტების - ე.წ. „თავისუფალი რადიკალების“ დაგროვებას, რაც ინიცირებს დაავადებების და ფსიქო-ემოციური დისკომფორტის განვითარებას, ეწოდა „ოქსიდაციური სტრესი“.

ქრონიკული სტრესი ორგანიზმში თრგუნავს იმუნიტეტს, იწვევს ორგანოებისა და სისტემების ფუნქციონირების დისკოორდინაციას და დისჰარმონიას.

დადგენილია, რომ პროცესების ასეთი განვითარების ძირითადი მიზეზი ორგანიზმში არის სწორედ, უკვე ხსენებული თავისუფალი რადიკალები, რომლებიც აჩქარებენ ორგანიზმის უჯრედების დეფორმაციას და ნგრევას. ცოცხალ ორგანიზმში თავისუფალი რადიკალების ჯაჭვური რეაქციის სახით წარმოქმნა და მათი გაუჩინარება (ბიოქიმიური პროცესების დროს) გამოვლენილ იქნა მხოლოდ გასული საუკუნის სამოციანი წლების დასასრულს, როდესაც მაკკორდმა და ფრიდოვიჩმა 1969 წელს განაცხადეს, რომ სუპეროქსიდური ანიონი წარმოადგენს

სახიფათო თავისუფალ რადიკალს, რომელიც ფორმირდება ცოცხალ ორგანიზმში და რომ სუპეროქსიდ დისმუტაზას შეუძლია მისი მოსპობა [McCord et al., 1968].

თავისუფალი რადიკალების და თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვითი პროცესების დახასიათება

რადიკალები, ანუ თავისუფალი რადიკალები, არიან მოლეკულები, ან ცალკეული ატომები, რომელთაც გარე ორბიტაზე აქვთ გაუწყვილებელი სავალენტო ელექტრონები, რომლებიც მაღალი რეაქტიულობით ხასიათდებიან და აზიანებენ უჯრედის ცილებს, ნუკლეინის მჟავებს, მემბრანულ ლიპიდებს.

თავისუფალი რადიკალი წარმოიქმნება იმ მომენტში, როცა მეტაბოლიზმის პროცესში ჩართული ჟანგბადი კარგავს ელექტრონს. ცდილობს რა შეივსოს ეს დანაკლისი, თავისუფალი რადიკალი ართმევს ელექტრონს სხვა მოლეკულას (მაგ. უჯრედის მემბანის ლიპიდებს). თვითონ აღდგება და ამ მოლეკულას კი გარდაქმნის ახალ თავისუფალ რადიკალად. ეს ჯაჭვური რეაქცია არღვევს უჯრედის მთლიანობას და გზას უხსნის მთელ რიგ დაავადებებს. თავისუფალი რადიკალების ზედმეტი კონცენტრაციის დამანგრეველი ეფექტი გამოიხატება ორგანიზმის დაბერების პროცესის დაჩქარებაში, კუნთოვან და შემაერთებელ ქსოვილებში ანთებითი პროცესების წარმოშობაში, სისხლის მიმოქცევის, ნერვული და იმუნური სისტემების ფუნქციების მოშლაში.

თავისუფალი რადიკალები ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან უკიდურესი არასტაბილურობით. მათი არსებობის პერიოდი არ აღემატება წამის მემილიონედ ნაწილს დროში. ამ ქიმიური აგენტების აგრესიული მოქმედება იწვევს ახალი თავისუფალი რადიკალების მთელი კასკადის წარმოქმნას, რომელთაგან თითოეული თავის მხრივ კიდევ წარმოქმნის თავისუფალი რადიკალების საკუთრ ჯაჭვს და ა. შ

და ა. შ. ასე, რომ საქმე გვაქვს ნამდვილ ქიმიურ ბომბთან, რომელიც ფეთქდება პირველივე თავისუფალი რადიკალის გაჩენისთანავე.

რადიკალი შეიძლება იყოს ნეიტრალური, ან ატარებდეს მუხტს (კათიონ-რადიკალი ან ანიონ-რადიკალი), მცირე და დიდი სიცოცხლისუნარიანი, ანუ მოკლე და გრძელვადიანი, რაც განსაზღვრავს მის აქტივობას [Rice-Evance, Diplock, Symons, 1991]. რადიკალების სიცოცხლის ხანგრძლივობა მრავალ ფაქტორზეა დამოკიდებული. როგორც წესი, მცირე სიცოცხლის ხანგრძლივობით ხასიათდებიან ატომები, ან პატარა მოლეკულები. მაგ. OH ’ ---ჰიდროქსილ-რადიკალი (მიღებულია რადიკალები გამოიხატოს შესაბამისი ქიმიური ფორმულით და წერტილით) , O_2’--სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალი [Fridovich, 1997].

მცირე სიცოცხლის ხანგრძლივობის შეიძლება იყოს ასევე დიდი რადიკალ-მოლეკულები, რომლებიც შეიცავენ ე.წ. ცენტრირებულ რადიკალს, რომელშიც გაუწყვილებელი ელექტრონი ლოკალიზებულია ამ მოლეკულის რომელიმე ატომთან [Kontos et al., 1985] (ნახშირბადთან ცენტრირებული რადიკალი R-CH_2-CH’-CH_2 ან ნახშირბადთან და ჟანგბადთან ცენტრირებული რადიკალი R-OO’).

დიდი სიცოცხლის ხანგრძლივობის მქონე, ანუ სტაბილურ რადიკალებში, გაუწყვილებელი ელექტრონი დელოკალიზებულია მრავალ ატომს შორის. ასკორბატ-რადიკალი, კოენზიმ-Q-ს რადიკალები (ბენზოსემიქინონ) და ტოკოფეროქსილ-რადიკალი არის სტაბილური რადიკალების მაგალითები. ცენტრირებული რადიკალების სტაბილურობა ასევე დამოკიდებულია მოლეკულაში მის ირგვლივ არსებული ქიმიური ჯგუფების პოზიციაზე. ასე, მაგალითად, ზოგიერთი ნიტროქსილური რადიკალი, მიუხედავად იმისა, რომ შეიცავს ლოკალიზებულ ელექტრონს ჟანგბადის ატომთან, სტაბილურია CH_3 ჯგუფების არსებობის გამო, რომლებიც იფარავს რადიკალის ცენტრს სხვა მოლეკულებთან კონტაქტისაგან [Розанцев, Шолле, 1979].

მცირე სიცოცხლის ხანგრძლივობის, ანუ მოკლევადიანი თავისუფალი რადიკალები, ფლობენ რა დიდ ენერგიას, დასაბამს აძლევენ ჯაჭვურ რადიკალურ

რეაქციებს. ჯაჭვური ქიმიური რეაქციების პროცესში განუწყვეტლივ ხდება თავისუფალ-რადიკალური მოლეკულების გენერაცია. რეაქციაში ჩართული თითო რადიკალის მოლეკულაზე აუცილებლად გენერირდება ერთი ან მეტი რადიკალ მოლეკულა. სწორედ ამიტომ, ერთ რადიკალს შეუძლია გამოიწვიოს მრავალი სხვა არარადიკალ-მოლეკულის ქიმიური ცვლილება, ჩართავს რა მათ ჯაჭვურ რეაქციაში. ხელახლა გენერირებული თავისუფალი რადიკალების რაოდენობაზე დამოკიდებულებით ჯაჭვურ რეაქციებს ჰყოფენ:

1. არაგანშტოებად (ერთ გაუჩინარებულ რადიკალზე გენერირდება ერთი ახალი),

2. განშტოებად (ერთი გაუჩინარებული რადიკალის ადგილზე წარმოიქმნება ორი და მეტი რადიკალი)

3. ჯაჭვური რეაქციები გადაგვარებულ განშტოებად (ერთ გაუჩინარებულ რადიკალზე გენერირდება ერთი ახალი,რომელიც რეაქციაში შესვლისას წარმოქმნის შუალედურ პროდუქტებს, რომლებიც შეიძლება დაიშალოს და დასაბამი მისცეს ახალ მოლეკულა-რადიკალებს) [Семенов, 1986].

მოლეკულასთან დაჯახებისას თავისუფალი რადიკალი ართმევს მას წყალბადის ატომს, გარდაიქმნება ვალენტურად გაჯერებულ მოლეკულად და სწორედ ამით განეიტრალდება. ის მოლეკულა კი გარდაიქმნება თავისუფალ რადიკალად. ახლად წარმოქმნილ რადიკალს შეუძლია წაართვას წყალბადის ატომი სხვა მოლეკულას, რეაგირება მოახდინოს სხვა რადიკალზე ან ჟანგბადის მოლეკულაზე. ბოლო შემთხვევაში წარმოიქმნება პეროქსილრადიკალი ROO’, რომელიც თავის მხრივ, წაართმევს რა წყალბადის ატომს მეორე მოლეკულას, გარდაიქმნება ორგანულ პეროქსიდად ROOH და წარმოქმნის ახალ რადიკალს.იწყება ჯაჭვური პროცესი. სწორედ ჯაჭვური რეაქციების ასეთ ტიპს უწოდებენ ნახშირწყალბადების თვითდაჟანგვის პროცესს ან თავისუფალ-რადიკალურ ჟანგვას [Эммануэль, 1965].

ოქსიდაციურ სტრესს საფუძვლად უდევს ცხიმოვანი მჟავების თავისუფალი რადიკალებით ჟანგვის პროცესი-ანუ „ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვა“. ამ ტერმინის

ქვეშ გულისხმობენ მემბრანაში ან უჯრედის სხვა რომელიმე ლიპიდშემცველ კომპონენტებში შემავალი ნახშირწყალბადების თვითდაჟანგვის პროცესს. დღეისათვის დამტკიცებულია, რომ ეს პროცესი იწყება ჯაჭვური რეაქციის ინიცირებით, რის შედეგადაც წარმოიქმნება სუპეროქსიდ-ანიონ და ჰიდროქსილის რადიკალები. თუ ეს რადიკალები წარმოიქმნა უჯრედის მემბრანის ახლოს, იწვევს ლიპიდების გვერდითი ჯაჭვების უჯერ ცხიმოვან მჟავებთან რეაგირებას და მემბრანაში ნახშირბადის თავისუფალი რადიკალების ფორმირებას, რომლებიც თავის მხრივ აგრძელებენ ჯაჭვურ რეაქციებს. ყველა რადიკალი არ აგრძელებს ჯაჭვურ რეაქციას, ზოგი მათგანი რეაგირებს ერთმანეთთან და წარმოქმნის არააქტიურ პროდუქტებს, რაც იწვევს ჯაჭვის გაწყვეტას. ჯაჭვის წყვეტას ასევე იწვევს Fe^{2+} ან ანტიოქსიდანტების მოქმედება.

ჰომეოსტაზის მდგომარეობამ, რომელიც ხასიათდება თავისუფალ- რადიკალური მოლეკულების შემცველობის გაზრდით, მიიღო სახელწოდება „ოქსიდაციური სტრესი“ [Droge, 2002].

ოქსიდაციური სტრესის მიზეზი შეიძლება იყოს თავისუფალი რადიკალების პროდუქციის გაზრდა და (ან) ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური სისტემის ეფექტურობის შემცირება. ოქსიდაციური სტრესი შეიძლება იყოს ლოკალური (ადგილობრივი ანთების) და გენერალიზებული (მაგ. რადიაციული გამოსხივებისას), ზომიერი (ცალკეული ბიომოლეკულების ნგრევა და მოდიფიკაცია) და ძლიერი (მომაკვდინებელი უჯრედებისა და უჯრედთა ჯგუფებისაც.) [Beckman, Ames, 1998]

თავისუფალ-რადიკალური მოლეკულების წარმოქმნის მიზეზები და მათი ძირითადი ტიპები

თავისუფალი რადიკალები შეიძლება წარმოიქმნას გარეგანი ფაქტორების მოქმედებით (რადიაცია, ჰიპერთერმია და ულტრაიისფერი გამოსხივება),

არასტაბილური მოლეკულების დაშლით (ლიპოპეროქსიდი და ჰიდროპეროქსიდი), შეიძლება გენერირდეს ორგანიზმში ქიმიური რეაქციის პროცესებში და წარმოიქმნას ბიოპოლიმერების მექანიკური რღვევის შედეგად.

წარმოდგენილ განხილვაში გადახედილი იქნება თავისუფალ-რადიკალური მოლეკულების მხოლოდ ის ძირითადი ტიპები, რომლებიც ასრულებენ გადამწყვეტ როლს ოქსიდაციური სტრესის წარმოქმნაში.

უჯრედში წარმოქმნილი რადიკალ-მოლეკულების ძირითად ტიპებად გვევლინება ჟანგბადის აქტიური ფორმები, ასევე აზოტის აქტიური ფორმები და მათი პროდუქტები [Beckman, Ames, 1998].

<u>ჟანგბადის აქტიურ ფორმას</u> მიეკუთვნება სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალი(O_2^{-1}), ჰიდროქსილის (OH’), პეროქსილის (ROO’) და ალკოქსილის(RO’) რადიკალები.

ჯაჭვური რეაქციების პროცესში წარმოიქმნება <u>ჟანგბადის აქტიური ფორმების პროდუქტები,</u> როგორებიცაა: ჰიდროპეროქსიდები (H_2O_2) და ლიპოპეროქსიდები (ROOH) [Girotti, 1998].

<u>აზოტის აქტიურ ფორმებს</u> მიეკუთნება აზოტის ოქსიდი (NO) და პეროქსინიტრიტი ($ONOO^-$).

უჯრედში არსებობს განსაკუთრებული ფერმენტული სისტემები, რომლებიც წარმოქმნიან სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალს, აზოტის ოქსიდს და წყალბადის პეროქსიდს. რადიკალ -მოლეკულების სხვა ტიპები წარმოიქმნებიან ჯაჭვური რეაქციების პროცესში.

მიტოქონდრიის კომპლექსი III (ციტოქრომ C) გვევლინება სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალის პირველად და მთავარ წყაროდ, რომელიც წარმოიქმნება ციტოქრომ C-ს ჟანგბადის ერთელექტრონიანი აღდგენის შედეგად [Zhao, Wang, Xu, 2003].

ორგანიზმში ჩასუნთქული (მოხვედრილი) ჟანგბადის 95% მიტოქონდრიებში ჟანგვითი ფოსფოლირილების პროცესში აღდგება წყლამდე. გამოთვლილია, რომ მიტოქონდრიებს შეუძლია შთანთქმული ჟანგბადის 2% გარდაქმნას სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალად [Droge, 2002] . დანარჩენი 3% ფერმენტული პროცესების შედეგად გარდაიქმნება მის აქტიურ ფორმებად, რომლებიც მაღალტოქსიკურია უჯრედებისათვის.

გარდა მიტოქონდრიული კომპლექსისა სუპეროქსიდ-ანიონ რადიკალის პოტენციურ წყაროდ ითვლება არახიდინიდ მჟავის მეტაბოლიზმის ფერმენტები (ლიპოოქსიგენაზა და ციკლოოქსიგენაზა) [Kontos et al., 1980], ქსანტინოქსიდაზები, NAD/NADPH ოქსიდაზები [Griendling, Sorescu, Ushio-Fukai, 2000], ციტოქრომ-p450 ოქსიდაზები [Cai, Harrison, 2000]. თითოეული ფერმენტული სისტემის წვლილი სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალის პროდუქციაში დამოკიდებულია ქსოვილის ტიპზე და უჯრედის მდგომარეობაზე. მაგ. ქსანტინოქსიდაზების ოჯახის წვლილი $O_2^{-\cdot}$-ს პროდუქციაში იგრძნობა მხოლოდ მოლიბდენის ნაკლებობის დროს, რომელიც წარმოადგენს ამ ფერმენტის კოფერმენტს [Sanders, Eisenthal, Harrison, 1997].

აზოტის ოქსიდის ძირითად წყაროდ ითვლება ფერმენტი ენდოთელური ნიტროოქსიდ-სინთაზა, რომელიც მიეკუთვნება ციტოქრომ p-450 ოქსიდაზების ოჯახს [Mc Hugh, Cheek, 1998]. ზოგიერთი პათოლოგიური მდგომარეობისას აზოტის ოქსიდის სინთაზა (NOS) ასევე იწყებს სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალის გენერირებას [Pou, et al., 1992].

თავისუფალი რადიკალების გენერაცია ხდება მთელ რიგ ბიოლოგიურ პროცესებში, კერძოდ ჰიდროფობური სუბსტრატების დაჟანგვით NADPH-ოქსიდორედუქტაზას მონაწილეობით [Morehouse, Mason, 1998] და არახიდინის მჟავის მეტაბოლიზმში [Kuhn, 1997]. სუნთქვით ჯაჭვში ელექტრონების უბიხინონზე გადასვლისას წარმოიქმნება მისი რადიკალი - ბენზოსემიხინონი.

ფაგოციტები და B-ლიმფოციტები წარმოქმნიან სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალს მემბრანული NAD-ოქსიდაზების საშუალებით და იყენებენ მათ უცხო

უჯრედების დასაშლელად [Babibor, 1999]. თავისუფალი რადიკალები წარმოიქმნებიან არა მარტო ფერმენტული კატალიზის მიზნით (სუბსტრატების დაჟანგვა), არამედ ისინი თამაშობენ მეორადი მესენჯერების როლს მთელი რიგი უჯრედშიგა სასიგნალო გზების აქტივაციაში [Droge, 2002]. მაგალითად, ჰიპოქსიის დროს მიტოქონდრიების მიერ სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალის წარმოქმნის შემცირება მაჩვენებელია უჯრედისათვის ჟანგბადის უკმარისობის და მისი მეტაბოლიზმის გარდაქმნის აუცილებლობისა [Vanden Hoek , Becker, 1998; Candel, Schumacker, 2000].

H_2O_2-ის ძირითად წყაროდ გვევლინება სუპეროქსიდ დისმუტაზა, რომელიც აკატალიზებს სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალის გარდაქმნას წყალბადის ზეჟანგად. წყალბადის ზეჟანგი წარმოადგენს უჯრედშიგა მესენჯერს. მისი კონცენტრაციის ცვლილება აისახება C პროტეინკინაზებისა და მიტოგენ-აქტივირებადი პროტეინკინაზების აქტიურობაზე [Abe et al, 1994]. წყალბადის ზეჟანგი გვევლინება გადამწყვეტ მოლეკულად აპოპტოზის პროცესში. H_2O_2-ის უჯრედშიგა კონცენტრაციის გაზრდა კრიტიკულ დონეზე მაღლა იწვევს უჯრედშიგა GSH/GSSG ჟანგვა-აღდგენითი პოტენციალის შემცირებას და იწვევს აპოპტოზს [Hoidal, 2001]. აუცილებელია აღინიშნოს, რომ ზეჟანგი Fe^{2+}, Cu^{+} იონების არსებობისას შეიძლება დაიშალოს, წარმოშობს რა საკმაოდ აქტიურ და საშიშ ჰიდროქსილის რადიკალს. რეაქციის ასეთმა ტიპმა მიიღო სახელწოდება „ფენტონის რეაქცია“ და დამახასიათებელია უჯრედის წყლიანი გარემოსთვის [Salonen, et al., 1997].

სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალს, აზოტის ოქსიდს და წყალბადის ზეჟანგს, არ შეუძლიათ რა მონაწილეობა მიიღონ ჯაჭვური რადიკალური რეაქციების ინიცირებაში, ამ გადმოსახედიდან არ წარმოადგენენ უჯრედისათვის მნიშვნელოვან საფრთხეს [Rice-Evance, Diplock, Symons, 1991]. უჯრედისათვის შედარებით აქტიური და დამანგრეველი თავისუფალი რადიკალების წყაროს წარმოადგენენ ლიპოპერეკისები, რომლებიც არიან არასტაბილური მოლეკულები და ინიციატორების (Fe^{2+}, Cu^{+} იონების) არსებობისას შეუძლით დაიშლონ და წარმოქმნან ჰიდროქსილის (OH') [Pinchuk, Schnitzer, Lichtenberg, 1998], პეროქსილის (ROO') და

ალკოქსილის (RO') რადიკალები [Kramer, Dickens, Weglicki, 1995]. ლიპოპეროქსიდების წარმოქმნის მექანიზმი მოქმედებაში რთავს ცხიმოვანი მჟავების უჯერ ნაწილებს ჰიდროქსილის რადიკალთან ან სინგლეტურ(გააქტივებულ) ჟანგბადთან. ნორმალურ პირობებში ზემოთ ჩამოთვლილი რადიკალები არ წარმოიქმნება, მაგრამ ზოგიერთი პათოლოგიური პროცესების მიმდინარეობისას მათი წარმოქმნა იზრდება, რასაც მოჰყვება ლიპიდების თავისუფალ-რადიკალური დაჟანგვის გააქტივება. [Girotti, 1998].

პეროქსინიტრიტი წარმოიქმნება აზოტის ოქსიდისა და სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალის ურთიერთქმედებით [Davis et al., 2001]. ის არ ინიცირებს ახალ ჯაჭვურ რეაქციებს, მაგრამ ფლობს მაღალ მოდიფიკაციურ აქტივობას [Arteel, Briviba, Sies, 1999].

თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნის კიდევ ერთ მექანიზმს წარმოადგენს ბიოპოლიმერების მექანიკური დაშლა. ქიმიაში დიდი ხანია ცნობილია ის ფაქტი, რომ ბმების (კავშირების) მექანიკური რღვევა ხდება ძირითადად ჰემოლიტური მექანიზმით, ანუ რღვევის ადგილზე რადიკალური ცენტრების წარმოქმნით. ორგანიზმში ბიომოლეკულების მექანიკური დაშლა მაღალი ინტენსივობით მიმდინარეობს. კერძოდ, არტერიული ჰიპერტონიისას მიმდინარეობს არტერიის კედლის რემოდელირება, რაც თანმხლებია კოლაგენური და ელასტინური ბოჭკოების რღვევისა [Taylor, 1998].

თავისუფალი რადიკალების დამაზიანებელი მოქმედების მექანიზმი

თავისუფალი რადიკალების ძირითადი დამაზიანებელი ეფექტი ვლინდება უჯრედის მემბრანის დაშლაში, ცილების [Berlett, Stadtman, 1997] და დნმ-ის [Croteau, Bohr, 1997] მოდიფიკაციაში. საერთო პათოლოგიურ პროცესში თავისუფალი

რადიკალების ჟანგვით გამოწვეული ცილებისა და დნმ-ის დაზიანების კვალი შესამჩნევი, და, სამწუხაროდ, ძირითადი ხდება იონიზირებელი გამოსხივების მაღალი დოზების დასხივებისას ცოცხალ ორგანიზმზე.

თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვითი რეაქციების შინაგანი მიზეზებით წარმოშობის შემთხვევაში ცილებისა და დნმ-ს დაზიანება პათოლოგიური პროცესის საწყის ეტაპზე მინიმალურია [Beckman, Ames, 1997].

თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვით (FRO) ყველაზე მეტად დაზიანებულია ფოსფოლიპიდები, რომლებიც შედიან უჯრედის მემბრანის შედგენილობაში. თავისუფალი რადიკალების ჟანგვით გამოწვეული მემბრანული დაზიანება დაკავშირებულია ფოსფოლიპიდების ცხიმოვანი მჟავების ნაწილებში ორმაგი ბმების არსებობასთან, გარემოს ერთგვაროვნებასთან და ლიპიდების ორმაგ შრეში ჟანგბადის მაღალ შემცველობასთან. მემბრანის ფოსფოლიპიდების ორმაგ შრეში გასვლისას თავისუფალი რადიკალები ინიცირებენ ნახშირწყალბადების თვითდაჟანგვის ჯაჭვურ რეაქციებს, რომლებშიც ერთვებიან ფოსფოლიპიდების ცხიმოვანი მჟავების კუდები, რის შედეგადაც ხდება მათი დაშლა [Эммануэль, 1965].

ლიპიდების ორმაგი შრის დაშლის მექანიზმი მთავრდება ჰიდროფობურ ზონაში პოლარული ჯგუფების (ლიპოპეროქსიდების, კეტონების, ალდეჰიდების) წარმოქმნით, რასაც შედეგად მოჰყვება ფოსფოლიპიდების ფრაგმენტაცია [Frey, Haupt, Alms, 2000]. ლიპიდების ორმაგ შრეში შემავალი ნახშირწალბადების თვითდაჟანგვის ჯაჭვურ რეაქციებში ასევე ერთვებიან ტრანსმემბრანული ცილების Na^{+}/K^{+} ატფ-აზა და Ca^{2}ატფ-ზის ჰიდროფობული ნაწილები, რაც იწვევს მათი ფუნქციონირების მოშლას [Kourie, 1998]. ეს ზრდის Ca^{2+}-ის იონების ნაკადს უჯრედში, რომელიც, თავის მხრივ, ააქტიურებს ფოსფოლიპაზას A_2, ასევე არახიდინის მჟავას გამოთავისუფლებას, რასაც შეიძლება მოჰყვეს უჯრედებისა და ქსოვილების ნეკროზი [Kavanagh, Kam, Lazaroids, 2001]. გარდა მემბრანებისა თავისუფალ-რადიკალური ოქსიდაციით (FRO) მნიშვნელოვნადაა დაზიანებული პლაზმის ლიპოპროტეინები. როგორც თვლიან, მათი ჟანგვითი მოდიფიკაცია არის მიზეზი ათეროსკლეროზის განვითარებისა [Salonen, 1997].

ანტიოქსიდანტური სისტემა

თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვის (FRO)-ს აქტივაცია in vivo ვერ აღწევს მნიშვნელოვან მასშტაბებს. ჯერ ერთი, ნორმალურ პირობებში თავისუფალი რადიკალების კონცენტრაცია იმყოფება უჯრედული სისტემების კონტროლის ქვეშ.

მეორე, უჯრედს და მთლიანად ორგანიზმს გააჩნია თავისუფალი რადიკალების ჟანგვისაგან დამცავი სისტემები.

არაუჯრედული დაცვის სისტემას მიეკუთვნება პლაზმის და უჯრედშორისი სითხის სხვადასხვა ბიომოლეკულები, რომელთა ამოცანაა შეაგროვოს თავისუფალი რადიკალების წარმომქმნელი მასტიმულირებელი რადიკალები და მოლეკულები (რკინისა და სპილენძის თავისუფალი იონები). ითვლება, რომ თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვისაგან (FRO) დამცავი ფერმენტული სისტემები არაუჯრედულ გარემოში არ არის. თუმცა არის მონაცემები, რომ ლიპოპროტეინებში შემავალი მაღალი სიმკვრივის ცილა Apo-A-I ხასიათდება პეროქსიდაზური აქტივობით [Mashima, Yamamoto, Yoshimura, 1998].

პლაზმაში შეიძლება გამოიყოს ორი დიდი ჯგუფი მოლეკულებისა, რომლებიც შედის ანტიოქსიდანტურ სისტემაში: საკუთრივ ანტიოქსიდანტები და მოლეკულები, რომლებიც ბოჭავენ რკინისა და სპილენძის იონებს.

ანტიოქსიდანტებად ითვლება დაბალმოლეკულური ნაერთები, რომელთაც შეუძლიათ შეწყვიტონ რადიკალების ჯაჭვური რეაქციები [Розанцев, Шолле, 1979]. ასეთი ნაერთები არიან წყალბადის ატომების დონორები თავდამსხმელი რადიკალებისათვის. გასცემენ რა წყალბადის ატომს, ანტიოქსიდანტები გარდაიქმნებიან სტაბილურ რადიკალებად. უკანასკნელი ან გამოიდევნება ორგანიზმიდან, ან აღდგება. ასე, რომ ასკორბატის რადიკალს უჯრედის შიგნით

შეუძლია ისევ გარდაიქმნას ასკორბატად. ამ დროს წყალბადის ატომის დონორად გვევლინება გლუტატიონი [Meister, 1994; May et al., 1998].

პლაზმაში არის რამდენიმე ბუნებრივი ანტიოქსიდანტი. მათ შორის შედარებით შესწავლილია ტოკოფეროლი [Brigelius-Flohe, Traber, 1999] და ასკორბატი [Meister, 1994]. მათი პლაზმური კონცენტრაციები ძალიან მცირეა, პლაზმაში ისინი ხვდებიან საკვებიდან და ადამიანის ორგანიზმში არ სინთეზირდებიან. ანტიოქსიდანტურ თვისებებს ფლობს ასევე ზოგიერთი ამინომჟავა და მათი წარმოებულები. მაგ. თიროზინისა და ტრიფტოფანის ნარჩენები ტრანსმემბრანულ ცილებში, [Moosman, Behl, 2000] აცეტილსეროტონინი [Wolfler, Abujia, 1999], ჰორმონი მელატონინი [Reiter, 2000], ასევე ზოგიერთი სტეროიდი [Mooradian, 1993] და ბილირუბინი [Neuzil, Stocker, 1994].

უნდა აღინიშნოს, რომ უჯრედშორის სითხეში თავისუფალი რადიკალებისა და ზეჟანგების კონცენტრაცია ძალიან დაბალია. ამიტომ მათი აღმოჩენა პლაზმაში ტექნიკურად ძალიან ძნელია. ძირითადად თავისუფალ-რადიკალურ ჟანგვით პროცესზე მსჯელობენ ჟანგვის მეორადი პროდუქტებით. ესენია: მალონოვის დიალდეჰიდი (MDA) [Nielsen et al., 1997], ჰიდროქსიალკენები, კარბონილის SH ჯგუფის ცილები, GSH/GSSG ურთიერთობა პლაზმაში [Jones, et al., 2002], დიენური კონიუგატები და იზოპროსტანოიდების კონცენტრაცია შარდში [Practico et al., 1998]. გარდა ამისა FRO-ს ინფორმაციული და ხშირად გამოყენებადი მაჩვენებელია MDA და 4-ჰიდროქსილალკენები [Nielsen et al., 1997].

ორგანიზმში თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვის (FRO)-ს პროცესების აქტივაცია ხშირად ლოკალურად მიმდინარეობს. მაგ., ათეროსკლეროზული ბალთების წარმოქმნისას შეიმჩნევა FRO-ს პროცესების ლოკალური აქტივაცია [Nielsen et al., 1994] . ასეთი აქტივაციის წყარო შეიძლება იყოს ანთება, რომელიც ყოველთვის უკავშირდება წყალბადის ზეჟანგის წარმოქმნას, მის დაშლას რკინის არსებობისას და ასევე სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალების გამოდინებას ნეიტროფილებიდან და მაკროფაგებიდან [Mizuto et al., 1996].

უჯრედშიგა ანტიოქსიდანტური სისტემის საფუძველს წარმოადგენს **ტრიპეპტიდ-გლუტადიონი [Meister, 1994], ანტიოქსიდანტები ასკორბატი** [May, 1999] და **უბიხინონი** [Crane, 2001], **ფერმენტები-გლუტატიონპეროქსიდაზა, გლუტადიონრედუქტაზა, სუპეროქსიდ-დისმუტაზა და კატალაზა** [Mates, Perez-Gomez, Nunez de Castro, 1999]. უჯრედის შიგნით ბრძოლა მიდის ლიპოპეროქსიდებსა და მაღალი კონცენტრაციის ჰიდროზეჟანგებს შორის ფერმენტების (გლუტატიონპეროქსიდაზა [Allen, Tresini, 2000], კატალაზას [Mates, Perez-Gomez, Nunez de Castro, 1999] და გლუტატიონ-S-ტრანსფერაზას [Awasthi, Zimniak, Singhal, Awasthi, 1995]) მონაწილეობით. **უჯრედშიგა ანტიოქსიდანტურ სისტემას** მიეკუთვნება ასევე ორი ცილა: **გლუტარედოქსინი და თირეოდოქსინი.** მათი როლი ორმაგია. მათი ძირითადი ფუნქციაა SH-ჯგუფის ცილების აღდგენა და მათი შენარჩუნება აღდგენილ მდგომარეობაში [Hoimgren, 1989].

თირეოდოქსინი და გლუტარედოქსინი კი შენარჩუნებულია აღდგენილ მდგომარეობაში SH დამოკიდებული გლუტარედოქსინრედუქტაზას და NAD-დამოკიდებული თირეოდოქსინრედუქტაზას მიერ. უკანასკნელი ასევე მონაწილეობს ასკორბატ-რადიკალის ასკორბატად აღდგენაში [May et al., 1998].

ძირითად ფუნქციასთან ერთად გლუტარედოქსინი და თირეოდოქსინი თამაშობენ არსებით როლს უჯრედშიგა რედოქს-პოტენციალის შენარჩუნებაში [Schafer, Buettner, 2001]. რედოქს-პოტენციალის მომატებისას ჟანგვითი ფოსფორილების ეფექტურობა მცირდება [Zhao, Wang, Xu, 2003]. გარდა ამისა რედოქს-პოტენციალი გავლენას ახდენს მთელი რიგი გენების ექსპრესიაზე [Schafer, Buettner, 2001; Kunsch, Medford, 1999]. მაგ. NF-κβ და AP-1 ტრანსკრიპციის ფაქტორების აქტივობა დაკავშირებულია რედოქს-პოტენციალის სიდიდეზე. უკანასკნელის ცვლილება აისახება გენების ექსპრესიაზე, რომელთა რეგულაციაშიც მონაწილეობენ ეს ფაქტორები [Manna, Zhang, Yan, 1998].

დღეისათვის უკვე აშკარაა, რომ ანტიოქსიდანტური დაცვის ფერმენტები მონაწილეობენ არა მხოლოდ თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვისაგან უჯრედის დაცვაში [Paolicchi, Dominichi, Pompella, 2002], არამედ მათი ფუნქციები

მნიშვნელოვნად დიდია და იქმნება წარმოდგენა იმის შესახებ, რომ ზეჟანგებისაგან დაცვა არ არის ერთადერთი ფუნქცია მოცემული ფერმენტებისა [Klatt, Lamas, 2000]. ასე რომ გარდა უჯრედშიგა პოტენციალის შენარჩუნებისა, გლუტატიონი და მასთან დაკავშირებული ფერმენტები მონაწილეობას იღებენ უჯრედული მეტაბოლიზმის რეგულაციაში, პროლიფერაციისა და გაყოფის პროცესებში [Irani, 2000].

ბუნებრივია ვიფიქროთ, რომ თავისუფალი რადიკალების კონცენტრაციის ცვლილებამ შეიძლება გამოიწვიოს უჯრედებისა და ქსოვილების მეტაბოლიზმის დარღვევა.

ეს პროცესები შეიძლება პირდაპირ არ იყოს დაკავშირებული რადიკალების ჯაჭვურ რეაქციებთან [Griendling, Sorescu, Lassegue, Usio-Fukai, 2000]. არსებობს მოსაზრება, რომ ზომიერი ოქსიდაციური სტრესის დროს თავისუფალი რადიკალების და მათი ჟანგვის პროდუქტების წვლილი პათოლოგიურ პროცესებში არის მათი ურთიერთქმედება უჯრედშიგა სასიგნალო სისტემებთან [Wolin, 2000]. მაგ., პეროქსინიტრიტს და სინგლეტურ ჟანგბადს, რეაგირებენ რა თიროზინისა და ტრიფტოფანის ნაწილებთან ცილებში, შეუძლიათ შეაფერხონ მათი ფოსფორილირება შესაბამისი თიროზინული და ტრიფტოფანული კინაზებით, რაც ხელს უშლის უჯრედშიგა სასიგნალო სისტემების ნორმალურ ფუნქციონირებას [Klotz, 2002]. ლიტერატურაში მკაფიოდ ისმება ტენდენცია პათოლოგიის განვითარებაში რადიკალებისა და ანტიოქსიდანტური სისტემების როლი შეფასდეს მათი შიგაუჯრედული რეგულაციის და გენების ექსპრესის პროცესებში მონაწილეობის პოზიციიდან [Allen, Tresini, 2000; Thannickal, Fanburg, 2000].

ასე რომ „ოქსიდაციური სტრესი“-ს მნიშვნელობამ ბოლო ათწლეულების განმავლობაში მნიშვნელოვანი ევოლუცია განიცადა. თუ 80-იანი წლების ბოლოს „ოქსიდაციური სტრესი“ ესმოდათ როგორც მხოლოდ თავისუფალი რადიკალების მიერ ბიომოლეკულების დაჟანგვის პროცესების აქტივაცია, უკანასკნელ წლებში თავისუფალ რადიკალებს ასევე განიხილავენ, როგორც უჯრედშიგა მესენჯრებს. ამასთან დაკავშირებით წარმოიშვა აუცილებლობა გადაეფასებინათ თავისუფალი რადიკალების როლი სხვადასხვა პათოლოგიური პროცესებისას.

2. ლოკალური და მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესი

უკანასკნელ ათწლეულებში მკვეთრათ გაიზარდა ჰიპერთერმიის გამოყენება ონკოლოგიურ კლინიკაში და შეიძლება უკვე დადასტურებულად ჩაითვალოს, რომ სხივური ან ქიმიოთერაპიის ჩატარებამდე ჰიპერთერმული (40-44^{0}C) ზემოქმედება მნიშვნელოვნად ზრდის, როგორც სხივურ, ისე ქიმიოთერაპიის ეფექტურობას და იძლევა მათი დოზირების პრინციპულად შემცირების საშუალებას (Van der Zee, 2002). გასაგებია, რომ ამ ფაქტის მნიშვნელობის გადაჭარბებით შეფასება ალბათ შეუძლებელია. ამასთან ერთად, ნორმალური და სიმსივნური უჯრედების განსხვავებული მახასიათებლებიდან გამომდინარე, აღნიშნულ ტემპერატურებზე შესაძლებელია ავთვისებიანი უჯრედების კვდომაც. ბიოლოგიურ ქსოვილთა უმეტესობა (ნერვული ქსოვილის გამოკლებით) ჰიპერთერმული ზემოქმედებისადმი საკმაოდ ტოლერანტურია და არ ზიანდება 44^{0}C-ზე უფრო მაღალ ტემპერატურაზეც კი (Fajardo, 1984). რაც შეეხება ცენტრალურ ნერვულ სისტემას, ამ მიმართებით ლიტერატურაში აღინიშნება პრინციპულად განსხვავებული მონაცემები. ტემპერატურული ზემოქმედების შედეგად ნერვულ ქსოვილში შეუქცევადი დაზიანებები იქნა გამოვლენილი 42-42.5^{0}C (Sminia et al., 1998), 43.1^{0}C (El-Sabban, Fahim, 1995), 43.9^{0}C (Fike et al., 1991). ამავე დროს, მაცუმიმ და თანამშრომლებმა (Matsumi et al., 1994) აჩვენეს, რომ მაიმუნებზე ჩატარებულ მწვავე ცდებში შეუქცევადი დაზიანებები არ ვლინდებოდა, როდესაც ნორმალური თავის ტვინის ქსოვილი განიცდიდა ზემოქმედებას 44^{0}C-ით, მაგრამ ქრონიკულ ცდებში იგივე ტემპერატურაზე (ჰიპერთერმული ზემოქმედებიდან 7 დღის შემდეგ) აღინიშნა კოაგულაციური ნეკროზის განვითარება. ავტორების აზრით, თავის ტვინის ქსოვილისთვის უვნებელი (არადამაზიანებელი) ჰიპერთერმული 60-წუთიანი ხანგრძლივობის ზემოქმედების ზედა ზღვარი არის 43^{0}C.

ერთ-ერთი ყველაზე მოგვიანო მიმოხილვა ცენტრალური ნერვული სისტემის ქსოვილზე ლოკალური ჰიპერთერმული ზემოქმედების ეფექტის შესახებ წარმოდგენილია ჰავემანის და სხვ. ნაშრომში (Haveman et al, 2005).

ი.ბერიტაშვილის ექპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრის თავის ტვინის სისხლის მიმოქცევის და მეტაბოლიზმის განყოფილებაში (სადაც სრულდებოდა წინამდებარე ნაშრომიც) 2009-2011 წლებში დადგენილ იქნა რომ, როგორც ლოკალური ჰიპერთერმიის პირობებში, ისე მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის დროს თავის ტვინის ნორმალურ (არასიმსივნურ) ქსოვილში შესაძლოა განვითარდეს შეუქცვადი დაზიანებები და ამ პროცესების განვითარებაში, როგორც გაირკვა, წამყვან როლს ასრულებს აზოტის ოქსიდი (Mitagvaria, Bicher, 2009; Bicher et al., 2009; Mitagvaria, Bicher et al., 2010).

აღნიშნულთან დაკავშირებით საჭიროა აღინიშნოს შემდეგი: აზოტის ოქსიდის (NO) უჯრედული ეფექტების უმრავლესობის გამოვლენა დამოკიდებულია NO-სა და O_2^--ის კონცენტრაციათა თანაფარდობაზე, ვინაიდან ხშირად აღინიშნება არა უშუალოდ აზოტის ოქსიდის, არამედ პეროქსინიტრიტის, ზემოქმედება, რომელიც ბევრად უფრო აქტიური და პოტენციურად უფრო ტოქსიური შენაერთია, ვიდრე ცალ-ცალკე აღებული NO და O_2^-. გარკვეულ პირობებში, მაგალითად, ციტოკინების მოქმედებისას, როდესაც უჯრედებში აქტიურად მიმდინარეობს თიოლების და რკინაგოგირდოვანი ცენტრების ჟანგვა, ჭარბობს აზოტის ოქსიდის ციტოტოქსიური მოქმედება. მაგრამ თუ შეიცვალა კონცენტრაციების ბალანსი, ანუ თუ აზოტის ოქსიდის კონცენტრაცია მნიშვნელოვნად აჭარბებს O_2^--ის კონცენტრაციას, მაშინ ხდება პეროქსინიტრიტის აღდგენა NO_2-მდე და ამ პირობებში NO მოქმედებს უკვე როგორც ანტიოქსიდანტი, რომელიც იცავს უჯრედებს ჟანგბადის აქტიური ფორმების ციტოტოქსიური მოქმედებისგან.

ცნობილია, რომ უჯრედში არსებობს აზოტის ოქსიდის სინთაზების (NOS) ჯგუფის ფერმენტები, რომლებიც შეიცავს ნეირონულ (nNOS), ენდოთელურ (eNOS) და ინდუციბელურ (iNOS) იზოფორმებს. ისინი ერთმანეთისაგან განსხვავდება

მოლეკულური, ბიოქიმიური და ფარმაკოლოგიური თავისებურებებით (Knowles and Moncada, 1994).

ფიზიოლოგიურ პირობებში, როგორც ცნობილია ენდოთელიუმში წარმოქმნილი NO მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სისხლის მიმოქცევის რეგულაციაში და წარმოადგენს სისხლძარღვების ენდოთელიუმ-დამოკიდებული რელაქსაციის განმახორციელებელ ფაქტორს. eNOS-ის მიერ წარმოქმნილი NO, ტვინის ტრავმული დაზიანებისა და ფოკალური ისქემიისას, სისხლის ნაკადის გაზრდის შედეგად იწვევს მდგომარეობის გაუმჯობესებას (De Witt et al., 2007). პირიქით, nNOS–ის მიერ წარმოებულმა აზოტის ოქსიდმა ისქემიური ან ტოქსიკური ინსულტის შემდეგ, შეიძლება გამოიწვიოს ნეირონების დაზიანება (Shulz et al., 2005).

iNOS-ის აქტივაციის შედეგად პროდუცირებული აზოტის ოქსიდიც ავლენს არაერთგვაროვან ეფექტებს. მაგალითად თუ აქტივაცია მოხდა იშემიის შედეგად, NO ავლენს ტოქსიურ თვისებებს, სავარაუდოდ, პეროქსინიტრიტის და მისი მეტაბოლიტების ტოქსიურობის გამო. ამის საწინააღმდეგოდ ექსპერიმენტები ალერგიული ენცეფალიტების იმუნოდამოკიდებული დაზიანების და ცნს-ის ინფექციების მოდელზე მეტყველებენ iNOS-ის პროტექტორული როლის შესახებაც (Haveman et al, 2005).

ი. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ცენტრის ზემოხსენებულ კვლევებში გამოყენებული იყო აზოტის ოქსიდის სინთაზას ე.წ. არასელექციური ინჰიბიტორი (ნიტრო-L-არგინინ მეთილური ეთერი - L-NAME), რომელიც აინჰიბირებს აზოტის ოქსიდის სინთაზას ყველა სახის იზოფორმას (ენდოთელურს, ნეირონულს და ინდუციბელურს), რამაც საშუალება მისცა მკვლევარებს დაედგინათ ზოგადად აზოტის ოქსიდის როლი თავის ტვინის ნორმალურ ქსოვილში ჰიპერთერმული ზემოქმედებით გამოწვეულ დაზიანებებში, მაგრამ საჭიროდ და აუცილებლად მიგვაჩნია შესწავლილ იქნას აგრეთვე მისი ცალკეული იზოფორმების აქტივაციის (ან ინჰიბირების) როლი, გამოვლენილი ფიზიოლოგიური და მორფოლოგიური ცვლილებების განვითარებაში, რაც საშუალებას მოგვცემს ვიმსჯელოთ ამ პროცესების წარმართველი მექანიზმების ფუნქციონირების თავისებურებებზე.

ცნობილია, რომ ჰიპერთერმიით ინდუცირებული დაზიანებები ნერვულ ქსოვილში ძირითადად განპირობებულია არტერიოლურ სისტემაში განვითარებული თრომბოზებით. როგორც ვიცით, მიკროცირკულაცია თავის მხრივ ბევრად არის დამოკიდებული სისხლის რეოლოგიური მაჩვენებლების მდგომარეობაზე. ერთ-ერთი ასეთი მნიშვნელოვანი რეოლოგიური მაჩვენებელი არის სისხლის სიბლანტე, რომელიც თავის მხრივ, გარდა ტემპერატურისა, დამოკიდებულია ერითროციტების აგრეგადობაზე, დეფორმადობაზე, სისხლის ჰემატოკრიტზე და სხვ. თუ რაიმე მიზეზის გამო გაიზარდა ან ჰემატოკრიტი, ან ფიბრინოგენი, ან იმუნოგლობულინი, ან წარმოიქმნა ჰიპოთერმული მდგომარეობა, ან გაძლიერდა ერითროციტების აგრეგაცია, ან შეიცვალა მათი დეფორმადობის მაჩვენებელი, ან თუ ეს ყველაფერი ერთდროულად განვითარდა, ადგილი ექნება სისხლის ჰიპერსიბლანტეს. გაზრდილი სიბლანტე კი ანელებს სისხლის ნაკადის სიჩქარეს, იწვევს მისი შემადგენლების სტაგნაციას და ვითარდება იშემია. ადგილობრივი სისხლის ნაკადის ინტენსივობის და ჟანგბადის მოხმარების დაქვეითება აღწერილია ასაკოვან ადამიანებში (საშუალოდ 66,6+/-4.6 წელი), რომლებსაც სხვადასხვა სახის პოლიციტემიისა და ერითროციტოზის შედეგად გაზრდილი აქვთ სისხლის ნაკადის სიბლანტე. (Shikatura et al., 1993).

გასათვალისწინებელია აგრეთვე პლაზმის სიბლანტე. სპეციალურ კვლევაში, რომელიც მიეძღვნა პლაზმის სიბლანტისა და თავის ტვინის ადგილობრივი სისხლის ნაკადის ურთიერთობის ანალიზს (Tomiyama et al., 2000) ნაჩვენებია, რომ სისხლის ნაკადის ინტენსივობა უფრო მეტად არის დამოკიდებული არა მთლიანი სისხლის, არამედ პლაზმის სიბლანტეზე. ავტორები ამტკიცებენ, რომ სწორედ პლაზმის სიბლანტე არის თავის ტვინის სისხლის ნაკადის ინტენსივობის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი მაკონტროლებელი ფაქტორი.

ჩვენთვის ხელმისაწვდომ ლიტერატურაში ჩვენ ვერ ვნახეთ ნაშრომები, რომლებშიც შესწავლილი, ან შედარებული იქნებოდა ჰიპერთერმიით ინდუცირებული თავის ტვინის ქსოვილის რაიმე სახის დაზიანება სისხლის განსხვავებული რეოლოგიური მაჩვენებლების პირობებში. ასევე, სამწუხაროდ, არც

იმის შესახებ არის მონაცემები, რომ ონკოლოგიურ კლინიკებში, სადაც უკვე უაღრესად ინტენსიურად გამოიყენება ჰიპერთერმული მკურნალობა, მისი დაწყების წინ ტარდებოდეს სისხლის რეოლოგიური მაჩვენებლების ანალიზი და მიღებული შედეგების მიხედვით ხდებოდეს ჰიპერთერმული ზემოქმედების შესაბამისი კორექცია.

კვლავ დავუბრუნდეთ ოქსიდაციური სტრესის პრობლემას, რომელიც ინტენსიურად შეისწავლება დაწყებული გასული საუკუნის სამოციანი წლებიდან და მისმა აქტუალობამ, შეიძლება ითქვას, რომ დღეისათვის პიკს მიაღწია.

ალბათ რთულია მოინახოს რომელიმე პათოლოგიური მდგომარეობა, რომელსაც თან არ სდევდეს, ან რომლის განვითარებაში არ იყოს ჩართული ეს მოვლენა - ნეიროდეგენერაციული დარღვევები, სიმსივნური დაავადებები, იშემიური კასკადის განვითარება, პარკინსონის და ალცჰაიმერის დაავადებები და სხვ. [Ramalingam, Kim, 2012; Nunomura et al., 2005; Halliwell, Barry, 2007; Valko et al., 2007; Singh et al., 1995}.

დადგენილია, რომ ჰიპერთერმული ზემოქმედებაც აგრეთვე დაკავშირებულია უჯრედებში ოქსიდაციური სტრესის განვითარებასთან [Finkel, Holbrook, 2000].

თავისი არსით ოქსიდაციური სტრესი არის თავისუფალი რადიკალების მასიური წარმოქმნა [Yoshikawa, Naito. 2002]. ამ პროცესის ყველა შესაძლო გამშვები მექანიზმი ბოლომდე შესწავლილი არ არის, თუმც ზოგიერთი მათგანი, შეიძლება ითქვას, რომ ცნობილია. მაგალითად, ორგანიზმის ინფიცირების პირობებში მიკროორგანიზმების მოსასპობად განვითარებული იმუნური პასუხი წარმოადგენს ფაგოციტებიდან უძლიერესი ოქსიდანტის - წყალბადის ზეჟანგის „გამოტყორცნას“. ცნობილია აგრეთვე, რომ ოქსიდაციური სტრესისადმი რეზისტენტობის მატება ასოცირდება სიცოცხლის ხანგრძლივობასთან [Larsen, 1993]. კერძოდ, დადგენილია, რომ დაბალი დოზების ოქსიდაციური სტრესი, ინდუცირებული, მაგალითად, **სითბური შოკით,** ანელებს დაბერების პროცესს [Kurapti et al., 2000, Ristow, Schmeisser, 2011]. ფაქტიურად აქ ადგილი აქვს ისეთ მოვლენას, როგორიცაა „ჰორმეზისი“. ეს

ტერმინი შემოვიდა ძველი ბერძნულიდან და ნიშნავს „მოძრაობაში მოყვანას, წაქეზებას, დაჩქარებას“. ბიომედიცინის თვალსაზრისით ჰორმეზისით აღწერენ ისეთ მოვლენას, როდესაც დაბალი დოზის ტოქსინების ან სხვა სტრესოგენული ფაქტორების საპასუხოდ ორგანიზმში ვითარდება ბიოლოგიურად დადებითი რეაქცია. იგულისხმება ადაპტური სტრეს-რეაქცია, რომელიც უზრუნველყოფს უჯრედების მდგრადობას ამ რეაქციის მასტიმულირებელი აგენტის უფრო ძლიერი (დამღუპველი) დოზებისადმი.

უკანასკნელი წლების განმავლობაში ინტერესი ჰორმეზისის მოვლენისადმი უაღრესად გაიზარდა [Calabrese et al., 2010; Bruchey, Gonzales-Lima, 2008], ვინაიდან სტრესი შეიძლება იყოს გამოწვეული როგორც ფიზიკური, ისე ქიმიური და ფსიქოლოგიური ფაქტორებით. დღეისთვის უკვე შეისწავლიან რადიაციულ ჰორმეზისსაც, ანუ დაბალი დოზებით დასხივების დამცველ ეფექტებს [Jiuliano, Watson, 2012].

ჩვენი კვლევის ერთ-ერთ მიზანს წარმოადგენდა ვირთაგვებზე ცდებში შეგვესწავლა ორი განსხვავებული მეთოდით (მთელი სხეული ჰიპერთერმიით და წყალბადის ზეჟანგით) გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესის გავლენა ცხოველთა ქცევაზე და ამ დროს ჰორმეზისის ფენომენის აღმოცენების შესაძლებლობა და მისი როლი ცხოველთა ქცევის ცვლილებებში.

ამ ორი მეთოდის შერჩევა ეფუძნებოდა იმ მოსაზრებებს, რომ, როგორც ჰიპერთერმიას, ისე წყალბადის ზეჟანგს ორგანიზმი იყენებს დაცვითი რეაქციების განვითარებისას მრავალი პათოლოგიური პროცესის დროს. ამასთან ერთად, ჰიპერთერმული ზემოქმედება ფართოდ გამოიყენება ონკოლოგიურ კლინიკაში, როგორც დამოუკიდებელად, ისე (უმეტესწილად)სხივურ და ქიმიოთერაპიასთან ერთად კომბინაციაში. ამასთან დაკავშირებით საჭიროდ მიგვაჩნია დამატებით აღვნიშნოთ შემდეგი.

ჰიპერთერმია მწვავე მდგომარეობაა, რომელიც წარმოიშობა, როდესაც სხეული გამოიმუშავებს, ან შთანთქავს იმაზე მეტ სითბოს, ვიდრე მოიხმარს. ეს ჩვეულებრივ

გამოწვეულია მაღალი ტემპერატურის ხანგრძლივი ზემოქმედების შედეგად. საბოლოოდ სხეულის სითბოს მარეგულირებელი მექანიზმები გადაიტვირთება და ეფექტურად ვერ უმკლავდება ცხელებას, რაც იწვევს სხეულის ტემპერატურის არაკონტროლირებად მატებას.

ჰიპერთერმიის შესაძლებლობა ავთვისებიან სიმსივნეებზე რადიაციული ეფექტის გაზრდის მიზნით პირველად აღწერილი იყო 1910 წელს. ეს უკვე კარგად ცნობილი და გამოყენებული მეთოდი ხელახლა იქნა აღმოჩენილი ე.წ. "მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის“ სახელწოდებით 1960-იანი წლების დასაწყისში.

ნაჩვენებია, რომ ციტოსტატიკური პრეპარატი უფრო აგრესიულად მოქმედებს 40^0 C -ზე მაღალი ტემპერატურის შემთხვევაში, ვიდრე სხეულის ნორმალური ტემპერატურის პირობებში.

კლინიკებში გამოიყენება ჰიპერთერმული ზემოქმედების სამი სახეობა:

1. ლოკალური ჰიპერთერმია - ლოკალურად შემოსაზღვრული და ადვილად შესამჩნევი სიმსივნეების დროს (მაგალითად, კანის კიბოს, ძუძუს რეკურენტული კიბოს, ანდა თავისა და კისრის არაოპერირებადი სიმსივნეების დროს).

2. რეგიონული, სიღრმისეული ჰიპერთერმია - გამოიყენება ღრმად ლოკალიზებული ანდა დიდი ზომის სიმსივნეების დროს (სწორი ნაწლავის ან შარდის ბუშტის კიბო, მაღალი რისკის მქონე რბილი ქსოვილების სარკომა, საშვილოსნოს ყელის, ანდა პანკრეასის სიმსივნეების დროს).

3. მთელი სხეულის ჰიპერთერმია კი გულისხმობს სითბოს მთელ სხეულში განაწილებას და უპირატესად მძიმე შემთხვევების დროს გამოიყენება, როდესაც ადგილი აქვს მეტასტაზებსა და სისტემურ მალიგნიზაციას.

ჰიპერთერმია, როგორც უკვე აღინიშნა, თითქმის ყოველთვის გამოიყენება კიბოს მკურნალობის სხვადასხვა ფორმებთან ერთად, როგორიცაა სხივური თერაპია და ქიმიოთერაპია. ჰიპერთერმიამ შეიძლება გარკვეული კიბოს უჯრედები უფრო მგრძნობიარე გახადოს რადიაციის მიმართ ან ზიანი მიაყენოს სხვა კიბოს უჯრედებს,

რომლებსაც რადიაცია ვერ აზიანებს [Hildebrandt et al., 2002]. მას ასევე შეუძლია გაზარდოს ეფექტი ზოგიერთი ანტისიმსივნური პრეპარატისა, რომელიც თავის მხრივ ზრდის მკურნალობის ეფექტს - ე.წ. ჰიპერთერმიის სინერგეტიკული ეფექტი [Schildkopf et al., 2010]. აღმოჩნდა, რომ ციტოსტატიკური პრეპარატები აშკარად მოქმედებს უფრო აგრესიულად 40 ° C -ზე მეტ ტემპერატურაზე, ვიდრე სხეულის ნორმალური ტემპერატურის ფარგლებში.

როგორც უკვე აღინიშნა ამ ნაშრომის შესავალში, კარგად არის ცნობილი, რომ უმეტესობა ბიოლოგიური ქსოვილისა, გარდა ცენტრალური ნერვულისა, მდგრადია ჰიპერთერმული ზემოქმედების მიმართ და შეიძლება გადარჩეს 44 ^{0}C ტემპერატურაზეც. რაც შეეხება ცენტრალურ ნერვულ სისტემას (ცნს), არსებობს მნიშვნელოვანი განსხვავება გამოქვეყნებულ მონაცემებში ერთი და იგივე ტემპერატურით გამოწვეულ შეუქცევად ზიანთან დაკავშირებით [Sminia et al., 1994; Matsumi et al., 1994].

მრავალწლიანი კვლევის ანალიზმა აჩვენა, რომ ცნს-ში ლოკალური ჰიპერთერმიით (41 ^{0}C) გამოწვეული ზიანი, როგორც უკვე აღინიშნა, დიდწილად განპირობებულია ცერებრული არტერიული სისხლძარღვების თრომბოზით და კონსტრიქციით, რაც იწვევს კარგად გამოხატულ მორფოლოგიურ ცვლილებებს ტვინის ქსოვილში [Mitagvaria et al., 2016]. მოვლენების ასეთი განვითარება მისაღებია სიმსივნური ქსოვილისათვის, მაგრამ სავსებით მიუღებელია ნორმალური ქსოვილისათვის. ჩვენთვის უცნობია, თუ როგორია ჰიპერთერმული ზეგავლენა (განსაკუთრებით იმ შემთხვევაში, თუ მთელი სხეულის ჰიპერთერმიაა) ტვინის ფუნქციებზე, მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებზე და რა გავლენა აქვს სისხლის რეოლოგიურ თვისებებზე. მაგრამ, რაც ჩვენ ზუსტად ვიცით, არის ის, რომ ჰიპერთერმია იწვევს ინდუცირებული აზოტის ოქსიდის სინთაზას (iNOS) გააქტიურებას, რომელიც **წარმოშობს ოქსიდაციურ სტრესს** [Grasso et al., 2003].

ყოველივე ზემოაღნიშნულის გათვალისწინებით, ჩვენ ჩავთვალეთ, რომ დასწავლისა და მეხსიერების პროცესებზე მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის ეფექტის შესწავლა აზოტის ოქსიდის სხვადასხვა სინთაზების (NOS)(სელექციური და

არასელექციური)ინჰიბირების ფონზე არამარტო მოგვცემდა შესაძლებლობას გამოვლენილიყო თავის ტვინის ფუნქციების შესაძლო დარღვევები ოქსიდაციური სტრესის პირობებში, არამედ განისაზღვრებოდა ამ დარღვევების ფიზიოლოგიური მექანიზმები და ამასთან ერთად ზოგიერთი უცნობი, როგორც სამკურნალო, ისე საზიანო ასპექტი.

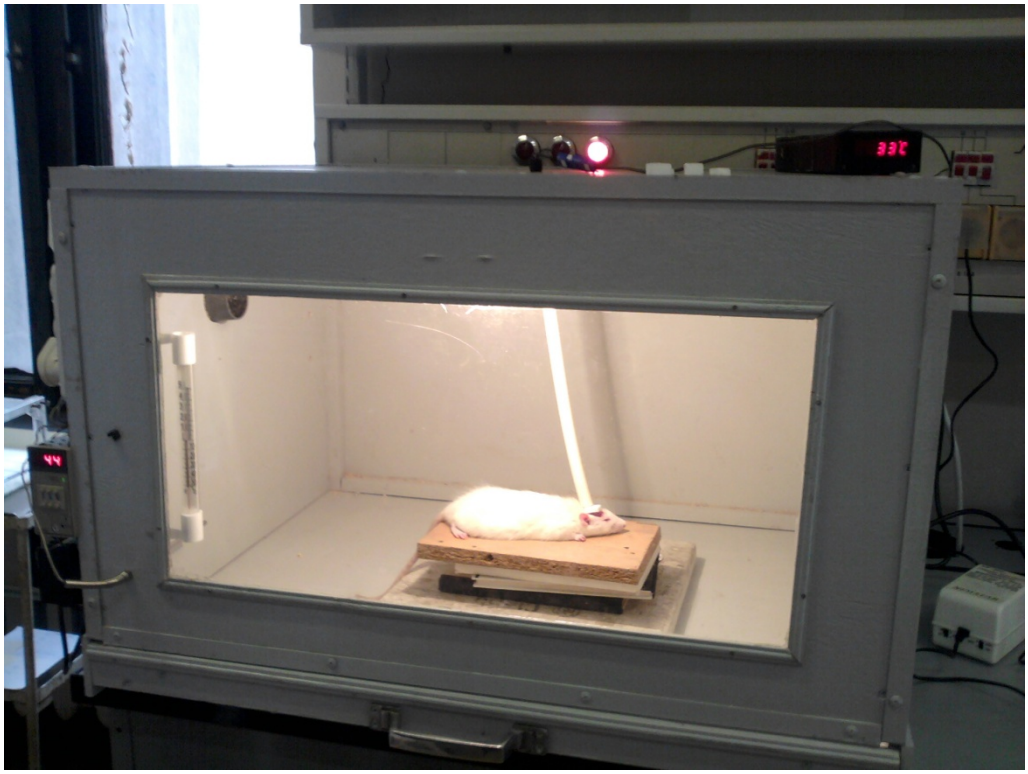
თავი მეორე

კვლევის მეთოდოლოგია,მასალა და გამოყენებული მეთოდები

მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესით გამოწვეული ქცევითი ცლილებების კვლევა

ცდების სერიები ჩატარდა თეთრი ლაბორატორიული ვირთაგვების ჯგუფებზე (მათი რაოდენობა, წონა და სქესი მითითებულია მომდევნო თავში ცალკეული ცდების აღწერისას).

ცხოველები თავსდებოდა სპეციალურ ჰიპერთერმულ კაბინაში, სადაც მათ არ ეზღუდებოდათ მოძრაობა (გარდა იმ შემთხვევებისა, როდესაც ტემპერატურის დონე იზომებოდა თავის ტვინის ქსოვილში).



სურ.1 თეთრი ვირთაგვა ჰიპერთერმულ კაბინაში, რომელშიც ექსპერიმენტისთვის სასურველი ტემპერატურა რეგულირდება ავტომატურად. თერმოწყვილით იზომება ტემპერატურა თავის ტვინის ქსოვილში.

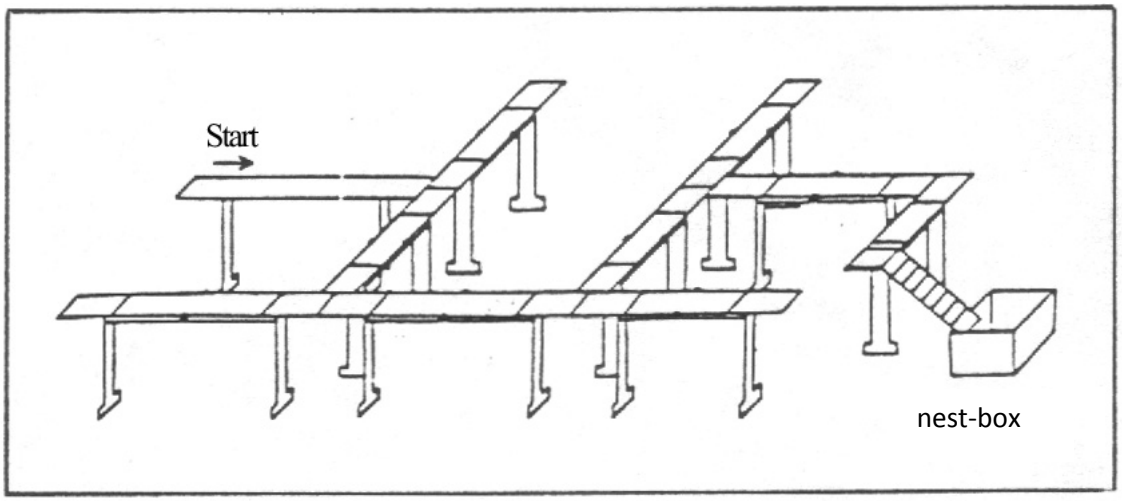
ცხოველთა ჯგუფი (არაუმეტეს 6-სა) თავსდებოდა ასეთ კაბინაში, რომელშიც ტემპერატურა აყვანილი იყო ექსპერიმენტისთვის დაგეგმილ რომელიმე სასურველ დონეზე და ცხოველები საჭირო დროის განმავლობაში იმყოფებოდნენ მისი ზემოქმედების ქვეშ. მათი სხეულის ტემპერატურა პერიოდულად იზომებოდა თერმოწყვილებით რექტალურად. გარკვეულ ცდებში, როგორც უკვე აღინიშნა, იზომებოდა აგრეთვე ტემპერატურის ცვლილება თავის ტვინის ქსოვილშიც (ასეთ შემთხვევაში ცხოველები იმყოფებოდნენ მსუბუქი ნარკოზის პირობებში - იხ. სურ.1).

განვიხილოთ ცდის ჩატარების პარადიგმა, როდესაც ჰიპერთერმულ კაბინაში ფიქსირებული იყო რომელიმე სასურველი დონის ტემპერატურა, ვინაიდან, როგორც უკვე აღინიშნა, ტემპერატურაზე დამოკიდებულებით ცდის პარადიგმა არ იცვლებოდა.

ცდების პირველი სერია - მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესის ეფექტი **ცხოველთა მეხსიერებაზე** და **სისხლის რეოლოგიურ თვისებებზე.**

1. სხვადასხვა ტემპერატურისა და ხანგრძლივობის ჰიპერთერმული ექსპოზიციის ჩატარებამდე ვირთაგვების ჯგუფი სწავლობდა მრავალსვლიან ლაბირინთში ოპტიმალური ტრაექტორიით უშეცდომოდ გავლას. დასწავლის პროცესი გრძელდებოდა ქცევის ავტომატიზირებულ განხორციელებამდე (მანამ, სანამ ცხოველი სასტარტო პლატფორმიდან ბუდე-ყუთამდე არ აითვისებდა უშეცდომო გავლას . (შეცდომაში იგულისხმება გადახრა ოპტიმალური ტრაექტორიიდან)).

მრავალსვლიანი ლაბირინთის კონსტრუქცია მოცემულია სურათზე 2.



სურათი 2. მრავალსვლიანი, ამაღლებული ლაბირინთის კონსტრუქცია

იგი შედგება 30 სანტიმეტრამდე ამაღლებული ორგანული მინისგან დამზადებული პლატფორმებისაგან. მისი კონსტრუქცია (მოძრაობის განსხვავებული ტრაექტორიის შესაქმნელად და, შესაბამისად, საჭიროების შემთხვევაში, გადასწავლის ტესტის ჩატარებისთვის) იოლად ხდება პლატფორმების გადაადგილებით.

ქცევითი ცდების ჩატარებამდე ცხოველების შერჩეული ჯგუფი რამდენიმე დღის განმავლობაში იმყოფებოდა ბუდე-ყუთში. ლაბირინთში მოძრაობის დაწყება და ბუდე-ყუთში გზის გაკვლევა არ იყო მოტივირებული საკვების ან სასმელი წყლის მიღებით, არამედ განპირობებული იყო მხოლოდ არაეთოლოგიური პირობებიდან თავის დაღწევის მიზნით.

2. სისხლის რეოლოგიური თვისებების (სისხლის შეფარდებითი სიბლანტე და ერითროციტების აგრეგადობა) განსაზღვრის მიზნით ცდების ამ სერიის ცხოველთა ჯგუფებიდან, რამოდენიმე ვირთაგვიდან ვიღებდით სისხლის სინჯებს.

3. ლაბირინთში დასწავლის პროცესის და ავტომატიზირებული ქცევის გამომუშავების დასრულების შემდეგ ყოველი ცხოველი გადიოდა მთელი სხეულის ჰიპერთერმულ ექსპოზიციას (მაგალითად 38^0C, ან 39^0C ან 40^0C.).

4. ცხოველთა მეხსიერებაზე მოცემული ტემპერატურით მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის შესაძლო მოქმედების განსაზღვრის მიზნით ჰიპერთერმული

ექსპოზიციის მიღებიდან ერთი საათის შემდეგ ცხოველს უტარდებოდა რეტესტირება მრავალსვლიან ლაბირინთში, რომელსაც იგი ჰიპერთერმულ ექსპოზიციამდე გადიოდა უშეცდომოთ და ავტომატიზირებულად რამოდენიმე წამის განმავლობაში. რეტესტირებისას ხდებოდა დაშვებული შეცდომების რაოდენობის და მთელი ლაბირინთის გავლის დროის აღრიცხვა.

5. მთელი სხეული ჰიპერთერმიის ჩატარებიდან მეორე დღეს, ლაბირინთული ტესტების დასრულების შემდეგ რამდენიმე ცხოველიდან კვლავ ვიღებდით სისხლის სინჯებს (სისხლის რეოლოგიური მაჩვენებლების განსაზღვრის მიზნით). ამით ვადგენდით მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით გამოწვეული სისხლის რეოლოგიური თვისებების შესაძლო ცვლილებების არსებობას.

ჩამოთვლილი პროცედურების ციკლი მეორდებოდა ჰიპერთერმული ზემოქმედების ყოველი ტემპერატურული ზემოქმედების რეჟიმის პირობებში (რა თქმა უნდა ცხოველთა სხვა ექსპერიმენტულ ჯგუფებზე).

ცდების მეორე სერია - მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესის ეფექტი **ცხოველთა დასწავლის პროცესზე** (ცდების ამ სერიაში სისხლის რეოლოგიური თვისებების ანალიზი არ ჩატარებულა, რადგან ცდების პირველ სერიაში იგივე ტემპერატურულ რეჟიმებში ეს მონაცემები უკვე დადგენილი იყო).

განსხვავებით პირველი სერიის ცდებიდან ცხოველები ამ სერიაში ჯერ იღებდნენ ჰიპერთერმულ ზემოქმედებას და მეორე დღიდან დაწყებული გადიოდნენ ლაბირინთულ ტესტებს მისი ოპტიმალური ტრაექტორიით გავლის დასწავლაზე. ამ სერიაშიც გამოყენებული იყო მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის ყველა ტემპერატურული რეჟიმი, როგორც ექსპოზიციის ხანგრძლივობით, ისე ტემპერატურის დონეებით.

პირველი და მეორე სერიის ცდებში მიღებული შედეგების შედარებითი ანალიზი საშუალებას გვაძლევდა დაგვედგინა მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის ეფექტი ცხოველებში დასწავლის პროცესის მიმდინარეობაზე.

კვლევის შემდგომი სტრატეგია მოიცავდა აზოტის ოქსიდის და სისხლის რეოლოგიური თვისებების როლის გარკვევას ცხოველთა ქცევაში მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით გამოწვეულ ცვლილებებში.

ამ მიზნით ყველა ზემოთ აღწერილ ექსპერიმენტულ პირობებში (იგივე ტემპერატურული რეჟიმებით) ცდები ტარდებოდა შემდეგი ნაწილობრივი ცვლილებების ფონზე (ანუ ცდების დაწყებამდე 15-20 წუთით ადრე ცხოველებზე ვახდენდით შემდეგ ზემოქმედებებს:

1. აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) არასელექციური ინჰიბირება, გამოწვეული ნიტრო - L -არგინინ მეთილის ეთერით (L-NAME).

2. ინდუციბელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას (iNOS) სელექციური ინჰიბირება ამინოგუანიდინით.

3.აზოტის ოქსიდის სინთაზას წინასწარი, ნიტრო-L-არგინინ-მეთილის ეთერით არასელექციური ინჰიბირების და აზოტის ოქსიდის დონორის L-არგინინის კომბინირებული მოქმედება.

ყველა აღნიშნული პრეპარატის გამოყენებული დოზები და შეყვანის მეთოდები აღწერილია მომდევნო თავის (მიღებული შედეგები) შესაბამის სექციებში.

წყალბადის პეროქსიდით ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესით გამოწვეული ქცევითი ცლილებების კვლევა

ცდები ამ სერიაშიც ტარდებოდა თეთრი ლაბორატორიული ვირთაგვების საკონტროლო (12 ცხოველი) და 2 ექსპერიმენტულ ჯგუფზე: შესაბამისად (18 ცხოველი) და (12 ცხოველი).

წყალბადის ზეჟანგით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესის **ექსპერიმენტული მოდელის** სახით ჩვენ გამოვიყენეთ მისი 0.1 % და 0.2% წყალხსნარის მიცემა

ცხოველებისათვის სასმელი წყლის მაგივრად. ამ ხსნარებს ცხოველების ორი ჯგუფი (პირველი - 0.1% ხსნარს, ხოლო მეორე - 0.2%) იღებდა 25 დღის განმავლობაში ქცევითი ცდების დაწყებამდე და განაგრძობდა მიღებას ცდების დასრულებამდე.

ამ შემთხვევაშიც **ქცევითი ცდები** ტარდებოდა მრავალსვლიანი ლაბირინთის გამოყენებით. საჭიროდ ჩავთვალეთ აგრეთვე შეგვემოწმებინა **სისხლის რეოლოგიური თვისებები** - ხომ არ იწვევდა წყალბადის ზეჟანგის მიღება ამ მაჩვენებლების რაიმე სახის დარღვევას. კერძოდ, ცდების დასასრულს ექსპერიმენტული ცხოველების სისხლში შემოწმებული იყო ერითროციტების აგრეგადობის ინდექსი.

დასწავლისა და მეხსიერების პროცესების ქცევითი შესწავლა.

საჭიროდ მიგვაჩნია უფრო დეტალურად დავასაბუთოთ დასმული ამოცანების გადაწყვეტის მიზნით ჩვენს მიერ გამოყენებული მრავალსვლიანი ლაბირინთული ტესტების ადეკვატურობა.

სხვადასხვა ლაბირინთული მეთოდის გამოყენება ქცევით ექსპერიმენტებში დასწავლისა და მეხსიერების პროცესების ანალიზის თვალსაზრისით დაიწყო ჯერ კიდევ მეოცე საუკუნის დასაწყისში და გრძელდება დღემდე. ასეთი ტიპის ექსპერიმენტებში გამოიყენება მრავალნაირი კონსტრუქციის ლაბირინთი და მათ შორის ყველაზე მოხერხებულ და მარტივ კონსტრუქციად ჩვენ მიგვაჩნია მრავალსვლიანი ლაბირინთი, რომლის კონსტრუქცია მოტანილია სურ.1-ზე. ამის მიზეზი გახლავთ ის, რომ იოლად და ნებისმიერად არის შესაძლებელი შეიცვალოს მისი კონფიგურაცია - გართულდეს ან გაიოლდეს ცხოველების წინაშე დასმული ამოცანა, რაც საშუალებას იძლევა დავაკვირდეთ ცხოველთა ქცევას განსხვავებულ ექსპერიმენტულ პირობებში.

მცდელობისა და შეცდომების პირობებში ვირთაგვა სწავლობს იმოძრაოს ლაბირინთის გავლისათვის საჭირო ოპტიმალურ ტრაექტორიაზე და ამოცანის სირთულის მიხედვით ასრულებს მას რამოდენიმე წუთის ან წამის განმავლობაში. იმისათვის, რომ განისაზღვროს დასწავლის, ან მეხსიერების დონე, მხოლოდ შემდეგი მაჩვენებლების აღრიცხვა არის საკმარისი - დაშვებული შეცდომების რაოდენობა, რაც როგორც უკვე იყო აღნიშნული, არის ოპტიმალური ტრაექტორიიდან გადახრების რაოდენობა და დრო, რაც ესაჭიროება ცხოველს, რომ შეასრულოს მის წინაშე დასმული ამოცანა. ჩვენ მიგვაჩნია, რომ ჩვენს მიერ დასახული კვლევითი მიზნების გადაწყვეტისთვის ყველაზე ოპტიმალური მეთოდური მიდგომა არის სწორედ მრავალსვლიანი, ამაღლებული და ესტაკადური ტიპის ლაბირინთის გამოყენება.

სისხლის რეოლოგიური თვისებების განსაზღვრა.

ერითროციტების აგრეგადობის ინდექსი. ეს ინდექსი წარმოადგენს აგრეგირებული ერითროციტების მიერ დაკავებული ფართის (სისხლის სინჯის მიკროსკოპის მხედველობის არეში) შეფარდებას ერითროციტებით დაკავებულ მთელ არესთან. სისხლის სინჯი საჭიროებს ცენტრიფუგირებას და დაახლოებით მისი 0.1 მლ თომას პიპეტში (წინასწარ გამოვლებული 5%-ანი ნატრიუმის ციტრატის ხსნარით, ყოველგვარი ანტიკოაგულანტის დამატების გარეშე) უნდა გაიხსნას საკუთარ პლაზმაში შეფარდებით 1:200. გახსნილი სისხლი თავსდება მინის კამერაში, რომელიც თან ახლავს ანალიზატორს Texture Analysis System (TAS-plus, “Leitz, Germany), რომელიც აღჭურვილია კომპიუტერული სისტემით და სპეციალური პროგრამით ახდენს აგრეგირებული და არააგრეგირებული ერითროციტების შეფარდების ინდექსის გათვლას.

სისხლის პლაზმის სიბლანტე.

სისხლის პლაზმის სიბლანტე იზომებოდა კაპილარული ვისკოზიმეტრით. კაპილარის დაიმეტრი იყო 1.8მმ. პლაზმის გადაადგილება განპირობებული იყო გრავიტაციის ძალით (დამატებითი ძალის გამოყენების გარეშე). სიბლანტის გაზომვისათვის ცენტრიპუაზებში ჩვენ განვსაზღვრეთ კალიბრაციის ფაქტორი. სიბლანტის გათვლა ხდებოდა პლაზმის კაპილარში გადაადგილების დროის ნამრავლით კალიბრაციის ფაქტორზე.

სისტემური ჰემატოკრიტი

სისტემური ჰემატოკრიტის განსაზღვრა ხდებოდა სისხლის სინჯის ცენტრიფუგირებით სტანდარტული ჰემატოკრიტის ცენტრიფუგის საშუალებით (8000ბრ. 10 წუთი)

<u>**სტატისტიკური ანალიზი**</u>

მიღებული შედეგების და მათ შორის სხვაობათა სტატისტიკური სარწმუნობის შეფასებას ვახდენდით ვარიაციული ანალიზის მეთოდების გამოყენებით (ANOVA).

თავი მესამე

მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

1. მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ტემპერატურული ცვლილებები თავის ტვინის ქსოვილში

ნაშრომის ერთ-ერთი ძირითადი მიზნის (მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის გავლენა ცხოველთა ქცევაზე) განხორციელებამდე აუცილებლად ჩავთვალეთ გაგვერკვია, თუ როგორ იცვლება ტემპერატურა თავის ტვინში მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის სხვადასხვა ტემპერატურული რეჟიმის პირობებში.

1.1. მასალა და მეთოდები

კვლევის მეთოდიკა საკმარისად მარტივი იყო. ექსპერიმენტული ცხოველის (თეთრი ვირთაგვა) თავის ტვინში ვახდენდით სპეციალურად ამ ცდებისათვის დამზადებული წვრილი, ტეფლონით დაფარული მავთულებისგან შემდგარი თერმოწყვილების იმპლანტაციას. მათი საერთო დიამეტრი არ აღემატებოდა 300 მკმ-ს. თერმოწყვილის აქტიური ბოლო გაშიშვლებული იყო დაახლოებით 1.5-2.0მმ-ს სიგრძეზე. თერმოწყვილი ჩაგვყავდა ქერქქვეშა სტრუქტურებში (თალამური ბირთვების ზონაში), ხოლო მისი კონექტორი ფიქსირდებოდა თავის ქალაზე.

ქრონიკული იმპლანტაციის ოპერაციიდან მესამე დღეს ცხოველს უკეთდებოდა ნარკოზი (4%-ქლორალ-ჰიდრატის ხსნარი, 0.15 მლ/100გ წონაზე) და იგი თავსდებოდა ჰიპერთერმულ კაბინაში ჩადგმულ პატარა მაგიდაზე (სურ. 1). კონექტორიდან ტემპერატურის გამზომ ციფრულ ხელსაწყომდე (Omega Engineering, Inc., USA). შემაერთებელი მავთულები მოთავსებული იყო სპეციალურ, თბოიზოლაციურ მილში.

ცდები ჩატარდა 250-300 გ მასის მამრ ცხოველთა ორ ჯგუფზე (თითოეულში 6-6 ვირთაგვა). პირველი ჯგუფი იყო დაკომპლექტებული „ინტაქტური“ ცხოველებისგან (არ ჰქონდათ შეყვანილი რაიმე ფარმაკოლოგიური ნივთიერება, რა თქმა უნდა გარდა ქლორალ-ჰიდრატისა), ხოლო მეორე ჯგუფის ცხოველებს ჰიპერთერმული ექსპოზიციის დაწყებამდე 15 წუთით ადრე ინტრაპერიტონულად უკეთდებოდა აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორი ნიტრო-L-არგინინ მეთილის ეთერი (L-NAME) დოზით 50მგ/კგ. ტემპერატურა, როგორც ჰიპერთერმულ კაბინაში, ისე თავის ტვინში იზომებოდა უწყვეტად, ხოლო სხეულის ტემპერატურა (რექტალურად) - დისკრეტულად, ყოველ 15-20 წუთში.

25-30 წუთის განმავლობაში ტემპერატურას ჰიპერთერმულ კაბინაში ვწევდით 45^{0}C-მდე და ამ დონეზე ვინარჩუნებდით (ავტომატურად) ერთი საათის განმავლობაში. შემდგომ, ცხოველის მდგომარეობის მიხედვით ვაგრძელებდით ტემპერატურის აწევას 48-50^{0}C-მდე.

ცხოველთა ცალკეულ ჯგუფებზე (ინტაქტური და წინასწარ შეყვანილი L-NAME-თი) ჰიპერთერმულ კაბინაში სხვადასხვა ტემპერატურის პირობებში ვსაზღვრავდით ერითროციტების აგრეგაციის ინდექსს, რისთვისაც ვიყენებდით პროფ. გ.მჭედლიშვილის მიერ შემუშავებულ მეთოდს, ცნობილს „ქართული მეთოდის დასახელებით (Mchedlishvili et al., 1996).

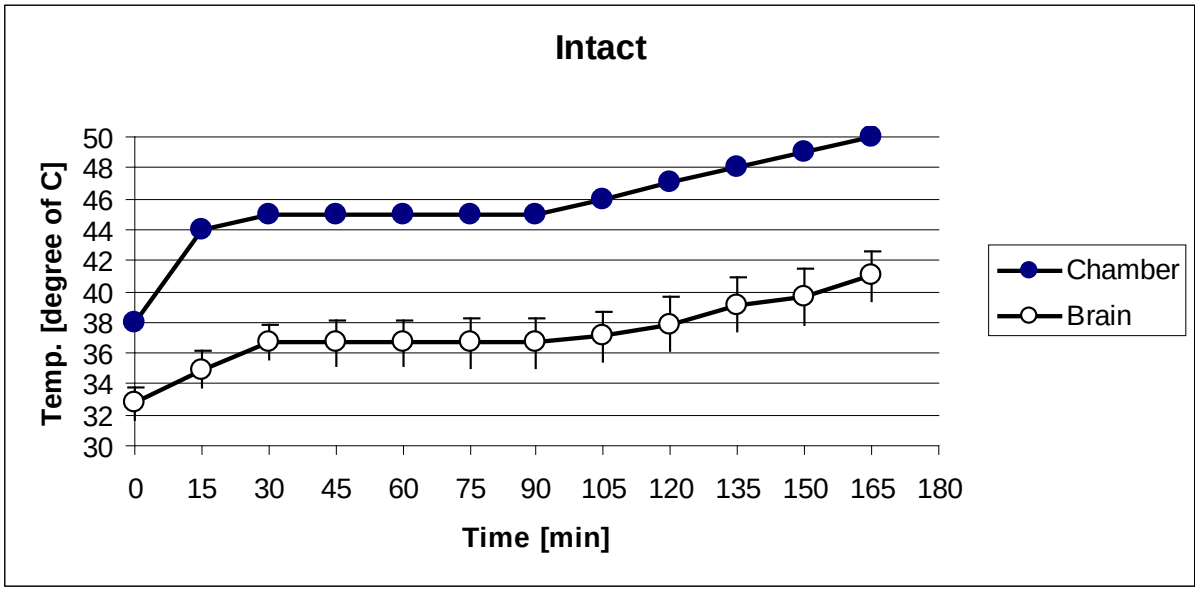
გაზომვების ყველა შედეგი მუშავდებოდა სტატისტიკურად და სხვაობათა სარწმუნობა ფასდებოდა სტიუდენტის t-კრიტერიუმის გამოყენებით.

1.2. მიღებული შედეგები

მე-3 სურათზე მოტანილია თავის ტვინის ქსოვილში აღრიცხული ტემპერატურის ცვლილება ჰიპერთერმულ კაბინაში ტემპერატურის ცვლილებების

დროს 38 ^{0}C-დან 45 ^{0}C -მდე (30 წუთის განმავლობაში და შემდეგ კიდევ 75 წუთის განმავლობაში 50^{0}C -მდე.

როგორც წარმოდგენილი სურათიდან ჩანს, ტემპერატურამ თავის ტვინის ქსოვილში, რომელიც პოსტოპერაციულ ცხოველებში იყო საშუალოდ 33^{0}C დონეზე, მატება დაიწყო ჰიპერთერმული ექსპოზიციის დაწყებიდანვე და როდესაც ჰიპერთერმულ კაბინაში მიაღწია 45^{0}C, დაფიქსირდა 36^{0}C - 36.5^{0}C-ის დიაპაზონში. მიუხედავად იმისა, რომ 45^{0}C კაბინაში შენარჩუნებული იყო ერთი საათის განმავლობაში,

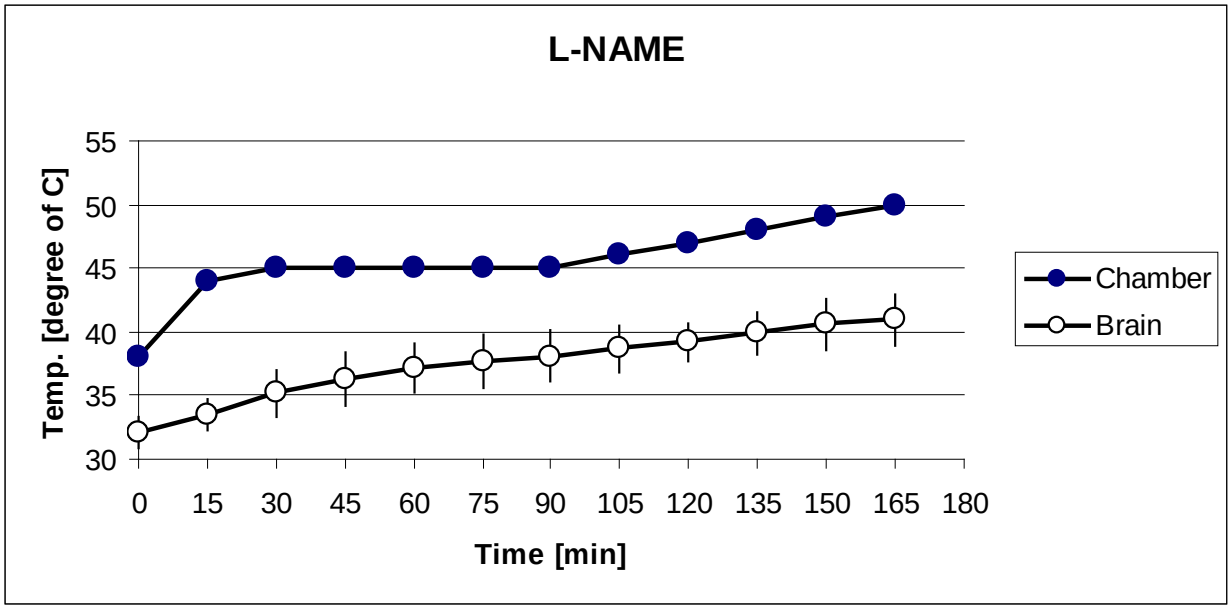


სურათი 3. ტემპერატურის ცვლილება ჰიპერთერმულ კაბინაში (შავი წერტილები) და თავის ტვინის ქსოვილში (ღია წერტილები). ორდინატაზე - ტემპერატურა (ცელსიუსის გრადუსები); აბსცისაზე - დრო (წუთებში).

ტემპერატურამ თავის ტვინის ქსოვილში, ჩვენდა გასაკვირად, არ გადააჭარბა 36.5 გრადუსს. მაგრამ კაბინაში ტემპერატურის თუნდაც ერთი გრადუსით შემდგომი აწევისას თავის ტვინის ქსოვილში დაირღვა ტემპერატურის სტაბილურობა და ის,

პრაქტიკულად წრფივად მიჰყვა გარემომცველი ჰაერის (ანუ კაბინაში არსებული) ტემპერატურის მატებას.

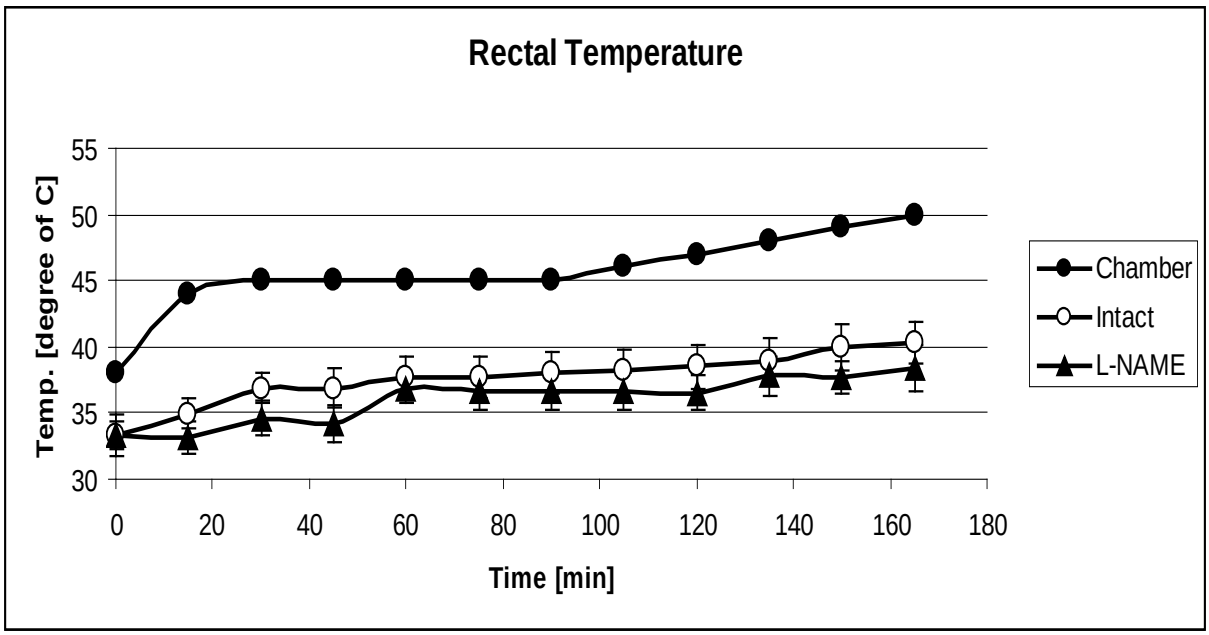
პრინციპულად განსხვავებული სურათი განვითარდა, როცა ჰიპერთერმული ექსპოზიციის დაწყებამდე ცხოველს გავუკეთეთ აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორის L-NAME-ის (ნიტრო- L-არგინინ მეთილის ეთერი) ინტრაპერიტონული ინექცია (დოზა 50მგ/კგ). ასეთი სიტუაციის ამსახველი სურათი წარმოდგენილია სურ. 4-ზე.



სურათი 4. მონაცემები ტემპერატურის ცვლილებების შესახებ ჰიპერთერმულ კაბინასა (შავი წერტილები) და თავის ტვინის ქსოვილში ცხოველთა იმ ჯგუფში (6 ვირთაგვა), რომლებსაც ჰიპერთერმულ ექსპოზიციამდე გაუკეთდათ L-NAME -ის ინტრაპერიტონული ინექცია (50 მგ/კგ).

რაც შეეხება რექტალური ტემპერატურის ცვლილების დინამიკას ყველა ჩვენს მიერ გამოყენებულ ექსპერიმენტულ პირობებში, ის წარმოდგენილია სურ. 5. აქ ვხედავთ არაერთგვაროვან სიტუაციას - მრუდებზე არის წარმოდგენილი დროში კარგად

გამოხატული პლატოები. სტატისტიკურმა ანალიზმა კარგად აჩვენა, რომ სარწმუნო სხვაობა სხვადასხვა ექსპერიმენტულ პირობებში ვლინდება ჰიპერთერმული ექსპოზიციის მხოლოდ ცალკეულ დროით მონაკვეთებზე და მათ არ გააჩნიათ რაიმე კანონზომიერი ხასიათი.



სურათი 5. მონაცემები ტემპერატურის ცვლილებების შესახებ ჰიპერთერმულ კაბინაში (შავი წერტილები) და რექტალურად ინტაქტურ ცხოველებში (ღია წერტილები - 6 ცხოველი)) და ცხოველთა იმ ჯგუფში, რომლებსაც ჰიპერთერმულ ექსპოზიციამდე გაუკეთდათ L-NAME -ის 50 მგ/კგ ინტრაპერიტონული ინექცია (შავი სამკუთხედები, 6 ცხოველი)

ერითროციტების აგრეგადობის ინდექსის მნიშვნელობების სტატისტიკური მონაცემები მოტანილია ცხრილში 1, სადაც წარმოდგენილია ამ მაჩვენებლის მნიშვნელობები ნორმალურ (ოთახის ტემპერატურის პირობებში - 21-23^{0}C) და აგრეთვე 40, 43 და 45^{0}C პირობებში.

ცხრილი 1

ერითროციტების აგრეგაციის ინდექსის საშუალო სტატისტიკური მნიშვნელობები და სტანდარტული შეცდომა ნორმისა და მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის პირობებში

ტემპერატურა (⁰C) კაბინაში	ინტაქტური ცხოველების ჯგუფი (პირობ. ერთ.)	ჯგუფი, რომლებსაც შევუყვანეთ L-NAME (პირობ. ერთ.)
ოთახის ტემპერატურა (21-23)	1.3+/-0.1	1.75+/-0.15
40	30.1+/-2.1	9.48+/-0.2
43	33.2+/-1.8	10.4+/-0.18
45	40.1+/-3.5	15.8+/-0.2

1.3. განხილვა და დასკვნები

ბაზისური მექანიზმები, რომლებიც საფუძვლად უდევს ტემპერატურის რეგულაციას ადამიანსა თუ ცხოველებში, მუდამ იყო მეცნიერთა ყურადღების

ცენტრში. შესაბამისად ამ სფეროში აღინიშნებოდა მნიშვნელოვანი პროგრესი, როგორც ნორმის, ისე სხვადასხვა პათოლოგიების პირობებში (Swan, 1974; Hodcroft, 1980; Mackowiak, 1997; Maier, Steinberg, 2004).

საინტერესო სურათს მივიღებთ თუ განვიხილავთ თავის ტვინის ტემპერატურის რეგულაციას არა მარტო გარეგანი ზემოქმედების პირობებში, არამედ შინაგანისაც, დაკავშირებულს თავის ტვინის აქტივობის განსხვავებულ ტემპერატურულ დონეებთან (Sukstanskii, Yablonskiy, 2006).

არის მონაცემები, რომ სინათლის სხვადასხვა სიხშირის ციმციმით მხედველობითი სტიმულაციის დროს კატის თავის ტვინში ტემპერატურული ცვლილებების მიმართულება დამოკიდებულია ციმციმის სიხშირეზე - დაბალ სიხშირეზე იზრდება, ხოლო მაღალი სიხშირის პირობებში - მცირდება (McElligott, Melzack, 1967).

დადგენილია ისიც, რომ ნორმალურ ფიზიოლოგიურ პირობებში თავის ტვინის სიღრმისეულ სტრუქტურებში ტემპერატურა უფრო მაღალია, ვიდრე არტერიულ სისხლში. თავის ტვინის ზედაპირისკენ მიახლოებისას, იმის გამო, რომ იზრდება სითბური მიმოცვლა გარე სამყაროსთან, სიტუაცია დიამეტრალურად შებრუნებულია (Nelson, Nunneley, 1998; van Leeuwen et al., 2000; Sukstanskii, Yablonskiy, 2004).

ითვლება, რომ რაოდენობრივად ეს მოვლენა რეგულირდება სისხლის დინების ტემპერატურამაეკრანირებელი ეფექტით, რომელიც იცავს თავის ტვინის სიღრმისეულ სტრუქტურებს „ექსტრაკრანიალური სიცივის“ შეღწევისგან (Sukstanskii, Yablonskiy, 2004), თუმც ალბათ უფრო ადეკვატური იქნებოდა „ექსტრაკრანიალური სიცივის“ ნაცვლად გვეხმარა „გარემოს ტემპერატურის ცვლილებებისგან“.

როგორც ზემოთ მოტანილი ჩვენი კვლევის შედეგები აჩვენებს, თავის ტვინს გააჩნია თერმორეგულაციის უაღრესად ეფექტური სისტემა, რომელიც ახორციელებს ტემპერატურის ჰომეოსტაზს თავის ტვინის ქსოვილში მიუხედავად გარემომცველ არეში ტემპერატურის საკმაოდ მკვეთრი მატებისა. ჩვენი მონაცემების მიხედვით თეთრი ვირთაგვებისთვის თავის ტვინში ტემპერატურის აუტორეგულაციის მაღალი

ზღუდე შეადგენს გარემოს 45 ^{0}C-ს. ამ ტემპერატურის შემდგომი მატება იწვევს აუტორეგულაციის მექანიზმის მოშლას და ტემპერატურა თავის ტვინში იცვლება გარემოს ტემპერატურასთან (ჩვენ შემთხვევაში ჰიპერთერმიის კაბინაში არსებულ ტემპერატურასთან) წრფივ დამოკიდებულებაში. დადგენილია ისიც, რომ ასეთ პირობებში თუ თავის ტვინის ქსოვილში ტემპერატურა აიწევს 40^{0}-41^{0} C -ის დონეზე, თეთრი ვირთაგვა იღუპება. ალბათ ლოგიკური იქნება ვიფიქროთ, რომ აღნიშნულ ტემპერატურაზე განვითარებული თავისუფალი რადიკალების უმართავი, ჯაჭვური გენერაცია და შესაბამისად, ოქსიდაციური სტრესი თავის ტვინში აღწევს ლეტალურ დონეს.

სხვა საკითხია თუ რატომ მოიშალა თავის ტვინში ტემპერატურის აუტორეგულაციის მექანიზმები და კერძოდ რაზეა დამოკიდებული მათი ფუნქციონირების ეფექტურობა.

ჩვენ სავსებით ვეთანხმებით Zhu et al. (2006) გამოთქმულ მოსაზრებას, რომლებიც თავის პუბლიკაციაში ასკვნიან, რომ, თავის ტვინის ტემპერატურული ეკრანირების დონე პრინციპულად არის დამოკიდებული სისხლის მიმოქცევის ინტენსივობაზე. ამას ჩვენი მონაცემებიც ადასტურებს, რომელთა მიხედვით ჰიპერთერმული ზემოქმედებიდან 15 წუთით ადრე აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორის (L-NAME) ინტრაპერიტონულმა შეყვანამ სრულად მოშალა ტემპერატურის აუტორეგულაცია თავის ტვინში და მისი ცვლილება პრაქტიკულად წრფივად იყო დამოკიდებული ტემპერატურის ცვლილებაზე ჰიპერთერმულ კაბინაში.

გასაგებია, რომ L-NAME-ს შეყვანით აზოტის ოქსიდის პროდუცირების მნიშვნელოვანი შემცირება (შესაძლოა სრული ბლოკადაც) იწვევს სისხლის ნაკადის ინტენსივობის მკვეთრ დაცემას და სისტემური არტერიული წნევის ასევე მკვეთრ მატებას (დაახლოებით 60%-ით) [Bor-Kucukatay et al., 2000].

ცნობილია, რომ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზა ნორმის პირობებში არეგულირებს სისხლძარღვთა ბაზალურ ტონუსს (Moncada et al., 1991). დადგენილია

ისიც, რომ აზოტის ოქსიდი ჩართულია ნეიროგენული თერმორეგულატორული ვაზოდილატაციის განხორციელებაში სხეულის ტემპერატურის მატების საპასუხოდ (Taylor, Bishop, 1993). ამას ემატება ისიც, რომ როგორც დადგენილია L-NAME ახდენს აგრეთვე ნორეპინეფრინით-ინდუცირებული სისხლის ნაკადის მატებას მთავარ თერმოგენულ ორგანოში - ყავისფერ ადიპოზურ ქსოვილში (Nagashima et al., 1994).

ყოველივე ზემოთქმული ადასტურებს, რომ აზოტის ოქსიდი არის თერმორეგულაციის მექანიზმის უაღრესად მნიშვნელოვანი კომპონენტი არა მარტო თავის ტვინში თერმორეგულაციის თვალსაზრისით, არამედ მთელი ორგანიზმისთვისაც.

სისხლის მიმოქცევის ინტენსივობა და, შესაბამისად ტემპერატურული ჰომეოსტაზის შენარჩუნება მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული სისხლის რეოლოგიურ თვისებებზე, რომელთა ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი მაჩვენებელია ერითროციტების აგრეგაციის ინდექსი. ამასთან ერთად თვით ეს მაჩვენებელი დიდად არის დამოკიდებული ტემპერატურაზე (Lim et al., 2009), რაც ძირითადად განპირობებულია ტემპერატურის გავლენით სისხლის პლაზმის სიბლანტეზე, და ერითროციტების ურთიერთქმედებაზე, რაც ხელს უწყობს მათ აგრეგაციას (Neumann et al., 1987).

გამომდინარე იქიდან, რომ ჩვენი კვლევა ჩატარდა ვირთაგვებზე, აუცილებელია გავიხსენოთ, რომ ერითროციტების აგრეგაციის ინდექსის სიდიდე მნიშვნელოვნად განსხვავებულია ხერხემლიანთა სახეობებში (Kumaravel, Singh, 1995) და ყველაზე დაბალი გააჩნიათ სწორედ ვირთაგვებს, რომლებშიც აგრეგადობის ტენდენცია სუსტად არის გამოხატული (Baskurt et al., 1997). არის საფუძვლიანი მოსაზრება, რომ აზოტის ოქსიდი ასევე მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სისხლის რეოლოგიური თვისებების რეგულაციაში, კერძოდ ერითროციტების აგრეგაციის მოვლენაში და სწორედ ამ რეგულაციის მოშლა არის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ფაქტორი L-NAME-ინდუცირებული ჰიპერტენზიის განვითარებაში (Baskurt et al., 1997).

ითვლება, რომ ერითროციტების როგორც აგრეგადობის შემცირება, ისე დეფორმადობის მატება არის შედეგი ერითროციტებზე აზოტის ოქსიდის უშუალო მოქმედებისა, რაც მიიჩნევა მნიშვნელოვან საფუძვლად, რათა სისხლის დენადობის გაუმჯობესების მიზნით გამოყენებული იყოს აზოტის ოქსიდის დონორები (Starzyk et al., 1999). აქვე უნდა ხაზგასმით აღინიშნოს, რომ ნათქვამი ეხება მხოლოდ აზოტის ოქსიდის ე.წ. „კონსტიტუციურ ფორმებს“, ძირითადად კი ენდოთელურ სინთაზას (eNOS).

ჯერ კიდევ 1987 წელს მაედამ და მისმა თანამშრომლებმა აჩვენეს (Maeda et al., 1987), რომ ტემპერატურის მატებისას 5-43^{0}C დიაპაზონში ფიბრინოგენით-ინდუცირებული ერითროციტების აგრეგაციის სიჩქარე მატულობს. როგორც ჩვენს მიერ ზევით წარმოდგენილი ცხრილი მოწმობს, ჰიპერთერმულ კაბინაში განხორციელებული ტემპერატურის მატება იწვევს ვირთაგვების ერითროციტების აგრეგაციის ინდექსის მრავალჯერად მატებას, რომელიც, როგორც უკვე იყო ხსენებული, ვირთაგვებს ნორმის პირობებში სხვა ხერხემლიანებთან შედარებით ყველაზე დაბალი აქვთ (Baskurt et al., 1997).

ჰიპერთერმიის პირობებში, L-NAME-ს მეშვეობით აზოტის ოქსიდის პროდუცირების ინჰიბირების ფონზე ჩვენ ცდებში აღირიცხა ერითროციტების აგრეგაციის ინდექსის სტატისტიკურად სარწმუნო ($P<0.05$) შემცირება (ცხრილი 1) ჰიპერთერმიის ტემპერატურული რეჟიმის ყველა პირობებში. ხომ არ ეწინააღმდეგება ეს იმას, რაც ჩვენ აღვნიშნეთ აზოტის ოქსიდის მოქმედების შესახებ ერითროციტების აგრეგადობაზე? მიგვაჩნია, რომ არა და აი რატომ: ცნობილია, რომ ჰიპერთერმია იწვევს აზოტის ოქსიდის ჭარბ გენერაციას, რადგან იწვევს არა მარტო კონსტიტუციური ფორმების, არამედ ინდუციბელურის (iNOS) პროდუცირებასაც (Arnaud et al., 2003), რაც მკვეთრად ზრდის თავისუფალრადიკალური პროცესების და პეროქსინიტრიტის პროდუცირების ინტენსიფიკაციას. ამასთან ერთად მკვეთრად იზრდება ჟანგბადის რეაქციული ფორმების ქსანტინოქსიდაზური გენერაციაც (Baskurt et al., 1998). აღნიშნული პროცესები უპირველეს ყოვლისა მოქმედებენ ერითროციტების აგრეგადობაზე. თავისუფალრადიკალური შეტევა იწვევს

არამარტო ერითროციტების მემბრანის დაზიანებას, არამედ მათი ციტოპლაზმური სტუქტურისაც, რაც თავის მხრივ იწვევს ერითროციტების აგრეგადობის ინდექსის ზრდას, ზრდის თვით აგრეგატების გამძლეობას და შესაბამისად მათი დისაგრეგაციისთვის საჭირო წანაცვლების სიჩქარეს (Baskurt et al., 1998). ამის შედეგად იზრდება სისხლის სიბლანტე, უარესდება მისი დენადობა რაც კიდევ უფრო უწყობს ხელს აგრეგაციას და წარმოქმნის შეკრულ წრეს სისხლძარღვების გარდუვალი თრომბირებით. პროცესების სწორედ ასეთი განვითარება არის ლოკალური ჰიპერთერმიის გამოყენების მიზანი სიმსივნური ქსოვილის ექსპოზიციისას.

გამომდინარე ყოველივე ზემოთქმულიდან გასაგებია, რომ სწორედ აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორის (L-NAME) შეყვანამ მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის ფონზე გამოიწვია ჩვენ ცდებში ერითროციტების აგრეგაციის ინდექსის შემცირება.

ზემოთ განხილული საკუთარი და ლიტერატურაში არსებული მასალების ანალიზმა საშუალება მოგვცა გამოგვეტანა შემდეგი დასკვნები:

1. თავის ტვინი უზრუნველყოფილია ტემპერატურის ფრიად ეფექტური აუტორეგულაციის სისტემით, რომელიც იცავს მას ეგზოგენური ტემპერატურული ზემოქმედებისგან.

2. ნორმის პირობებში ამ აუტორეგულაციის ზედა ზღვარი (ყოველ შემთხვევაში თეთრი ვირთაგვებისთვის მაინც) არის გარემოს 45^{0}C ფარგლებში.

3. თავის ტვინში ტემპერატურის აუტორეგულაციის სისტემის მექანიზმის ნორმალურ ფუნქციონირებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს აზოტის ოქსიდი.

4. ქცევითი დარღვევები, გამოვლენილი ცხოველებში მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის პირობებში, როდესაც ტემპერატურის ზედა ზღვარი არ სცდება 45^{0}C, არ უნდა იყოს გამოწვეული თავის ტვინში ტემპერატურული ცვლილებებით. ამ შემთხვევაში წამყვანი როლი უნდა ეკისრებოდეს სისხლის რეოლოგიური

თვისებების გაუარესებით თავის ტვინში განვითარებულ სისხლით და ჟანგბადით მომარაგების დარღვევებს.

2. წყალბადის ზეჟანგის ქრონიკული შეყვანით-ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესით გამოწვეული ცვლილებები ცხოველთა ქცევაში

ამ ნაშრომის პირველ თავში უკვე აღვნიშნეთ, რომ წყალბადის ზეჟანგის (H_2O_2) ძირითად წყაროდ გვევლინება სუპეროქსიდ დისმუტაზა, რომელიც აკატალიზებს სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალის გარდაქმნას წყალბადის ზეჟანგად და რომ ის წარმოადგენს უჯრედშიგა მესენჯერს. აღინიშნა ისიც, რომ წყალბადის ზეჟანგი გვევლინება გადამწყვეტ მოლეკულად აპოპტოზის პროცესში. აუცილებლად მიგვაჩნია კიდევ ერთხელ ხაზგასმით აღინიშნოს, რომ წყალბადის ზეჟანგი რკინის და სპილენძის იონების არსებობისას იშლება და წარმოშობს საკმაოდ აქტიურ და საშიშ ჰიდროქსილის რადიკალს. ამის შედეგად ორგანიზმში შესაძლოა განვითარდეს ოქსიდაციური სტრესი თავისი დადებითი თუ უარყოფითი შედეგებით, დამოკიდებული მის სიძლიერეზე.

ზემოთქმულთან დაკავშირებით აუცილებლად მიგვაჩნია გამოვიკვლიოთ ორგანიზმში ეგზოგენური წყალბადის ზეჟანგის ქრონიკულად შეყვანით განვითარებული ოქსიდაციური სტრესის მოქმედება ცხოველთა ქცევაზე, რაც აქამდე შესწავლილი იყო მხოლოდ დროზოფილებზე [Coyle, 2004].

2.1. მასალა და მეთოდები

ცდები ტარდებოდა 200-250 გ მასის თეთრი ლაბორატორიული მამრი ვირთაგვების ერთ საკონტროლო (12 ცხოველი) და ორ ექსპერიმენტულ ჯგუფზე (18 და 12 ცხოველი). წყალბადის ზეჟანგით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესის **ექსპერიმენტული მოდელის** სახით ჩვენ გამოვიყენეთ მისი 0.1% და 0.2 % წყალხსნარის მიცემა ცხოველებისათვის სასმელი წყლის მაგივრად. ამ ხსნარებს

ცხოველების ორივე ჯგუფი (პირველი - 0.1% ხსნარს, ხოლო მეორე - 0.2%) იღებდა 25 დღის განმავლობაში ქცევითი ცდების დაწყებამდე და განაგრძობდა მიღებას ცდების დასრულებამდე.

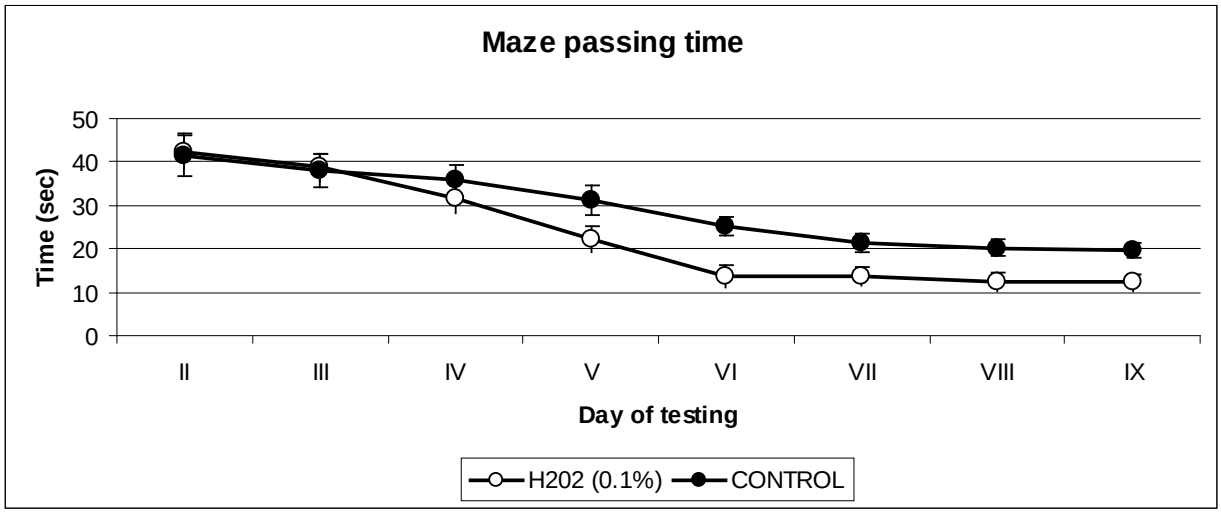
ქცევითი ცდები ტარდებოდა მრავალსვლიანი ლაბირინთის გამოყენებით (მისი კონსტრუქცია მოტანილია სურ.1-ზე), რომელიც იძლევა საშუალებას შევაფასოთ ცხოველებში დასწავლისა და მეხსიერების პროცესებში მიმდინარე შესაძლო დარღვევები. ამ მიზნით, როგორც უკვე ითქვა, გამოიყენება ორი მაჩვენებელი - ცხოველების მიერ დაშვებული შეცდომების (გადახრათა) რაოდენობა ლაბირინთში მოძრაობის ოპტიმალური (უმოკლესი) ტრაექტორიიდან ბუდე-კოლოფში მოსახვედრად და ლაბირინთის გავლის (სასტარტო ბაქნიდან ბუდე-ყუთამდე) სრული დრო. ქცევის შესწავლის და ანალიზის ეს მეთოდი საკმარისად არის აღწერილი ამ ნაშრომის მეთოდურ თავში და ამიტომ არ მიგვაჩნია აუცილებლად ამ ინფორმაციის განმეორებით მოწოდება.

საჭიროდ ჩავთვალეთ აგრეთვე შეგვემოწმებინა **სისხლის რეოლოგიური თვისებები** - ხომ არ იწვევდა წყალბადის ზეჟანგის მიღება ამ მაჩვენებლების რაიმე სახის დარღვევას. კერძოდ, ცდების დასასრულს ექსპერიმენტული ცხოველების სისხლში შემოწმებული იყო ერითროციტების აგრეგადობის ინდექსი, რისთვისაც გამოყენებული იყო ანალიზის ე.წ. „ქართული მეთოდი“ [6]. სისხლის რეოლოგიური თვისებების შესახებაც საჭირო ინფორმაცია აგრეთვე მოცემულია მეთოდურ თავში.

მიღებული შედეგების ანალიზი (ცხოველთა ჯგუფებში დადგენილ მაჩვენებელთა საშუალო სიდიდეების და ჯგუფებს შორის გამოვლენილი სხვაობების **სტატისტიკური სარწმუნობა)** ცდების ამ პარადიგმაშიც ფასდებოდა სტიუდენტის t-კრიტერიუმის გამოყენებით.

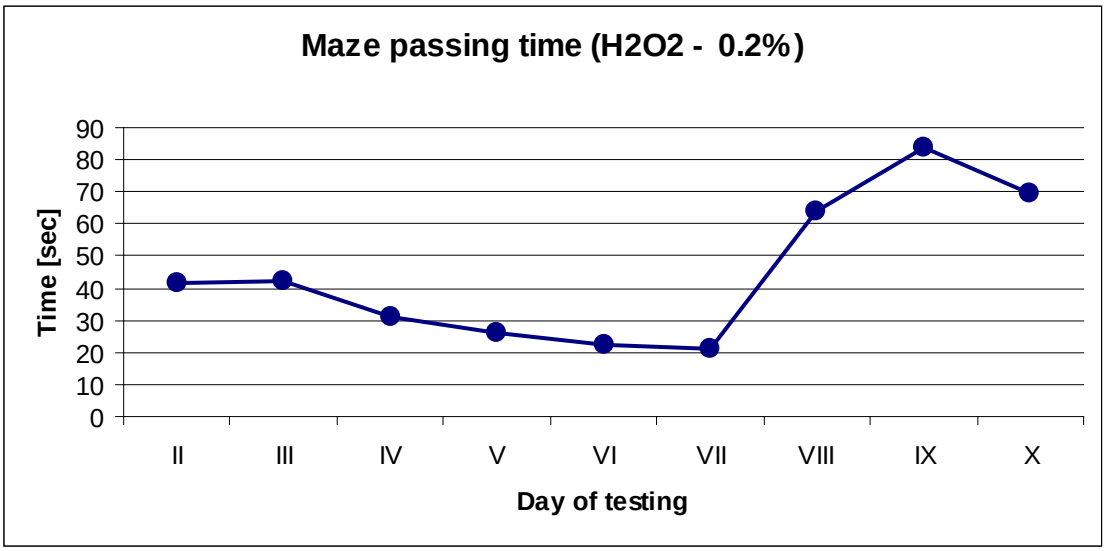
2.2. მიღებული შედეგები

სურათზე 6.-ზე წარმოდგენილია ძირითადი შედეგები, მიღებული საკონტროლო და ექსპერიმენტული (0.1% H_2O_2) ჯგუფების ცხოველების ქცევაზე დაკვირვებისას მრავალსვლიან ლაბირინთში. წარმოდგენილ სურათზე ნათლად არის დემონსტრირებული წყალბადის ზეჟანგით ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის ჰორმეზული ეფექტის ქცევითი გამოვლენა (რაც, როგორც უკვე აღინიშნა, ადრე იყო ნანახი მხოლოდ დროზოფილებზე). როგორც ამ სურათზე ვხედავთ, წყალბადის ზეჟანგით გამოწვეულმა ოქსიდაციურმა სტრესმა პრაქტიკულად ორჯერ (კონტროლთან შედარებით) დააჩქარა ცხოველების მიერ ლაბირინთის სრული გავლა. ამასთან ერთად საჭიროა ხაზგასმით აღინიშნოს, რომ დაშვებული შეცდომების რაოდენობა არ განსხვავდებოდა საკონტროლო ჯგუფისგან და ამიტომ არ ჩავთვალეთ საჭიროდ შესაბამისი გრაფიკის წარმოდგენა. ანუ, წყალბადის ზეჟანგით ინდუცირებულმა ოქსიდაციურმა სტრესმა (საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით) გამოიწვია ცხოველთა ლოკომოტორული აქტივობის თითქმის ორჯერადი აჩქარება, რაც გარანტირებულად შეიძლება ჩავთვალოთ ჰორმეზული მექანიზმის ჩართვის ნათელ გამოვლენად. ასეთივე შედეგი ნანახი იქნა ადრე, როგორც უკვე აღინიშნა, დროზოფილების ქცევაში, როდესაც მათი ფრენის სიჩქარე დრამატულად აჩქარდა წყალბადის ზეჟანგით მოქმედების შედეგად [Grover et al., 2009].



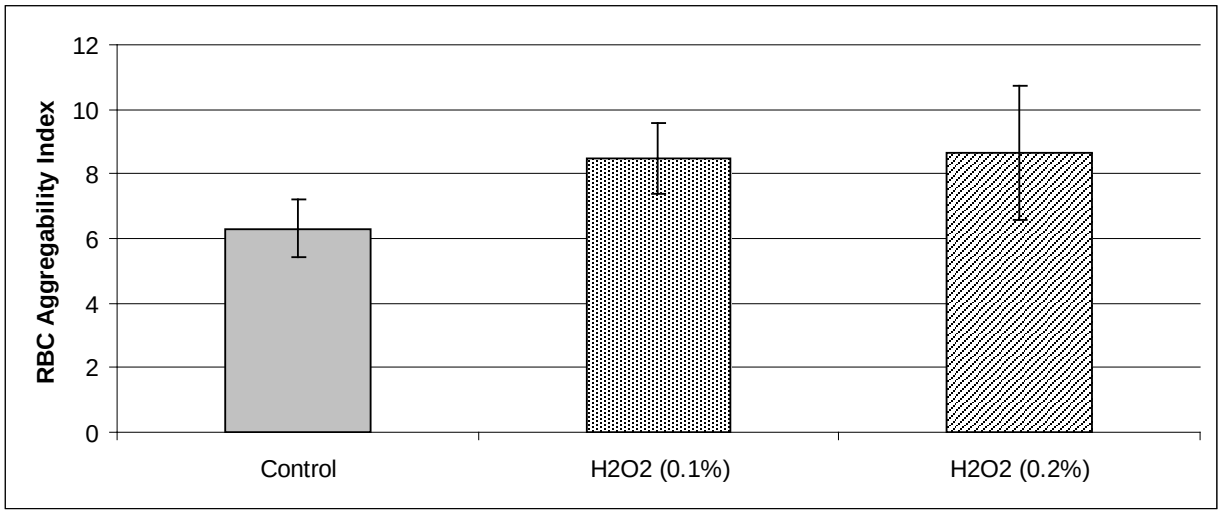
სურ.6. ლაბირინთის გავლის საშუალო დრო (წუთებში) საკონტროლო და 0.1% H_2O_2 ცხოველთა ჯგუფების მიერ.

ექსპერიმენტულ ცხოველთა მეორე ჯგუფში (12 ცხოველი), როგორც უკვე იყო ნახსენები, ჩვენ გამოვიყენეთ H_2O_2 0.2% ხსნარი. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია სურ.7-ზე. როგორც ვხედავთ, ცხოველთა ამ ჯგუფში ცდების მეშვიდე დღიდან მოხდა ოქსიდაციური სტრესით გამოწვეული ჰორმეზული ეფექტის მკვეთრი დარღვევა და ასევე მკვეთრად შემცირდა მოტორული აქტივობა - განსხვავებით პირველი ექსპერიმენტული ჯგუფის ცხოველებისაგან ტესტირების მე-9 დღეს ლაბირინთის სრული გავლის საშუალო დრო ამ ჯგუფში თითქმის ოთხჯერ გაიზარდა.



სურ.7. ლაბირინთის გავლის სრული დროის ცვლილება ცხოველთა მეორე ექსპერიმენტულ ჯგუფში, რომლებიც იღებდნენ წყალბადის ზეჟანგის 0.2%-ან წყალხსნარს.

მეთოდურ ნაწილში აღნიშნული იყო, რომ აგრეთვე ჩავატარეთ სისხლის ანალიზი ერითროციტების აგრეგადობის ინდექსის განსაზღვრის მიზნით, ვინაიდან ამ ინდექსის ზრდამ შესაძლოა მნიშვნელოვნად გააუარესოს თავის ტვინის (და სხვა ორგანოების) სისხლით მომარაგება,რაც ცხადია გამოიწვევს ქცევით დარღვევებსაც.



სურათი 8. ერითროციტების აგრეგაციის ინდექსი აღრიცხული საკონტროლო და ექსპერიმენტულ ჯგუფებში.

როგორც სურ. 8-ზე მოტანილი მონაცემები მოწმობს (წარმოდგენილია აღნიშნული ინდექსის საშუალო მნიშვნელობები საკონტროლო და ორივე ექსპერიმენტულ ჯგუფში), წყალბადის ზეჟანგის ორივე გამოყენებული კონცენტრაციის წყალხსნარის მიღებამ უმნიშვნელოდ გაზარდა აგრეგაციის ინდექსის მნიშვნელობა: თუ საკონტროლო ჯგუფში ის შეადგენდა 6.3+/-1.2, ექსპერიმენტულ ჯგუფში, რომელშიც ცხოველები სასმელი წყლის ნაცვლად 25 დღის განმავლობაში ქცევითი ცდების დაწყებამდე და ცდების განმავლობაში მომდევნო 10 დღის განმავლობაში იღებდნენ წყალბადის ზეჟანგის 0.1% წყალხსნარს, ერითროციტების აგრეგაციის ინდექსი უმნიშვნელოდ გაიზარდა საკონტოლო მნიშვნელობასთან შედარებით და გახდა 8.5+/-1.4, რამაც არ მოგვცა სტატისტიკურად სარწმუნო სხვაობა საკონტროლო მნიშვნელობასთან შედარებით. ასევე არ იქნა მიღებული სარწმუნო სხვაობა არც მეორე ექსპერიმენტულ ჯგუფში, სადაც ინდექსის მნიშვნელობა იყო 8.6+/-2.1. თავისთავად ცხადია, რომ არც თვით ექსპერიმენტულ ჯგუფებს შორის ამ პარამეტრის მიხედვით ასევე არ იყო სტატისტიკურად სარწმუნო სხვაობა.

2.3. მონაცემების შეჯამება და დასკვნები

საჭიროდ მიგვაჩნია კიდევ ერთხელ ხაზგასმით აღვნიშნოთ, რომ არცერთ ექსპერიმენტულ პარადიგმაში არ იქნა გამოვლენილი რაიმე სტატისტიკურად სარწმუნო სხვაობა ცხოველების მიერ ლაბირინთული ტესტის პირობებში დასწავლის პროცესში დაშვებული შეცდომების თვალთახედვით. მაგრამ პრინციპული სხვაობა, როგორც მოტანილი მონაცემები მოწმობს, აღინიშნა მხოლოდ ცხოველების ლოკომოტორულ აქტივობაში, ანუ ლაბირინთის სრული გავლისთვის დახარჯული დროის მხრივ.

როგორც მიღებული ექსპერიმენტული მონაცემების ანალიზი გვიჩვენებს:

1. წყალბადის ზეჟანგით ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესი იწვევს ჰორმეზისის ფენომენის აღმოცენებას და ცხოველების ლოკომოტორული აქტივობის სტიმულირებას, როდესაც მისი კონცენტრაცია სასმელ წყალში არ აღემატება 0.1%-ს და მიღების ხანგრძლივობა კი - 1 თვეს.

არ არის გამორიცხული, რომ თუ ცდები გაგრძელდებოდა მომდევნო დღეების განმავლობაშიც, ეს ეფექტი დაირღვეოდა, ვინაიდან წყალბადის ზეჟანგს ახასიათებს ორგანიზმში აკუმულაციის თვისება.

2. როგორც მოსალოდნელი იყო, წყალბადის ზეჟანგის კონცენტრაციის გაორმაგებამ სასმელ წყალში გამოიწვია ჰორმეზისის ფენომენის ქცევითი გამოვლენის დარღვევა, რასაც ადგილი ჰქონდა მისი შეყვანიდან მხოლოდ ცდების მე-9 დღეს, რაც კიდევ ერთხელ ადასტურებს, რომ მართლაც ჰორმეზისის ფენომენის გამოვლენა იყო ცხოველთა ლოკომოტორული აქტივობის გაძლიერება და იმასაც, რომ წყალბადის ზეჟანგს ახასიათებს ორგანიზმში კუმულაციის თვისება.

3. მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით-ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის გავლენა ცხოველთა ქცევაზე

სითბური მკურნალობის ეფექტი უკვე აღინიშნებოდა ძველი ეგვიპტის მოწინავე კულტურებში (2400 წ), მაგრამ მხოლოდ ანტიკური საბერძნეთის ექიმები იყენებდნენ ამ თერაპიულ მიდგომას თანმიმდევრულად, "ზედმეტად დათბობის“ მნიშვნელობის მინიჭებით (თარგმნა ბერძნულიდან "ჰიპერთერმია"). "მომეცი ძალა, რომ გამოვიწვიო ცხელება და განვკურნავ ყველა დაავადებას", განაცხადა

პარმენიდისმა, ბერძენმა ექიმმა, 540-480 BC (იხ http: //www.jesichashope. org / hyperthermia.html).

ჰიპერთერმია (ასევე ეწოდება სითბური თერაპია ან თერმოთერაპია) მწვავე მდგომარეობაა, რომელიც წარმოიშობა, როდესაც სხეული გამოიმუშავებს ან შთანთქავს იმაზე მეტ სითბოს, ვიდრე მოიხმარს. ეს ჩვეულებრივ გამოწვეულია მაღალი ტემპერატურის ხანგრძლივი ზემოქმედების შედეგად. საბოლოო ჯამში სხეულის სითბოს მარეგულირებელი მექანიზმები გადაიტვირთება და ეფექტურად ვეღარ უმკლავდება ცხელებას, რაც იწვევს სხეულის ტემპერატურის არაკონტროლირებად მატებას.

ჩვენ უკვე აღვნიშნეთ, რომ ნებისმიერი სახის ჰიპერთერმული ექსპოზიციის პირობებში (ლოკალური, რეგიონალური თუ მთელი სხეულის) ხდება თავისუფალი რადიკალების გენერირება, რომელთა რაოდენობა და, შესაბამისად, ოქსიდაციური სტრესის სიძლიერე დამოკიდებულია ორგანიზმში განვითარებული ტემპერატურის დონეზე.

ზემოაღნიშნულის გათვალისწინებით, ჩვენი სამუშაო გეგმა ჩამოყალიბდა შემდეგნაირად: მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით განვითარებული ოქსიდაციური სტრესის ეფექტის ცხოველთა ქცევაზე მოქმედების მექანიზმების კვლევა აზოტის ოქსიდის სინთაზების (NOS) სელექციური და არასელექციური ინჰიბირების ფონზე. ეს ჩვენი ვარაუდით მოგვცემდა საშუალებას გამოვლენილიყო არა მარტო თავის ტვინის ფუნქციების შესაძლო დარღვევების თავისებურებანი, არამედ განისაზღვრებოდა ამ დარღვევების ფიზიოლოგიური მექანიზმები და ამასთან ერთად მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის როგორც სამკურნალო, ისე შესაძლო საზიანო ეფექტებიც.

ამ მიმართულებით ჩვენი კვლევის მთავარი ამოცანები კი ჩამოყალიბდა შემდეგნაირად:

1. უსაფრთხო ტემპერატურული დიაპაზონის დადგენა ნორმალური ქსოვილისათვის მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის პირობებში.

2. ინფორმაციის მიღება აზოტის ოქსიდის როლის შესახებ სწავლისა და მეხსიერების პროცესების დარღვევაში (განსაკუთრებით ინდუციბელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას (iNOS) ინჰიბირების პირობებში), რაც იძლევა საშუალებას გაირკვეს ამ ფაქტორის დადებითი ან უარყოფითი როლი ჰიპერთერმული თერაპიის შედეგად განვითარებული ოქსიდაციური სტრესის ქცევით გამოვლენებში.

3.1. მეთოდური მიდგომა

ექსპერიმენტების სერიები ჩატარებული იქნა თეთრი მამრი ვირთაგვების ჯგუფებზე, რომლებიც მოთავსებული იყვნენ უკვე აღწერილ ჰიპერთერმულ კაბინაში ოთხი საათის განმავლობაში გადაადგილების თავისუფლების ყოველგვარი შეზღუდვების გარეშე. გამოყენებული იქნა სამი ტემპერატურული რეჟიმი (38 ^{0}, 39^0 და 40 ^{0}C) .

კვლევის სტრატეგია ერთი ტემპერატურული რეჟიმის მაგალითზე , (რომელიც არ იცვლებოდა ტემპერატურაზე დამოკიდებულებით) უკვე აღწერილია ამ ნაშრომის მეთოდურ ნაწილში (მეორე თავი) საკმარისად დაწვრილებით. ამიტომ მისი გამეორება არ არის მიზანშეწონილი.

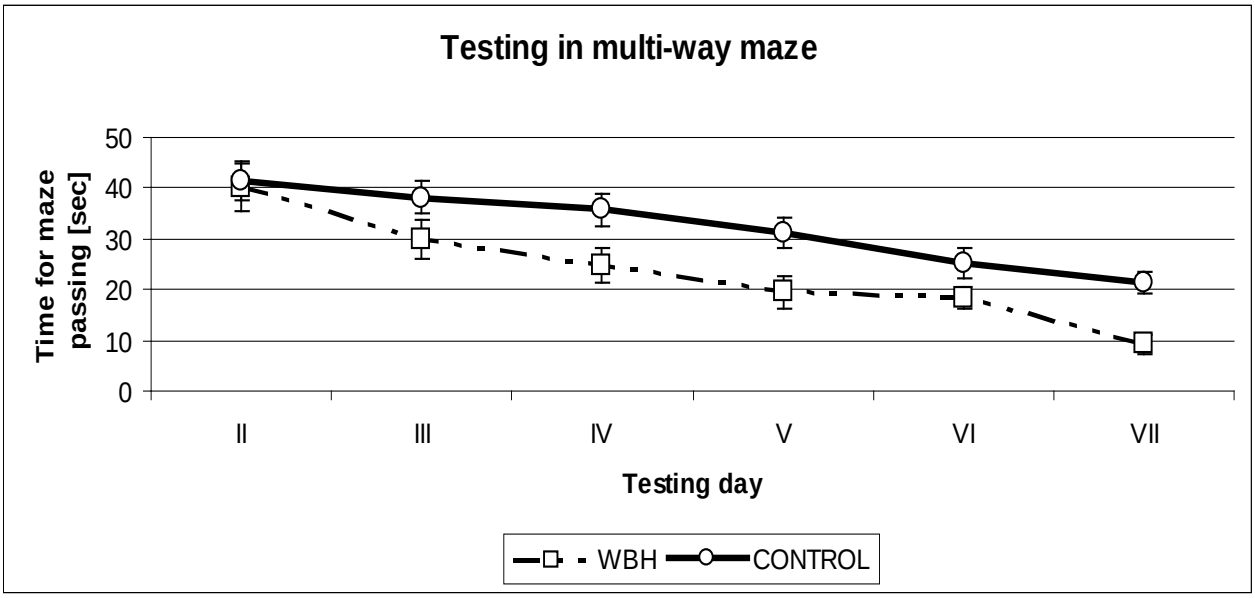
3.2. მეთოდური მიდგომა

როგორც ამ თავის პირველ ნაწილში აღწერილი კვლევის შედეგები გვიჩვენებს, გარემოს ტემპერატურის ცვლილებების პირობებში თავის ტვინში ხდება ტემპერატურის აუტორეგულაცია, რომლის ზედა ზღვარი არის გარემოს ტემპერატურის 45 ^{0}C ფარგლებში. აქედან გამომდინარე, ჩვენ დარწმუნებით შეიძლება ვთქვთ, რომ ჰიპერთერმულ კაბინაში 38, 39 და 40 ^{0}C ტემპერატურის პირობებში ცხოველთა თავის ტვინის ქსოვილში ტემპერატურა არ იცვლება

(თუნდაც მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის ექსპოზიცია გრძელდებოდეს რამდენიმე საათის განმავლობაში).

ამ ფაქტის გათვალისწინებით მომდევნო ექსპერიმეტულ სერიებში ჩვენ მრავალსვლიან ლაბირინთში ჩატარებული ტესტებით შევამოწმეთ ცხოველების დასწავლის უნარი ჰიპერთერმული ზემოქმედებიდან 2 და 4 საათის შემდეგ 38 ^{0}, 39 ^{0}და 40 ^{0}C ტემპერატურებზე.

ყველაზე მეტად გამოხატული შედეგები მივიღეთ 40 ^{0}C-ზე 4 საათიანი ჰიპერთერმული ექსპოზიციის შემთხვევაში. ლაბირინთში გადაადგილების დრო საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით საგრძნობლად შემცირდა (იხ. სურ. 9).



სურათი 9. ლაბირინთის სრული გავლის დრო: ღია წერტილები - საკონტროლო ცხოველები; ღია კვადრატები - ცხოველები, რომლებმაც განიცადეს მთელი სხეულის ჰიპერთერმია 40 ^{0}C 4 საათის განმავლობაში;

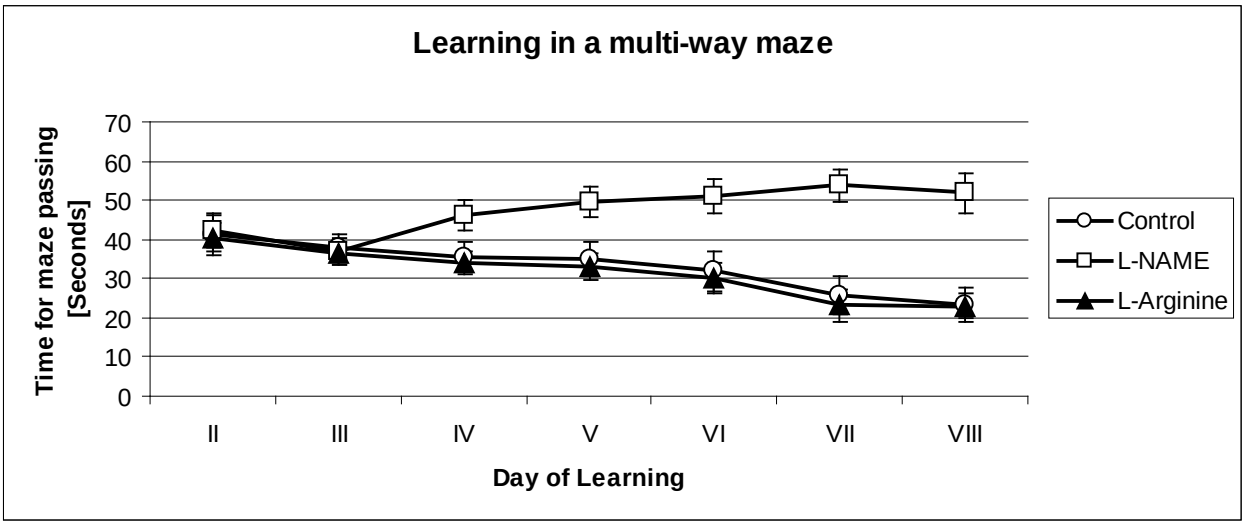
მიგვაჩნია, რომ სურათი 9. წარმოადგენს მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის მოქმედების შედეგად განვითარებული ოქსიდაციური სტრესის ჰორმეზული ეფექტის კარგად გამოხატულ ქცევით მანიფესტაციას.

დაახლოებით მსგავსი შედეგები იქნა მიღებული ადრე დროზოფილებზე, რომელთა ფრენის სიჩქარე წყალბადის ზეჟანგით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესის შემდეგ, ავტორების მიხედვით, "დრამატულად გაიზარდა» [Grover et al., 2009].

ორი წლით ადრე ისევ დროზოფილებზე ნაჩვენები იყო, რომ ჰიპერთერმული პრეკონდიციონირება (36 ^{0}C -ზე ერთი საათით) აუმჯობესებს მოძრაობით აქტიურობას [Xiao C et al., 2007]. გარდა ამისა, აღმოჩნდა, რომ დაბალი დოზის სტრესები ასევე ზრდის დროზოდფილას სიცოცხლის ხანგრძლივობას [Butov et al., 2001].

ვინაიდან ჰორმეზისის ყველაზე კარგად გამოხატული ეფექტი ჩვენ მივიღეთ ცელსიუსის 40 გრადუსზე, გადავწყვიტეთ, რომ შემდეგი კვლევები ჩაგვეტარებინა სწორედ ამ ტემპერატურულ რეჟიმზე.

მომდევნო ჯგუფის ცხოველებს ლაბირინთის სესიამდე შევუყვანეთ აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორი L-NAME (30მგ / კგ), მაგრამ ჰიპერთერმული ექსპოზიციის გარეშე (საკონტროლო ჯგუფი 12 ცხოველი და L-NAME -ს ჯგუფი აგრეთვე 12 ცხოველი). როგორც სურათი 10.-დან ჩანს L-NAME-ს ჯგუფის ცხოველების მოტორული აქტივობა მკვეთრად დაეცა და ლაბირინთში ტესტირების ბოლოს (მე-7 დღეს) ცხოველებმა ბუდე- ყუთამდე მიღწევა შეძლეს საშუალოდ 55 წამში, რაც ორჯერ მეტია, ვიდრე საკონტროლო ცხოველების მიერ იგივე პრობლემის გადაჭრისათვის დახარჯული დრო.

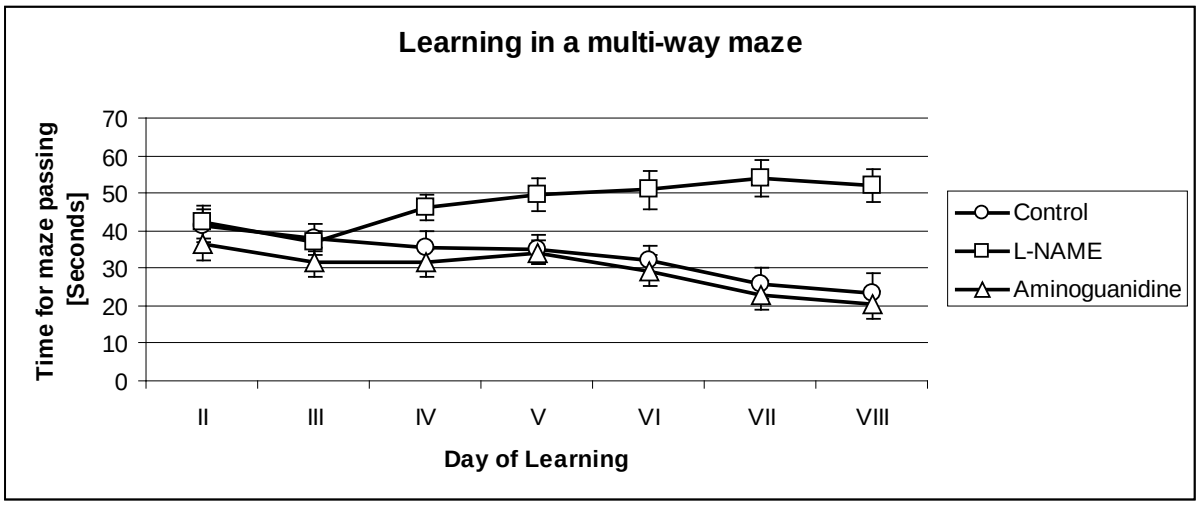


სურათი 10. ლაბირინთში გავლის დრო: ღია წერტილები - საკონტროლო ჯგუფის (12 ვირთაგვა), ღია კვადრატები - L-NAME-ს (30 მგ / კგ) ჯგუფის (12 ვირთაგვა) და შავი სამკუთხედები - ცხოველთა ჯგუფის (აქაც 12 ვირთაგვა), რომლებსაც L-NAME-ესთან ერთად (30 მგ/კგ) მაღალი დოზით შეყვანილი აქვთ L-NAME-ს დონორი L-არგინინი (300 მგ / კგ).

ამავე სურათიდან კარგად ჩანს, რომ L-არგინინის შეყვანამ პრაქტიკულად მოსპო L-NAME-ს ეფექტი და აღადგინა ცხოველთა ქცევა, რომელიც ახასიათებდა საკონტროლო ჯგუფს.

როგორც უკვე მრავალჯერ იყო აღნიშნული L-NAME არის აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორი, ანუ აინჰიბირებს ყველა ძირითად სინთაზას (ენდოთელურს (eNOS) , ნეირონულს (nNOS და ინდუციბელურს (iNOS)). ჩვენი სპეციალური ინტერესი მიმართული იყო სწორედ ამ უკანასკნელ (ინდუციბელურ) სინთაზაზე, რადგან მისი აქტივაცია წარმოშობს აზოტის ოქსიდის ძალიან დიდ რაოდენობას და ის ფაქტიურად იღებს თავისუფალი რადიკალის ფუნქციას. ვინაიდან არსებობს ინდუციბელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას სელექციური ინჰიბიტორი (ამინოგუანიდინი), ჩვენ გადავწყვით ცდების ჩატარება მისი გამოყენებით (ინტრაპერიტონული შეყვანა დოზით 30 მგ/კგ, აქაც 12 ცხოველი).

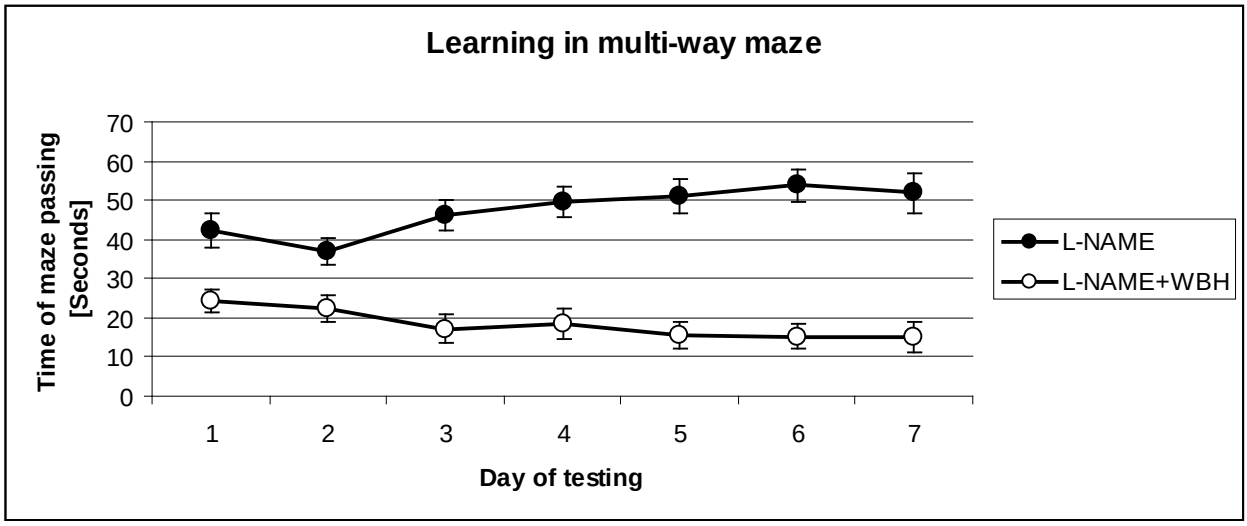
მიღებული შედეგები (წინა ცდებში მიღებულ შედეგებთან ერთად წარმოდგენილია სურათზე 11, რომელიც ნათლად გვიჩვენებს, რომ



სურათი 11. ლაბირინთის გავლის დრო: ღია წერტილები - საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებისათვის, ღია კვადრატები - L-NAME ჯგუფის ცხოველებისათვის და ღია სამკუთხედები ცხოველებისათვის (12), რომლებსაც შეყვანილი აქვთ ამინოგუანიდინი (30მგ / კგ).

L-NAME-ს ეფექტი (ცხოველთა მოძრაობითი აქტივობის მკვეთრი შემცირება) არ იყო განპირობებული ინდუციბელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას (iNOS) ინჰიბირებით, ამიტომ შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ მოძრაობის აქტივობის მკვეთრი შემცირება L-NAME -ს მოქმედების ფონზე მოხდა NOS-ის ენდოთელიური იზოფორმის ინჰიბირების ხარჯზე.

საინტერესო შედეგები იქნა მიღებული, როდესაც L-NAME -ს მოქმედების ფონზე ჩვენ გამოვიყენეთ მთელი სხეულის ჰიპერთერმული ექსპოზიცია სურ. 12).



სურათი 12. ლაბირინთის გავლის დრო მხოლოდ L-NAME-ს მოქმედების ფონზე (შავი წერტილები)(12 ვირთაგვა) და იმ ცხოველების ჯგუფისათვის (12 ვირთაგვა) რომლებსაც ჩაუტარდა მთელი სხეულის ჰიპერთერმია (40^{0}C) L-NAME-ს მოქმედების ფონზე (ღია წერტილები).

მიღებული შედეგების ანალიზამდე კიდევ ერთხელ უნდა გავუსვათ ხაზი, რომ ცდების წინა სერიებში ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა (მთელი სხეულის ჰიპერთერმული ექსპოზიციისას ცხოველთა ლაბირინთში ტესტირებებმა) გამოავლინა მნიშვნელოვანი ცვლილებები **მხოლოდ ცხოველთა ქცევითი აქტიურობის თვალსაზრისით. რაც შეეხება მეხსიერების პროცესს, რომელიც ფასდებოდა ლიბირინთის გავლის ოპტიმალური ტრაეტორიიდან გადახრების (ანუ შეცდომების) რაოდენობით - ამ მხრივ საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით არავითარი სარწმუნო ცვლილება არ დაფიქსირდა.** შესაბამისად ამ ცდების შედეგების გრაფიკული გამოსახვა არ ჩავთვალეთ საჭიროდ. ანუ კიდევ ერთხელ შეიძლება თამამად ვამტკიცოთ, რომ გარკვეული ტემპერატურული რეჟიმით ჩატარებული მთელი სხეულის ჰიპერთერმია არ ახდენს გავლენას ცხოველთა მეხსიერებასთან დაკავშირებულ პროცესებზე, მაგრამ იგივე ტემპერატურულ პირობებში მკვეთრად ცვლის (ზრდის) ცხოველთა ქცევით აქტივობას. ეს კი მიუთითებს იმაზე, რომ ხდება ჰორმეზისის ფენომენის აღმოცენება, რომელიც ჰიპერთერმული ზემოქმედებით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესის საპასუხოდ

მიმართულია არაეთოლოგიური პირობებიდან (ყოფნა ამაღლებული ლაბირინთის პლატფორმებზე) თავის დაღწევისკენ. ეს მიუთითებს იმაზეც, რომ ჩვენს მიერ გამოყენებული მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის ტემპერატურული რეჟიმი მოთავსებული იყო ჰორმეზისის ფენომენის განვითარებისათვის საჭირო დიაპაზონში.

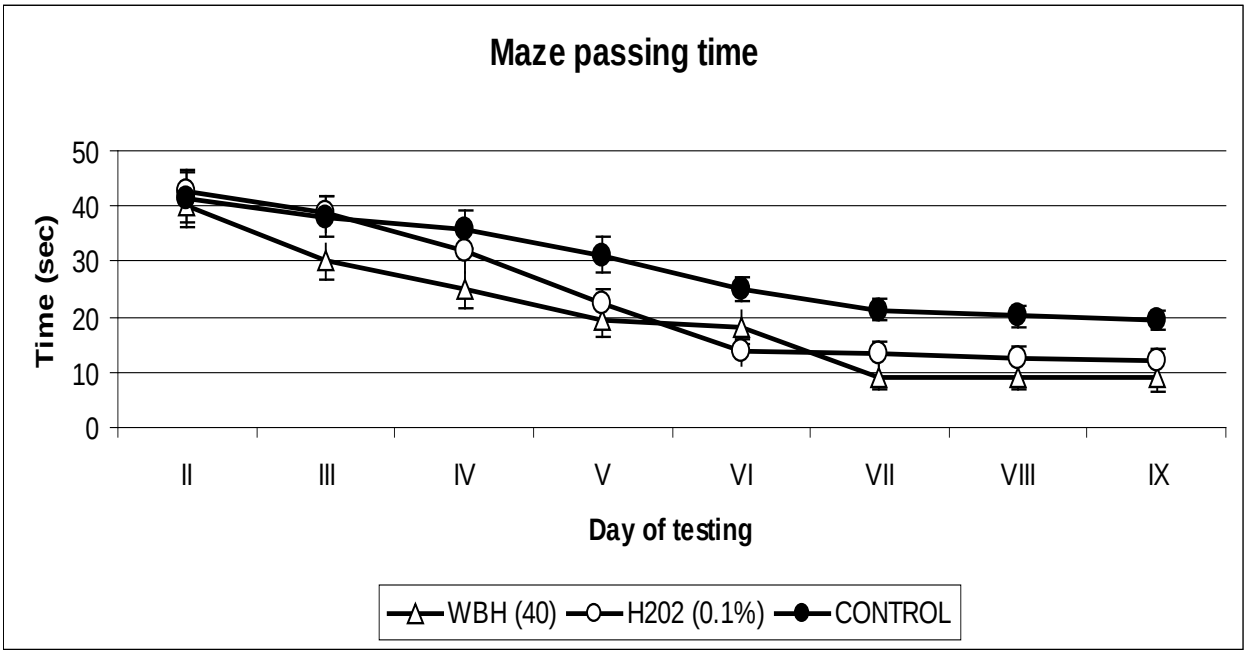
რაც შეეხება აზოტის ოქსიდის როლს აღწერილ პროცესებში. როგორც ვნახეთ, აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიტორით (L-NAME) მისი პროდუცირების შეჩერებამ აჩვენა, რომ აზოტის ოქსიდი ჩართულია ჰორმეზული მექანიზმის აღმოცენება-ფუნქციონირებაში, მაგრამ გასარკვევი იყო თუ მისი რომელი სინთაზას მეშვეობით. როგორც ვნახეთ, ჩვენმა ცდებმა მოგვცა ამ საკითხის გარკვევის საშუალება. ჩვენ შევეცადეთ და შევძელით მიგვეღო პასუხი ამ კითხვაზე და გამოვლინდა, რომ მოძრაობის აქტივობის მკვეთრი შემცირება L-NAME -ს მოქმედების ფონზე მოხდა ენდოთელური (eNOS)-ის იზოფორმის ინჰიბირების შედეგად და რომ ინდუციბელური NOS იზოფორმის სელექციურ ინჰიბირებას ამინოგუანიდინით თითქმის არ ჰქონდა რაიმე ზეგავლენა ვირთაგვების ქცევაზე და მნიშვნელოვანი სტატისტიკური განსხვავება საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით არ იყო გამოვლენილი.

ყოველ შემთხვევაში, ჩვენ ვფიქრობთ, რომ ჩვენს ექსპერიმენტებში აღწერილი შედეგების თანახმად ოქსიდაციური სტრესის და შესაბამისად, ჰორმეზისის ეფექტის ფორმირებისათვის აზოტის ოქსიდის მონაწილეობა აუცილებელ ფაქტორს არ წარმოადგენს, მინიმუმ იმ შემთხვევაში მაინც, როდესაც ოქსიდაციური სტრესი გამოწვეულია მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით. არ არის გამორიცხული, რომ NOS-ის სელექციური ინჰიბირების შემთხვევაში ჰიპერთერმული ექსპოზიცია ააქტიურებდეს ჟანგბადის რადიკალების კიდევ ერთ წყაროს, კერძოდ, NADPH ოქსიდაზას [Coyle, 2004], რომელიც უზრუნველყოფს ოქსიდაციური სტრესისა და მის მიერ ინდუცირებული ჰორმეზული ეფექტის ფორმირებას.

როგორც უკვე აღინიშნა, იმის მიუხედავად, რომ ყველაზე გამოხატული ცვლილებები ცხოველების ქცევაში დაფიქსირდა 40 ^{0} C ტემპერატურის ზემოქმედების პირობებში, მიღებულმა შედეგებმა კვლავ გვაიძულა გამოგვეყენებია ასევე 45 ^{0}C.

ამასთან ერთად საჭიროდ ჩავთვალეთ ჰიპერთერმულ პირობებში მიღებული მონაცემების შედარება სხვა სახით ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესით მიღებულ შედეგებთან და ამ მიზნით კვლავ გამოვიყენეთ 0.1 %და 0.2% წყალბადის ზეჟანგის (H2O2) პერორალური შეყვანა, რომელიც ცხოველებმა სასმელი წყლის ნაცვლად მიიღეს 25 დღის განმავლობაში ექსპერიმენტების დაწყებამდე და აგრძელებდნენ მიღებას ექსპერიმენტების დასრულებამდე.

მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის (40 ^{0}C) და 0.1% H_2O_2 -ის შეყვანის ეფექტი მრავალსვლიან ლაბირინთში დასწავლის პროცესზე წარმოდგენილია სურათზე 13. ჩვენ მიგვაჩნია, რომ ეს სურათიც კარგად გამოხატავს მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით და 0.1% H_2O_2 -ით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებული ჰორმეზული ეფექტის ქცევითი გამოვლინებას.

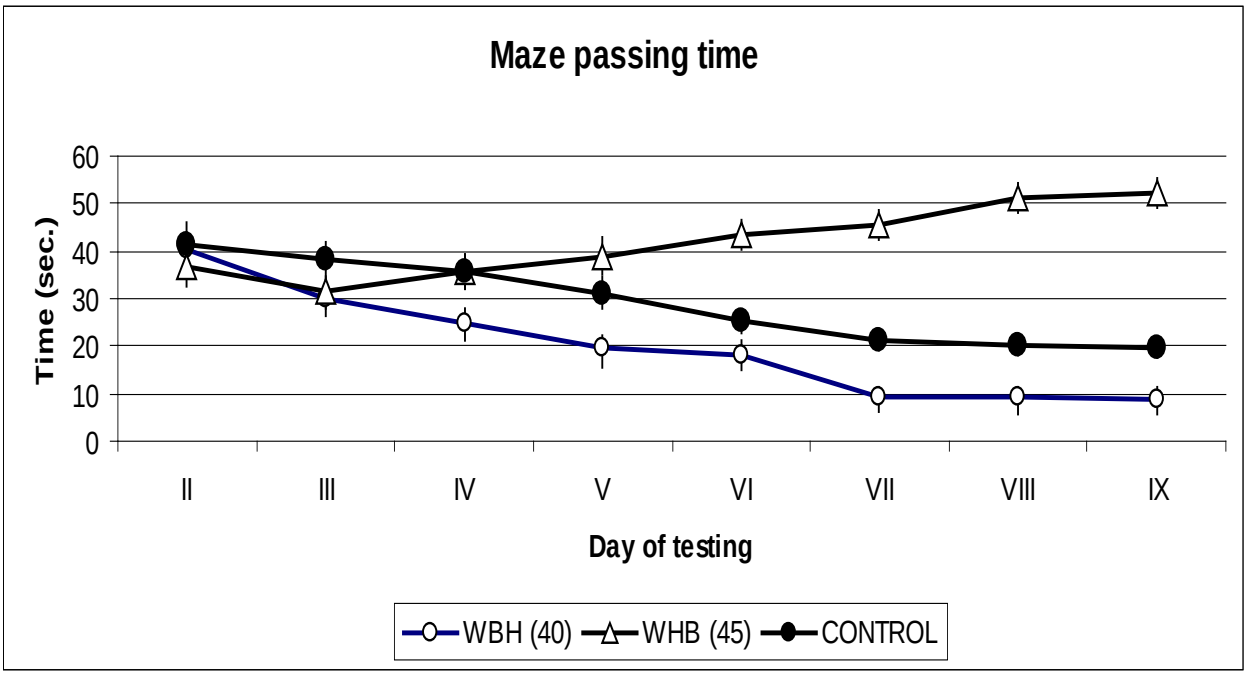


სურ. 13. ლაბირინთის სრული გავლის დროის ცვლილება ცხრა დღის ტესტირების განმავლობაში საკონტროლო (შავი წერტილები), მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის

ექსპოზიციის (40^0 C) შემდეგ (ღია სამკუთხედები) და H2O2-ის 0.1% წყალხსნარმიღებულ (ღია წერტილები) ვირთაგვებში.

როგორც სურ.13-დან ჩანს (p <0.01), ცხოველების ქცევა ჰიპერთერმული ექსპოზიციის შედეგად (12 ვირთაგვა), და წყალბადის ზეჟანგის ხსნარის (0.1%) შეყვანით (18 ვირთაგვა) საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით (12 ვირთაგვა) დაჩქარდა (დაახლოებით 2-ჯერ).

შემდეგ სურათზე (14) წარმოდგენილია სხვაობა მიღებული მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის ორ განსხვავებულ ტემპერატურულ პირობებში - 40 და 45^{0}C.



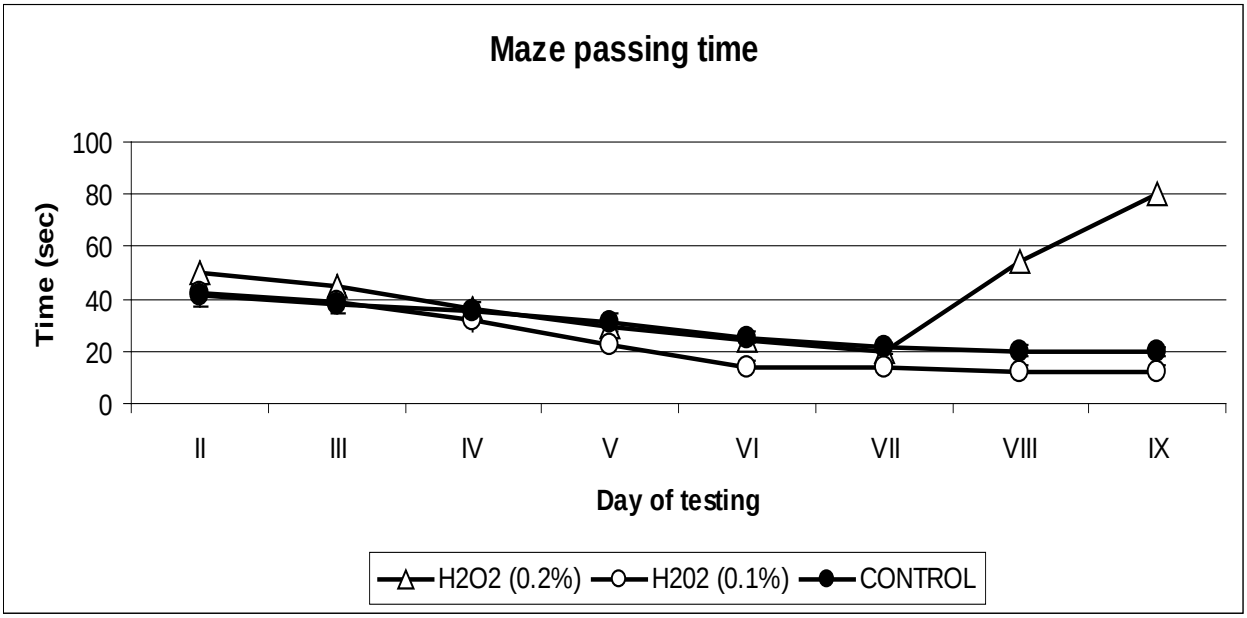
სურ. 14 . ლაბირინთის სრული გავლის დრო: საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების (შავი წერტილები) და მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის (40^0 C) და (45 ^{0}C) ჯგუფების (შესაბამისად ღია წერტილები და სამკუთხედები).

როგორც ვხედავთ, დაწყებული ტესტირების მესამე დღიდან 45 ^{0}C ჯგუფის ცხოველთა ქცევა რადიკალურად შეიცვალა და ნაცვლად დაახლოებით 10 წამისა ექსპერიმენტის დასასრულს ამ ჯგუფის ცხოველებმა ლაბირინთის სრული

გავლისთვის დახარჯეს 50 წამზე მეტი (5-ჯერ მეტი ვიდრე 40 ^{0}C ჯგუფის ცხოველებმა და 2,6-ჯერ მეტი, ვიდრე საკონტროლო ჯგუფისამ). განსხვავებები სტატისტიკურად სარწმუნოა ($p < 0.01$). ასე რომ, ტესტირების მესამე დღიდან ჰიპერთერმული ზეგავლენის ჰორმეზული ეფექტი დაირღვა. ჩვენ შეგვიძლია ვთქვათ, რომ მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის შედეგად აღმოცენებული ჰორმეზისის ფენომენის მოქმედების ერთ-ერთი მთავარი პრინციპი - „დოზა-დამოკიდებული ეფექტი“ გამოიხატა ძალიან ნათლად.

ზემოთ ჩვენ უკვე აღვწერეთ, თუ რა შეიძლება მოხდეს, თუ ასევე გავზრდით ჩვენ მიერ გამოყენებული მეორე სტრესოგენული ფაქტორის H_2O_2 -ის დღიურ დოზას. როგორც ვიცით სტრესოგენული ფაქტორის ბუნებას არ აქვს რაიმე პრინციპული მნიშვნელობა ჰორმეზისული მექანიზმების სტიმულირება-ამოქმედებაში და ეს კიდევ ერთხელ დადასტურდა ჩვენ ექსპერიმენტებში (იხ სურ. 7, 13 და 15) წყალბადის ზეჟანგის გამოყენებით.

ამ სურათებიდან ნათლად ჩანს, რომ დაწყებული ტესტირების მე-7 დღიდან 0,2% -იანი H_2O_2 ჯგუფის ცხოველების ჰორმეზული ქცევა მკვეთრად დაირღვა. ლაბირინთის სრული გავლის დრო (ტესტირების მე-9 დღეს) საკონტროლო და 0.1% H_2O_2 ჯგუფების ცხოველებთან შედარებით

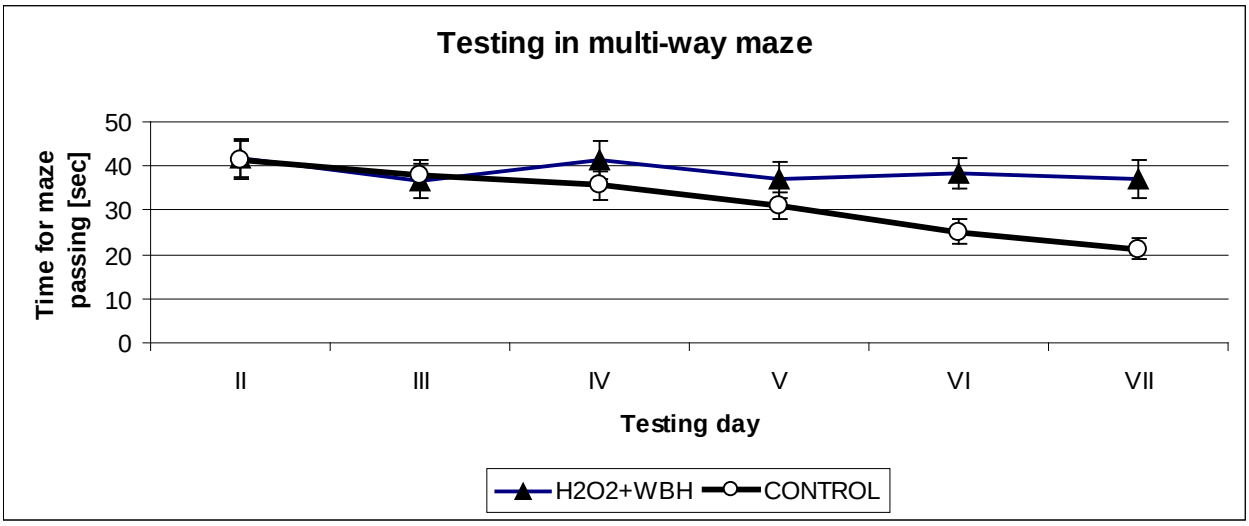


სურ. 15. ლაბირინთში გავლის სრული დრო საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში (შავი წერტილები); 0.1% H2O2 წყალხსნარმიღებულ ცხოველთა ჯგუფში (ღია წერტილები) და 0.2% H2O2 წყალხსნარმიღებულ ჯგუფის (12 ცხოველი) ვირთაგვებისათვის (ღია სამკუთხედები).

საგრძნობლად (4-ჯერ და მეტად) გაიზარდა. ასე რომ, ამ სტრესოგენული ფაქტორის (წყალბადის ზეჟანგი) დოზის გაზრდა, მსგავსად მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის „დოზის“ გაზრდისა, იწვევს ჰორმეზისის ეფექტის სრულ დარღვევას.

როგორც წარმოდგენილი შედეგებიდან ვნახეთ, მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის ექსპოზიციამ (4საათის განმავლობაში 40^{0}C) და წყალბადის ზეჟანგის 0.1% წყალხსნარის ქრონიკულმა მიღებამ (25 დღის განმავლობაში ლაბირინთში ტესტირებამდე და შემდეგ ტესტირების პროცესშიც) გამოიწვიეს ჰორმეზისის მექანიზმის სტიმულირება და ლოკომოტორული აქტივობის მკვეთრად გამოხატული ზრდა. ანუ მიუხედავად ოქსიდაციური სტრესის გამომწვევი სტრესოგენული ფაქტორის ბუნებისა, თუ მისი სიძლიერე ან დოზა იმყოფება ჰორმეზულ დიაპაზონში, ეს ფენომენი ვითარდება და რთავს ორგანიზმის დამცავი ადაპტური სტრეს-რეაქციის მექანიზმებს. რა მოხდება თუ ასეთი, ჰორმეზულ დიაპაზონში მყოფი სტრესოგენული ფაქტორები იმოქმედებენ ორგანიზმზე ერთდროულად, კომბინირებულად?

ამ საკითხის გასარკვევად ჩავატარეთ ცდების სპეციალური სერია საკონტროლო (6 ვირთაგვა) და ექსპერიმენტულ 12 ვირთაგვაზე. ამ ცხოველებმა წყალბადის (0.1%) ქრონიკული ზემოქმედების შემდეგ განიცადეს მთელი სხეული ჰიპერთერმული ექსპოზიცია (40^{0}C). შედეგები წარმოდგენილია მე-16 სურათზე.



სურათი 16. ლაბირინთში გავლის სრული დრო: საკონტროლო ჯგუფის ცხოველები (ღია წერტილები); 0.1% H2O2 და მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის (WBH - 40^{0}C), კომბინირებული მოქმედების ქვეშ მყოფი ცხოველები (შავი სამკუთხედები).

როგორც ვხედავთ, ეს ორი განსხვავებული ბუნების სტრესოგენული ფაქტორი, რომლებიც მოცემული დოზით დამოუკიდებელი მოქმედებისას იწვევდა ჰორმეზული ფენომენის აღმოცენებას, ერთდროული მოქმედების პირობებში უკვე იწვევს მის დათრგუნვას. ეს გასაგებიცაა, რადგან მიუხედავად მათი ბუნების პრინციპული სხვაობისა, ორივე სტრესოგენული ფაქტორი იწვევს ოქციდაციურ სტრესს და ცხოველი განიცდის უკვე გაორმაგებული ოქსიდაციური სტრესის ზემოქმედებას, რომლის დოზა სცდება ჰორმეზულ დიაპაზონს.

კიდევ ერთხელ უნდა აღვნიშნოთ, რომ არცერთ ექსპერიმენტულ პარადიგმაში არ გამოვლენილა რაიმე დარღვევა მეხსიერების პროცესებში. ლაბირინთის ტესტის შესრულების დროს არც ერთი ექსპერიმენტული ჯგუფის ცხოველების შეცდომების დინამიკა სტატისტიკურად არ განსხვავდებოდა საკონტროლო ჯგუფისაგან. მაგრამ ლაბირინთის სრული გარბენის დრო, სხვა სიტყვებით, მოძრაობის აქტივობა, იცვლებოდა ჯგუფიდან ჯგუფში.

მიღებული შედეგების შემაჯამებელი განხილვა

მიღებულ შედეგებთან დაკავშირებით შემაჯამებელი განხილვის დასაწყისში უნდა აღინიშნოს, რომ ამ კვლევის დაგეგმარებისას და მიმდინარეობისას ჩვენ არანაირად არ ვითვალისწინებდით ჰორმეზისის ფენომენის ანალიზს, მაგრამ მიღებული შედეგების ანალიზმა გვაიძულა ჩავღრმავებოდით ამ კონკრეტული და უაღრესად საინტერესო მოვლენის არსს.

ეს ტერმინი მომდინარეობს ძველი ბერძნულიდან და ნიშნავს " მოძრაობაში მოყვანას, ბიძგის მიცემას, აჩქარებას". ბიოსამედიცინო თვალსაზრისით, ტერმინი "Hormesis" აღწერს მოვლენას, როდესაც დაბალი დოზის ტოქსინების ან სხვა რაიმე სტრესის საპასუხოდ სხეული ავითარებს ბიოლოგიური თვალსაზრისით დადებით რეაქციას - სტრესზე ადაპტაციურ რეაქციას, რომელიც უზრუნველყოფს უჯრედების სტაბილურობას სტრესოგენული ფაქტორების უფრო მაღალი (თუნდაც ლეტალური) დოზებისადმი.

ორგანიზმის სტრესისადმი მდგრადობა არის ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი ინდიკატორი მისი სიცოცხლისუნარიანობისა და ნათელია, რომ იმ მექანიზმების შესწავლას, რომლებიც განსაზღვრავენ ამ რეზისტენტობას, აქვს არა მარტო ფუნდამენტური, არამედ დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობაც [Michalski, Novoseltsev, 2005].

ბოლო წლების განმავლობაში ინტერესი ჰორმეზისის ფენომენისადმი მნიშვნელოვნად გაიზარდა, რადგან სტრესს შეიძლება ჰქონდეს მრავალნაირი ბუნება - ფიზიკური, ქიმიური, ფსიქოლოგიური და სხვ.

დღეისათვის უკვე შეისწავლიან რადიაციულ ჰორმეზისსაც, ანუ დაბალი დოზებით დასხივების დაცვით ეფექტებს[Jiuliano, Watson, 2012].

დადასტურებულია, რომ რადიაქტივობა, იგივე რადონის მცირე დოზები, წარმოადგენს სიცოცხლისათვის აუცილებელ პირობას, რომელიც ასტიმულირებს ორგანიზმის დამცველობით და სხვა ფუნქციებს. Eეს იმას მიანიშნებს, რომ რადონი არა მარტო სახიფათოა, არამედ სასარგებლოცაა. რადიაციული ჰორმეზისის

მექანიზმი უჯრედის დონეზე მდგომარეობს ცილის სინთეზის დაჩქარებასა და ინიცირებაში, გენის აქტივაციაში, დნმ-ის რეპარაციაში სტრესის საპასუხოდ – კერძოდ, მცირე დოზებით დასხივების ზემოქმედებისას. ეს რეაქცია საბოლოოდ იწვევს მემბრანული რეცეპტორების აქტივაციასა და იმუნური სისტემის სტიმულირებას.

ალბათ აქ საჭიროა მოვიტანოთ ცნობილი ფილოსოფოსის ნიცშეს ციტატა: **„ის რაც ჩვენ არ გვკლავს, გვხდის უფრო ძლიერს“.**

ოქსიდაციური სტრესი ჩართულია მრავალი პათოლოგიური პროცესის განვითარებაში, მაგრამ, აღმოჩნდა, რომ მას შეუძლია ითამაშოს მნიშვნელოვანი როლი ნეიროპლასტიურობის, ფსიქოლოგიური ადაპტაციის და უჯრედშიდა სიგნალის გადაცემის რეგულირებაშიც. ითვლება, რომ ყველაზე შესაბამისი განმარტება ოქსიდაციური სტრესისა არის "მდგომარეობა, როდესაც ოქსიდაციური პროცესები ორგანიზმში აღემატება ანტიოქსიდაციური სისტემების შესაძლებლობებს და მათ შორის ირღვევა ბალანსი" [Yoshikawa, Naito, 2002].

მარკერების შექმნა, რომელთაც შეუძლიათ ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობის ამოცნობა ბუნებრივ in-vivo პირობებში, უაღრესად დიდ მნიშვნელობას იძენს, რადგან ოქსიდაციური სტრესის მდგომარეობის განსაზღვრა აუცილებელია არა მხოლოდ მრავალი დაავადების შესასწავლად, არამედ მათი მკურნალობის ეფექტურობის გასაუმჯობესებლად [Yoshikawa, Naito, 2002].

არის მოსაზრება, რომ ქრონიკულმა სტრესმა შეიძლება ხელი შეუწყოს დარღვევების აღმოცენებას დასწავლისა და მეხსიერების პროცესებში, და წარმოადგენს მნიშვნელოვან ფაქტორს ალცჰაიმერის დაავადების განვითარებაში [Jeong et al., 2006].

დ. ჰარმანის (D. Harman) თეორიის თანახმად [Harman, 1956; 1972], ოქსიდაციურ სტრესს მნიშვნელოვანი როლი უკავია დაბერების პროცესებში. ამ თეორიის შემდგომი განვითარების და დამუშავების მიზნით შექმნილი შრომები, რაც უნდა უცნაური იყოს, ამტკიცებენ, რომ თავისუფალი რადიკალები მნიშვნელოვნად აუმჯობესებენ მეტაბოლურ ჯანმრთელობას და ზრდიან სიცოცხლის

ხანგრძლივობას [Ristow M, Schmeisser S, 2011]. ეს ეფექტი ცნობილია, როგორც „მიტოქონდრიული ჰორმეზისი“.

დაბერების პროცესი თავისი არსით უკავშირდება მოლეკულურ დონეზე სხვადასხვა სახის დარღვევების დაგროვებას და მათი გამოსწორების შეუძლებლობას. ამ პროცესების შესწავლაში ჰორმეზისის ფენომენის გამოყენება უკავშირდება აღნიშნული დარღვევების აღდგენის პროცესების სტიმულირებას საშუალო დონის სტრესის მრავალჯერადი ზემოქმედებით. ერთ-ერთი პირველი ვერსია ამ მეთოდური მიდგომისა იყო განმეორებითი თერმული შოკის გამოყენება ადამიანის უჯრედების კულტურაზე. ამ კვლევების შედეგებმა აჩვენა, რომ ჰორმეზისის პრინციპის გამოყენებას გერონტოლოგიურ კვლევებში აქვს უაღრესად დიდი პერსპექტივა [Rattan, 2005].

Mattson-მა [2005] დაასკვნა, რომ უჯრედულ დონეზე სტრესული რეაქციის გააქტიურების გზით ორგანიზმი ევოლუციის პროცესში თავის სასარგებლოდ იყენებდა გარემოს ტოქსიკურ აგენტებს, ხშირად, როგორც სასიგნალო მოლეკულებს , რომლებიც იწვევდა ადაპტაციურ სტრეს-რეაქციას. მაგალითად ის ასახელებს აზოტის ოქსიდს (NO) და ნახშირჟანგს (CO), ამინომჟავებს (მაგალითად, გლუტამატს), აგრეთვე კალციუმის და კალიუმის იონებს.

დღეს ჩვენ შეგვიძლია განვაცხადოთ, რომ ჰორმეზის სტიმული არის აუცილებელი ფაქტორი ცოცხალი ორგანიზმების ბიოლოგიური ფუნქციების შენარჩუნებისათვის. ჰორმეზისი არის დოზა ეფექტის მოვლენა, რომელშიც ნებისმიერი სახის სტრესმა (ფიზიკური, ქიმიური, ფსიქოლოგიური და სხვა), შეიძლება გამოიწვიოს მავნე ზეგავლენა ბიოლოგიურ სისტემებზე მაღალი დოზით, შეიძლება გამოიწვიოს მომგებიანი სტრესის ეფექტი დაბალ დოზებში.ე.ი.ჰორმეზისის ფენომენის გაგების ფუნდამენტური საფუძველი არის "დოზა-რეაქციის" ცნება, რომელიც გვიჩვენებს დაბალი დოზებით პროცესის სტიმულირებას და მაღალი დოზებით - დათრგუნვას. სუსტი ოქსიდაციური სტრესი ასტიმულირებს ე.წ. ჰორმეზისის ფენომენს, რომელიც ორგანიზმში წარმოადგენს ერთ-ერთ უძლიერეს დამცავ მექანიზმს, ხოლო ძლიერი - საფუძველს უყრის პათოლოგიური პროცესების განვითარებას.

დაბალი ან მაღალი დოზების სტრესოგენული ფაქტორები იწვევს, შესაბამისად, ეუსტრესს ან ძლიერ დისტრესს, რომელთა შედეგად აქტიურდება ორგანიზმის ზომიერი ან საზიანო ალოსტატიკური ბუფერული შესაძლებლობა. ეს ასეა, იმის მიუხედავად თუ რა სახის, ანუ რა ბუნებისაა სტრესორული ფაქტორი - ფიზიკური, ქიმიური თუ ფსიქიკური [Cornelius et al., 2013]. ეს ავტორები მიიჩნევენ, რომ კარგად ცნობილი „პრეკონდიცირების კონცეფცია“ არის ჰორმეზისის ფენომენის კლასიკური მაგალითი.

ზემოაღნიშნულის გათვალისწინებით, ჩვენი შედეგების ანალიზი საშუალებას გვაძლევს ვამტკიცოთ, რომ ექსპერიმენტებში, ჩვენ ვნახეთ ჰორმეზისის მოვლენის ქცევითი გამოვლინებები. კარგად გამოხატული ზრდა ქცევითი აქტივობისა, რომელიც, როგორც მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით, ისე წყალბადის ზეჟანგის ქრონიკული ზემოქმედებით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესის საპასუხოდ განვითარდა, მოწმობს იმაზე, რომ ორივე, პრინციპულად განსხვავებული ბუნების სტრესოგენული ფაქტორის დოზა, ანუ მათ მიერ ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის სიძლიერე იმყოფებოდა ჰორმეზისის მექანიზმების სტიმულირებისათვის საჭირო ფარგლებში.

აზოტის ოქსიდის პროდუცირების ინჰიბირებით ცხოველთა იმ ჯგუფში, რომელშიც მთელი სხეულის ჰიპერთერმული ექსპოზიცია განხორციელდა აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორის ნიტრო-L-არგინინ მეთილის ეთერის (L-NAME) მოქმედების ფონზე, როგორც ვნახეთ, პრაქტიკულად არ მოხდა რაიმე პრინციპული ცვლილება ჰიპერთერმული სტრესით გამოწვეულ ჰორმეზულ ეფექტში. ამასთან ერთად, ნორმალურ ცხოველებში (ყოველგვარი სტრესოგენული ფაქტორების მოქმედების გარეშე) აზოტის ოქსიდის პროდუცირების ბლოკირებამ არამარტო საკონტროლო ცხოველების ჯგუფთან შედარებით, არამედ იმ ჯგუფთანაც, რომელზეც მოხდა L-NAME-ს და ჰიპერთერმიის კომბინირებული ზემოქმედება, მნიშვნელოვნად შეამცირა ცხოველთა ლოკომოტორული აქტიურობა.

მიღებული მონაცემებით ასევე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ L-NAME-ს მოქმედების ფონზე ქცევითი აქტივობის აღნიშნული მკვეთრი შემცირება განპირობებული უნდა

იყოს აზოტის ოქსიდის სინთაზას **ენდოთელური** იზოფორმის ინჰიბირებით. ამ მოსაზრებას ადასტურებს ის, რომ ამინოგუანიდინის (ინდუციბელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას ინჰიბიტორი) შეყვანამ, ანუ აზოტის ოქსიდის სინთაზას ამ იზოფორმის აქტივობის სელექციურმა დათრგუნვამ პრაქტიკულად არავითარი გავლენა არ მოახდინა ლაბირინთში ვირთაგვების ქცევაზე - სტატისტიკურად სარწმუნო სხვაობა საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით არ გამოვლინდა.

არ არის გამორიცხული, რომ აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბირების პირობებში, როგორც უკვე აღვნიშნეთ, მთელი სხეულის ჰიპერთერმიამ შეიძლება გააქტიურებოს ჟანგბადის რადიკალების კიდევ ერთი წყარო, კერძოდ NADPH ოქსიდაზა [Butov et al., 2001], რომელიც უზრუნველყოფს ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას და, შესაბამისად, ჰორმეზისის მექანიზმის ამოქმედებას.

ორივე სტრესოგენული ფაქტორის „დოზის“ მატებამ, როგორც მთელი სხეული ჰიპერთერმიის (45 ^{0}C -მდე), ასევე წყალბადის ზეჟანგის ქრონიკული შეყვანის (0.2% წყალხსნარი) მატებამ გამოიწვია ჰორმეზისის ფენომენის დათრგუნვა და, შესაბამისად, მივიღეთ ლაბირინთში ცხოველთა ქცევის მკვეთრი შენელება. იგივე შედეგი მივიღეთ ორი ჰორმეზული დიაპაზონის სტრესოგენული ფაქტორის ერთობლივი მოქმედების პირობებში - ალბათ შეჯამდა მათ მიერ სტიმულირებული ოქსიდაციური სტრესი და დაირღვა ჰორმეზული დიაპაზონი. ამით ერთხელ კიდევ დადასტურდა ჰორმეზისის ფენომენის ძირითადი არსი - სტრესოგენული ფაქტორის დაბალი დოზების დადებითი და მაღალის - უარყოფითი ეფექტი.

რას ნიშნავს ეს, როდესაც ჩვენ ვიყენებთ მთელი სხეულის ჰიპერთერმიას ონკოლოგიურ კლინიკაში:

1. ჩვენ ვიცით, რომ ჰიპერთერმული ექსპოზიცია თავისთავად (ყოველგვარი ჰორმეზული ან სხვა ეფექტის გარეშე) მნიშვნელოვნად ზრდის აზოტის ოქსიდის პროდუცირებას და ასევე ვიცით, რომ დადგენილია უკუკორელაციური დამოკიდებულება ინდუციბულური აზოტის ოქსიდის სინთაზას აქტივობის გამოხატულებასა და სიმსივნურ უჯრედებში მეტასტაზების წარმოქმნის პროცესს შორის [Dong et al., 1994].

2. ჩვენ ასევე ვიცით, რომ მთელი სხეულის ჰიპერთერმიისას განვითარებული ოქსიდაციური სტრესი და, შესაბამისად, ჰორმეზისი ახდენს სითბური შოკის ცილების (HSP) სისტემების გააქტიურებას და ორგანიზმის ენდოგენური დამცავი მექანიზმების აქტივაცია-მობილიზაციას (ადაპტური სტრესრეაქცია).
გამომდინარე ორივე, ზემოთ ჩამოყალიბებული პუნქტიდან უაღრესად დიდი მნიშვნელობა აქვს იმას, რომ კლინიკაში გამოყენებული მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის ტემპერატურული რეჟიმი არ გასცდეს ჰორმეზულ დიაპაზონს.

სპეციალური განხილვის საგანია ე.წ. "L-არგინინის პარადოქსი", რომელიც ვნახეთ ჩვენს ექსპერიმენტებში L-NAME-სა და L-არგინინის კომბინირებული მოქმედებისას. ცნობილია, რომ L-არგინინის ჭარბი შეყვანა მნიშვნელოვნად ამცირებს აზოტის ოქსიდის პროდუცირების სხვადასხა მიზეზით წარმოქმნილ გაუარესებას და, მით უმეტეს, ამასთან ერთად აძლიერებს თრომბოციტების აგრეგაციის ენდოთელიუმ დამოკიდებულ ინჰიბირებას [Boger, 2004]. ამ პარადოქსის არსი მდგომარეობს იმაში, რომ ფიზიოლოგიურ კონცენტრაციებში აზოტის ოქსიდის სინთაზა ნორმალურად არის გაჯერებული L-არგინინით და ამ სუბსტრატის ეგზოგენურ დამატებას არ უნდა ჰქონდეს რაიმე გავლენა მის აქტივობაზე, მაგრამ რეალობაში არის საპირისპირო სიტუაცია და ამ განსხვავებას ეწოდა "L-არგინინული პარადოქსი ".
რა არის ახსნა ამ პარადოქსისა? 2000 წელს, Tsikas et al. ვარაუდობდნენ, რომ აზოტის ოქსიდის სინთაზას კონკურენტული ინჰიბიტორი შეიძლება იყოს პასუხისმგებელი L-არგინინული პარადოქსის წარმოშობაზე. ჭარბად შეყვანილმა ეგზოგენურმა L-არგინინმა შეიძლება ჩაანაცვლოს კონკურენტული ინჰიბიტორი და აღადგინოს აზოტის ოქსიდის პროდუქცია. ასეთი კონკურენტული ინჰიბიტორის როლი, როგორც დადგინდა, ეკუთვნის ADMA-ს (ასიმეტრიულ დიმეთილარგინინს) [Boger, 2004].

ჩვენი მიერ მიღებული და ლიტერატურაში გამოქვეყნებული ექსპერიმენტული მონაცემები საშუალებას იძლევა გავაკეთოთ შემდეგი დასკვნები, რომელთაც აქვთ არა მხოლოდ თეორიული, არამედ დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობა.

დასკვნები:

1. თავის ტვინი უზრუნველყოფილია ტემპერატურის ფრიად ეფექტური აუტორეგულაციის სისტემით, რომელიც იცავს მას ეგზოგენური ტემპერატურული ზემოქმედებისგან.

2. ნორმის პირობებში ამ აუტორეგულაციის ზედა ზღვარი (ყოველ შემთხვევაში თეთრი ვირთაგვებისთვის მაინც) არის გარემოს 45^{0}C ფარგლებში.

3. თავის ტვინში ტემპერატურის აუტორეგულაციის სისტემის მექანიზმის ნორმალურ ფუნქციონირებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს აზოტის ოქსიდი.

4. ქცევითი დარღვევები, გამოვლენილი ცხოველებში მთელი სხეულის ჰიპერთერმიის პირობებში, როდესაც ტემპერატურის ზედა ზღვარი არ სცდება 45^{0}C, არ უნდა იყოს გამოწვეული თავის ტვინში ტემპერატურული ცვლილებებით. ამ შემთხვევაში წამყვანი როლი უნდა ეკისრებოდეს სისხლის რეოლოგიური თვისებების გაუარესებით თავის ტვინში განვითარებულ სისხლით და ჟანგბადით მომარაგების დარღვევებს.

5. ჰორმეზული მექანიზმების სტიმულირება შეიძლება გამოყენებულ იქნას არა მხოლოდ ამა თუ იმ სახის სტრესორული ფაქტორის მოქმედების პირობებთან ადაპტაციისათვის, არამედ მრავალი პათოლოგიური პროცესის წარმატებული მკურნალობისათვის (მათ შორის კიბოს).

6. მთელი სხეულის ჰიპერთერმია შეიძლება გამოყენებულ იყოს როგორც ჰორმეზისის მექანიზმის სტიმულირების ერთ-ერთი ყველაზე ეფექტური ტრიგერული ფაქტორი, განსაკუთრებით ონკოლოგიურ კლინიკაში.

7. ყველა შემთხვევაში, როდესაც ჩვენ ვიყენებთ ჰორმეზისის მექანიზმს ადაპტაციის ან / და მკურნალობისთვის, მნიშვნელოვანია დავრწმუნდეთ, რომ ოქსიდაციური სტრესის გამომწვევი ფაქტორის დოზა არ აღემატებოდეს ჰორმეზისის დიაპაზონს.

8. ჩვენ ვთვლით, რომ მთელი სხეულის ჰიპერთერმიით მკურნალობისას ონკოლოგიურ კლინიკაში გამოყენებული ტემპერატურის ზედა ზღვარი არ უნდა აღემატებოდეს 40 ^{0}C-ს.

9. აზოტის ოქსიდის სინთაზას ინჰიბირებით გამოწვეული აზოტის ოქსიდის პროდუცირების შემცირება ან სრული ბლოკადა შეიძლება მნიშვნელოვნად აღდგენილ იქნეს L-არგინინის ეგზოგენური დამატებით.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Abe M.K., Chao T.S., Solway J. et al. Hydrogen peroxide stimulates mitogen-activated protein kinase in bovine tracheal myocytes: implications for human airway disease. Am J Respir Cell Mol Biol 1994; 11: 577-585.

2. Allen R.G, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. Free Rad Biol Med 2000; 28: 463-499.

3. Arai N., Imai M., Koumura H. et al. Mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase plays a major role in preventing oxidative injury to cells. J Biol Chem 1999; 274: 4924-4933.

4. Arnaud C., Godin-Ribuot D., Bottary S., Peinnequin A., Joyeux M., Demenge P., Ribuot C.. Cardiovascular research, 2003, 58, 118-125, 118-125.

5. Arteel G.E., Briviba K, Sies H. Protection against peroxinitrite. FEBS Letters 1999; 445: 226-230.

6. Auklend K., Bower B., Berliner R. Measurement of local blood flow with hydrogen gas. Circ. Res., 1964, 14, 164-187.

7. Awasthi Y.C., Zimniak P., Singhal S.S., Awasthi S. Physiological role of glutathione S-transferases in protection mechanisms against lipid peroxidation: A commentary. Biochem Arch 1995; 11: 47-54

8. Babibor B.M. NADPH oxidase: An update. Blood 1999; 93: 1464-1476.

9. Baskurt OK, Farley RA, Meiselman HJ. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 1997, 273, H2604-H2612.

10. Beckman K.B., Ames B.N. Oxidative decay of DNA. J Biol Chem 1997; 272: 19633-19636.

11. Beckman K.B., Ames B.N. The free radical theory of aging matures. Phys Rev 1998; 78: 548-581.

12. Berlett B.S., Stadtman E.R. Protein oxidation in aging, desease, and oxidative stress. J Biol Chem 1997; 272: 20313-20316.

13. Bicher H., Khetsuriani R., Shukakidze A., Lazrishvili I., Mitagvaria N. Hyperthermia-induced morphological changes in cerebral tissue of the rat. Georgian Medical News, **2009**, 7-8 (172-173), 72-75

14. Bicher HI, Mitagvaria NP, Nebieridze MI. The role of local blood flow intensity, blood rheological properties and free radicals in development of local hyperthermia-induced morphological changes in cerebral tissue of the rat. Bicher Cancer Institute. 2010, Los Angeles, CA, USA. http://www.bichercancerinstitute.com/Papers/

15. Boger RH. AsymmetricDimethylarginine, an endogenous inhibitor of Nitric Oxide synthase, explains the « L-Arginine paradox» and acts as a novel cardiovascular risk factor. J Nutr. **134** (2004) 2842S-2847S.

16. Bor-Kucukatay M., Ö. Yalcin, O. Gökalp, D. Kipmen-Korgun, A. Yesilkaya, A. Baykal,

17. Bourdon E., Blache D. The importance of proteins in defense against oxidation. Antioxid Redox Signal 2001; 3: 293-311.

18. Brigelius-Flohe R., Traber M.G Vitamin E: function and metabolism. FASEB J 1999; 13: 1145-1155.

19. Butov A., Johnson T., Cypser J., Sannikov I., Volkov M., Sehl M., Yashin A. Hormesis and debilitation effects in stress experiments using the nematode worm Caenorhabditis elegans: in model of balance between cell damage and HSP levels. Experimental gerontology, **37,** (2001), , 57-66.

20. Cai H., Harrison D.G. Endothelial disfunction in cardiovascular diseases. The role of oxidant stress. Circ Res 2000; 87: 840-844.

21. Candel N.S., Schumacker P.T. Cellular oxygen sensing by mitochondria: old questions, new insight. J Appl Physiol 2000; 88: 1880-1889.

22. Carr C.A., Zhu B.-Z., Frei B. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and α - tocopherol (vitamin E). Circ Res 2000; 87: 349-354.

23. Cornelius C., Perrota R., Graziano A., Calabrese EJ., Calabrese V. Stress responses, vitagenes and hormesis as critical determinants in aging and longevity: Mitochondria as a "chi". Immun.Ageing, **10** (2013) 15.

24. Coyle CH. Mechanisms of H2O2-induced oxidative stress in endothelial cells. Theses and Dissertation. (2004), http://ir.uiowa.edu/etd/117.

25. Crane F.L. Biochemical functions of Coenzyme Q10. J Am Coll Nutr 2001; 20: 591-598.

26. Croteau D.L., Bohr V. Repair of oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mammalian cells. J Biol Chem 1997; 272: 25409-25412.

27. Davis K.L, Martin E, Turko I.V., MuradF. Novel effects of nitric oxide. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2001; 41: 203-236.

28. De Witt D.S.: L-arginine and superoxide dismutase present or reverse cerebral hypoperfusion after fluid percussion traumatic brain injury. J. Neurotrauma **2007**, 14, 223-233.

29. Dong Zhongyun, Alexander H. Staroseisky, Xiaoxia Qi, Keping Xie, and Isaiah J. Fid1er. Inverse Correlation between Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase Activity and Production of Metastasis in K-1735 Murine Melanoma Cells. Cancer Research, **54** (1994) 789-793.

30. Droge W.Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev 2002; 82: 47-95.

31. El-Sabban F., Fahim M.A. Local cerebral hyperthermia induces spontaneous thrombosis and arteriolar constriction in the pia matter of the mouse. Int. J. Biometeorol, 1995 38, 2, 92-97.

32. Fajardo L.F. Pathological effects of hyperthermia in normal tissues. Cancer Res., 1984, 44, 4826-4835

33. Fike J.R., Gobbel G.T., Satoh T., Stauffer P.R. Normal brain response after interstitial microwave hyperthermia. J. Int. J. Hyperthermia, 1991, 7, 5, 795-808.

34. Frey B., Haupt R., Alms S. et al. Increase in fragmented phosphatidylcholine in blood plasma by oxidative stress. J Lipid Res 2000; 41: 1145-1153.

35. Fridovich I. Superoxide anion radical (O^{2-}), superoxide dis-mutases, and related matters. J Biol Chem 1997; 272: 18515-18517.

36. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. Annu Rev Biochem 1995; 64: 97-112.

37. Girotti A.W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effectors action in biological systems. J Lipid Res 1998; 39: 1529-1542.

38. Grasso S, Scifo C, Cardile V, Gulino R, Renis M. Adaptive responses to the stress induced by hyperthermia or hydrogen peroxide in human fibroblasts. Exp Biol Med (2003) May; 228, 491-498.

39. Grasso S, Scifo C, Cardile V, Gulino R, Renis M. Adaptive responses to the stress induced by hyperthermia or hydrogen peroxide in human fibroblasts. Exp Biol Med (2003) May; 228, 491-498.

40. Griendling K.K., Sorescu D, Lassegue B., Usio-Fukai M. Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. Arterioscler. Thromb Vasc Biol 2000; 20: 2175-2183.

41. Griendling K.K., Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase. Role in cardiovascular biology and disease. Circ Res 2000; 86: 494-501.

42. Grover D, Ford D, Brown C, Hoe N, Erdem A, et al. (2009). Hydrogen Peroxide Stimulates Activity and Alters Behavior in Drosophila melanogaster. PlOS ONE **4** (10): e7580. doi:10.1371/journal.pone.0007580.

43. Halliwell B. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). Free Radic Res 1999; 1: 261-272.

44. Halliwell B., Gutteridge J.M. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys 1990; 280: 1-8.

45. Harman, D. "A biologic clock: the mitochondria?". Journal of the American Geriatrics Society **20** (1972) 145–147.

46. Harman, D. "Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry". Journal of Gerontology **11** (1956) 298–300.

47. Havveman J., Sminia P., Wondergem J., Van der Zee J., Hulshof M. Effects of hyperthermia on the central nervous system: What was learn from animal studies? Int. J. Hyperthermia, **2005**, 21, 5, 473-487

48. Hildebrandt B., Wust P., Ahlers O, et al. The cellular and molecular basis of hyperthermia. Crit. Rev. Oncol. Hematol., **43** (2002) 33-56.

49. Hildebrandt B., Wust P., Ahlers O, et al. The cellular and molecular basis of hyperthermia. Crit. Rev. Oncol. Hematol., **43** (2002) 33-56.

50. Hodcroft A. Body Temperature Control, 1980 (bailliere Tindal, London).

51. Hoidal J.R. Reactive oxygen species and cell signaling. Am J Respir Cell Mol Biol 2001; 25: 661-663.

52. Hoimgren A. Thioredoxin and Glutaredoxin Systems. J Biol Chem 1989; 264: 13963-13966.

53. Irani K. Oxidant signaling in vascular cell growth, death, and survival. Circ Res 2000; 87: 179-183.

54. Jeong Y.H, Park C.H., Yoo J. et al. Chronic stress accelerates learning and memory impaiments and increases amyloid deposition in APP-CT100 transgenic mice, an Alzheimer's disease model. The FASEB Journal, **20** (2006) 729-731.

55. Jones D.P., Mody V.C, Carlson J.L. et al. Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of again from decline in antioxidant defenses. Free Rad Biol Med 2002; 33: 1290-1300.

56. Kavanagh R.J., Kam P.C.A. Lazaroids: efficacy and mechanism of action of the 21-aminosteroids in neuroprotection. Br J Anaesth 2001; 86: 110-119.

57. Klatt P., Lamas S. Regulation of protein function by S-gluta-thiolation in response to oxidative and nitrosative stress. Eur J Biochem 2000; 267: 4928-4944.

58. Klotz L.O. Oxidant-induced signaling: Effects of peroxyni-trite and singlet oxygen. Biol Chem 2002; 383: 443-456.

59. Koken T., Serteser M., Kahraman A., Gokce C. Oxidative stress markers in hepatitis C infected hemodialysis patients. J Nephrol 2002; 15: 302-307.

60. Kontos H.A., Wei E.P., Ellis E.F. et al. Appearance of superoxide anion radical in cerebral extracellular space during increased prostaglandin synthesis in cats. Circ Res 1985; 57: 142-150.

61. Koshi J.K. (ed). Free radicals. NY, 1980

62. Kourie J.I. Interaction of reactive oxygen species with ion transport mechanisms. Am J Physiol 1998; 275: C1-C24.

63. Kramer J.H., Dickens B.F, Weglicki W.B. Phospholipid hydroperoxides are precursors of lipid alkoxyl radicals produced from anoxia/reoxygenated endothelial cells. J Mol Cell Cardiol 1995; 27: 371-381.

64. Kuhn H. Biosynthesis, metabolization and biological importance of the primary 15-lipoxygenase matabolites 15-hydro(pe-ro)xy-5Z,8Z,11Z,13E-eicosatetraenoic acid and 13-hydro(pero)xy-9Z,11E-octadecadienoic acid. Prog Lipid Res 1997; 35: 203-206.

65. Kumaravel M, Singh M. Clin Hemorheol., 1995, 15, 291-304.

66. Kunsch C., Medford R.M. Oxidative Stress as a Regulator of Gene Expression in the Vasculature. Circ Res 1999; 85: 753-766.

67. Lim HJ, Lee YJ, Nam JH, Chung S., Shin S. J. Biomech., 2010, 43, 3, 546-550.

68. M.Ispir, Ü.K. Senturk, I. Kaputlu†, O.K. Baskurt. Clinical Hemorheology and Microcirculation, 2000, 22, 267-275

69. Mackowiak PA, ed. Fever : Basic Mechanisms and Management, (Lappincot, Philadelphia), 1997, pp 506.

70. Maeda N., Seike M., Shiga T. Biochim. Biophys Acta, 1987, 904, 2, 319-329.

71. Maier CM, Steinberg GK. Hypothermia and Cerebral Ischemia : Mechanisms and Clinical Application, 2004, (Humana, Totowa) pp, 188.

72. Manna S.K., Zhang H.J., Yan T. Overexpression of manganese superoxide dismutase suppresses tumor necrosis factor-induced apoptosis and activation of nuclear transcription factor-kappa β and activated protein-1. J Biol Chem 1998; 273: 13245-13254.

73. Mashima R., Yamamoto Y., Yoshimura S. Reduction of phosphatidylcholine hydroperoxide by apolipoprotein A-I: purification of the hydroperoxidereducing proteins from human blood plasma. J Lipid Res 1998; 39: 1133-1140.

74. Mates J.M., Perez-Gomez C., Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem 1999; 32: 595-603.

75. Matsumi N, Matsumoto K, Mishima N, et al., Thermal damage threshold of brain tissue: Histological study of heated normal monkey brains. Neurol. Med. Chir., **34** (1994), 209-215.

76. Matsumi N, Matsumoto K, Mishima N, et al., Thermal damage threshold of brain tissue: Histological study of heated normal monkey brains. Neurol. Med. Chir., **34** (1994), 209-215.

77. Matsumi N., Matsumoto K., Mishima N., Moriyama E., Furuta T., Nishimoto A., Taguchi K. Thermal damage threshold of brain tissue- histological study of heated normal monkey brains, J. Neurol. Med. Chir, 1994, 34, 4 209-215.

78. Mattson MP Hormesis and disease resistance: activation of cellular stress response path- ways. BELLE Newsletter, **13** (2005) 6-14.

79. May J.M. Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane. FASEB J 1999; 13: 995-1006.

80. May M.J., Cobb C.E., Mendiratta S. et al. Reduction of the Ascorbyl free radical to ascorbate by thioredoxin reductase. J Biol Chem 1998; 273: 22039-23045.

81. Mayer M. Association of serum bilirubin concentration with risk of coronary artery disease. Clin Chem 2000; 46: 1723-1727.

82. Mc Hugh J., Cheek D.J. Nitric oxide and regulation of vascular tone: pharmacological and physiological considerations. Am J Critical Care 1998; 7: 131-140.

83. McElligott JG, Melzack R. Exp. Neurol., 1967, 17, 293-312.

84. Mchedlishvili G., Beritashvili N. Technique for direct and quantitative evaluation of erythrocyte aggregability on blood samples. Biorheol., 1993; 2: 153-161.

85. Mchedlishvili G., Beritashvili N., Lominadze D., Tsinamdzgvrishvili B. Biorheology, 1993, 30, 153-161.

86. Meister A. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. J Biol Chem 1994; 269: 9397-9400.

87. Meister A. Glutatione, ascorbat, and cellular protection. Cancer Res 1994; 54: 1969-1975.

88. Mete F., Kilic E., Somay A., Yilmiz B. Indian J. Med. Res., 2012, 135, 233-239.

89. Michalski AI., Novoseltsev VN. Quantitative analysis and modeling of aging, morbidity and mortality. Gerontol. Success. **17** (2005), 17-12.

90. Mitagvaria N, I. Lazrishvili, M.Devdariani, L. Davlianidze, M. Nebieridze, N. **Saginadze**, I.Kvachakidze, L. Gumberidze, N. Sikharulidze. Hormesis - a basis for homeostasis in the presence of stressors. An example of hyperthermic stress. Journal of Biological Physics and Chemistry, 2015, 15, 187-193

91. Mitagvaria N., Bicher H., Lazrishvili I., Devdariani M., Nebieridze M. The role of Nitric Oxide in development of local Hyperthermia-induced morphological changes in

cerebral tissue – an experimental study on rats. Proceedings of XXIX Meeting of the International Clinical Hyperthermia Society (ICHS), Cologne, Germany, September, **2010**.

92. Mitagvaria N.P**.,** Bicher H. Cerebral Blood Flow Regulation. Nova Publishers, NY, **2009**.

93. Mitagvaria NP, Bicher JI, Lazrishvili IL, Devdariani MI, Nebieridze M., Gobechia LSh, Sikharulidze N. proceedins of XXX Meeting of ICHS, Tbilisi, 2011, 4.

94. Mitagvaria NP, Bicher JI. Cerebral Blood Flow Regulation, 2009, Nova Science Publishers, New York.

95. Mitagvaria NP., I.Lazrishvili, M.Devdariani, M.Nebieridze, L.Davlianidze, T.Bikashvili, T.Lortkipanidze and N. Sikharulidze. The mechanisms involved in the therapeutic effect of hyperthermia on tumor tissue. Proceedings of the Georgian National Academy of Sciences, Biomedical Series, **37** (2011) 5-6.

96. Mizuto O., Yoshimitsu K., Tomohiko A. et al. Oxidative stress by tumor-derived macrophages suppresses the expression of CD3 chain of T-cell receptor complex and antigen-specific T-cell responses. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93: 13119-13124.

97. Moncada S., Palmer M., Higgs EA. Pharmacol. Rev. 1991, 43, 109-142.

98. Mooradian A.D. Antioxidant properties of steroid. J Steroid Biochem Mol Biol 1993; 45: 509-511.

99. Moosman B., Behl C. Cytoprotective antioxidant function of tyrosine and tryptophan residues in transmembrane proteins. Eur J Biochem 2000; 267: 5687-5692.

100. Morehouse K.M., Mason R.P. The transition metal-mediated formation of the hydroxyl free radical during the reduction of molecular oxygen by ferredoxin-ferredoxin: NADP+Oxidoreductase. J Biol Chem 1988; 263: 1204-1211.

101. Nagashima T., Ohinata H., Kuroshima A. Life Sci., 1994, 54, 17-25.

102. Nelson DA, Nunneley SA. Eur. J. Appl. Physiol., 1998, 78, 353-359.

103. Neumann FJ, Schim-Schonbein H., Ohlenbusch. Pflugers. Arch., 1987, 408, 524-530.

104. Neuzil J., Stocker R. Free and albumin-bound bilirubin are efficient co-antioxidants for α-Tocopherol, inhibiting plasma and low density lipoprotein lipid peroxidation. J Biol Chem 1994; 269: 16712-16719.

105. Nielsen F., Mikkelsen B.B., Nielsen J.B. et al. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. Clin Chem 1997; 43: 1209-1214.

106. Paolicchi A., Dominichi S., Pompella A. Glutathione catabolism as a signaling mechanism. Biochem Pharmacol 2002; 64 (5-6): 1027-1035.

107. Pinchuk I., Schnitzer E., Lichtenberg D. Kinetic analysis of copper-induced peroxidation of LDL. Biochim Biophys Acta 1998; 1389: 155-172.

108. Pou S., Pou W.S., Bredt D.S. et al. Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase. J Biol Chem 1992; 267: 24173-24176.

109. Practico D., Barry O.P., Lawson J.A. et al. IPF2α-I: An index of lipid peroxidation in humans. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95: 3449-3454.

110. Rattan S.I.S. Principles and practice of hormetic treatment of aging anf ahe related diseases. BELLE Newsletter, **13** (2005) 1-5.

111. Rauchova H., Drahota Z., Lenaz G. Function of Coenzyme Q in the cell:Some biochemical and physiological properties. Physiol Res 1995; 44: 209-216.

112. Reid H. L., Barnes A. J., Lock P. J., Dormandy J. A., & Dormandy T. L. A simple method for measuring erythrocyte deformability. Clin Pathol. 1976; 29 (9): 855.

113. Reiter R.J. Melatonin: Lowering the High Price of Free Radicals. News Physiol Sci 2000; 15: 246-250.

114. Rice-Evance C.A., Diplock A.T, Symons M.C.R. Thechniques in free radical research. Elsevier, Amsterdam, 1991.

115. Ristow M, Schmeisser S. Extending life span by increasing oxidative stress. Free Radic Biol Med. **51** (2011) 327-336

116. Salonen J.T., Nyyssonen K., Salonen R. et al. Lipoprotein oxidation and progression of carotid atherosclerosis. Circulation 1997; 95: 840-845.

117. Sanders S.A., Eisenthal R., Harrison R. NADH oxidase activity of human xanthine oxidoreductase - generation of superoxide anion. Eur J Biochem 1997; 245: 541-548.

118. Schachinger V., Zeiher A.M. Atherogenesis - recent insights into basic mechanisms and their clinical impact. Nephrol Dial Transplant 2002; 17: 2055-2064.

119. Schafer F.Q., Buettner R.G. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathion disulfide/glutathione couple. Free Radic Biol Med 2001; 30: 1191-1212.

120. Schildkopf P, Ottet OJ, Frey B., et al. Biological rationales and clinical applications of temperature controlled hyperthermia-implications for multimodal cancer treatments. Curr Med Chem, **17** (2010) 3045-3057.

121. Schildkopf P, Ottet OJ, Frey B., et al. Biological rationales and clinical applications of temperature controlled hyperthermia-implications for multimodal cancer treatments. Curr Med Chem, **17** (2010) 3045-3057.

122. Shikatura T., Kubota K., Tamura K. Blood viscosity and cerebral blood flow in aged. Nippon Ronen Igakkai Zasshi, 1993, 30(3): 174-81.

123. Shulz J.B. Blokade of neuronal nitric oxide synthase protect against excitotoxicity in vivo. J. Neurol. 2005, 15, 8419-8429.

124. Sminia P., Hulshof M. Hyperthermia and the central nervous system. Progress in Brain Research (H.S.Sharma and J. Westman (Eds.), 1998, 115, 337-350.

125. Sminia P., Van der Zee J., Wondergem J. Effect of hyperthermia on the central nervous system: a review. Int. Hyperthermia, **10** (1994) 1-130

126. Starzyk D., Korbut R., Gryglewski R. Journal of Physiology and Pharmacology, 1999, 50, 4, 629-637

127. Sukstanskii AL, Yablonskiy DA. J. Therm. Biol., 2004, 29, 583-587.

128. Sukstanskii AL, Yablonskiy DA. PNAS, 2006, 103, 32, 12144-12149.

129. Swan H. Thermoregulation and Bioenergetics, 1974, Elsevier, N.Y.

130. Taylor R.W. Mechanical deformation of the arterial wall in hypertension: A mechanism for vascular pathology. Am J Med Sci 1998; 316: 156-161.

131. Taylor WF, Bishop VS. Am. J. Physiol. 1993, 264 (Heart Circ. Physiol.33), H1355-H1359.

132. Teixeira H.D., Schumacher R.I., Meneghini R. Lower intracellular hydrogen peroxide levels in cells overexpressing CuZn-super-oxide dismutase. Proc Natl Acad Sci 1998; 95: 7872-7875.

133. Thannickal V.J., Fanburg B.L. Reactive oxygen species in cell signaling. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2000; 279: L1005-L1028.

134. Tomiyama Y., Brian J.E., Todd M.M. Plasma viscosity and cerebral blood flow. Am J. Physiol Heart Circ Physiol., **2000**, 279, H1949-H1954

135. Tsikas D., Boger RH, Sandmann J., Bode-Boger SM, Frolich JC. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors are responsible for the L-arginine paradox. FEBS Letters **478** (2000) 1-3.

136. Van der Zee. Heating the patient: a promising approach? Annals of Oncology, **2002**, 13, 1173-1184.

137. van Leeuwen GM, Hand J, Lagenduk JW, Azzopardi J, Edwards DV. Pediatr. Res. 2000, 48, 351-356.

138. Vanden Hoek T.L., Becker L.B., Shao Z et al. Reactive oxygen species released from mitochondria during brief hypoxia induce preconditioning in cardiomyocytes. J Biol Chem 1998; 272: 18092-18098.

139. White C.R., Brock T.A., Chang L.Y. et al. Superoxide and per-oxynitrite in atherosclerosis. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91: 1044-1048.

140. Wolfler A., Abujia P.M., Schauenstein K., Liebmann P.M. N-acetylserotonin is a better extra- and intracellular antioxidant than melatonin. FEBS Letters 1999; 449: 206-210.

141. Wolin M.S. Interactions of oxidants with vascular signaling systems. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000; 20: 1430-1442.

142. Xiao C, Mileva-Seitz V, Seroude L, Robertson RM.Targeting HSP70 to motoneurons protects locomotor activity from hyperthermia in Drosophila. Dev Neurobiol. **67** (2007) 438-455.

143. Yang Y., Cheng J.Z., Singhal S.S. et al. Role of glutathione S-trans-ferases in protection against lipid peroxidation. J Biol Chem 2001; 276: 19220-19230.

144. Yoshikawa T., Naito Y. What is oxidative stress? JMAJ, **45** (2002) 271-276.

145. Zhao Y., Wang Z.B., Xu J.X. Effect of cytochrome c on the generation and elimination of O_2' and H_2O_2 in mitochondria. J Biol Chem 2003; 278: 2356-2360.

146. Zhu M, Ackerman JJ, Sukstanskii AL, Yablonskiy DA. J Appl Physiol., 2006, 101, 5, 1481-1488.

147. Розанцев Э.Г., Шолле В Д. Органическая химия свободных радикалов. М., 1979.

148. Семенов Н.Н. Цепные реакции. М, 1986.

149. Сувернев А.В. Основы безопасности пиковой гипертермии. Новосибирск, Академическое издательство «ГЕО», 2007.

150. Эммануэль Н.М. Цепные реакции окисления углеводородов в жидкой фазе. М, 1965.