

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

საბაკალავრო ნაშრომი

მანთაშაშვილი თემური

**„კრეატინის მოდულატორული როლის შესწავლა ფსიქო-
ემოციური სტრესის პირობებში“**

ნაშრომი შესრულებულია ივანე ჯავახიშვილის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტის, ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტის,
ბიოლოგიის დეპარტამენტის, ბიოქიმიის კათედრაზე ბიოლოგიის ბაკალავრის
ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელი: ბ.მ.დ. პროფ. ნანა კოშორიძე

თანახელმძღვანელი: ბიოლოგიის აკადემიური დოქტორი,
ასისტ. პროფ. გიორგი ბურჯანაძე

თბილისი 2020

სარჩევი

ანოტაცია.....	3
Annotation	4
შესავალი.....	5
I თავი. ლიტერატურული მიმოხილვა.....	8
I.1 სტრესი და გამომწვევი ფაქტორები	8
I.2 კრეატინი	12
I.3 კრეატინის მეტაბოლიზმი.....	16
I.4. უჯრედული მეტაბოლიზმის პრევენცია კრეატინით	19
II თავი. კვლევის ობიექტები და მეთოდები.....	21
II.1 კვლევის ობიექტი	21
II.2. Ca^{2+} -ATP-აზას აქტივობის განსაზღვრა	21
II.3. Ca^{2+} -ის რაოდენობის განსაზღვრა	22
II.4. Na^+/K^+ -ატფ-აზას აქტივობის განსაზღვრა.....	22
II.5. Mg^{2+} -ATP-აზას აქტივობის განსაზღვრა	23
II.6. აზოტის ჟანგის რაოდენობის განსაზღვრა	23
II.7. H_2O_2 -ის რაოდენობის განსაზღვრა.....	23
სტატისტიკური ანალიზი	24
III თავი. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა	25
დასკვნა	33
გამოყენებული ლიტერატურა	34

ანოტაცია

სტრესი თანამედროვე სამყაროს გლობალურ პრობლემას წარმოადგენს, რომელიც პასუხისმგებელი არის ორგანიზმის ადაპტაციურ, ქცევით და ფიზიოლოგიურ პასუხებზე. მთელი რიგი ექსპერიმენტული კვლევები ადასტურებენ მჭიდრო კავშირს ხანგრძლივ დღე-ღამურ ცვლილებასა და ქრონიკულ სტრესს შორის. ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევა წარმოადგენს მნიშვნელოვან სტრეს-ფაქტორს, რომელსაც შეუძლია უარყოფითად იმოქმედოს ცოცხალ სისტემაზე. მსგავს გარეგან ფაქტორებს გავლენა აქვთ, როგორც მეტაბოლურ პროცესებზე, ისე სხვადასხვა სასიგნალო აგენტების რაოდენობრივ ცვლილებაზე, რომელთა შორის მნიშვნელოვანი ადგილი უჭირავს კალციუმის იონს.

ცნობილია, რომ Ca^{2+} -ის რაოდენობრივი ცვლილებები უარყოფითად აისახება უჯრედის ფუნქციონირებაზე, კერძოდ მისი რაოდენობის მატება განაპირობებს ჟანგვითი პროცესების აქტივაციას. აღნიშნული ცვლილებების სირთულიდან გამომდინარე მნიშვნელოვანია, ისეთი ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მოძიება, რომლებიც გარკვეულ დამცველობით ფუნქციას შეასრულებენ, რომელთა შორისაა უჯრედში მაღალენერგეტიკული ფოსფატების ტრანსპორტსა და შენახვაში მონაწილე ნიტროგენული ნაერთი კრეატინი.

ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა თეთრი ვირთაგვას ჰიპოკამპის უჯრედებში Ca^{2+} -ის და NO-ს რაოდენობრივი ცვლილებების შესწავლა, Ca-ატფ-აზას, Mg-ატფ-აზას, Na/K-ატფ-აზასა და NO-სინთაზაზე დაკვირვება და აღნიშნულ მაჩვენებლებზე კრეატინის გავლენის დადგენა.

ექსპერიმენტულად ნანახი იქნა, რომ საკონტროლო ჯგუფის (G1) წარმომადგენლებთან შედარებით, სტრესირებული ვირთაგვების (G2) ჰიპოკამპში სარწმუნოდაა გაზრდილი Ca^{2+} -ის კონცენტრაცია, ხოლო კრეატინის შეყვანის პირობებში (G3) ეს მაჩვენებელი კვლავ საკონტროლო სიდიდეს უახლოვდება. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ დღე-ღამური რიტმის დარღვევის ფონზე ფიქსირდება ისეთი აქტიური ნაერთების სარწმუნო რაოდენობრივი მატება, როგორიცაა აზოტის ოქსიდი (NO) და წყალბადის ზეჟანგი (H_2O_2), რაზედაც კრეატინის მიწოდებამ ასევე დადებითად იმოქმედა.

მიღებული მონაცემების გათალისწინებით, ნაჩვენებია, რომ ოქსიდაციური სტრესი, რომელიც გამოწვეულია რიტმის ხანგრძლივი დარღვევით, შესაძლოა პროვოცირდებოდეს Ca^{2+} -ის რაოდენობრივი მატებით თავის ტვინის უჯრედებში. კრეატინის მოდულატორული ეფექტი ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმზე დადებითად მოქმედებს ანტოქსიდანტურ სისტემაზე, რაც იცავს ჰიპოკამპის უჯრედებს დაზიანებისგან.

Annotation

Stress represents a global problem of the modern world, which is responsible for a body reaction to adaptation, behavior, and physiology. The range of assays reveals a tight connection between a continuous change in circadian rhythm and chronic stress. Natural circadian rhythm disruption represents an important risk factor, which can negatively affect a living organism. Similar external factors influence metabolic processes as well as the quantitative change of signaling agents amongst which the Ca^{2+} takes place.

It is known that the quantitative changes of Ca^{2+} negatively affect cell functioning, particularly, the increase of the Ca^{2+} gives rise to oxidation processes. According to the complexity of the problem, it is important to obtain the biologically active compounds that would serve as protectors to some extent, such as a nitrogen compound creatine, which is responsible for the transportation and preservation of highly energetic phosphates in a cell.

This research aimed to learn the quantitative changes of Ca^{2+} and NO, observe the Ca-ATP-ase, Mg-ATP-ase, Na/K-ATP-ase, and NO-synthase.

It was shown experimentally that the Ca^{2+} concentration was increased in the stressed rats (G2) compared to the control group (G1), but in the case of injecting creatine, (G3) the concentration approaches the initial (control) amount. It should as well be noted that the circadian rhythm routine disruption increases the number of active compounds, such as nitrogen monoxide and hydrogen peroxide, which were as well positively affected while administering creatine.

According to the obtained results, it is shown that the oxidative stress, which is caused by continuous routine disruption, may be initiated as a result of the Ca^{2+} increase in brain cells. The modulatory effect of creatine positively affects energetic metabolism as well as anti-oxidation activity, which protects hippocampus cells from damaging.

შესავალი

სტრესი არის „არასპეციფიური პასუხი“ გარეგან ცვლილებებზე. მისი მოლეკულური და ფიზიოლოგიური მექანიზმების შესწავლა კი თანამედროვე მეცნიერების აქტუალურ საკითხს წარმოადგენს. თანამედროვე ცხოვრების წესი ზრდის სტრესულ ფონს როგორც ადამიანში, ისე ცხოველებში და არღვევს ორგანიზმის სხვადასხვა სისტემის ნორმალური მოქმედების რიტმს და ნეგატიურად აისახება მათ ფუნქციონირებაზე. სტრესის დროს ხდება მთელი რიგი ფერმენტული სისტემების აქტივობის, ჰორმონალური სტატუსის, ბიოლოგიურად აქტიური მოლეკულების რაოდენობის ცვლილება და ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დარღვევა.

აღსანიშნავია ის ფაქტიც, რომ სტრეს-ფაქტორების მოკლევადიანი მოქმედება, ააქტიურებს უჯრედებს, რაც დადებითად აისახება მათ ფუნქციონირებაზე. თუმცა სტრესის გახანგრძლივების შედეგად განვითარებული მეტაბოლური ცვლილებები ხშირ შემთხვევაში სხვადასხვა პათოლოგიების ჩამოყალიბების საფუძველი ხდება [1,2,3,4,5,6].

ცნობილია, რომ სტრესის ფონზე მიმდინარე ფიზიოლოგიური პროცესების საფუძველს უჯრედში მიმდინარე ბიოქიმიური ცვლილება წარმოადგენს. ამის გათვალისწინებით, ისეთი ნივთიერებების მოძიება, რომლებსაც შესწევთ უნარი მოახდინონ სტრესული მდგომარეობის პრევენცია, განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს. დღესდღეობით ცნობილია მთელი რიგი ნაერთებისა, რომლებიც ამ მიზნით აქტიურად გამოიყენება პრაქტიკაში. მათ შორის განიხილება ნიტროგენული ნაერთი კრეატინი (α -N-მეთილგუანაიდინო აცეტილის მჟავა).

კრეატინი ჩართულია **Cr/CK/PCr** სისტემის ფუნქციონირებაში, ის მნიშვნელოვან როლს ასრულებს უჯრედში მიმდინარე ენერგეტიკული ბალანსის ბუფერიზაციის პროცესში. ეს პროცესი განსაკუთრებით აქტიურია ისეთი მაღალი ენერგეტიკული მოთხოვნილების უჯრედებისათვის, როგორიცაა ნერვული და კუნთოვანი უჯრედები. ცნს-ში Cr სავარაუდოდ სხვა ფუნქციებსაც ასრულებს (ნერვული იმპულსის გატარება, აქსონალური ტრანსპორტი). ნევროლოგიური დაავადებების მრავალფეროვნება, რომლებიც შეინიშნება კრეატინის დეფიციტის შემთხვევაში, ასევე მიუთითებს Cr-ის მნიშვნელობას ფსიქომოტორულ განვითარებასა და შემეცნებითი ფუნქციების რეალიზირებაში [3,7,8,9].

ბოლო ხანებია გამოჩნდა მონაცემები კრეატინის ანტიოქსიდანტური თვისებების შესახებაც. კერძოდ, ნაჩვენებია კრეატინით კვების პირობებში ჩონჩხის კუნთებსა და ცნს-ში მიმდინარე ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროცესის გაუმჯობესება ანტიოქსიდანტური სისტემის ფერმენტების აქტივაციის შედეგად. ცნობილია, რომ უჯრედის ანტიოქსიდანტური

სისტემის აქტივობის დაქვეითების მიზეზი შესაძლებელია გახდეს ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის ხანგრძლივი დარღვევით გამოწვეული ქრონიკული სტრესიც. ეს პროცესი მიმდინარეობს მთელი რიგი ბიოქიმიური პროცესების ცვლილებით, კერძოდ ადგილი აქვს როგორც ანტიოქსიდანტური სისტემის, ასევე ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ფერმენტების აქტივობის დაქვეითებას, რაც გამოიხატება ატფ-ის დეფიციტითა და თავის ტვინის ენერგეტიკული პოტენციალისა და ფუნქციური მდგომარეობის გაუარესებით, უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შემცირებით, აპოპტოზური და ნეკროზული პროცესების გაძლიერებით, იონების რაოდენობრივი შემცველობის ცვლილებით და სხვ.

ყოველივე ამის გათვალისწინებით, ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა თეთრი ვირთაგვას ჰიპოკამპის უჯრედებში Ca^{2+} -ის და NO-ს რაოდენობრივი ცვლილებების შესწავლა, Ca-ატფ-აზას, Mg-ატფ-აზას, Na/K-ატფ-აზასა და NO-სინთაზაზე დაკვირვება და აღნიშნულ მაჩვენებლებზე კრეატინის გავლენის დადგენა [4, 7,8,10,11].

ჩატარებულმა ექსპერიმენტმა აჩვენა, რომ ხანგრძლივი დროით ცირკადული რიტმის დარღვევის შემთხვევაში ვირთაგვების თავის ტვინის ჰიპოკამპში შეინიშნება ზოგიერთი ბიოქიმიური მახასიათებლების ცვლილება, მაგალითად ექსპერიმენტის 30-ე დღეს სტრესირებული ვირთაგვების (2 ჯგუფი) ჰიპოკამპის უჯრედებში, საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით სარწმუნოაა მომატებული Ca^{2+} -ის შემცველობა.

ცნობილია, რომ კალციუმის იონი წარმოადგენს ფერმენტ NO-სინთაზას აქტივატორს და შესაბამისად, მისი რაოდენობის ზრდა ააქტივებს ამ ფერმენტის მოქმედების ხასიათს, რაც შესაბამისად, გამოხატული უნდა ყოფილიყო NO-ს რაოდენობრივ მაჩვენებელშიც. ჩატარებულმა ექსპერიმენტმა აჩვენა, რომ 2-ჯგუფის ცხოველების ჰიპოკამპის უჯრედებში სარწმუნოაა მომატებული NO-ს რაოდენობა. ამის პარალელურად, იმ ვირთაგვებში, სადაც სტრესი მიმდინარეობდა 140მგ/კგ კრეატინის ყოველდღიური შეყვანის პირობებში (ჯგუფი 3), ექსპერიმენტის 30-ე დღეს NO-ს რაოდენობა საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებელს უახლოვდა [12].

ცნობილია, რომ ციტოტოქსიკურ მოლეკულებს შორის, რომელთა რაოდენობრივი მატება უარყოფითად მოქმედებს უჯრედის მეტაბოლიზმზე, მნიშვნელოვანი ადგილი უჭირავს წყალბადის ზეჟანგს. ამის გათვალისწინებით, შემდგომ ექსპერიმენტში შესწავლილი იქნა ასევე H_2O_2 -ს რაოდენობრივი მაჩვენებელი სამივე ჯგუფის ცხოველებში. აღსანიშნავია, რომ ცვლილებები ვერ იქნა ნანახი H_2O_2 -ს შემთხვევაში. კერძოდ, სტრესის პირობებში ჰიპოკამპის უჯრედებში შეინიშნება მისი რაოდენობის ზრდა, თუმცა 3 ჯგუფის ჰიპოკამპში მისი რაოდენობა სარწმუნოდ არ იცვლება. დადგინდა, რომ კრეატინის ხანგრძლივი

პერიოდით ინტრაპერიტონიალური მიწოდება არ ცვლის სტრესის პირობებში გაზრდილი H_2O_2 -ს რაოდენობას.

იმის გათვალისწინებით, რომ ცნობილია უჯრედშიდა Ca^{2+} -ის ჭარბი რაოდენობის ციტოტოქსიკური ეფექტი უჯრედის ფუნქციონირებაზე, შესწავლილი იქნა კრეატინის გავლენა უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე. აღმოჩნდა, რომ სტრესირებული ვირთგვების ჰიპოკამპში საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით, შემცირებულია სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა, იმ დროს, როცა 3 ჯგუფის ინდივიდებში მათი რაოდენობა სარწმუნოდ იმატებს.

ჩნდება კითხვა, თუ რა არის კალციუმის სიჭარბის მიზეზი უჯრედში?

ცნობილია რა უჯრედში Ca^{2+} -ის ტრანსპორტირების მექანიზმი, მისი რაოდენობრივი ცვლილების მიზეზი შესაძლებელია იყოს კრეატინის მოქმედება **Ca^{2+} -ატფ-აზებზე** ან პოტენციალ-მგრძნობიარე არხებზე, კერძოდ იონოტროპულ **NMDA-რეცეპტორზე**. მონაცემები აჩვენებს, რომ ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის შემთხვევაში შემცირებულია მხოლოდ პლაზმური მემბრანის Ca^{2+} -ATPase-ს აქტივობა, იმ დროს, როცა მიტოქონდრიული და მიკროსომული იზოფორმების აქტივობა უცვლელია, რაც ასევე ემთხვევა ლიტერატურულ მონაცემებს. თუმცა კრეატინის შეყვანა არ ცვლის არც ერთი იზოფორმის აქტივობას (3 ჯგუფი), რაც გვაძლევს საფუძველს ვივარაუდოდ, რომ Ca^{2+} -ის რაოდენობრივი შემცველობის ცვლილება არაა დამოკიდებული ამ ფერმენტების მოქმედებაზე და ამდენად, განპირობებული უნდა იყოს Ca^{2+} -ის არხების ფუნქციონირებაზე [13,14].

ყოველივე ამის გათვალისწინებით, ჩვენი ექსპერიმენტის მიზანს წარმოადგენდა შეგვესწავლა ხანგრძლივი ცირკადული რიტმის დარღვევით გამოწვეული სტრესის პირობებში ვირთგვების თავის ტვინის ჰიპოკამპის უჯრედებში მიმდინარე მეტაბოლური ცვლილებების პრევენცია ეგზოგენურად შეყვანილი კრეატინის მონაწილეობით.

I თავი. ლიტერატურული მიმოხილვა

I.1 სტრესი და გამომწვევი ფაქტორები

ცნება “სტრესი”, როგორც ორგანიზმის საადაპტაციო - შეგუებითი რეაქცია, პირველად კანადელმა ფიზიოლოგმა ჰანს სელიემ განიხილა. მისი აზრით, ფსიქიკის ერთ-ერთი უმთავრესი ფუნქცია ორგანიზმის ცხოველქმედების გარე სამყაროში მიმდინარე ცვლილებებთან მორგებაში გამოიხატება.

ჯერ კიდევ 30-იან წლებში სელიეს ყურადღება მიიპყრო იმან, რომ ადამიანის ორგანიზმი ნებისმიერ გარე გამღიზიანებელზე ერთნაირი პირველადი რეაქციით - დამაბულობით რეაგირებს. გამოდის, რომ სტრესი არ არის უბრალოდ ემოციური დამაბულობა ან ნერვული გადატვირთულობა. უფრო ზუსტად სტრესი არის ორგანიზმის არასპეციფიკური რეაქცია გარემო პირობების ნებისმიერი ტიპის ცვლილებაზე, რომელთანაც ადაპტირებაა საჭირო.

მარტივად რომ ვთქვათ სტრესი არის მდგომარეობა, რომელიც ჩნდება რთული სიტუაციის საპასუხოდ და ის დღევანდელი საზოგადოების განუყოფელ ნაწილს წარმოადგენს. ასეთ სიტუაციაში ადამიანს/ცოცხალ ორგანიზმს უწევს ისეთი ამოცანის გადაწყვეტა, რომელიც მის ინტელექტუალურ და ფსიქიკურ შესაძლებლობებს აღემატება. დღევანდელ მერყევ სოციალურ-ეკონომიკურ პირობებში მსგავსი სიტუაციები მრავალადაა. შესაბამისად, ფსიქოლოგიაშიც სტრესის მრავალი სახე გამოიყოფა: ინტერპერსონალურ ურთიერთობებთან დაკავშირებული სტრესი, ინფორმაციული, მოტივაციური, მიღწევის სტრესი და ა.შ.

აღსანიშნავია, რომ სელიეს განმარტება არ არის სრული, რადგან ის ადეკვატურად არ ასახავს სტრესის გამომწვევ ფაქტორებს და ასევე იმ გარემოებას, რომ ორგანიზმის პასუხი სტრესზე გარკვეულწილად უშუალოდ ორგანიზმის ფუნქციურ მდგომარეობაზეც არის დამოკიდებული.

ყველაზე მისაღებ განმარტებად შეიძლება ჩავთვალოთ სტეპტოუს მიერ შემოთავაზებული განმარტება: „სტრესის პასუხი ვლინდება მაშინ, როცა ინდივიდისადმი წაყენებული მოთხოვნები აღემატება იმ პერსონალურ და სოციალურ რესურსებს, რომლის მობილიზაციის უნარიც შესწევს ინდივიდს“ [6,15,16].

თავდაპირველად ვარაუდობდნენ, რომ სტრესს ორგანიზმზე ყოველთვის უარყოფითი გავლენა ჰქონდა. თუმცა მოგვიანებით სელიემ სტრესის გამომწვევი ფაქტორების -

სტრესორების ბუნებისა და მათი ზემოქმედების ხასიათის მიხედვით გამოიყო სტრესის ორი განსხვავებული ტიპი, კერძოდ კი „დადებითი“ და „უარყოფითი“ სტრესი. ამასთან, მანვე შემოიღო განმარტებები, რომელთა მიხედვითაც დადებით სტრესს **ეუსტრესი (ფიზიოლოგიური)** უწოდა, ხოლო უარყოფითს – **დისტრესი (პათოლოგიური)**.

სელიეს მიხედვით ეუსტრესს ორი ფუნქციური დატვირთვა გააჩნია, კერძოდ ის გამოწვეულია დადებითი ემოციებით და იგი არ არის ძლიერი და იწვევს ორგანიზმის მობილიზებას. რაც შეეხება დისტრესს, ის წარმოადგენს სტრესის ისეთ ფორმას, რომელთანაც გამკლავება ორგანიზმის ძალებს აღემატება და მას მძიმე სომატური და ფსიქიკური დაავადებების გამოწვევა შეუძლია [17,18].

ზემოქმედების ტიპის მიხედვით სტრესი შეიძლება იყოს:

1. **ფიზიოლოგიური/სისტემური** - რომელიც გამოხატავს ბიოლოგიური სისტემების დაძაბულობას და მას თან ახლავს ორგანიზმის ფიზიოლოგიური და ქცევითი ცვლილებების კომპლექსი;

2. **ფსიქიკური** - ჩნდება ნებისმიერი ზემოქმედების შედეგად, რომელიც მოიცავს ინდივიდის ემოციურ სფეროს [17].

სტრესის განვითარებაში განარჩევენ სამ ფაზას:

1. **საბრძოლო განგაშის ფაზა** რომელშიც იგულისხმობა ის, რომ ინდივიდი მზადაა ბრძოლისთვის ან გაქცევისათვის.

2. **რეზისტენტობის ანუ აქტივაციის ფაზა** ხასიათდება გლუკოკორტიკოიდების დახმარებით არასასურველი ზემოქმედების მიმართ ორგანიზმის გამძლეობის გაზრდით - მას წინააღმდეგობის გაწევის სტადიაც შეიძლება ვუწოდოთ.

3. **გამოფიტვის (დისტრესის) ფაზის** განვითარება დამოკიდებულია იმაზე, თუ ადაპტაციური ენერგიის რა მარაგია ორგანიზმში. გამოფიტვის სტადიაში თირკმელზედა ჯირკვალის წყვეტს გლუკოკორტიკოიდების ჭარბ სეკრეციას, რომელიც თავის მხრივ, დაცვის ჰორმონებს წარმოადგენს, რასაც მოსდევს ორგანიზმის მდგომარეობის გაუარესება და დამძიმება - ამ ფაზას ადაპტაციის ფასაზასაც უწოდებენ [6, 17, 18].

სტრესის დროს პროცესში ერთვება ორგანიზმის თითქმის ყველა სისტემა, მაგრამ სტრეს პასუხის ინტეგრაციაში განსაკუთრებული მნიშვნელობა თავის ტვინს აკისრია. სტრესზე კონტროლს და სხვადასხვა ფსიქიატრიული დაავადებების ექსპრესიას **ლიმბური სისტემა** განსაზღვრავს. მაგალითად, თუ სტრესზე კონტროლი ვერ ხერხდება ან ის ქრონიკულ ხასიათს იღებს. საპასუხოდ ორგანიზმში შეიძლება განვითარდნენ ფსიქოლოგიური

დარღვევები, რასაც მოყვება დეპრესიები, შფოთვა და სხვა ტიპის ემოციური მოშლილობები მათ შორის შიზოფრენიაც კი. აქედან გამომდინარე, ქრონიკული სტრესი ფსიქიატრიული დაავადებების საფუძველს წარმოადგენს [19,20,21].

სტრესი არღვევს რა ორგანიზმის შინაგანი გარემოს მუდმივობას ანუ ჰომეოსტაზს, იწვევს მთელ რიგ ცვლილებებს. ლიმბური სისტემის ისეთი კომპონენტები, როგორიცაა **ჰიპოკამპი და ამიგდალა** მგრძნობიარეა ისეთი სტრესორების მიმართ, როგორიცაა შიში, თავისუფლების შეზღუდვა და დაუცველობა გარემოსთან მიმართებაში. დადგენილია, რომ ლიმბური სისტემა და ჰიპოთალამუსი ის მთავარი კომპონენტია სტრესის პირობებში, რომელიც აკავშირებს ნეიროენდოკრინულ (ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-თირკმელზედა ჯირკვლის სისტემა) და ემოციურ კომპონენტებს, შესაბამისად თავისთავად განსაზღვრავს სტრესის პასუხის ხანგრძლივობას [21].

სტრესის გამომწვევი უამრავი ფაქტორი არსებობს და ყველა ეს ფაქტორი სტრესორის სახელითაა ცნობილი.

სტრესის სხვადასხვა ფორმა ერთმანეთისაგან განსხვავდება ორგანიზმში მიმდინარე ბიოქიმიური ცვლილებების მიხედვით. ამის მიხედვით განასხვავებენ რამდენიმე ტიპის სტრესს. როგორიცაა:

ქრონიკული სტრესი, მწვავე სტრესი, ფიზიოლოგიური სტრესი , ფსიქოლოგიური სტრესი, ინფორმაციული სტრესი და სხვ [17].

მიუხედავად ასეთი მრავალფეროვნებისა, ნებისმიერი სტრესორის ზემოქმედებაზე ორგანიზმის პასუხი თითქმის ერთნაირია. მაგალითად, სტრესის შედეგად ერთ–ერთ პირველ რეაქციას წარმოადგენს თირკმელზედა ჯირკვლიდან კატექოლამინებისა და კორტიკოსტეროიდების გამოყოფის გაძლიერება.

XX საუკუნის 80-იან წლებში სტრეს-ფაქტორებს შეემატა **სოციალური იზოლაცია**. ინდივიდის იზოლაცია სოციალური მოვლენაა, რომლის დროსაც კონტაქტების შეწყვეტის შედეგადად ხდება ინდივიდის ან სოციალური ჯგუფის მოწყვეტა სხვა ინდივიდებისგან. ამ პერიოდში ჩატარებული კვლევებით გაირკვა უარყოფითი გავლენა ორგანიზმზე და მის ფუნქციონირებაზე. მიზეზს კი წარმოადგენს კომუნიკაციის უუნარობა გარე სამყაროსთან. [22].

დადგენილია, რომ სოციალური იზოლაცია გავლენას ახდენს ორგანიზმის ფუნქციონირების სამ ძირითად მარეგულირებელ სისტემაზე, კერძოდ **ნერვულზე, ენდოკრინულსა და იმუნურზე**.

სტრესის განვითარების რისკ-ფაქტორს მიეკუთვნება ასევე ბუნებრივ დღე-ღამურ რიტმთან მიახლოებული დარღვევაც. დღე-ღამური რიტმის ცნება შემოიღო ამერიკელმა ფიზიოლოგმა ფრანც ჰალბერგმა. იგი მომდინარეობს ლათინური სიტყვიდან „circa dies“, რაც ნიშნავს „დღის შესახებ“. ყველა ცოცხალი ინდივიდი განიცდის დღე-ღამის ბუნებრივი რიტმის ზემოქმედებას. იგი ცოცხალი სისტემის ორგანიზაციის უჯრედულ, ორგანოთა, ორგანიზმულ და პოპულაციურ დონეებზე ვლინდება. სისხლის წნევა, მეტაბოლური პროცესები, გულისცემის სიხშირე, სხეულის ტემპერატურა და ჰორმონალური აქტივობა შინაგანი საათის მიხედვით იცვლება. გარდა ამისა, ცირკადული რიტმი არეგულირებს ათასობით გენის ექსპრესიას ქსოვილსპეციფიკური ეფექტებით და წარმოადგენს უჯრედული მეტაბოლიზმის ერთერთ მთავარ რეგულატორს როგორც სტრეს-ფაქტორების, ასევე სხვა მრავალი ფაქტორის ზემოქმედების საპასუხოდ.

ცირკადული რიტმის რეგულაცია, ხორციელდება ჰიპოთალამუსით, კერძოდ, **სუპრაქიაზმატურ** ბირთვში, რომელიც ამავე დროს არეგულირებს *ძილ-ღვიძილის* ციკლს და სხეულის ტემპერატურას. სინათლე აღიქმება ბადურაზე არსებული სპეციალური უჯრედებით **IpRGC**, გარდაიქმნება ნერვულ იმპულსად და თვალის ნერვის გავლით გადაეცემა ჰიპოთალამუსის სუპრაქიაზმურ ბირთვებს. სწორედ, ამ ბირთვებიდან ხდება ეპიფიზისა და ჰიპოფიზის რეგულაცია. დღის განმავლობაში აქტიურია ეპიფიზი, რომელიც გამოიმუშავებს ადენოკორტიკოტროპულ ჰორმონს, ასთიმულირებს თირკმელზედა ჯირკვლის ქერქს და შედეგად გამოიყოფა კორტიზოლი (მაღალი კონცენტრაციით დილის 5დან 6 საათამდე), რომელსაც სიფხიზლის ჰორმონსაც უწოდებენ. ის ხელს უწყობს მეტაბოლიზმის აჩქარებას. ღამის პერიოდში, კი პირიქით აქტიურდება ეპიფიზი, საღამოს 23 საათიდან გამოყოფას იწყებს მელატონინი, რომელიც ხელს უწყობს ძილის პროცესს. მელატონინი ეპიფიზში წარმოიქმნება ამინომჟავა ტრიფტოფანიდან. ტრიფტოფანი ფერმენტ ტრიფტოფანჰიდროქსილზას მოქმედებით გარდაიქმნება სეროტონინად, სეროტონინი კი თავის მხრივ ფერმენტ N-აცეტილმეთილტრანსფერაზას მოქმედებით გარდაიქმნება მელატონინად. დღის განმავლობაში ფერმენტი ნაკლებად ამიტომ, გამოიყოფა მეტი სეროტონინი.

ძუძუმწოვრებში ბიოლოგიური დღე-ღამესთან მიახლოებული რიტმი შესაბამისი გენებით კონტროლდება: Per1, Per2, Per3, Cry-1, Cry-2, Clock, Bmal1/Mop3 გენები, დნმ-ის შესაბამის მონაკვეთს ქრონონი ეწოდება. mPer1 და mPer2 გენების ტრანსკრიპციის ფაქტორებს წარმოადგენენ CLOCK და BMAL-1 ფაქტორები, რომლებიც დილით იწყებენ გამოყოფას და მათი კონცენტრაცია მთელი დღე ნარჩუნდება. ტრანსკრიფციის შემდგომ

წარმოიქმნება ი-რნმ, რომლის ტრანსლაციის შემდგომ მიიღება mPER1 და mPER2 ცილები, რომლებიც დაბნელებისას ბრუნდებიან ბირთვში და თრგუნავენ გენების ტრანსკრიფციას CLOCK და BMAL-1 ფაქტორების ინაქტივაციის გზით. ინაქტივაცია შენარჩუნებულია მთელი ღამის განმავლობაში, რის შემდგომ PER1 და PER2 ცილები იშლებიან. ეს უკუკავშირი გრძელდება 24 საათი და უზრუველყოფს ძილ-ღვიძილის პროცესს. სწორედ ამ მექანიზმების მოშლა ხდება სტრესის პირობებში, დღე-ღამური რიტმის დარღვევის დროს. ბუნებრივი ცირკადული რიტმის ცვლილებას შეუძლია გამოიწვიოს ისეთი პათოლოგიები, რომლებიც დაკავშირებულია კოგნიტურ და ქცევით დარღვევებთან, მეხსიერებისა და დასწავლის გაუარესებასთან და სხვა.

დადგენილია, რომ როგორც ინდივიდის იზოლაცია, ასევე მისი ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევა წარმოადგენს ძლიერ სტრეს-ფაქტორს, რომლის ზემოქმედების შედეგად ორგანიზმში აღინიშნება ჰორმონალური ცვლილებები, აგრესიისა და შფოთვის მატება, ასევე ადგილი აქვს დეპრესიის განვითარებას, რაც თავის მხრივ, ფსიქო-ემოციური სტრესის მიზეზი ხდება [23,24,25].

სტრესის შედეგად უჯრედში განვითარებული ბიოქიმიური პროცესები ვლინდება ჰორმონალური და სასიგნალო მოლეკულების რაოდენობრივი ცვლილებებით, ასევე ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დარღვევით, მთელი რიგი ფერმენტული სისტემების აქტივობის შეცვლით, რასაც მოსდევს ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროცესის გაძლიერება, ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის დაქვეითება და სხვა მნიშვნელოვანი სისტემების აქტივობის ცვლილება, რაც უარყოფითად აისახება ორგანიზმის ფუნქციურ მდგომარეობაზე.

I.2 კრეატინი

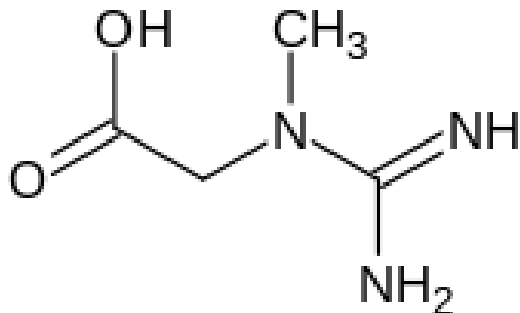
კრეატინი აღმოჩენილ იქნა 1832 წელს, ფრანგი ქიმიკოსის მიშელ შევრეულის მიერ, როგორც „ხორცის“ ორგანული შემადგენელი-„Extractum carnis Liebing“ – „კონცენტრირებული ხორცის“.

1847 წელს დაფიქსირდა, რომ დევნაში მოკლული ველური მელიების ხორცი შეიცავდა 10-ჯერ მეტ კრეატინს, ვიდრე ტყვეობაში.

60-იანი წლების ბოლოს, ბიოფსიის გაკეთების საშუალებამ მკვლევარებს საშუალება მისცა შეესწავლათ ადენოზინტრიფოსფატის (ATP) და კრეატინფოსფატის (PCr) კავშირი და

რეზინოზი; ამასთან, 90-იან წლებში დაადგინეს კრეატინის როლი ადამიანებში ვარჯიშის შესრულებისას. ვარჯიშის დროს მოხდა ადამიანის კუნთების მასის 20%-იანი ზრდა კრეატინის ეგზოგენურად შეყვანისას. სპორტსმენების თქმით, ისინი მას იყენებდნენ ოლიმპიური თამაშებისას [26].

კრეატინი არის აზოტოვანი ორგანული მჟავა, რომელიც სინთეზდება ორგანიზმში ამინომჟავების გლიცინის, არგინინისა და მეთიონინისგან, ფერმენტული სისტემის მიერ.



კრეატინი (α -N-მეთილგუანიდინო აცეტილის მჟავა) - წარმოადგენს ნიტროგენულ ორგანულ მჟავას ($C_4H_9N_3O_2$) ის მიჩნეულია შეუცვლელ ბუნებრივ ნივთიერებად, რომელიც ადამიანისა და ცხოველის კუნთებში ინახება, იგი საჭიროა ენერგეტიკული მიმოცვლისთვის და კუნთებში ენერგიის წყაროს წარმოადგენს. მისი სინთეზი ხდება

ძირითადად, ღვიძლსა და თირკმელებში, როგორც აღინიშნა ამინომჟავა გლიცინის, არგინინისა და მეთიონინისგან, შემდგომ კი, ის სისხლით ტრანსპორტირდება ტვინში, გულში, ჩონჩხის კუნთებსა და სხვა ორგანოებში. ვარაუდობენ, რომ კრეატინის სინთეზი ტვინშიც ხდება ენდოგენურად, რასაც მის სინთეზში მონაწილე ფერმენტების: **გლიცინამიდინოტრანსფერაზა** და **L-არგინინ:გუანიდინო აცეტატმეთილტრანსფერაზა** ცნს-ში არსებობა ადასტურებს. ცნობილია, რომ კრეატინის სპეციფიკური ტრანსპორტერი SLC6A8 ახდენს კრეატინის იმპორტს ჰემატოენცეფალური ბარიერის (BBB) გავლითაც.

კრეატინის მიღება ეგზოგენურადაც ხდება, ანუ საკვებთან ერთად მაგ: ყველაზე დიდი რაოდენობით მას ვიღებთ ხორცეული და თევზეული პროდუქტებიდან.

დადგენილია ისიც, რომ კრეატინის უჯრედში მოხვედრა მიმდინარეობს აქტიური სატრანსპორტო მექანიზმების მეშვეობით, ვინაიდან მისი კონცენტრაცია უჯრედში უფრო მაღალია (დაახლოებით 5-25 მილიმოლი), ვიდრე სისხლში (15-50 მიკრომოლი). ეს პროცესი ხორციელდება სპეციალური სატრანსპორტო ცილის - კრეატინის ტრანსპორტერის მეშვეობით (CrT).

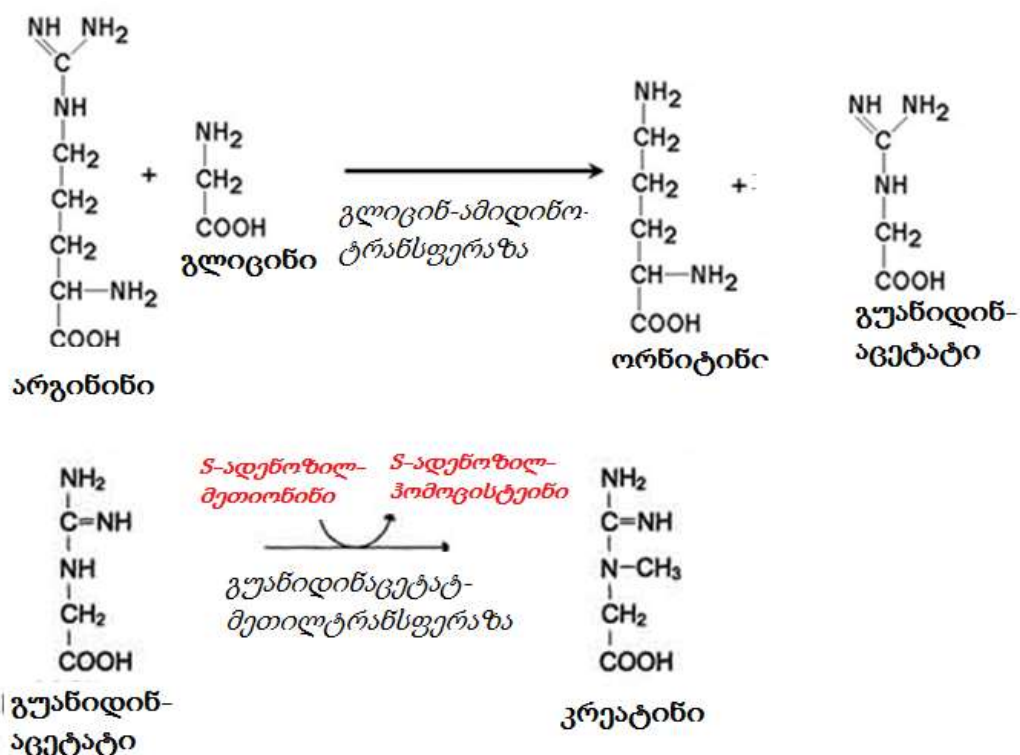
სავარაუდოა, რომ ენერგეტიკული ფუნქციის გარდა, კრეატინი სხვა ფუნქციების შესრულებაშიც მონაწილეობს, როგორიცაა ნერვული იმპულსის გადაცემა, მემბრანული პოტენციალის შექმნა, იონური გრადიენტის შენარჩუნება, შიდაუჯრედული სიგნალების გადაცემა, აქსონალური ტრანსპორტი და სხვა. მრავალი ლიტერატურული მონაცემი

ცხადჰყოფს, რომ კრეატინი ნეირომოდულატორის როლშიც გამოდის, რომელსაც შეუძლია მოახდინოს ზოგიერთი პოსტინაპსური რეცეპტორის მოდულირება.

მისი დეფიციტი ცნს-ში უარყოფითად აისახება ტვინის ფუნქციონირებაზე და ზოგიერთი ნერვული დაავადებების საფუძველს წარმოადგენს. ანალოგიური თვისებები ახასიათებს Cr-ს ზოგიერთი ფსიქიატრიული დაავადებებისადმი, მაგალითად: ეპილეფსიის, შიზოფრენიის, ჰანგტინტონის დაავადების და ფსიქოლოგიური სტრესის მიმართ.

Cr-ის რაოდენობრივ შემცველობაზე გავლენას ახდენს სხვადასხვა ფაქტორი. კერძოდ, თავის ტვინის ფუნქციური მდგომარეობა, ნეიროდეგენერაციული პროცესები, ოქსიდაციური სტრესი და ასევე CrT-ის აქტივობა, რომლის ცვლილება შეინიშნება ცნს-ის დაავადებისას. აღნიშნული სატრანსპორტო ცილის მოქმედება ნატრიუმისა და ქლორის (Na/Cl-atpase) იონურ ტუმბოსთანაა შეუღლებული. ტუმბოს მიერ უჯრედში გადატანილი ნატრიუმის ყოველ ორ იონზე კრეატინის თითო მოლეკულის თანატრანსპორტი ხდება. ამდენად CrT-ის ფუნქციაა სისხლიდან კრეატინის უჯრედში გადაქაჩვა, რაც კონცენტრაციული გრადიენტის საწინააღმდეგოდ ხორციელდება. უჯრედში კი კრეატინი ფერმენტ კრეატინკინაზას (CK) სუბსტრატს წარმოადგენს და ფოსფორილირების შედეგად ფოსფოკრეტინად (PCr) გარდაიქმნება.

უჯრედში კრეატინის ბიოსინთეზი ორ საფეხურად მიმდინარეობს. რეაქციის პირველ საფეხურზე *არგინინიდან* ფერმენტ **L-არგინინ:გლიცინამიდინოტრანსფერაზის (AGAT)** მიერ ამინომჟავა გლიცინის ამიდინირება ხდება. რეაქციის შედეგად **L-ორნიტინი** და **გუანიდინოაცეტატის მჟავა (GAA)** მიიღება. ბიოსინთეზის მეორე და საბოლოო საფეხურზე **GAA-ის** მეთილირებით ფერმენტ **S-ადენოზილ-L-მეთიონინი** **N-გუანიდინოაცეტატ:მეთილტრანსფერაზის (GAMT)** მონაწილეობით წარმოიქმნება კრეატინი (სურ.1).



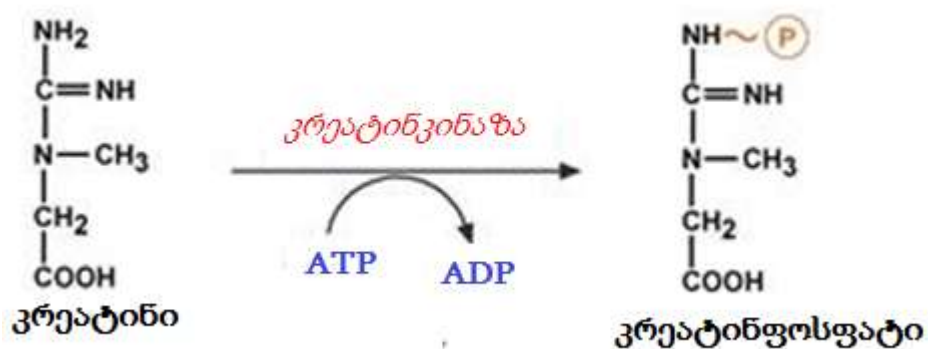
სურათი 1. კრეატინის სინთეზი

კრეატინის ნორმალურ მეტაბოლიზმს კრიტიკული მნიშვნელობა გააჩნია ცოცხალი სისტემის ნორმალური ფუნქციონირებისთვის. **Cr/CK/PCr** სისტემისა და კრეატინის მეტაბოლიზმის დარღვევები აღინიშნება შემდეგი ტიპის დაავადებების დროს როგორცაა: კუნთოვანი დისტროფია, ჰიპოქსიურ-იშემიური ენცეფალომიოპათია და სხვ. ზოგიერთ ამ დაავადებას კრეატინის დამცველობით-პროფილაქტიკური ეფექტი ახასიათებს. ის სავარაუდოდ წარმოადგენს მეტაბოლური სტრესით და ჟანგვითი დაზიანებით გამოწვეული უჯრედების კვდომის თავიდან აცილების საკმაოდ ეფექტურ საშუალებას [5, 6,7,8,27,28].

I.3 კრეატინის მეტაბოლიზმი

ცნობილია, რომ უჯრედში ენერგიის ძირითად წყაროს წარმოადგენს ატფ (ადენოზინტრიფოსფორმავა). არსებული ატფ-ის 95% სინთეზდება მიტოქონდრიაში ჟანგვითი ფოსფორილების მეშვეობით. დანარჩენი 5% კი წარმოიქმნება გლიკოლიზის პროცესში. უჯრედის ყველა სახის აქტივობა ხორციელდება ატფ-ის დაშლის (დეფოსფორილების) შედეგად გამოყოფილი ენერგიის ხარჯზე [29,30].

ატფ-ს მუდმივობის შენარჩუნებაში მთავარი როლი კრეატინ/კრეატინკინაზა/ფოსფოკრეატინის (Cr/CK/PCr) სისტემას ენიჭება. ამ სისტემას **კრეატინკინაზული** სისტემა ეწოდება და აქტიურია ნერვულ და კუნთოვან ქსოვილში. Cr სისტემა სწრაფად აღადგენს დახარჯული ატფ-ს დონეს, პროცესი მიტოქონდრიული აერობული მეტაბოლიზმის გვერდის ავლით მიმდინარეობს (სურ.2).



სურათი 2. კრეატინიდან ფოსფოკრეატინის წარმოქმნა

ეს პროცესი შემდეგი სახით მიმდინარეობს: უჯრედში ეგზოგენურად შემოსული (CrT-ის მეშვეობით) ანდა ციტოპლაზმაში წარმოქმნილი კრეატინი ხვდება მიტოქონდრიაში სადაც ხდება მისი ფოსფორილება. რეაქციას ფერმენტი კრეატინკინაზა (**კრეატინფოსფოკინაზა**) აკატალიზებს (კრეატინკინაზა არის CKB გენის პროდუქტი, რომელიც მონაწილეობს ენერგიის ჰომეოსტაზში) .ამ ფერმენტის 2 სახე არსებობს: მიტოქონდრიული (MtCK) და ციტოპლლზმური (CK). MtCK ახდენს მიტოქონდრიაში წარმოქმნილი ატფ-ის ფოსფორმჟავას ნაშთის გადატანს კრეატინზე, რეაქციის შედეგად წარმოიქმნება ფოსფოკრეატინი (PCr) და ადფ. შემდგომ PCr უკან ბუნდება ციტოლაზმაში,

სადაც ენერგიის მარაგის სახით არსებობს და საჭიროებისამებრ ახდენს აკუმულირებული ენერგიის გამონთვითვლევას. მაგალითად: კუნთის ძლიერი დატვირთვისას, ატფ-ის სიმცირის დროს, ფოსფოკრეატინი განიცდის დეფოსფორილირებას. ამ რეაქციის კატალიზს ახდენს ციტოპლაზმაში არსებული ანუ ციტოპლაზმური CK, რასაც ადფ-ის ფოსფორილირება და ატფ-ის წარმოქმნა მოყვება. შემდგომ დეფოსფორილირებული კრეატინი იმავე ციკლს იმეორებს. ეს სისტემა მიჩნეულია უჯრედის ფუნქციონირების მნიშვნელოვან მეტაბოლურ რეგულატორად, რომლის მოშლა მრავალი პათოლოგიის განვითარების მიზეზი ხდება [6,7,8,9].

ექსპერიმენტულად ნაჩვენებია, რომ ხანგრძლივი სტრესის შედეგად თავის ტვინში ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი მცირდება. ეს გამოიხატება ამ პროცესში მონაწილე ფერმენტების (სუქცინატდეჰიდროგენაზა, ფუმარაზა, აკონიტაზა, ალდოლაზა) და Cr/CK/PCr სისტემის აქტივობის დაქვეითებით. ასევე ცნობილია, რომ CK არის ორი საერთო გენის პროდუქტი, რომელთაგან ერთი კოდირებს ფერმენტის ერთ ფორმას (ე.წ. კუნთებში მისი უპირატესობის გამო M) და მეორე - კი კოდირებს ფერმენტის მეორე ფორმა (ე.წ. ტვინის ქსოვილებში მისი უპირატესობის გამო B). მათ შორის განსხვავება აგებულებაში გამოიხატება, რასაც ფარმაკოლოგიური მნიშვნელობა აქვს [31,32].

სავარაუდოა, რომ კრეატინი დადებით გავლენას ახდენს ანტიოქსიდანტურ სისტემაზე. დადგენილია, რომ ნებისმიერი სახის სტრესს შეუძლია ცოცხალ ორგანიზმში გამოიწვიოს მეტაბოლური პროცესების ცვლილება, რაც თავისთვად განაპირობებს თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნას, უჯრედშიდა კალციუმის რაოდენობრივ ცვლილებებს, ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დაქვეითებასა და სხვა უჯრედშიდა ცვლილებებს.

თავისუფალი რადიკალი წარმოადგენს მოლეკულას, რომელსაც აქვს გაუწყვილებელი ელექტრონი გარე ელექტრონულ ორბიტალზე და ხასიათდება მაღალი რეაქციის უნარიანობით. თავისუფალი რადიკალების მუდმივი კონცენტრაცია უჯრედში უმნიშვნელოა.

ორგანიზმში თვისუფალი რადიკალები შეიძლება დავყოთ ორ ძირითად ჯგუფად: ბუნებრივი და გარემო ფაქტორებით წარმოქმნილ რადიკალებად. ამ უკანასკნელთა წარმოქმნა ხდება ფიზიკური და ქიმიური ფაქტორების მოქმედებით. ასეთია: მაიონიზირებელი და ულტრაიისფერი რადიაცია და ა.შ.

ბუნებრივი რადიკალებიდან გვხვდება: სუპეროქსიდი ($\cdot\text{OO}^-$), ნიტროქსიდი (NO), უბიქინონი ($\cdot\text{Q}$). სუპეროქსიდის გარდაქმნის შედეგად შეიძლება წარმოიქმნას აქტიური

მოლეკულური ნაერთები, როგორიცაა : წყალბადის ზეჟანგი, ჰიპოქლორიდი და ლიპიდების ჰიდროჰეჟანგი

პირველადი რადიკალების ურთიერთქმედებისა და ცვლადი ვალენტობის მეტალების თანაობისას (განსაკუთრებით Fe^{2+}) წარმოიქმნება სხვადასხვა ტიპის რადიკალები, მაგალითად ჰიდროქსილის ($\cdot OH$), ლიპიდის რადიკალი ($L \cdot LOO \cdot$) და სხვა.

თავისუფალი რადიკალების ჭარბი რაოდენობა აზიანებს ცილებს, თავისუფალ ამინომჟავებს, ლიპიდებს, ლიპოპროტეინებს, ნუკლეინის მჟავებს, იწვევენ ლიპიდების ზეჟანგვით დაჟანგვას, რაც ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას, უჯრედის დაზიანებასა და საბოლოოდ ბიოლოგიური სისტემის განადგურებას.

პროოქსიდაციური სტატუსის თავიდან ასაცილებლად ორგანიზმში არსებობს ანტიოქსიდანტური სისტემა, რომელიც არეგულირებს უჯრედში თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნის ინტენსივობას, ხოლო მათი რაოდენობის მატების შემთხვევაში, ახდენს აქტიური რადიკალების გაუვნებელყოფას სპეციფიური მექანიზმებით. ცოცხალი სისტემის ანტიოქსიდანტური სისტემა წარმოდგენილია ფერმენტული და არაფერმენტული კომპონენტებით, რომლებიც ბოჭვენ უჯრედში ჭარბი რაოდენობით წარმოქმნილ თავისუფალ რადიკალებს და ანეიტრალებენ მათ. ნორმაში ანტიოქსიდანტური სისტემის ფერმენტებია: სუპეროქსიდდისმუტაზა (SOD), კატალაზა, გლუტათიონპეროქსიდაზა, გლუტათიონრედუქტაზა და სხვა [33,34].

ჟანგბადის აქტიური ფორმები შეიძლება წარმოიქმნას გლუკოზოოქსიდაზას მიერ, რის შემდეგ სუპეროქსიდდისმუტაზა მას გარდაქმნის წყალბადის ზეჟანგად. წყალბადის ზეჟანგი ქსანტინოქსიდაზას მოქმედებიდან შეიძლება წარმოიქმნას. თუ უჯრედში არის კატალაზა, მაშინ ის წყალბადის ზეჟანგის მოლეკულას გარდაქმნის წყლად და ჟანგბადად, ხოლო თუ კატალაზას აქტივობა დაბალია მაშინ, წყალბადის ზეჟანგი ორვალეტიან რკინას გარდაქმნის სამვალენტიანად და წარმოიქმნება ჰიდროქსილის რადიკალები. ამის შემდეგ ვითარდება აპოპტოზი.

ფერმენტების გარდა ანტიოქსიდანტებად გვევლინებიან: ტოკოფეროლი (ვიტამინი E), ასკორბინის მჟავა (ვიტამინი C), ვიტამინი A (რეტინოლი) და კაროტინოიდები [35].

I.4. უჯრედული მეტაბოლიზმის პრევენცია კრეატინით

სტრესი თანამედროვეობის გლობალურ პრობლემას პრობლემას წარმოადგენს, რომელიც მეტწილად დაკავშირებულია ინდუსტრიალიზაციის პროცესთან. სტრესს შეუძლია გამოიწვიოს ან გააღრმავოს ადამიანის ისეთი დაავადებები, როგორიცაა გულ-სისხლძარღვთა, იმუნური სისტემისა და ნეიროდეგენერაციული პროცესები, ასევე პოროვაციის ავთვისებიანი სიმსივნეები და სხვა. სტრეს-ფაქტორებს მრავალი ფაქტორი გვევლინება. ასეთია: დღე-ღამური რიტმის დარღვევა, სოციალური იზოლაცია, ნერვიულობა, ახლობელი ადამიანის გარდაცვალება, ძალადობა და სხვა... ბოლო წლებში აქტიური ყურადღება ექცევა ისეთი ნივთიერებების აღმოჩენას, რომლებსაც შესწევთ უნარი მოახდინონ სტრესული მდგომარეობის პრევენცია. მათ შორის აქტიურად განიხილება ნიტროგენული ნაერთი პეპტიდური ბუნების კრეატინი, რომელიც ასრულებს მნიშვნელოვან როლს უჯრედების ენერგეტიკული მოთხოვნილების დაკმაყოფილების პროცესში. გარდა ამისა, როგორც აღინიშნა იგი შესაძლოა ცნს-ში სხვა ფუნქციებსაც ასრულებდეს, მათ შორის განიხილება ნერვული იმპულსის გადაცემა სინაფსებში, იონური გრადიენტის შენარჩუნება, უჯრედშიდა სიგნალების გადაცემა და სხვა.

მრავალი კვლევების შედეგად დადასტურდა მისი ანტიოქსიდანტური თვისებაც. მაგალითად, არსებობს მონაცემები იმის შესახებ, რომ *in vitro* სისტემაში კრეატინს აქვს უნარი შებოჭოს თავისუფალ რადიკალები და დაიცვას მიტოქონდრიული დნმ ოქსიდაციური დაზიანებისგან; აგრეთვე ის ახორციელებს იმ ფერმენტების რეგულაციას, რომლებიც ჩართული არიან უჯრედში დაჟანგვითი პროცესების წინააღმდეგ ბრძოლაში. პაციენტები, რომელთაც აღენიშნებათ კრეატინის დეფიციტი, მათ ორგანიზმში მკვეთრად მატულობს ოქსიდაციური სტრესი.

არსებობს ჰიპოთეზა, რომ კრეატინი სუპეროქსიდ-ანიონსაც ბოჭავს. თუმცა ცდებით დადგინდა, რომ მას არ შეუძლია მნიშვნელოვნად შეამციროს ჰიდროპეროქსიდი და ლიპიდური პეროქსიდები.

კრეატინის უნარი გააუმჯობესოს ანტიოქსიდანტური ეფექტი ვლინდება იმაშიც, რომ მის წინამორბედ არგინინს გააჩნია დამცველობითი როლი ოქსიდაციური სტრესის დროს ლიპოპროტეინების დაჟანგვის შეზღუდვით ენდოთელურ უჯრედებში. ასევე დამატებითი მონაცემები გვიჩვენებს, რომ არგინინს შეუძლია დათრგუნოს თავისუფალი რადიკალები.

აღმოჩნდა, რომ კრეატინის დამატებამ კუნთების დისტროფიის მქონე პაციენტებში, რომლებსაც აღენიშნებათ ცილის სინთეზისა და ზრდის შემცირება ჩონჩხის მიოფიბრილების

დეგრადაციის გამო, გაზარდა ხელის მოჭერის ძალა და სხეულის მასა. თუმცა არსებობს მოსაზრება, რომ ჩონჩხის კუნთების მიერ კრეატინის შეწოვა საკმარისად არ ხდება, რაც ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმზეც აისახება. ეს შესაძლოა მისი ტრანპორტერის გენის დეფექტით ან ცილის დაზიანებით იყოს გამოწვეული.

ექსპერიმენტებში პარკინსონით დაავადებულ ვირთაგვებში ეგზოგენურად შეყვანილი კრეატინი იცავს ნეირონებს დაზიანებისაგან. ალცჰაიმერის დაავადების შემთხვევაში კრეატინი იცავს ჰიპოკამპის ნეირონებს ბეტა-ამილოიდის ტოქსიკური ეფექტისგან და შესაბამისად ამცირებს ამილოიდური ფოლაქების წარმოქმნას [6,36].

კლინიკური ცდები ადასტურებს, რომ კრეატინის მოხმარებით იზრდება კუნთების სიმტკიცე და ძალა, კლებულობს დაღლილობის შეგრძნება [36,37].

ახალი კვლევის თანახმად, მკვლევარებმა დაადგინეს, რომ ღრმა დეპრესიული აშლილობის მქონე ქალები (MDD) - ცნობილია როგორც კლინიკური დეპრესია - რომლებმაც თავიანთი ყოველდღიური ანტიდეპრესანტთან ერთად იღებდნენ 5 გრამ კრეატინს, მათ დეპრესიას უპასუხეს ორჯერ უფრო სწრაფად (ანუ განიკურნენ), ხოლო რაც შეეხება იმ ქალბატონებს რომლებიც იღებდნენ მხოლოდ ანტიდეპრესანტს კრეატინის გარეშე, ისინი განიცდიდნენ დაავადებას რემისიას [38].

II თავი. კვლევის ობიექტები და მეთოდები

II.1 კვლევის ობიექტი

სტრესის მოდელს წარმოადგენდა ხანგრძლივი ცირკადული რიტმის დარღვევით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესი. ამისათვის საკვლევი ცხოველები (თეთრი ლაბორატორიული მამრი ვირთაგვები) დაყოფილი იქნა 3 ჯგუფად.

1 ჯგუფი (G1) - საკონტროლო ცხოველები (10 ვირთაგვა), რომლებიც იმყოფებოდნენ ბუნებრივი ცირკადული რიტმის პირობებში;

2 ჯგუფი (G2) - სტრესირებული ცხოველები (10 ვირთაგვა) , რომლებიც 30 დღის განმავლობაში იმყოფებოდნენ ბუნებრივი ცირკადული რიტმის დარღვევის პირობებში (23.5სთ სიბნელე/0.5 სთ სინათლე);

3 ჯგუფი (G3) - სტრესირებული ცხოველები (10 ვირთაგვა), რომლებიც ასევე 30 დღის განმავლობაში იმყოფებოდნენ ბუნებრივი ცირკადული რიტმის დარღვევის პირობებში, თუმცა ამის პარალელურად ყოველდღიურად ინტრაპერიტონიალურად შეგვყავდა 140 მგ/კგ მასაზე კრეატინი. კრეატინის რაოდენობა განისაზღვრა ლიტერატურული მონაცემების გათვალისწინებით (Deminice et al. 2013; Stefani et al. 2014).

30-ე დღეს ვახდენდით ცხოველების დეკაპიტაციას (თავის მოკვეთა), თავის ტვინიდან ცივ პირობებში ვიღებდით ჰიპოკამპს და მიღებულ ქსოვილს ვინახავდით -10°C -ზე. ჰომოგენიზაციას ვახდენდით ტრის-HCl-ის ბუფერში (pH-7.4-7.5).

II.2. Ca^{2+} -ATP-აზას აქტივობის განსაზღვრა

Ca^{2+} -ატფ-აზას აქტივობას ვსაზღვრავდით რეაქციის შედეგად წარმოქმნილი არაორგანული ფოსფატის (PO_3^-) რაოდენობის მიხედვით. საკვლევი არე (1 მლ) შეიცავდა 50 mM ტრის-HCl-ის ბუფერს (pH 7.5), 0,4 mM CaCl_2 ან 0,4 mM MgCl_2 , 2mM ატფ და ნიმუში (0,05 მგ ცილა). ფერმენტის აქტივობას ვითვლიდით განსხვავებით სარეაქციო არეში Ca^{2+} -ის იონის არსებობა/არარსებობისას მიღებულ შედეგებს შორის [39].

II.3. Ca^{2+} -ის რაოდენობის განსაზღვრა

საკვლევ ნიმუშებში კალციუმის კონცენტრაციის განსაზღვრისათვის გამოყენებული იქნა კოლორიმეტრიული კიტი (Sigma-Aldrich, cat. # MAK022, St. Louis, MO, USA). იონის კონცენტრაცია ისაზღვრებოდა ქრომოგენური კომპლექსის რაოდენობის მიხედვით, რომელიც წარმოიქმნება კალციუმის იონსა და *o*-კრეზოლფტალეინს შორის. ფერადი Ca^{2+} -კრეზოლფტალეინის კომპლექსის შუქშთანთქმა იზომებოდა 575ნმ ტალღის სიგრძეზე და მიღებული სიდიდე პირდაპირპროპორციულია კალციუმის იონების შემცველობისა.

II.4. Na^+/K^+ -ატფ-აზას აქტივობის განსაზღვრა

Na/K-ATP აზური აქტივობა განისაზღვრება, როგორც ჯამური ATP-აზას უაბაინმგრძნობიარე ნაწილი. ჯამური ATP-აზას თვის საინკუბაციო არე შეიცავდა NaCl-ს 120-145 mM კონცენტრაციის ფარგლებში, KCl-ს 5-20 mM, $\text{MgCl}_2\text{-ს}$ 2-3 mM ATP-ს 2-3 mM და 40mM ტრის-HCl ბუფერს (pH=7.7, რაც შეესაბამება Na/K-ATP-აზას მუშაობის ოპტიმალურ პირობებს. არეში ფერმენტული პრეპარატის რაოდენობა არ აღემატება 100-150 mg-ს.

ოუაბაინ-მგრძნობიარე ნაწილი განისაზღვრება ზემოთაღნიშნულ არეში 0,2mM ოუაბაინის დამატებით, რაც Na^+ -ის უბნის სრული დაკეტვის გარანტიას იძლევა. ჯამური და ოუაბაინმგრძნობიარე აქტივობას შორის სხვაობა შეადგენს Na,K-ATP-აზურ აქტივობას და გამოითვლება ფორმული: $\mu\text{MPi/მგ ცილა/წთ}$.

სინჯარებს ყველა რეაგენტი ემატება 0-40 °C-ზე, რის შემდგომაც სინჯარები ინჯღრევა და თავსდება წყლიან აბაზანაში საინკუბაციოდ 37°C-ზე. ინკუბაცია გრძელდება 10-15 წთ. რეაქცია ჩერდება ტემპერატურის სწრაფი ცვლილებით, სინჯარების ერთდროული გადატანით თერმოსტატიდან ყინულიან აბაზანაში, სადაც ყოვნდება 5 წთ, რის შემდგომაც იზომება არაორგანული ფოსფორი.

ATP-აზურ აქტივობაზე მსჯელობა ხდება ფერმენტის მიერ გამოყოფილი არაორგანული ფოსფორის რაოდენობის მიხედვით ფისკე-სუბაროუს მეთოდით [40].

II.5. Mg^{2+} -ATP-აზას აქტივობის განსაზღვრა

Mg^{2+} -ATP-აზას აქტივობის განსაზღვრას ვახდებდით სუმატული Mg^{2+} -ატფ-აზასა და Na^+, K^+ -ATPa-აზას აქტივობების სხვაობის მიხედვით. ატფ-აზური აქტივობა გამოითვლებოდა ATP-ის ჰიდროლიზის შედეგად გამოთავისუფლებული ფოსფორილის რაოდენობის მიხედვით $\mu\text{mol Pi/მგ ცილა/წთ-ში}$ $\mu\text{mol Pi/მგ ცილა/წთ}$ (Rambo et al. 2012) [41].

II.6. აზოტის ჟანგის რაოდენობის განსაზღვრა

NO-ის შემცველობას ჰიპოკამპის უჯრედებში განსაზღვრული იყო მირანდასა და სხვ. მეთოდი. ამისათვის ჰიპოკამპის ჰომოგენატის ყოველ 100 μl ემატებოდა თანაბარი რაოდენობის 0.3 M-ის NaOH. მიღებულ ნარევს ვანჯღრევდით ოთახის ტემპერატურაზე 5წთ-ის განმავლობაში. ნარევს ემატებოდა 100 μl 5%-იანი $ZnSO_4$ დაკვლავ ვანჯღრევდით 5 წთ-ის განმავლობაში. ამ დროის გასვლის შემდგომ მიღებული ნარევი ცენტრიფუგირდებოდა 3000ბრ.წთ-ის სიჩქარეზე 15 წთ-ის განმავლობაში. ყოველ 100 μl სუპერნატანტს ემატებოდა 200 μl გრისის რეაქტივი. გრისის რეაქტივი მზადდება ცდის წინ და შეიცავს 0.5 M HCl-ზე დამზადებულ VCl_3 -სადა 0.1%-იან სულფამიდამიდს. საკონტროლო სინჯარა შეიცავდა ყველა რეაქტივს, თუმცა ჰომოგენატის მაგივრად სარეაქციო არეში შეტანილი იყო 100 μl დისტილირებული წყალი. მიღებული ნარევი ყოვანდებოდა 30წთ 37°C-ზე და შეფერილი ხსნარი იზომებოდა 540ნმ ტალღის სიგრძეზე სპექტროფოტომეტრიულად (Multiscan GO, Thermo Fischer Scientific, Finland). მიღებული მონაცემები ითვლებოდა $NaNO_2$ -ის სტანდარტულ მრუდზე [42].

II.7. H_2O_2 -ის რაოდენობის განსაზღვრა

H_2O_2 -ის რაოდენობის დადგენისათვის გამოყენებული იქნა წყალბადის პეროქსიდის Assay Kit (ab102500). Horse Radish Peroxidase (HRP) თანაობით the OxiRed Probe ურთიერთქმედებს H_2O_2 და წარმოქმნის შეფერილ პროდუქტს ($E = 570 \text{ nm}$).

სტატისტიკური ანალიზი

ყველა სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა SPSS პროგრამული უზრუნველყოფის გამოყენებით (version 23, SPSS, Chicago, IL). ცალმხრივი ANOVA იქნა გამოყენებული ჯგუფური განსხვავებების შესაფასებლად ყველა როგორც ფიზიოლოგიური ასევე

ბიოქიმიური ფასეულობების. ჩატარებული იქნა Tukey HSD ან Games-Howell პოსტ ჰოკ ტესტი რომელიც გვებმარება ჯგუფებს შორის განსხვავებების შეფასებაში. მნიშვნელობები გამოიხატება, როგორც საშუალო $\pm$ SEM. P მნიშვნელობებზე ნაკლები ვიდრე 0.05 რომელიც სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი იყო.

III თავი. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

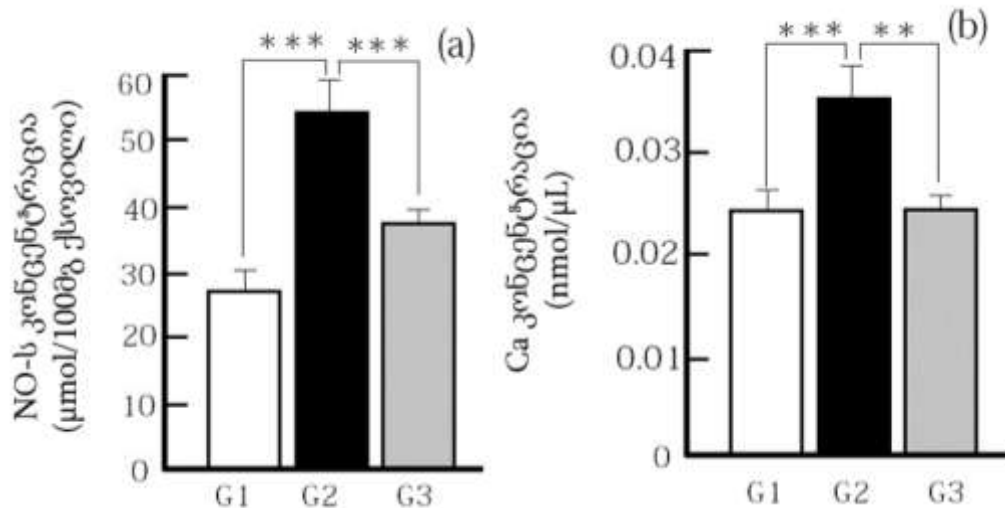
ცნობილია, რომ ბუნებრივი ცირკადული რიტმის დარღვევის პირობებში მიმდინარე ხანგრძლივი სოციალური იზოლაცია წარმოადგენს სტრეს-ფაქტორს, რომელიც იწვევს ფსიქო-ემოციური სტრესის ჩამოყალიბებას (Burjanadze et al., 2014; Videnovic et al., 2014). ამ პროცესისადმი განსაკუთრებით მგრძნობიარეა თავის ტვინი და მისი გახანგრძლივება ქცევით მახასიათებლების ცვლილებისა და მთელი რიგი ნეიროდეგენერაციული პათოლოგიების მიზეზი ხდება (Schiavone et al., 2009). ამდენად, ისეთი ნაერთების მოძიება, რომლებსაც შესწევთ უნარი მოახდინოს სტრესული მდგომარეობის პრევენცია, აქტუალურია. ამ მიმართულებით ჩვენი ყურადღება კრეატინმა მიიპყრო. ითვლება, რომ კრეატინის მოქმედების ძირითად მექანიზმს წარმოადგენს მისი მონაწილეობა ენერგიის აკუმულირებისა და შენახვის პროცესში. თუმცა მრავალმა ექსპერიმენტულმა მონაცემებმა დაადასტურეს მისი, როგორც ნეირომოდულატორისა და ნეიროპროტექტორის როლი მთელი რიგი ნეიროლოგიური დაავადებების დროს (Klein, Ferrante 2007; Royes et al., 2006). სწორედ ამ კონტექსტში იქნა ნანახი, რომ იგი არა მარტო სინთეზდება ნეირონების მიერ, არამედ ადგილი აქვს პერიფერიული კრეატინის მიწოდებას ჰემატოენცეფალური ბარიერის გავლითაც (Almeida et al., 2006). ჩვენი წინა კვლევებით ნანახია, რომ ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში თავის ტვინის უჯრედებში შემცირებულია კრეატინის მასინთეზირებელი ფერმენტების AGAT-ისა (*არგინინ: გლიცინამიდი ნოტრანსფერაზა*) და GAMT-ის (*გუანიდინოაცეტატმეთილ-ტრანსფერაზა*), თუმცა მისი შემცველობა უმნიშვნელოდაა შეცვლილი (Koshoridze et al., 2016). ამდენად, სავარაუდოა, რომ BBB-ს (ჰემატოენცეფალური ბარიერი) გააჩნია განსაზღვრული გამტარებლობა პერიფერიული Cr-სთვის, რაც გარკვეული პერიოდით მას აძლევს საშუალებას უზრუნველყოს ცენტრალური ნერვული სისტემა სტრესის პირობებში დაქვეითებული კრეატინის მარაგის შესავსებად, რაც გარკვეულწილად იცავს თავის ტვინს ამ დროს განვითარებული ოქსიდაციური პროცესებისაგან (Wallimann et al., 1992; Wyss and Kaddurah-Daouk 2000; Brosnan, Brosnan 2007; Andres et al. 2013; Braissant, Henry 2008).

ცნობილია, რომ დღე-ღამესთან მიახლოებული რიტმის დარღვევასა და სოციალურ იზოლაციას თან ახლავს ფსიქო-ემოციური სტრესის განვითარება, რაც თავის მხრივ, ოქსიდაციური პროცესების გააქტიურების მიზეზი ხდება (Koshoridze et al., 2009; Kuchukashvili et al., 2012; Burjanadze et al., 2014; Eckel-Mahan, Sassone-Corsi 2013; Krishnan et al., 2008). ლიტერატურული მონაცემებით დგინდება, რომ ჰიპოკამპის უჯრედებში

აღინიშნება Cu,Zn-SOD-ის და კატალაზას აქტივობის სარწმუნო დაქვეითება, რომლებიც იზრდება კრეატინის ინტრაპერიტონიალური შეყვანით. გამოითქვა ვარაუდი, რომ აქტივობის შემცირების მიზეზია როგორც ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დაქვეითება, ასევე აზოტის ჟანგის (NO) რაოდენობის მატება (Kuchukashvili et al., 2012; Burjanadze et al., 2017). ცნობილია, რომ NO წარმოიქმნება ფერმენტ NO-სინთაზას (NOS) მოქმედებით, რომლის აქტივატორი Ca^{2+} - იონებია (Weaver et al., 2002). NO-ს, როგორც რეტროგრადული მესენჯერის თვისებას წარმოადგენს უჯრედის მემბრანაში მაღალი დიფუზიის უნარი და უჯრედში სწრაფი შეღწევადობა, რაც ასტიმულირებს გუანილატციკლას და ზრდის cGMP-ის უჯრედშიდა დონეს, რასაც მოსდევს cGMP-დამოკიდებული პროტეინკინაზას (PKG) გააქტიურება და შესაბამისი საპასუხო რეაქციები, რაც აისახება მთელი რიგი ფერმენტების, მათ შორის Na^+/K^+ -ATP-აზას აქტივობის ცვლილებით (Munhoz et al., 2003; Munhoz et al., 2005). ამავე დროს, მისი შემცველობის მატება პეროქსიდნიტრიტის ($ONOO^-$) წარმოქმნას უწყობს ხელს, რაც თავის მხრივ, ოქსიდაციური პროცესების გააქტიურებისა და ანტიოქსიდანტური სისტემის დაქვეითების მიზეზი ხდება (Kuchukashvili et al., 2012;).

ყოველივე ზემოთთქმულის გათვალისწინებით, ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა გამოგვეკვლია ვირთვეების თავის ტვინის ჰიპოკამპის უჯრედებში, ინტრაპერიტონიალურად შეყვანილი კრეატინის, როგორც მოდულატორი როლის შესწავლა სოციალური იზოლაციითა და დღე-ღამესთან მიახლოებული რიტმის დარღვევით გამოწვეული ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში.

ექსპერიმენტის პირველ სტადიაზე შესწავლილი იქნა კრეატინის გავლენა კალციუმისა და აზოტის ოქსიდის კონცენტრაციაზე. მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა Ca^{2+} -ის იონის რაოდენობის სარწმუნო მატება ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში (G2-ჯგუფი) (სურ.1b). ამავე დროს, სტრესის მიმდინარეობის პარალელურად კრეატინის ყოველდღიური შეყვანა (G3-ჯგუფი), ამცირებს Ca^{2+} -ის შემცველობას უჯრედებში და ეს სიდიდე საკონტროლო მაჩვენებლის ფარგლებშია. აღსანიშნავია, რომ კრეატინის ანალოგიური ეფექტი Ca^{2+} -ის რაოდენობაზე ნანახია ჩონჩხის კუნთებშიც Duchenne muscular dystrophy-ს დროს და თავის ტვინის უჯრედებში ზოგიერთი ნეიროდეგენერაციული ცვლილებისას (Pulido et al., 1998; Juravleva et al., 2005). მიღებულმა შედეგებმა ასევე აჩვენა, რომ ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის ფონზე Ca^{2+} -ის უჯრედშიდა რაოდენობის ზრდას თან ახლავს NO-ს მატებაც, რომელიც მცირდება კრეატინის ყოველდღიური შეყვანისას და ექსპერიმენტის 30-ე დღეს, ეს სიდიდე ნორმის ფარგლებშია (G3-ჯგუფი) (სურ.1a).



სურათი 1. აზოტის ჟანგის (a) და Ca^{2+} -ისა (b) რაოდენობის ცვლილება სტრესირებული ვირთაგვების ჰიპოკამპში კრეატინის ინტრაპერიტონიალურად შეყვანის პირობებში; $\square$ -G1 ჯგუფი (საკონტროლო); $\blacksquare$ - G2 ჯგუფი (სტრესირებული); $\square$ -G 3 ჯგუფი (სტრესირებული + კრეატინი).

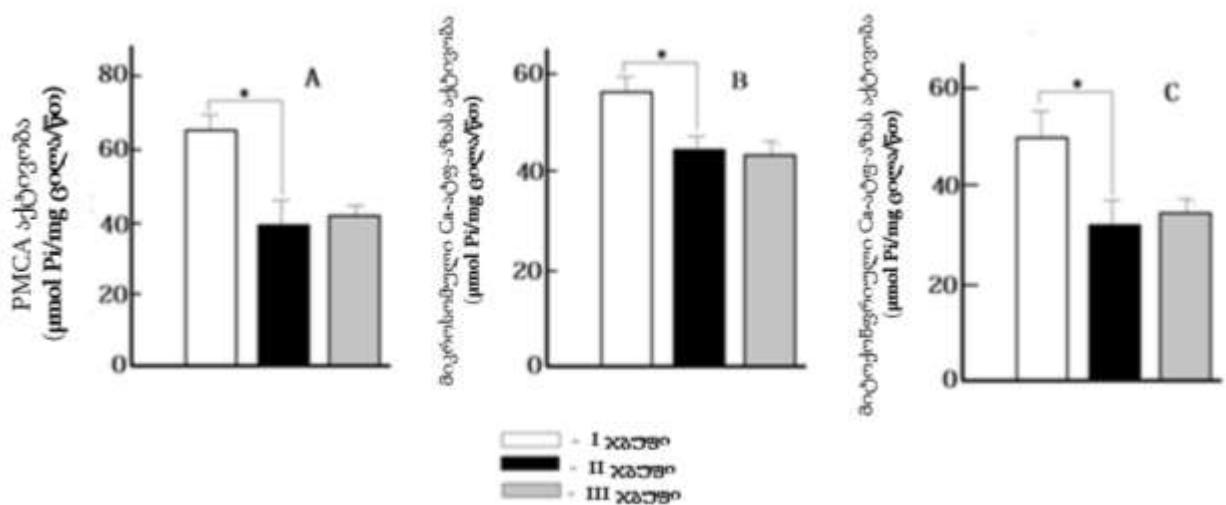
ჩნდება კითხვა, თუ რა არის კალციუმის სიჭარბის მიზეზი უჯრედში?

ცნობილია რა უჯრედში Ca^{2+} -ის ტრანსპორტირების მექანიზმი, მისი რაოდენობრივი ცვლილების მიზეზი შესაძლებელია იყოს კრეატინის პირდაპირი ზემოქმედება Ca^{2+} -ატფ-აზებზე ან პოტენციალ-მგრძნობიარე არხებზე, კერძოდ იონოტროპულ NMDA-რეცეპტორზე. წარმოდგენილი მონაცემები აჩვენებს, რომ ბუნებრივი დღე-ღამური ციკლის დარღვევის შემთხვევაში შემცირებულია მხოლოდ პლაზმური მემბრანის Ca^{2+} -ATP-ase-ს აქტივობა, იმ დროს, როცა მიტოქონდრიული და მიკროსომული იზოფორმების აქტივობა უცვლელია, რაც ასევე ემთხვევა ლიტერატურულ მონაცემებს. თუმცა კრეატინის შეყვანა არ ცვლის არც ერთი იზოფორმის აქტივობას (3 ჯგუფი), რაც გვადლევს საფუძველს ვივარაუდოდ, რომ Ca^{2+} -ის რაოდენობრივი შემცველობის ცვლილება არაა დამოკიდებული ამ ფერმენტების მოქმედებაზე და ამ პროცესში მონაწილეობას უნდა იღებდეს Ca^{2+} -ის არხები, კერძოდ NMDA-რეცეპტორი, რომელიც განსაკუთრებულად მგრძნობიარეა ოქსიდაციური პროცესების მიმართ (სურ.2 a,b,c).

ლიტერატურული მონაცემებით ცნობილია, რომ თავის ტვინში ქრონიკული სტრესით განპირობებული ოქსიდაციური პროცესების მიმართ განსაკუთრებულ მგრძნობელობას ავლენს NMDA-რეცეპტორი, კერძოდ მისი GlutN1 სუბერთეული, რომლის ჰიპერაქტივაცია იწვევს კალციუმის იონის დიდი რაოდენობით უჯრედის ციტოპლაზმაში შესვლას და

შესაბამისად, ამ ეფექტით გამოწვეულ შემდგომ მოვლენებს. ქრონიკული სტრესის შედეგად განვითარებული პროცესები ზრდის რა ჰემატოენცეფალური ბარიერის განვლადობას და იწვევს ასევე NMDA-რეცეპტორის აქტივაციას GlutN1 სუბერთეულის ფოსფორილირებით და შესაბამისად, უჯრედშიდა Ca^{2+} -ის რაოდენობის მატებას.

დადგენილია, რომ NMDA-რეცეპტორი აქტიურდება ასევე ზოგიერთი ჰორმონის, კერძოდ სეროტონინისა და კორტიკოსტერონის რაოდენობის ცვლილებით (Tse et al., 2011; Andres et al., 2013), რაც ჩვენს წინა კვლევებშიცაა ნაჩვენები. (Burjanadze et al., 2014).



სურათზე 2. ცირკადული რიტმის დარღვევით გამოწვეული სტრესის პირობებში პლაზმური მემბრანის (a) , მიკროსომული (b) და მიტოქონდრიული (c) Ca^{2+} - ATPase -აზების აქტივობის ცვლილება სტრესირებული ვირთაგვების ჰიპოთალამში ეგზოგენური კრეტინის შეყვანის პირობებში ორდინატა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა ($\text{nmol Pi/mg protein/min}$).

კალციუმის მომატებული რაოდენობა უჯრედში იწვევს NO-სინთაზას (NOS) აქტივაციას და NO-ს კონცენტრაციის მატებას. NO-ს მატება უჯრედში ასტიმულირებს გუანილატციკლაზას და ზრდის cGMP-ის უჯრედშიდა დონეს, რასაც მოსდევს cGMP-დამოკიდებული პროტეინკინაზას (PKG) გააქტიურება და Na^+/K^+ -atp-აზის აქტივობის შემცირებას.

ამდენად, სავარაუდოა რომ ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის ფონზე მიმდინარე ბიოქიმიური და ფიზიოლოგიური ცვლილებების მიზეზი შესაძლებელია იყოს სტრესის ფონზე ჰორმონების რაოდენობრივი ცვლილებებით გამოწვეული NMDA-რეცეპტორის აქტივაცია, რაც ხელს უწყობს უჯრედებში Ca^{2+} -ის შედინების გაძლიერებას და პარალელურად, ჭარბი NO-ს მატებას, რაც თავის მხრივ, ოქსიდაციური პროცესების

გააქტივების მიზეზი ხდება. ამის ფონზე კრეატინის მონაწილეობით NO-ს რაოდენობის ნორმალიზირების პროცესს ადასტურებს ლიტერატურული მონაცემებიც.

ცნობილია, რომ ციტოტოქსიკურ მოლეკულებს შორის, რომელთა რაოდენობრივი მატება უარყოფითად მოქმედებს უჯრედის მეტაბოლიზმზე, მნიშვნელოვანი ადგილი უჭირავს წყალბადის ზეჟანგს. ამის გათვალისწინებით, შემდგომ ექსპერიმენტში შესწავლილი იქნა ასევე H_2O_2 -ს რაოდენობრივი მაჩვენებელი სამივე ჯგუფის ცხოველებში. აღსანიშნავია, რომ ცვლილებები ვერ იქნა ნანახი H_2O_2 -ს შემთხვევაში. კერძოდ, სტრესის პირობებში ჰიპოკამპის უჯრედებში შეინიშნება მისი რაოდენობის ზრდა, თუმცა 3 ჯგუფის ჰიპოკამპში მისი რაოდენობა სარწმუნოდ არ იცვლება. ცხრილიდან ჩანს, რომ კრეატინის ხანგრძლივი პერიოდით ინტრაპერიტონიალური მიწოდება არ ცვლის სტრესის პირობებში გაზრდილი H_2O_2 -ს რაოდენობას. (ცხრ.1)

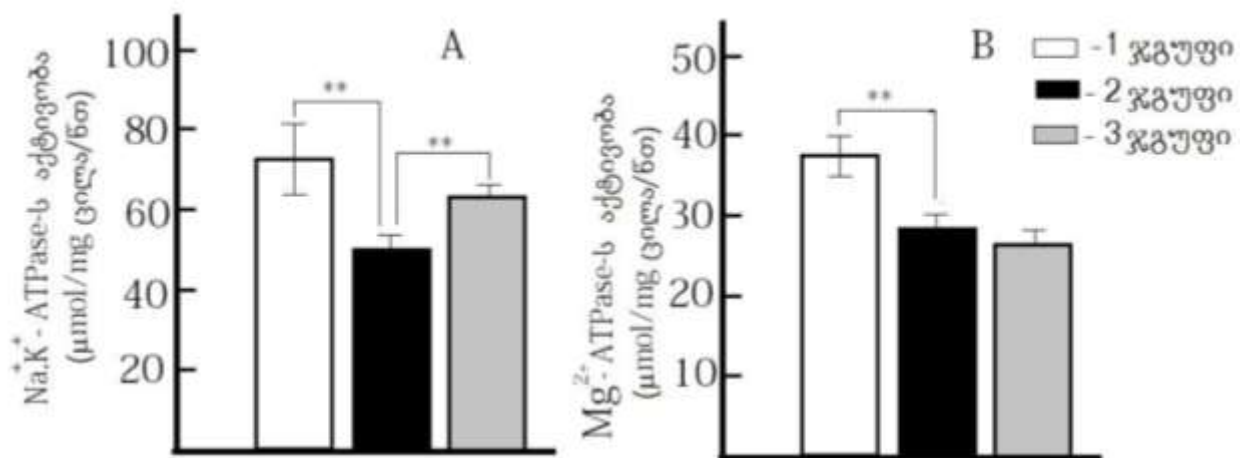
ცხრილი 1.

კრეატინის გავლენა სტრესირებული ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედებში NO-ს, H_2O_2 -ისა და Ca^{2+} -ს რაოდენობრივ შემცველობაზე

საკვლევი პარამეტრები	კონტროლი (I ჯგუფი)	ცირკადული რიტმის დარღვევით გამოწვეული სტრესი (II ჯგუფი)	სტრესი + კრეატინი (III ჯგუფი)
აზოტის ჟანგი (NO) (მკმოლი /100გრ ქსოვილი)	40.12±5.7	51.38±5.1	40.51±2.3
წყალბადის ზეჟანგი (H_2O_2) (მკმოლი/1გრ ცილა)	33.8 ±1. 2	39.3 ±2.3	38. 6 ± 3.5
Ca^{2+} (მმოლი/100გრ ქსოვილი)	0.03±0.008	0.05 ±0.007	0.038±0.006

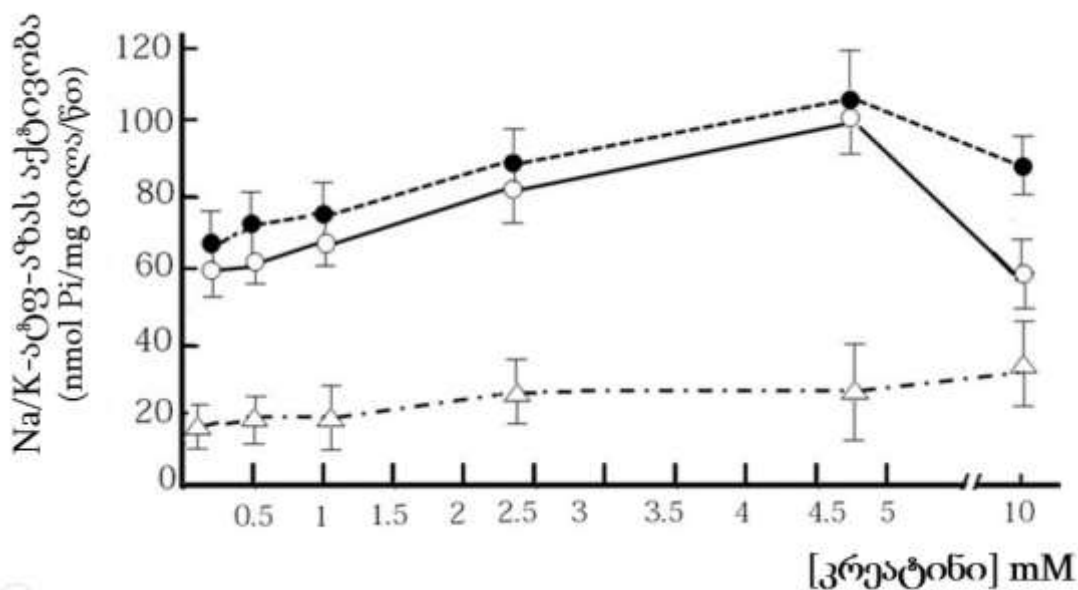
ზემოთაღწერილ პროცესში NMDA-რეცეპტორის მონაწილეობას ადასტურებს ასევე ექსპერიმენტი, სადაც შესწავლილია საკვლევი ჯგუფების ვირთაგვების ჰიპოკამპის პლამზური მემბრანის $Na^+/K^+-ATPase$ -ს აქტივობის ცვლილება. ცნობილია, რომ NMDA-რეცეპტორსა და $Na^+/K^+-ATPase$ -ს შორის არსებობს როგორც ფუნქციური, ასევე სტრუქტურული კავშირი (Akkuratov et al., 2015). სურათი 3a-დან ჩანს, რომ G2 ჯგუფის ვირთაგვების ჰიპოკამპში აღინიშნება $Na^+/K^+-ATPase$ -ს აქტივობის შემცირება. ამის

პარალელურად, კრეატინის ხანგრძლივი დროით შეყვანა (G3 ჯგუფი) სარწმუნოდ ზრდის მის აქტივობას. ამასვე ადასრუტებს ექსპერიმენტიც, სადაც შესწავლილია ინტრაპერიტონიალური კრეატინის გავლენა Mg^{2+} -ATPase-ზე. არსებობს მოსაზრება, რომ Na^+/K^+ -ATPase-გან განსხვავებით, Mg^{2+} -ATPase-ს აქტივობა არ არის დამოკიდებული NMDA-რეცეპტორზე (Kinoshita et al., 2016). ჩვენმა შედეგებმა აჩვენა, რომ კრეატინის შეყვანა არ ცვლის ამ ფერმენტის აქტივობას ჰიპოკამპის უჯრედებში (სურ.4b).



სურათზე 3. ცირკადული რიტმის დარღვევით გამოწვეული სტრესის პირობებში Na,K -ATPase-ს (a) და Mg^{2+} - ATPase-ის (b) აქტივობის ცვლილება სტრესირებული ვირთაგვების ჰიპოკამპში ეგზოგენური კრეატინის შეყვანის პირობებში
ორდინატა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა ($\mu\text{mol Pi/mg protein/min}$).

კრეატინის, როგორც NMDA-რეცეპტორის მოდულატორის მოქმედება ასევე ჩანს ექსპერიმენტში, სადაც შესწავლილია *in vitro* პირობებში კრეატინის გავლენა ჰიპოკამპის პლაზმური მემბრანისა და ჰიპოკამპის ფირფიტების მემბრანების Na^+/K^+ -ATPase-ზე. მე-4 სურათიდან ჩანს, რომ ფერმენტზე კრეატინის ეფექტი მინიმალურია ჰიპოკამპის ჰომოგენატში, სადაც ძალიან მაღალია პლაზმური მემბრანების დაზიანების ხარისხი და მაქსიმალურ სიდიდეს აღწევს ჰიპოკამპის ფირფიტებში, სადაც მემბრანა და შესაბამისად, რეცეპტორი მაღალი ხარისხით ნატიურ მდგომარეობაშია, რაც გვაფიქრებინებს, რომ კრეატინის ეფექტის გამოვლენისათვის აუცილებელია ინტაქტური კავშირის არსებობა რეცეპტორსა და Na,K -ATPase-ს შორის (სურ.4).



სურათი 4. კრეატინის სხვადასხვა კონცენტრაციის გავლენა ჰიპოკამპის პლაზმური მემბრანის (○), ჰიპოკამპის ჰომოგენატისა (△) და ჰიპოკამპის ფირფიტის მემბრანების (●) Na^+, K^+ -ATP-ზას აქტივობაზე ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა, გამოხატული $\text{nmol Pi/mg protein/min}$ აბსცისათა ღერძზე - კრეატინის კონცენტრაცია (mM)

ზემოთმოყვანილი მონაცემების გათვალისწინებით, სავარაუდოა, რომ სხვადასხვა ავტორების მიერ შესწავლილი კრეატინის ანტიოქსიდანტური თვისების მიზეზი სტრესირებული ვირთაგვებში იყოს მისი მოქმედებით NMDA-რეცეპტორის აქტივობის დაქვეითება, რაც შესაბამისად ამცირებს სტრესის პირობებში გაზრდილი Ca^{2+} -ის უჯრედშიდა შემცველობას და ასევე აქვეითებს NOS-ის აქტივობას, რაც შესაბამისად აისახება NO-ს რაოდენობის კლებასა და ანტიოქსიდანტური სისტემის ფერმენტების აქტივირებაში. ამ ვარაუდს ადასტურებს ასევე ცდები, სადაც შესწავლილია NMDA-რეცეპტორის ზოგიერთი ლიგანდის მოქმედების ეფექტი Na, K-ATPase -ს აქტივობაზე *in vitro* ცდებში.

ამრიგად, მიღებული შედეგები აჩვენებენ, რომ ეგზოგენური გზით ორგანიზმში მოხვედრილი Cr ენერგეტიკულ პროცესებში მონაწილეობის გარდა, ასრულებს ასევე ანტიოქსიდანტის ფუნქციასაც. კერძოდ, ურთიერთქმედებს რა NMDA-რეცეპტორთან, ახდენს მის ინაქტივაციას და შესაბამისად, ამცირებს უჯრედშიდა Ca^{2+} -ის რაოდენობას და მისი სიჭარბით გამოწვეულ ციტოტოქსიკურ ეფექტს. ამის პარალელურად, NOS აქტივობის დაქვეითებით მცირდება სტრესის შედეგად გაზრდილი NO-ს რაოდენობა, რაც თავის მხრივ, ხელს უწყობს ოქსიდაციური პროცესების შემცირებასა და ანტიოქსიდანტური სისტემის

ფერმენტების აქტივაციასაც. რა თქმა უნდა, გამოთქმული მოსაზრება მოითხოვს უფრო დეტალურ შესწავლას, რათა გაფართოვდეს წარმოდგენა კრეატინის ანტიოქსიდანტურ როლზე ცნს-ში, რაც იძლევა საშუალებას იგი გამოყენებული იქნას მთელი რიგი ნეიროდეგენერაციული ცვლილებების შედეგად თავის ტვინში განვითარებული ოქსიდაციური პროცესებისაგან.

დასკვნა

1. მიღებული მონაცემების გათვალისწინებით, ოქსიდაციური სტრესი, რომელიც გამოწვეულია ცირკადული რიტმის ხანგრძლივი დარღვევით, პროვოცირდება Ca^{2+} -ის რაოდენობრივი მატებით თავის ტვინის უჯრედებში.

2. კრეატინის მოდულაციური ეფექტი ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმზე, დადებითად აისახება ანტიოქსიდანტურ სისტემაზე, რაც იცავს ჰიპოკამპის უჯრედებს დაზიანებისაგან.

მიღებული შედეგები აჩვენებენ, რომ ეგზოგენური გზით ორგანიზმში მოხვედრილი კრეატინი ენერგეტიკულ პროცესებში აქტიური მონაწილეობის გარდა გავლენას ახდენს უჯრედში Ca^{2+} -ის ჰომეოსტაზე.

3. სავარაუდოა, რომ სტრესის პირობებში კალციუმის რაოდენობის დაქვეითების მიზეზი არის კრეატინის შესაძლებლობა, გავლენა მოახდინოს NMDA-რეცეპტორის აქტივობაზე.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Stacy Sampson, DO on March 12, 2020 — Written by Adam Felman
<https://www.medicalnewstoday.com/articles/145855>
2. THE EFFECTS OF STRESS ON THE CELLULAR METABOLISM OF THE BRAIN
<https://www.tsu.ge/science/?leng=eng&cat=jurnal&jnomeri=4&tid=8>
3. <https://www.nature.com/articles/npp2009160>
4. Коршак Т.А. Змитрукевич А.С. Хребтова О.М. Борисенок О.А. КРЕАТИН И ЕГО ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ (2016), Текст научной статьи по специальности «Клиническая медицина»;
<https://cyberleninka.ru/article/n/kreatin-i-ego-terapevticheskoe-znachenie>
5. <https://www.tsu.ge/science/?leng=eng&cat=jurnal&jnomeri=4&tid=8>
6. შენგელია მარიამ. სამაგისტრო ნაშრომი. თსუ 2017
7. Birch Karen, Keith George & Don McLaren . BIOS Instant Notes in Sport and Exercise Physiology; (2005).
8. Gajja S. Salomons, Wyss Markus. Creatine and Creatine Kinase in Health and Disease (2007).
<https://books.google.ge/books?id=HjU1FYjjoRcC&pg=PA18&lpg=PA18&dq=Cr/PCr/CK&source=bl&ots=YXPjNwVp3&sig=ACfU3U3ndT8IF7YQOTkJKfUp6owh6vWV9A&hl=ru&sa=X&ved=2ahUKEwiZuN2oruLoAhVCAGMBHa5pCQsQ6AEwDnoECAsQNNQ#v=onepage&q=Cr%2FPCr%2FCK&f=false>
9. Creatine metabolism and psychiatric disorders: Does creatine supplementation have therapeutic value? (Published online 2012 Mar 24.) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3340488/>
10. São Paulo. Role of the phosphocreatine system on energetic homeostasis in skeletal and cardiac muscles - Einstein (São Paulo) vol.12 no.1 Jan./Mar. (2014).
<https://doi.org/10.1590/S1679-45082014RB2741>

11. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5459889/>

12. Nitric oxide inactivation in brain by a novel O₂-dependent mechanism resulting in the formation of nitrate ions. [https://portlandpress.com/biochemj/article-abstract/362/2/459/39975/Nitric-oxide-inactivation-in-brain-by-a-novel-O₂?redirectedFrom=fulltext](https://portlandpress.com/biochemj/article-abstract/362/2/459/39975/Nitric-oxide-inactivation-in-brain-by-a-novel-O2?redirectedFrom=fulltext)
https://books.google.ge/books?id=xhJr9k1zx5YC&pg=PA13&lpg=PA13&dq=Cr/PCr/CK&source=bl&ots=KJOQjWXle3&sig=ACfU3U0fREEvkrHTTGrrRdzjemm_vFJPdg&hl=ru&sa=X&ved=2ahUKEwiZuN2oruLoAhVCAGMBHa5pCQsQ6AEwDXoECAsQKw#v=onepage&q=Cr%2FPCr%2FCK&f=false

13. Marie L. Blanke and Antonius M.J. VanDongen. Van Dongen AM, editor. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2009. Biology of the NMDA Receptor. Chapter 13 Activation Mechanisms of the NMDA Receptor. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5274/>

14. J Biol Chem World. 2010 Jul 26; 1(7): 229–234. Published online 2010 Jul 26. Plasma membrane Ca²⁺-ATPases in the nervous system during development and ageing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3083968/>

15. <http://intermedia.ge/%E1%83%A1%E1%83%A2%E1%83%90%E1%83%A2%E1%83%98%E1%83%90/63931-%E1%83%A1%E1%83%A2%E1%83%A0%E1%83%94%E1%83%A1%E1%83%98-%E1%83%B0%E1%83%90%E1%83%9C%E1%83%A1-%E1%83%A1%E1%83%94%E1%83%9A%E1%83%98%E1%83%94%E1%83%A1-%E1%83%9B%E1%83%98%E1%83%AE%E1%83%94%E1%83%93%E1%83%95%E1%83%98%E1%83%97/89/>

16. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9388797>

17. <https://www.braintools.ru/article/9548>

18. <https://arlenetaylor.org/brain-references/brain-challenges/stress-and-the-brain/2697-distress-negative-stress>

19. <https://cyberleninka.ru/article/n/neyrofiziologicheskie-izmeneniya-pri-emotsionalnom-stresse>

20. <https://medach.pro/post/1016>

21. http://rsmu.ru/fileadmin/rsmu/img/lf/cpf/ucheb_rab/metodichki/stress.pdf

22. <https://dissidentvoice.org/2012/02/how-social-isolation-kills/>

23. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6279965/>

24. ПУТИ ЦИРКАДИАННОГО КОНТРОЛЯ ПРОДУКЦИИ ГОНАДОТРОПИН- РИЛИЗИНГ-ГОРМОНА
<https://cyberleninka.ru/article/n/puti-tsirkadiannogo-kontrolya-produktsii-gonadotropin-rilizing-gormona>

25. <https://xn--90aw5c.xn--c1avg/index.php/%d0%91%d0%98%d0%9e%d0%9b%d0%9e%d0%93%d0%98%d0%a7%d0%95%d0%a1%d0%9a%d0%98%d0%95 %d0%a0%d0%98%d0%a2%d0%9c%d0%ab>

26. Kluwer Wolters Health 2019 <https://www.drugs.com/npp/creatine.html#moreResources>

27. Creatine Supplementation: A Novel Role in Antioxidant System in Exercise and In Chronic Diseases
https://www.researchgate.net/publication/274072887_Creatine_Supplementation_A_Novel_Role_in_Antioxidant_System_in_Exercise_and_In_Chronic_Diseases

28. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20304692/>

29. <https://www.britannica.com/science/metabolism/ATP-synthesis-in-mitochondria>

30. <https://www.nature.com/scitable/topicpage/mitochondria-14053590/>

31. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1152>

32. Mawer Rudy, MSc, CISSN on October 25, 2018 <https://www.healthline.com/nutrition/what-is-creatine#what-it-is>

33. <https://www.intechopen.com/books/antioxidant-enzyme/antioxidant-enzymes-and-human-health>

34. http://www.bio.msu.ru/res/DictionaryAttachment/209/DOC_FILENAME/MFK_2015_vesna_Izlucheniya_5.pdf
35. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13677624/>
36. Role of creatine supplementation on exercise-induced cardiovascular function and oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2009 Sep-Oct; 2(4): 247–254
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2763263/>
37. Creatine supplementation and oxidative stress in rat liver. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* volume 10, Article number: 54 (2013)
<https://jissn.biomedcentral.com/articles/10.1186/1550-2783-10-54>
38. Nauert Rick PhD Associate News Editor Creatine for Depression?
<https://psychcentral.com/news/2012/08/07/creatine-for-depression/42787.html>
39. Burjanadze, G. M., Kuchukashvili, Z. T., Chachua, M. V., Menabde, K. O., Dachanidze, N. T., & Koshoridze, N. I. (2014). Changes in activity of hippocampus creatine kinase under circadian rhythm disorders. *Biological Rhythm Research*, 1016(February 2016), 1–13.
<https://doi.org/10.1080/09291016.2014.888172>
40. Rambo, L. M., Ribeiro, L. R., Schramm, V. G., Berch, A. M., Stamm, D. N., Della-Pace, I. D., ... Royes, L. F. F. (2012). Creatine increases hippocampal Na⁺,K⁺-ATPase activity via NMDA-calcineurin pathway. *Brain Research Bulletin*, 88(6), 553–559.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2012.06.007>
41. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2711396/>
42. Pahan K., Liu X., McKinney M.J., Wood C., Sheikh F.G., Raymond J.R. Induction of nitric oxide synthase and activation of nuclear factor- κ B in primary astrocytes. *J.Neurochem.* 2000.-v.74 –p. 2288-2295