

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

საბაკალავრო ნაშრომი

წიკლაური ალექსანდრე

„კრეატინის გავლენა ანტიაპოპტოზურ პროცესებზე“

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

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

თანახელმძღვანელი: ბიოლოგიის აკადემიური დოქტორი,
ასისტ. პროფ. ქეთევან მენაბდე

თბილისი 2020

სარჩევი

ანოტაცია	3
Annotation.....	4
შესავალი	5
თავი I. ლიტერატურული მიმოხილავა	8
I.1 კრეატინი	8
I.2 კრეატინის მეტაბოლიზმი.....	10
I.3 კრეატინით უჯრედული მეტაბოლიზმის ცვლილების პრევენცია.....	12
I.4. სტრესი.....	13
I.5 აპოპტოზი	19
თავი II. კვლევის ობიექტი და გამოყენებული მეთოდები.....	23
II.1 კვლევის ობიექტი	23
II.2. ვესტერნ ბლოტინგის მეთოდის აღწერა.....	24
II.3. მიტოქონდრიის გარდამავალი განვლადობის ფორის ხსნადობის შეფასება.....	24
II.4. ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით	25
თავი III. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა.....	26
დასკვნა	33
ლიტერატურა	34

ანოტაცია

სტრესი თანამედროვე სამყაროს გლობალურ პრობლემას წარმოადგენს, რომელიც პასუხისმგებელია ორგანიზმის ადაპტაციურ, ქცევით, ფიზიოლოგიურ პასუხებზე.. ამის მიუხედავად, სტრეს-ფაქტორების ხანგრძლივი მოქმედება უარყოფითად აისახება ჯანმრთელობის მდგომარეობაზე და იწვევს მთელ რიგ დაავადებებს. ამ პროცესებისადმი განსაკუთრებულ მგრძნობელობას ავლენს თავის ტვინი.

ცნობილია, რომ Ca^{2+} -ის რაოდენობრივი ცვლილებები უარყოფითად აისახება უჯრედის ფუნქციონირებაზე, კერძოდ მისი რაოდენობის მატება განაპირობებს მიტოქონდრიული მეგაარხის (MPTP) ჰიპერაქტივაციას. აღნიშნული ცვლილებების სირთულიდან გამომდინარე მნიშვნელოვანია, ისეთი ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების მოძიება, რომლებიც გარკვეულ დამცველობით ფუნქციას შეასრულებენ. ამ ნაერთებს შორის ჩვენი ყუადღება უჯრედში მაღალენერგეტიკული ფოსფატების ტრანსპორტსა და შენახვაში მონაწილე **კრეატინმა** (α -N-მეთილგუანიდინო აცეტილის მჟავა) მიიპყრო.

აქედან გამომდინარე, კვლევის მიზანს წარმოადგენს ხანგრძლივი სოციალური იზოლაციითა და დღე-ღამური ციკლის დარღვევით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში თეთრი ვირთაგვას ჰიპოკამპის უჯრედებში კრეატინის, როგორც ანტიაპოპტოზური ფაქტორის შესწავლა ანუ კრეატინის გავლენა ანტიაპოპტოზურ პროცესებსა და მიტოქონდრიული მეგაარხის ფუნქციონირებაზე.

მიღებული მონაცემების გათალისწინებით, ნაჩვენებია, რომ ცირკადული რიტმის ხანგრძლივი დარღვევის შედეგად განვითარებული სტრესის პირობებში ვირთაგვას თავის ტვინის ჰიპოკამპის უჯრედების სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა მცირდება. სტრესის პარალელურად კრეატინის ინტრაპერიტონიალური შეყვანა ზრდის ამ ტიპის უჯრედების რაოდენობას. ამავდროულად, გამოთქმულია მოსაზრება, რომ სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის შემცირების მიზეზი შესაძლებელია იყოს მიტოქონდრიების მეგაარხის აქტივაციის შედეგად განვითარებული აპოპტოზური პროცესები.

Annotation

Disturbances in natural Circadian rhythm are well-known stress factors affecting a range of metabolic pathways in the living body including the brain. Influence of various stressors frequently alters brain calcium concentrations, thus inducing so called Ca^{2+} -cytotoxicity. Hence, discovery of natural compounds that could help to prevent and cure of adverse changes is very important. One of the recently discussed substances is creatine, that is actively taking part in high-energy phosphate transferring and storage, and it is believed to have anti-stressor properties.

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 identify the influence of creatine on the anti-apoptotic processes and mitochondrial mega channel (MPTP) functioning in the white rat hippocampus.

The results indicate that the control (G1) and stressed (G2) animals differ in open-field behavioral parameters, particularly experimental animals show reduced exploratory activity and elevated fear and anxiety-like reactions.

Moreover, it is shown that as a result of stress caused by continuous circadian rhythm disruption, the number of viable brain hippocampus cells declines in a rat. Simultaneously with the intraperitoneal administration of creatine, the number of similar cells increases. In addition, apoptotic processes caused by the activation of the mitochondrial mega channel can be considered to be responsible for the decrease in the number of viable cells.

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, მათ შორის სტრესის დროს უჯრედებში მატულობს Ca^{2+} -ის რაოდენობა, რაც უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე ისახება [22].

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 .

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 და მნიშვნელოვან როლს ასრულებს უჯრედში 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 [1,2,3].

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 სარწმუნოდაა მომატებული Ca^{2+} -ის შემცველობა და შემცირებულია სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა.

ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის მიმდინარეობა მჭიდრო კავშირშია მიტოქონდრიის ფუნქიურ მდგომარეობასთან. ლიტერატურული მონაცემებით ცნობილია, რომ Ca^{2+} -ის იონის ჭარბი კონცენტრაცია იწვევს მიტოქონდრიის მემბრანაში არსებული ფორის - MPTP-ის (მეგაარხის) გახსნას, რომელიც საგრძნობლად ზრდიდა მემბრანის განვლადობას. ცნობილია, რომ MPTP-ის აქტივაცია შესაძლებელია მოახდინოს სხვადასხვა სტრესულმა პროცესებმა. ამდენად, იკვეთება, რომ კრეატინის დამატებით მიღებული შედეგების მიზეზი ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის აქტივაციის გარდა შესაძლებელია ყოფილიყო ასევე MPTP-ის ცვლილებაც.

იმის გათვალისწინებით, რომ ცნობილია უჯრედშიდა Ca^{2+} -ის ჭარბი რაოდენობის ციტოტოქსიკური ეფექტი უჯრედის ფუნქციონირებაზე, შესწავლილი იქნა კრეატინის გავლენა უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე. აღმოჩნდა, რომ სტრესირებული ვირთაგვების ჰიპოკამპში საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით, შემცირებულია სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა, ამის პარალელურად, კრეატინის ეგზოგენური დამატება სტრესის პირობებში სარწმუნოდ ზრდის მათ შემცველობას.

პარალელურად შესწავლილ იქნა როგორც საკონტროლო, ისე სტრესირებული ცხოველების მიტოქონდრიებში MPTP-ის Ca^{2+} -ინდუცირებულ აქტივაციაზე კრეატინის გავლენა [39].

როგორც წარმოდგენილი მონაცემებიდან იკვეთება, კრეატინი გვევლინება როგორც მიტოქონდრიული ფორის მაინჰიბირებელი, რითაც იცავს უჯრედებს დაღუპვისაგან. თუმცა გაურკვეველია კრეატინის ეფექტის მიზეზი მიტოქონდრიულ ფორაზე.

ცნობილია, რომ ცილები Bcl-2, Bax და Bad მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ აპოპტოზის პროცესში. ამის გათვალისწინებით, შემდგომ ექსპერიმენტში ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა ისეთი ცილების შემცველობის ცვლილება ხანგრძლივი ცირკადული რიტმის დარღვევის პირობებში და ამ ცვლილებებზე ინტრაპერიტონიალურად შეყვანილი კრეატინის ეფექტი, როგორიცაა Bcl-2, Bad და Bax.

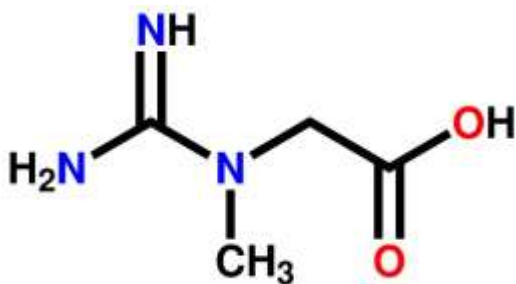
მიღებული შედეგებიდან გამომდინარე სავარაუდოა, რომ ინტრაპერიტონიალურად შეყვანილი კრეატინის შემთხვევაში მიტოქონდრიული მეგარხის ჰიპერაქტივაციის დაქვეითება და შესაბამისად, აპოპტოზური პროცესების შეფერხება, უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის გაზრდა არ არის დამოკიდებული კრეატინისა და Bcl-2 ცილის ურთიერთქმედებაზე.

ყოველივე ამის გათვალისწინებით, ჩვენი ექსპერიმენტის მიზანს წარმოადგენდა ხანგრძლივი დღე-ღამური ციკლის დარღვევით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში თეთრი ვირთაგვას ჰიპოკამპის უჯრედებში კრეატინის, როგორც ანტიაპოპტოზური ფაქტორის დადგენა და მისი გავლენის შესწავლა ანტიაპოპტოზურ პროცესებსა და მიტოქონდრიული მეგარხის ფუნქციონირებაზე.

თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა

I.1 კრეატინი

კრეატინი აღმოაჩენილ იქნა 1832 წელს ფრანგი ქიმიკოსის მიშელ შევრელის მიერ, როგორც ხორცის ორგანული შემადგენელი. "Extractum carnis Liebig", კონცენტრირებული ხორცის ექსტრაქტი, დაახლოებით იმავე პერიოდში გაყიდა გერმანელმა მკვლევარმა იუსტუს ფონ ლიბიგმა. 1847 წელს დაფიქსირდა, რომ დევნაში მოკლული ველური ძეგლების ხორცი შეიცავს 10-ჯერ მეტ კრეატინს, ვიდრე ტყვეობაში მყოფი, ხოლო 1912 წელს ჰარვარდის სამედიცინო სკოლის მკვლევარებმა დაადგინეს კავშირი კრეატინის ეგზოგენურ მიღებასა და კუნთოვან ქსოვილში კრეატინის გაზრდას შორის.



1960-იანი წლების ბოლოს, ბიოფსიის ტექნიკის მიღწევებმა მკვლევარებს საშუალება მისცა შეესწავლათ ადენოზინტრიფოსფატის (ATP) და კრეატინფოსფატის რღვევა და რეზინთეზი; ამასთან, 1990-იანი წლების დასაწყისში შეისწავლეს კრეატინის გავლენა ადამიანებში ვარჯიშის შესრულებაზე. 1992 წელს მიღებულ ცნობებში მოხდა ადამიანის კუნთების მასის 20%-იანი ზრდა კრეატინის დამატებების შედეგად, ხოლო სპორტსმენებმა განაცხადეს, რომ ის გამოიყენეს 1992 წლის ოლიმპიურ თამაშებამდე.

კრეატინი არის აზოტოვანი ორგანული მჟავა, რომელიც სინთეზდება ორგანიზმში ამინომჟავების გლიცინის, არგინინისა და მეთიონინისგან, ფერმენტული სისტემის მიერ[1].

კრეატინი (მოლეკულური ფორმულა - $C_4H_9N_3O_2$; მოლეკულური მასა- 131.13 g/mol) ანუ N-[ამინოიმინომეთილ]-N-მეთილ გლიცინი არის გუანიდინის ნაერთი, რომელიც სინთეზირებულია თირკმელებში, ღვიძლში, პანკრეასსა და ტვინში, ან მიიღება ისეთი საკვები წყაროებიდან, როგორიცაა ხორცი და სუფთა თევზი [2].

ამასთან, კრეატინის უჯრედში მოხვედრა იმდინარეობს აქტიური სატრანსპორტო მექანიზმების მეშვეობით, ვინაიდან მისი კონცენტრაცია უჯრედში უფრო მაღალია (დაახლოებით 5-25 მილიმოლი), ვიდრე სისხლში (15-50 მიკრომოლი). ეს პროცესო ხორციელდება სპეციალური სატრანსპორტო ცილის - კრეატინის ტრანსპორტერის

მეშვეობით (CrT), ამ სატრანსპორტო ცილის მოქმედება Na/Cl-ის 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 [3,4,5].

კრეატინის როლი ენერგიის შენახვასა და გადანაწილებაში მდგომარეობს. კრეატინი მეტაბოლიზმში ერთვება ენერგიაზე მოთხოვნილების დროს და საჭიროებების შემთხვევაში ფოსფატის გამონთავისუფლებას ახედენს (დეფოსფორილირება) - "კრეატინი ფოსფატის ჩამკეტი" [7].

კრეატინის დეფიციტი -მოიცავს კრეატინის სინთეზის ან ტრანსპორტის დარღვევას და ასევე ფერმენტ გუანიდინინოცეტატ მეთილისტრანსფერაზას (GAMT) დეფიციტს, არგინინი:გლიცინი ამინდინოტრანსფერაზას (AGAT) უკმარისობას [8].

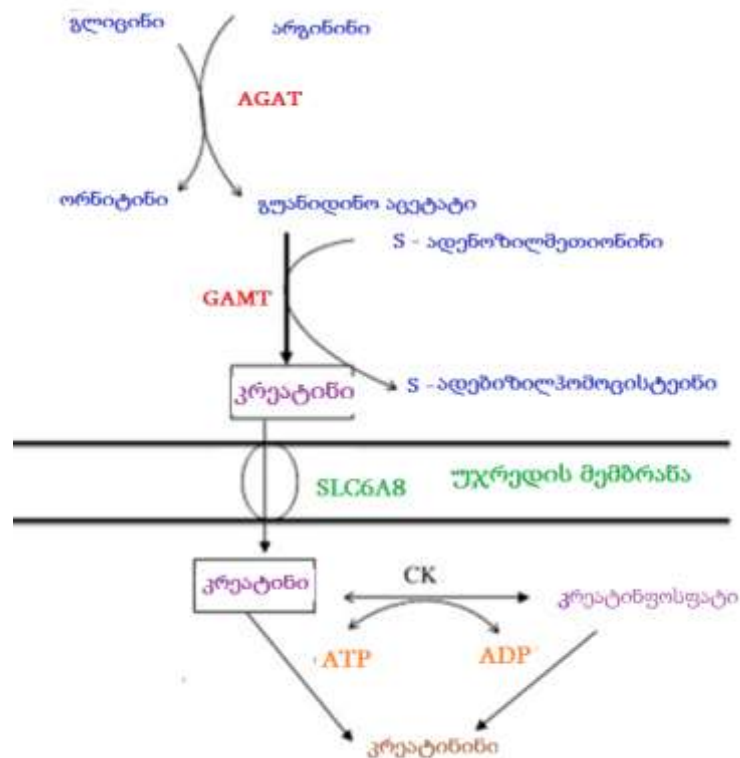
ჩვენი სხეულის კრეატინის 95% ინახება კუნთებში ფოსფოკრეატინის ფორმით. დანარჩენი 5% გვხვდება ტვინში, თირკმელებში და ღვიძლში.

კრეატინი ასევე ცვლის რამდენიმე უჯრედულ პროცესს, რაც იწვევს კუნთების მასის მატებას, სიმტკიცეს და გამოჯანმრთელებას.

კუნთების მსგავსად, ჩვენი ტვინი ინახავს ფოსფოკრეატინს და მოითხოვს უამრავ ATP- ს ოპტიმალური ფუნქციონირებისთვის.

კრეატინის ბიოსინთეზის შეფერხების გენეტიკური ნაკლოვანებები იწვევს ძლიერ ნეირომუსკულურ დარღვევებს [9].

ბიოსინთეზის შემდეგ, კრეატინი ტრანსპორტირდება ჩონჩხის კუნთებში, გულში, ტვინსა და სხვა ქსოვილებში. კრეატინის უმეტესობა მეტაბოლიზდება ამ ქსოვილებში ფოსფოკრეატინამდე (კრეატინის ფოსფატი). ფოსფოკრეატინი არის ენერგიის მთავარი შესანახი ფორმა ორგანიზმში. დამატებით კრეატინს შეიძლება ჰქონდეს ენერგიის მომტანი მოქმედება ანაერობული ვარჯიშის დროს და ასევე შეიძლება ჰქონდეს ნეიროპროტექტორული და კარდიოპროტექტორული მოქმედებები [10].



სურათი 1. კრეატინის მეტაბოლიზმი ორგანიზმში

უჯრედში კრეატინის ბიოსინთეზი ორ საფეხურად მიმდინარეობს. რეაქციის პირველ საფეხურზე არგინინიდან ფერმენტ L-არგინინ:გლიცინამიდიმოტრანსფერაზის (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-მეთიონინ-N-გუანიდინოაცეტატ:მეთილტრანსფერაზის(GAMT) მონაწილეობით წარმოიქმნება კრეატინი [4, 5, 20, 21] (სურ.1).

I.2 კრეატინის მეტაბოლიზმი

კუნთებში ატფ-ის დეფიციტის დროს უჯრედში მოხვედრილი კრეატინი, მიტოქონდრიაში განიცდის ფოსფორილირებას და გარდაიქმნება კრეატინფოსფატად (PCr) და წარმოადგენს ფოსფატის დონორს ადფ-ისთვის და გარდაქმნის მას ატფ-ად [11].

კუნთებში, კრეატინის მთელი მოცულობის ერთი ნაწილი უკავშირდება ფოსფატს და წარმოიქმნება კრეატინფოსფატი. რეაქცია კატალიზირდება კრეატინკინაზას მიერ,

ხოლო შედეგი არის ფოსფოკრეატინი (PCr). ფოსფოკრეატინი აკავშირებს ფოსფატს ადენოზინდიფოსფატთან, რომ იგი გარდაქმნას ATP- ს (ადენოზინტრიფოსფატად), ატფ არის მნიშვნელოვანი მოლეკულა უჯრედისთვის და ვინაიდან მისი ენერგია არის ასეთი მნიშვნელოვანი, ის მალევე იხარჯება, სწორედ ამის გამო არის მისი სიცოცხლის ხანგრძლივობა დაბალი და ამ ენერგიის წარმოქმნა ხდება ჟანგვითი ფოსფორილირების ხარჯზე ანუ სუნთქვით ჯაჭვზე [12].

$Cr + ATP \leftrightarrow PCr + ADP$ რეაქცია კატალიზდება ფერმენტ კრეატინ კინაზას მიერ [14, 15].

CKB გენის მიერ კოდირებული ცილა არის ციტოპლაზმური ფერმენტი, რომელიც მონაწილეობს ენერგიის ჰომეოსტაზში. კოდირებული ცილა შექცევადად აკატალიზებს ფოსფატის გადაცემას ატფ-ს და სხვადასხვა ფოსფოგენებს შორის, როგორიცაა კრეატინის ფოსფატი. იგი მოქმედებს როგორც ჰომოდიმერი თავის ტვინში [13].

CK-ს ძალიან მაღალი დონე გვხვდება ჩონჩხის კუნთში, პირველ რიგში, MM ფორმაში. თავის ტვინში ჭარბობს BB ფორმა. ფოსფოკრეატინი გამოიყენება ტვინის ქსოვილში ATP რეგენერაციისთვის, ხოლო CK ემსახურება საპირისპირო რეაქციის კატალიზაციას: ფოსფოკრეატინისა და ADP- სგან ATP- ის წარმოქმნა, როდესაც ქსოვილს ATP-ის ენერგია ესაჭიროება.

ცნობილია, რომ კრეატინმონოჰიდრატს შეუძლია უზრუნველყოს დამცავი ეფექტი აპოპტოზის საწინააღმდეგოდ Bcl-2 და Bcl-2/Bax თანაფარდობის გაზრდით. ამრიგად, კრეატინის გამოყენება შეიძლება სასარგებლო იყოს აპოპტოზური უჯრედების სიკვდილის პროფილაქტიკისთვის, რაც გამოწვეულია ვარჯიშის შედეგად წარმოქმნილი მწვავე სტრესის მიერ [34].

CK დიმერული ფერმენტია. ის 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). აქტიური CK-ს სამი საერთო ფორმა მოიცავს ორ ჰომოდიმერს და ერთ ჰეტეროდიმეტერს. პირველი ჰომოდიმერი (CK-1) შედგება ორი B ნაწილისგან და მოიხსენიება, როგორც CKBB. მეორეს ორი M აქვს და მოხსენიებულია, როგორც CKMM (CK-3). ჰეტეროდიმერს აქვს თითოეული ქვედანაყოფიდან ერთი და მას მოიხსენიებენ როგორც CKMB (CK-2). არსებობს მესამე გენის პროდუქტი, რომელიც იწვევს CK-ის მიტოქონდრიულ ფორმას.

CKBB არის ტვინის ქსოვილის მნიშვნელოვანი შემადგენელი ნაწილი, და ამრიგად,

CKBB- ის გაზომვა შრატში და სხვა სხეულის სითხეებში შეიძლება ძალიან სასარგებლო ინსტრუმენტი იყოს ტვინის პათოლოგიების დიაგნოზირებისა და პროგნოზის დროს. ეს მოიცავს ფიზიკურ დაზიანებას, სიმსივნის სხვადასხვა სახეობების და ნეიროდეგენერაციულ დაავადებებს.საინტერესოა, რომ სიმსივნის სხვა ფორმებმაც გამოიწვია შრატში CKBB-ის ამალღებული კლინიკურად მნიშვნელოვანი დონე. როგორიცაა მაგ: უჯრედული ფილტვის კიბო და საკვერცხის კიბო [16].

I.3 კრეატინით უჯრედული მეტაბოლიზმის ცვლილების პრევენცია

კრეატინის დახმარებით შეიძლება მოხდეს ისეთი დაავადებების პრევენცია, გამოჯამრთელება როგორიცაა:

ალცჰეიმერის დაავადება, პარკინსონის დაავადება, ჰანტინგტონის დაავადება, იშემიური, ინსულტი, ეპილეფსია, ტვინის ან ზურგის ტვინის დაზიანებები, მეხსიერების და ტვინის ფუნქციონირება ხანდაზმულ ასაკში, მოტორული ნეირონების დაავადებები....

კრეატინის პოტენციური სარგებლის მიუხედავად, ნევროლოგიური დაავადების სამკურნალოდ, მიმდინარე გამოკვლევების უმეტესი ნაწილი ცხოველებში ჩატარდა [17].

ამასთანავე მოხდა ტვინის ტრამვული დაზიანების მქონე ბავშვის გამოკვლევა 6 თვის განმავლობაში, რის შედეგადაც დადგინდა რომ დაღლილობის მაჩვენებლი შემცირდა 70%-ით, ხოლო თავბრუსხვევის 50%-ით [18].

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 დაავადებს რემისიას [19].

I.4. სტრესი

სტრესი ბუნებრივი მოვლენაა, რომელიც ხშირად ვითარდება მაშინ, როცა ადამიანს არ შეუძლია გაუმკლავდეს კონკრეტულ მოთხოვნებსა და მოვლენებს. ანუ სტრესი მდგომარეობაა, რომელიც ჩნდება რთულ სიტუაციებში. დადგენილია, რომ სტრესი შეიძლება გახდეს ქრონიკული მდგომარეობა, თუ პიროვნება არ გადადგამს ნაბიჯს მისი მართვისკენ. ეს მოთხოვნები შეიძლება წარმოიშვას სამსახურში, ურთიერთობაში, ფინანსური ზეწოლის გამო და სხვა მსგავსი სიტუაციების დროს. შეიძლება ითქვას, რომ ნებისმიერმა მოვლენამ, რაც საფრთხეს უქმნის რეალურ ან აღქმულ პრობლემას და რაც ხელს უშლის პიროვნების კეთილდღეობას, შეიძლება გამოიწვიოს სტრესი.

ლიტერატურული მონაცემებით დასტურდება, რომ სტრესი შეიძლება იყოს მოტივატორი, რომელიც არსებითია გადარჩენისთვის. მექანიზმი - „იბრძოლე ან გაიქეცი“ აცნობს ადამიანს და სხვა ცოცხალ ორგანიზმებს, როდის და როგორ უნდა რეაგირებდნენ საფრთხეზე. ამასთან, როდესაც სხეული ძალიან ადვილად ღიზიანდება ან ერთდროულად ძალიან ბევრი სტრესორია ხანგრძლივი დროის განმავლობაში, ამან შეიძლება შეაფერხოს ადამიანის ფსიქიკური და ფიზიკური ჯანმრთელობა და გახდეს სხვადასხვა პათოლოგიის მიზეზი.

რა არის სტრესი?

სტრესი არის ფიზიოლოგიური მოვლენა, რომელიც ბუნებრივად იცავს სხეულს საფრთხისგან. ის იწვევს სხეულში ჰორმონების რაოდენობრივ ცვლილებას, რომლებიც ამზადებენ ორგანიზმს საშიშროების თავიდან ასაცილებლად ან მასთან შესაგუებლად.

როდესაც ადამიანი გამოწვევის ან საფრთხის წინაშე დგას, ამ დროს ორგანიზმში აქტიურდება სხვადასხვა ბიოლოგიური რესურსები, რომლებიც ეხმარება პიროვნებას დარჩეს და დაუპირისპირდეს გამოწვევას, ან მიიღოს უსაფრთხოების ზომები.

შედეგად ორგანიზმში აქტიურად წარმოიქმნება და დიდი რაოდენობით გამოიყოფა: გლუკოკორტიკოიდი კორტიზოლი, ეპინეფრინი და ნორეპინეფრინი. ეს კი იწვევს არტერიული წნევის მომატებას, კუნთების დაძაბულობას, ოფლიანობას, გულისცემის გახშირება და სიფხიზლეს.

სტრესი ანელებს ორგანიზმში მიმდინარე პროცესებს, მაგალითად: საჭმლის მონელებას და იმუნურ პასუხს. ამ დროს ორგანიზმი მზად არის გამოიყენოს საკუთარი რესურსები სუნთქვის, სისხლის ნაკადის, სიფხიზლის, კუნთების მოულოდნელი

გამოყენებისთვის.

სტრესული რეაქციის დროს ვითარდება არტერიული ჰიპერტენზია და ჩქარდება პულსი, სუნთქვა ხშირდება, საჭმლის მონელება ითრგუნება, იმუნური აქტივობა ქვეითდება, კუნთები უფრო დაძაბულია და მატულობს სიფხიზლე, შესაბამისად ვითარდება უძილობა.

იმის მიხედვით თუ როგორ რეაგირებს ადამიანი რთულ ვითარებაზე, ეს განსაზღვრავს სტრესის გავლენას ჯანმრთელობაზე. ზოგიერთი ადამიანი, ერთროულად განიცდის რამდენი სტრესორის ზემოქმედებას, რაც უფრო მძიმედ აღიქმება ორგანიზმის მიერ.

ზოგიერთმა ბუნებრივმა მოვლენამ, შეიძლება გამოიწვიოს სტრესული მდგომარეობა მაგალითად ბავშვის გაჩენა, საცხოვრებელი ადგილის შეცვლა და სამსახურის დაკარგვა. ამის მიზეზი ისაა, რომ ისინი ჩვეულებრივ მოიცავს მნიშვნელოვან ცვლილებას, დამატებით ძალისხმევას, ახალ პასუხისმგებლობას და ადაპტაციის აუცილებლობას. არსებობს უამრავი სტრეს-ფაქტორი.

ფსიქიკური ჯანმრთელობის ეროვნული ინსტიტუტი (NIMH) აღიარებს სტრესის ორ სახეს: მწვავეს და ქრონიკულს.

NIMH ასევე განსაზღვრავს სტრესორის ტიპის სამ მაგალითს:

რუტინული სტრესი, როგორცაა ბავშვის მოვლა, საშინაო დავალება ან ფინანსური პასუხისმგებლობა მოულოდნელი, დამანგრეველი ცვლილებები, მაგალითად, ოჯახის გაჭირვება ან სამსახურის დაკარგვის შესახებ ინფორმაცია ტრავმული სტრესი, რომელიც შეიძლება მოხდეს მძიმე ავარიის, თავდასხმის, ეკოლოგიური კატასტროფის ან ომის შედეგად ექსტრემალური ტრავმის გამო. ასევე ბოლო პერიოდში აღმოჩენილია *იზოლაციური და ცირკადული რიტმის* დარღვევით გამოწვეული სტრესი.

მწვავე სტრესი მოკლევადიანი და როგორც წესი, სტრესის უფრო გავრცელებული ფორმაა. მწვავე სტრესი ხშირად ვითარდება, როდესაც ადამიანები განიხილავენ მოვლენათა ზეწოლას, რომელიც მოხდა ბოლო პერიოდში ან უახლოეს მომავალში განიცდიან უახლოეს გამოწვევებს. მწვავე სტრესი არ იწვევს ისეთ ზიანს, როგორც ხანგრძლივი და ქრონიკული სტრესის. მოკლევადიანი ეფექტები მოიცავს დაძაბულობის თავის ტკივილს და აღიზიანებს კუჭს.

ამასთან, მწვავე სტრესის განმეორებითი შემთხვევები ხანგრძლივი პერიოდის განმავლობაში შეიძლება გადავიდეს ქრონიკულ მდგომარეობაში. ქრონიკული სტრესი დიდი ხნის განმავლობაში ვითარდება და უფრო მძიმეა ორგანიზმისთვის.

მიმდინარე სიღარიბე, არასრულფასოვანი ოჯახი ან უბედური ქორწინება არის სიტუაციების მაგალითები, რამაც შეიძლება ქრონიკული სტრესი გამოიწვიოს. ეს ხდება, როდესაც ადამიანი ვერ პოულობს გზას, რომ თავიდან აიცილოს მძიმე სიტუაცია და წყვეტს პრობლემების გადაჭრას. ადრეულ ასაკში ტრავმულმა მდგომარეობამ შეიძლება ასევე ხელი შეუწყოს ქრონიკული სტრესის განვითარებას.

ქრონიკული სტრესი აფერხებს სტრესის ჰორმონის (ადრენალინი) აქტივობის ნორმალური დონის შენარჩუნებას, რამაც შეიძლება ხელი შეუწყოს შემდეგ სისტემებში პათოლოგიების განვითარებას: გულ-სისხლძარღვთა, რესპირატორული, ნერვული, იმუნური, რეპროდუქციული.

სტრესის მუდმივმა მდგომარეობამ შეიძლება გაამწვავოს მე-2 ტიპის დიაბეტი, ჰიპერტენზია და გულის დაავადებების რისკი, ასევე დეპრესია, შფოთვა და ფსიქიკური ჯანმრთელობის სხვა დარღვევები, მაგალითად, ტრავმული სტრესის შემდგომი აშლილობა (PTSD).

ქრონიკული სტრესი შეიძლება გაგრძელდეს შეუმჩნეველად, რადგან ადამიანი შეიძლება შეგუებული იყოს სტრესულ მდგომარეობას. ის შეიძლება გახდეს პიროვნების ნაწილი, რითაც ის მუდმივად მიდრეკილია სტრესის ზემოქმედებისკენ, მიუხედავად გარემოებისა.

ქრონიკული სტრესის მქონე პირებს აქვთ ფსიქო-ემოციური დარღვევები, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს თვითმკვლელობა, ძალადობრივი ქმედებები, გულის შეტევა ან ინსულტი.

ზოგიერთისთვის, უბრალოდ ფიქრიც კი შეიძლება სტრეს-ფაქტორის როლში გვევლინებოდეს. თუმცა, ეს მეცნიერულად გამოკვლეული და დასაბუთებული ჯერ არ არის. ფსიქიკური ჯანმრთელობის მდგომარეობა, როგორცაა დეპრესია, ან იმედგაცრუება, უსამართლობის შეგრძნება შეიძლება ასევე განსხვავებულად მოქმედებდეს სხვადასხვა ადამიანზე.

ცხოვრების ძირითადი მნიშვნელოვანი მოვლენები რომელიც იწვევს სტრესს, არის გადატვირთული სამუშაო გრაფიკი, დღე-ღამური რიტმის დარღვევა, ცხოველების შემთვევაში სოციალური იზოლაცია [22].

ტვინი სტრესისა და ადაპტაციის ცენტრალური ორგანოა სოციალური და ფიზიკური სტრესორების მოქმედებისას, ვინაიდან ის განსაზღვრავს და აფასებს საფრთხეს, ინახავს მეხსიერებას და არეგულირებს ფიზიოლოგიურ და ქცევით პასუხებს. ფიზიოლოგიური პასუხები, რომლებიც წარმოქმნიან ადაპტაციას ალოსტაზის საშუალებით, მოიცავს არა

მხოლოდ ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზურ-თირკმელზედა ჯირკვლის ღერძს და ავტონომიურ ნერვულ სისტემას, არამედ მათი ურთიერთქმედებების მეტაბოლურ სისტემასაც. ალოსტაზი არის სტრესორებისადმი ადაპტაციის აქტიური პროცესი მედიატორების საშუალებით, როგორიცაა კორტიზოლი, ავტონომიური სისტემის მედიატორები და იმუნური სისტემა, რომლებიც ნელა და ურთიერთშეთხმეულად მოქმედებენ ჰომეოსტაზის შესანარჩუნებლად.

ტვინი და ზოგადად ნერვული სისტემა არის სტრეს-ფაქტორების სამიზნე, ხოლო გლუკოკორტიკოიდები და ამინომჟავის ნაწარმები ნეიროტრანსმიტერების სახით ცვლიან ნეირონულ „არქიტექტურას“ და სინაფსების სიმჭიდროვის შემცირებით ან გაზრდით. არსებობს მრავალი ინტრა- და ექსტრაუჯრედული ლიგანდი, რომლებიც მონაწილეობენ სტრესის დროს ნეირონის მეტაბოლიზმის შეცვლაში და ამცირებენ სტრესულ მდგომარეობას.

ადმოჩენილია მექანიზმები, რომლებიც ემყარება სტრესულ გავლენას ტვინზე. სტრესორები ცვლიან გენის ექსპრესიას მრავალი მექანიზმის საშუალებით, მათ შორის გლუკოკორტიკოიდების უშუალო ეფექტებს გენის ტრანსკრიპციაზე.

გლუკოკორტიკოიდები არ არიან ამ ეფექტების ერთადერთი მედიატორები, მათში აგზნებადი ამინომჟავები და მრავალი სხვა უჯრედული მედიატორი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს.

თავდაპირველად თვლიდნენ, რომ სტრესს ორგანიზმზე ყოველთვის უარყოფითი გავლენა ჰქონდა. თუმცა მოგვიანებით დადასტურდა სტრესის გამომწვევი ფაქტორები - სტრესორების ბუნებისა და მათი ზემოქმედების ხასიათის მიხედვით გამოიყო სტრესის ორი ტიპი, კერძოდ დადებითი და უარყოფითი სტრესი. ამასთან, შემოღებულ იქნა განმარტება, რომელის მიხედვითაც „დადებით“ სტრესს ეუსტრესი (ფიზიოლოგიური) ეწოდა, ხოლო „უარყოფითს“ – დისტრესი (პათოლოგიური).

სელიეს მიხედვით ეუსტრესს ორი ფუნქციური დატვირთვა გააჩნია, კერძოდ იგი 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 [23, 24].

სტრესის განვითარებასა და ჩამოყალიბებაში განარჩევენ სამ ძირითად ფაზას:

1. *საბრძოლო განგაშის ფაზა*, ამ დროს ინდივიდი მზადაა ბრძოლისთვის ან გაქცევისათვის.

2. რეზისტენტობის (აქტივაციის) ფაზა, რომელიც ხასიათდება გლუკოკორტიკოიდების დახმარებით არაკეთილსასურველი ზემოქმედების მიმართ ორგანიზმის გამძლეობის გაზრდით - მას წინააღმდეგობის გაწევის სტადიასაც უწოდებენ.

3. გამოფიტვის (დისტრესის) ფაზა - განვითარება დამოკიდებულია იმაზე, თუ ადაპტაციური ენერგიის რა მარაგი გააჩნია ორგანიზმს. გამოფიტვის სტადიაში თირკმელზედა ჯირკვალის წყვეტს გლუკოკორტიკოიდების გაძლიერებულ სეკრეციას, რომელიც თავის მხრივ, დაცვის ჰორმონებს წარმოადგენს, რასაც მოსდევს ორგანიზმის მდგომარეობის გაუარესება და დამძიმება - ამ ფაზას ადაპტაციის ფასაზასაც ეწოდება [23, 24].

სტრესის დროს პროცესში ერთვება ორგანიზმის მრავალი სისტემა, მაგრამ სტრესს პასუხის ინტეგრაციაში, როგორც აღინიშნა განსაკუთრებული მნიშვნელობა თავის ტვინს აკისრია. კერძოდ, სტრესზე კონტროლს და სხვადასხვა ფსიქიატრიული დაავადებების ექსპრესიას ლიმბური სისტემა განსაზღვრავს. ამ დროს ორგანიზმში შეიძლება განვითარდნენ ფსიქიატრიული დარღვევები, რასაც მოყვება დეპრესიები, შფოთვა და სხვა ტიპის ემოციური მოშლილობები [25, 26, 27].

ორგანიზმში წარმოდგენილი ტვინის სამი რეგიონი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ქცევაში და კოგნიტურ ფუნქციებში, აგრეთვე ავტონომიურ და HPA (ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზის-თირკმელზედა ჯირკვალის სისტემა) სისტემის სტრესზე რეაგირების რეგულირებაში.

გლუკოკორტიკოიდული და მინერალოკორტიკოიდული რეცეპტორები პირველად აღმოჩენილ იქნა ჰიპოკამპში, რაც აჩვენებს, რომ თირკმელზედა ჯირკვალის სტეროიდები უფრო მეტ გავლენას ახდენენ თავის ტვინის სწორად ამ ნაწილზე, ვიდრე სხვა ნაწილებზე.

ჰიპოკამპში პირველად იქნა ნაჩვენები უჯრედული სტრესი და გლუკოკორტიკოიდების მოქმედება.

სწორედ ჰიპოკამპუსში იქნა აღიარებული ნეორომედიატორი ამინომჟავების როლი სტრესულ ეფექტებში.

მწვავე და ქრონიკული სტრესის ეფექტები ამიგდალაზე განსხვავდება ჰიპოკამპისაგან. აღმოჩენილია, რომ მწვავე ტრავმულმა სტრესორებმა შესაძლოა გამოიწვიოს ზურგის ტვინის სიმჭიდროვის გაზრდა, ბაზოლატერალურ ამიგდალას ნეირონებზე და ქრონიკული სტრესი იწვევს ბაზოლატერალურ ამიგდალას

დენდრიტების მოცულობის ზრდას. პრეფრონტალური ქერქის შიგნით, ქრონიკული სტრესი იწვევს მედიალური PFC ნეირონების დენდრიტების რაოდენობის შემცირებას, რაც ასოცირდება კოგნიტურ სიმტკიცეზე, ხოლო ორბიტოფრონტალური კორტიკალური ნეირონები ზრდიან დენდრიტების მოცულობას, რაც შეიძლება დაკავშირებული იყოს სიფხიზლის ზრდასთან.

ჰიპოკამპის ფუნქციას წარმოადგენს ყოველდღიური მეხსიერების ჩამოყალიბება, განწყობის რეგულაცია, სივრცითი მეხსიერება, სტრესის შემდგომი რეაგირების გათიშვა.

ამიგდალას ფუნქციებია: აგრესია, შიში, შფოთვა, სტრესული ჰორმონების გააქტიურება და გულის რიტმის გაზრდა.

პრეფრონტალური ქერქის ფუნქციები კი - გადაწყვეტილების მიღება, სამუშაო მეხსიერება, თვითრეგულირების ქცევა: განწყობა, იმპულსები, სტრესის შემდგომი რეაგირების გათიშვას წარმოადგენს.

სტრესი ზეგავლენას ახდენს ტვინში მიმდინარე ცვლილებებზე

ბოლოდროინდელმა ტექნოლოგიურმა მიღწევებმა საშუალება მისცა ადამიანს მოეხდინა დაკვირვება და ანალიზი გენთა ექსპრესიაზე სტრესის საპასუხოდ.

მაგალითად, ჰიპოკამპის ანალიზმა თავებში მწვავე სტრესის, ქრონიკული სტრესის და სტრესის გამოჯანმრთელების შემდეგ დაადგინა, რომ მწვავე და ქრონიკული სტრესი ახდენს ბირთვულ გენებზე გარკვეულ ზეგავლენას, ახდენს მათ მოდულაციას.

დადგენილია, რომ სოციალური იზოლაცია გავლენას ახდენს ნერვულ, ენდოკრინულ და იმუნურ სისტემებზე.

სტრესის განვითარების გამომწვევ ფაქტორს მიეკუთვნება ასევე ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევაც. დღე-ღამური რიტმის ცნება შემოიღო ამერიკელმა ფიზიოლოგმა ფრანც ჰალბერგმა. იგი მომდინარეობს ლათინური სიტყვიდან - „circa dies” ანუ „დღის შესახებ“. ცირკადული რიტმის რეგულაცია, ხორციელდება ჰიპოთალამუსის სუპრაქიაზმური ბირთვებით, რომელიც ამავე დროს არეგულირებს ძილ-ღვიძილის ციკლს და სხეულის ტემპერატურას . ყველა ცოცხალი ინდივიდი განიცდის დღე-ღამის ბუნებრივი რიტმის ზემოქმედებას. იგი ცოცხალი სისტემის ორგანიზაციის უჯრედულ, ორგანოთა, ორგანიზმულ და პოპულაციურ დონეებზე ვლინდება [28,29].

ამინომჟავები, განსაკუთრებით კი გლუტამატი, მნიშვნელოვან როლს ასრულებს თავის ტვინში სტრუქტურულ, ასევე ფუნქციურ ცვლილებებზე. კონტროლირებადი სტრესის საწყისმა კვლევებმა, რომელშიც ქრონიკული სტრესი იწვევს ჰიპოკამპური CA3

ნეირონების აპიკალური დენდრიტის რაოდენობის შემცირებას, აჩვენა, რომ მწვავე კონტროლირებადი სტრესი ზრდის უჯრედული გლუტამატის დონეს იმ პროცესის საშუალებით, რომელიც არ არის ადრენალექტომიურ ცხოველებში [30].

ლიტერატურული მონაცემებით ცნობილია, რომ თავის ტვინში ქრონიკული სტრესით განპირობებული ოქსიდაციური პროცესების მიმართ განსაკუთრებულ მგრძნობელობას ავლენს NMDA-რეცეპტორი, კერძოდ მისი **GluN1** 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 გავლადობას, იწვევს ასევე NMDA-რეცეპტორის აქტივაციას GluN1 სუბერთეულის ფოსფორილირებით და შესაბამისად, უჯრედშიდა Ca^{2+} -ის რაოდენობის მატებას [31,32].

I.5 აპოპტოზი

მე-20 საუკუნეში უჯრედების სიკვდილის სამედიცინო მნიშვნელობას აღიარებდნენ ავსტრალიელი მკვლევარი ჯონ ფოქსტონ რ. კერი (John Foxton R. Kerr), შოტლანდიელი მეცნიერები ენდრიუ ჰ. ვილი (Andrew H. Wyllie) და ალასტერ კური (Alastair Currie). 1972 წელს გამოქვეყნებულ ნაშრომში მათ გამოიყენეს ტერმინი **აპოპტოზი** (ბერძნული სიტყვიდან “apoptosis” - "ჩამოცვენა, მოცილება", როგორც ფოთლები შემოდგომაზე), რათა აღეწერათ ადამიანის ქსოვილებში აპოპტოზური უჯრედების შემთხვევა - უჯრედების პროგრამირებული კვდომა.

აპოპტოზი, რომელსაც ასევე უწოდებენ დაპროგრამებულ უჯრედების სიკვდილს, წამოადგენს მექანიზმს, რომელიც საშუალებას აძლევს უჯრედებს მოახდინონ თვითგანადგურება, შესაბამისი სიგნალის მაგ: დნმ-ის დაზიანების საპასუხოდ.

მოზრდილ ცხოველებში აპოპტოზი მონაწილეობს უჯრედების ავტომატურ სიკვდილში, რომლებიც საფრთხეს წარმოადგენენ ორგანიზმისთვის. ასეთი უჯრედები შეიძლება იყოს სიმსივნური უჯრედები ან ის უჯრედები, რომლებიც ინფიცირებულია შესაბამისი პათოგენით მაგ: ვირუსით.

აპოპტოზი ასევე ახდენს იმ უჯრედების სიკვდილს, რომლებიც აღარ არის საჭირო.

მაგლითად: პლაზმური უჯრედები წარმოქმნიან ანტისხეულებს ანტიგენის საპასუხოდ. მას შემდეგ რაც ანტიგენის გაუვნებელყოფა მოხდება, ამის შედეგ ხდება ანტისხეულის წარმომქმნელი ზოგიერთი უჯრედის აპოპტოზიც, ვინაიდან მათი დიდი რაოდენობა აღარ არის საჭირო.

აპოპტოზი ასევე შეიძლება გამოწვეული იყოს უჯრედზე გარე სტიმულების მოქმედების შედეგად როგორიცაა: სიცხე, რადიაცია, ტოქსინები, ჰორმონები, გამოსხივება.

ცნობილია, რომ კრეატინმონოჰიდრატს შეუძლია უზრუნველყოს დამცავი ეფექტი აპოპტოზის საწინააღმდეგოდ Bcl-2 ოჯახის ცილების თანაფარდობის გაზრდით ან შემცირებით. ამრიგად, კრეატინის გამოყენება შეიძლება სასარგებლო იყოს აპოპტოზური უჯრედების სიკვდილის პროფილაქტიკისთვის, რაც გამოწვეულია ვარჯიშის შედეგად წარმოქმნილი მწვავე სტრესის მიერ [34].

ამის გათვალისწინებით, შეიძლება ითქვას რომ აპოპტოზი არის ფიზიოლოგიური, გენეტიკურად დაპროგრამებული უჯრედების სიკვდილი, რაც საშუალებას იძლევა დისფუნქციური ენდოგენური უჯრედების მიზნობრივ ელიმინაციას. პათოლოგიური ნეკროზისგან საკმაოდ განსხვავებული პროცესია, რაც ინიცირებულია, მაგალითად, გარკვეული ტოქსინების, წამლების ან სხვა გარეგანი მავნე ფაქტორების საშუალებით. ნეკროზული უჯრედი იჯირჯვლება, მემბრანის ლიზირება ხდება, რის შედეგადაც უჯრედის შიგთავსი გადმოიღვრება უჯრედშორის სივრცეში რაც იწვევს ანთებას.

აპოპტოზის დაწყებას მოყვება უჯრედების ზომაში შემცირება, დეფორმაცია და მეზობელ უჯრედებთან კონტაქტის დაკარგვა ანთების განვითარების გარეშე. უჯრედის ბირთვში ქრომატინი კონდენსირებულია და ენდონუკლეაზები დნმ-ს შლიან ტოლ ფრაგმენტებად (200 ნუკლ.წყ. სიგრძის ფრაგმენტებად). შემდეგ უჯრედს წყდება მემბრანული ვეზიკულები და წარმოიქმნება აპოპტოზური სხეულები, რომლებიც შემდგომ განიცდიან ფაგოციტირებას მაკროფაგების ან ძირითადად მეზობელი უჯრედების მიერ.

აპოპტოზი წარმოადგენს მრავალი ფიზიოლოგიური პროცესის მნიშვნელოვან ნაწილს. ეს მოიცავს ორგანიზმის დიფერენციაციას, იმუნოტოლერანტობის განვითარებას (ჰიპერაქტიური T ლიმფოციტების ელიმინაცია), უჯრედების რაოდენობის ჰომეოსტაზის შენარჩუნებას, დეფექტური ან ინფიცირებული უჯრედების ელიმინაციას.

კასპაზები (ცისტეინზე დამოკიდებულ ასპარტატზე ორიენტირებულ პროტეაზას — ისინი ამინომჟავის მიღმა ასპარტატს წყვეტენ): არსებობს როგორც არააქტიური

წინამორბედების სახით (პროკასპაზები), რომლებიც როგორც ინიაცოტორული კასპაზები ახდენენ აპოპტოზის ინიცირებას, ან როგორც ეფექტორული კასპაზა რომელიც უჯრედის კვდომას ახდენს.

აპოპტოზში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს Bcl-2 გენების/ცილების ოჯახი. ამ ოჯახში გვხვდება, როგორც ანტიაპოპტოზური (Bcl-2, Bcl-x), ასევე პროაპოპტოზური ცილები (Bax, Bad, Bak) და მათ გარდა ასევე p53, p21, p73, Abl და სხვა ცილები.

Bcl-2 ოჯახის მიტოქონდრიული ცილები, რომელთაც აქვთ პრო ან ანტი-აპოპტოზური მოქმედება მიტოქონდრიის განვლადობაზე, რაც თავის მხრივ გავლენას ახდენს აპოპტოზზე.

აპოპტოზის ცილების ინჰიბიტორი (IAPs), რომლებიც ახდენენ განსაზღვრული კასპაზების მოდიფიცირებას.

განასხვავებენ ექსტრაცელულარული და ინტრაცელულარული სასიგნალო გზით ინიცირებულ აპოპტოზს.

ექსტრაცელულარული სასიგნალო გზით განპირობებულ აპოპტოზს იწოდება **რეცეპტორ-შუამავლით** განპირობებული აპოპტოზი, ამ დროს ლიგანდი უკავშირდება სიკვდილის რეცეპტორს, მაგ: სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის პირველი ტიპის რეცეპტორის ოჯახს (TNFR), Fas, CD59....

კიდევ ერთ მაგალითს წარმოადგენს ციტოტოქსიკურ T უჯრედების გააქტიურება, რომელთაც შეუძლიათ შესაბამისი ლიგანდების ექსპრესია, როგორიცაა Fas ლიგანდი.

თუ Fas ლიგანდი (FasL) დაუკავშირდება სამიზნე უჯრედის ზედაპირზე არსებულ Fas რეცეპტორს წარმოიქმნება გააქტიურებული ტრიმერი და შემდეგ უკავშირდება უჯრედშიდა ადაპტორულ მოლეკულას (FADD).

რეცეპტორული ტრიმერის და ადაპტორის მოლეკულის კომპლექსი ასევე ცნობილია, როგორც **DISC** (სიკვდილით გამოწვეული სასიგნალო კომპლექსი), და ის აკავშირებს პროკასპაზა-8 -ს და ამის შემდეგ მიიღება გააქტიურებული კასპაზა-8 (**FLICE**), რომელიც თავის მხრივ ააქტიურებს კასპაზა-3-ს, პროკასპაზა-3-ია წინამორბედიდან. შემდეგ კასპაზა-3 გამააქტიურებელად მოქმედებს სხვა პროკასპაზაზე მანამ სანამ არ მოხდება ეფექტორული კასპაზის გააქტიურება.

არსებობს მრავალი სუბსტრატი ეფექტორული კასპაზებისა, რომლებიც წარმოადგენენ ცილებს რომლებიც საციცოცხლოდ მნიშვნელოვანია უჯრედების გადარჩენისთვის: ციტოქონჩისა და ბირთვული მემბრანის ცილები, ენდონუკლეაზას ინჰიბიტორები, ცილოვანი კინაზები, ტრანსკრიპციის ფაქტორები, კომპლექსები

რომლებიც შექმნილია hnRNA და ცილების მიერ (hnRNPs).

თუ უჯრედი განიცდის უჯრედულ სტრესს, მაგალითად, ოქსიდაციური სტრესს, მაშინ არ არის საჭირო რეცეპტორები, იმისათვის რომ ჩაირთოს აპოპტოზი, რადგან ირთვება მიტოქონდრიული გზა. ნორმალურ უჯრედში მიტოქონდრია წონასწორულ მდგომარეობაშია პროაპოპტოზური ცილების Bax, Bak, ან Bid და ანტიაპოპტოზური Bcl-2 ცილების შემცველობით.

სტრესის დროს, დნმ-ის დაზიანების საპასუხოდ აქტიურდება p53, რომელიც ასევე თვის მხრივ ააქტიურებს ცილა p21-ს და ამ გზის აჩერებს უჯრედის გაყოფას ან იწვევს აპოპტოზს. P53 ააქტიურებს Bid-ს ან Bax-ს. Bcl 2-ის კონცენტრაცია მცირდება, ამიტომ Bax და Bid-ის გააქტიურება განაპირობებს მიტოქონრიის მემბრანის განვლადობის გაზრდას სხვადასხვა ნივთიერებისთვის. მიტოქონდრიის მემბრანული პოტენციალი ირღვევა რის შედეგადაც ციტოზოლში გადმოდის მიტოქონდრიალური აპოპტოზის მედიატორული ნივთიერებები: ციტოქრომ C, აპოპტოზის მაინდუცირებელი ფაქტორი AIF, დნმ-აზა და dATP. კასკადი ეფექტორული კასპაზებისა 9,3,6 და 7 არის გააქტიურებული **Apaf-1** (აპოპტოზური პროტეაზების გამააქტიურებელი ფაქტორი-1) და მისგან წარმოქმნილი აპოპტოსომის მიერ, რომლის შემადგენლობაში შედის თავად Apaf-1, ციტოქრომ C და პროკასპაზა 9 [35].

ცნობილია, რომ სტრესის ფონზე, უჯრედში იზრდება თავისუფალი რადიკალების რაოდენობა. მათ შორის არის სუპეროქსიდი, წყალბადის ზეჟანგი და ჰიდროქსილის რადიკალი. ისინი უჯრედებში ანგრევენ ყველა სახის პოლიმერებს, მათ შორის დნმ-ის მოლეკულას და ორგანოების მემბრანებს, რის გამოც ნარმოიქმნება მუტაციები და ირღვევა უჯრედის ფუნქციები. ამის შემდგომ უჯრედები განიცდიან აპოპტოზს. ნორმაში წარმოქმნილ თავისუფალ რადიკალებს აუვნებელყოფს უჯრედში არსებული ანტიოქსიდანტური სისტემები. ამ სისტემების მონაწილე ფერმენტებს წარმოადგენენ: SOD-სუპეროქსიდისმუტაზა, კატალაზა, გლუტათიონპეროქსიდაზა... ჟანგბადის აქტიური ფორმები შეიძლება წარმოიქმნას გლუკოზოოქსიდაზას მიერ, რის შემდეგაც სუპეროქსიდისმუტაზა 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 სამვალენტო ანად და წარმოიქმნება ჰიდროქსილის რადიკალები. ამის შემდეგ ვითარდება აპოპტოზი [36].

თავი II. კვლევის ობიექტი და გამოყენებული მეთოდები

II.1 კვლევის ობიექტი

კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა 45 მამრობითი სქესის,თეთრი ფერის ლაბორატორიული ვირთაგვა, რომლებიც დაყოფილნი იყვნენ სამ ჯგუფად, თითოეულ ჯგუფში-15 ვირთაგვა. I ჯგუფი G1 წარმოადგენილი იყო კონტროლის სახით, ეს ვირთაგვები იმყოფებოდნენ ნორმალურ პირობებში, მათ არ ჰქონდათ დარღვეული დღე-ღამურთან მიახლოებული ციკლი, თანაფარდობა სინათლისა და სიბნელის ფაზებს შორის შეადგენდა 10/14 საათს, ამასთანავე ისინი მოქცეულნი იყვნენ ერთად საერთო გალიაში. II ჯგუფის ვირთაგვები-G2 იმყოფებოდნენ სოციალური იზოლაციის ქვეშ, ისინი ცალ-ცალკე იყვნენ მოთავსებულნი გალიებში და ამასთანავე დარღვეული ჰქონდათ ნორმალური ცირკადული რიტმიც ვინაიდან მთელი ექსპერიმენტის მანძილზე იმყოფებოდნენ სრულ სიბნელეში (სინათლესა და სიბნელეს შორის თანაფარდობა - 23,5/0,5 სთ). მესამე ჯგუფის-G3 ინდივიდები ასევე იმყოფებოდნენ სოციალური იზოლაციისა და ცირკადული რიტმის დარღვევის პირობებში, და სტრესის პარალელურად მკურნალობის მიზნით, ყოველდღიურად უკეთდებოდათ კრეატინის ინექცია ინტრაპერიტონეალურად 140მგ/კგ-ზე. არცერთი ჯგუფის ვირთაგვებისთვის ყნოსვითი და სმენითი შეგრძნებები არ იყო შეზღუდული. ამასთანავე მათთვის საკვებისა და წყლის მიწოდებაც ხდებოდა შეუზღუდავად. საცდელი ობიექტები ასეთ პირობებში იმყოფებოდნენ 30 დღის განმავლობაში. შემდგომ ხდებოდა სამივე ჯგუფის ცხოველების დაძინება ქლოროფორმით და დეკაპიტაცია.

დეკაპიტაციის შემდგომ თავის ტვინიდან ვიღებდით ჰიპოკამპს და ვხმარობდით საჭიროებისამებრს. ტვინიდან იზოლირებული ჰიპოკამპი ინახებოდა მაცივარში 30 დღის განმავლობაში -40⁰-50⁰C-ზე.

II.2. ვესტერნ ბლოტინგის მეთოდის აღწერა

ვესტერნ ბლოტინგი ხშირად გამოიყენება უჯრედულ და მოლეკულურ ბიოლოგიაში. კვლევის ამ მეთოდის გამოყენებით შესაძლებელია სპეციფიური ცილების აღმოჩენა ქსოვილიდან გამოყოფილი ცილებიდან და მათი რაოდენობრივი ანალიზი.

ვესტერნ ბლოტინგის ტექნიკა მოიცავს ორ ძირითად ეტაპს, ესენია:

1. SDS პოლიაკრილამიდ გელ-ელექტროფორეზი
2. მიღებული ცილოვანი ფრაქციების ტრანსფერი ნიტროცელულოზის მემბრანაზე და ანტისხეულებით მონიშვნა

ნიმუშებიდან გამოყოფილი ცილების ფრაქციების ანალიზს ვახდენდით ელექტროფორეზის ხელსაწყო საშუალებით. სინჯებში ცილის რაოდენობა წინასწარ იყო განსაზღვრული ლოურის ცილის რაოდენობის განსაზღვრის მეთოდით და თითოეულ მათგანში იყო თანაბარი რაოდენობით (70 მკგ/30მლ-ში)

II.3. მიტოქონდრიის გარდამავალი განვლადობის ფორის ხსნადობის შეფასება

2 მლ მიტოქონდრიულ სუსპენზიას (≈ 0.5 მგ ცილა) ვუმატებდით 1 მლ, 25 mM ტრის-HCl-ის ბუფერზე დამზადებულ საინკუბაციო არეს (120 mM KCl, 3 mM KH_2PO_4 , 5 mM Na-სუცინატი; pH=7.4).

ფორის გახსნის სტიმულაციისათვის ვიყენებდით CaCl_2 -ს (420 μM), ხოლო ბლოკირებისათვის ციკლოსპორინ A-ს (0.42 μM). ორივე ნივთიერება სარეაქციო არეში შეგვქონდა თანაბარი მოცულობით მონაცვლეობით ან ერთად.

ხსნარების შუქშთანთქმის სიდიდეები იზომებოდა სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=520$ ნმ) და ფორის გახსნაზე ვმსჯელობდით მიღებული ექსტინციების ცვლილების საფუძველზე [36,37].

II.4. ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით

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

ექსპერიმენტის პირველ ეტაპზე 0.4 მლ მიტოქონდრიულ სუსპენზიას ვუმატებდით 2 მლ C რეაქტივს, რომელიც თავის მხრივ მზადდება A (NaHCO_3 -ის (უწყლო) 2%-იანი ხსნარი დამზადებული 1 N NaOH-ზე) და B (0.5%-იანი $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ დამზადებული 1 %-იან ნატრიუმის ციტრატზე) რეაქტივების ურთიერთშერევით (50:1). ვურევდით და ვაყოვნებდით 10 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე.

შემდგომ ეტაპზე წარევს ვუმატებდით 200 μl ფოლინის რეაქტივს, ვურევდით და ვაყოვნებდით 30 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე [38].

მიღებულ შეფერილობას ვზომავდით სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=750 \text{ nm}$) და ვითვლიდით ცილის კონცენტრაციას შემდეგი ფორმულით:

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

სადაც:

C - ცილის კონცენტრაცია

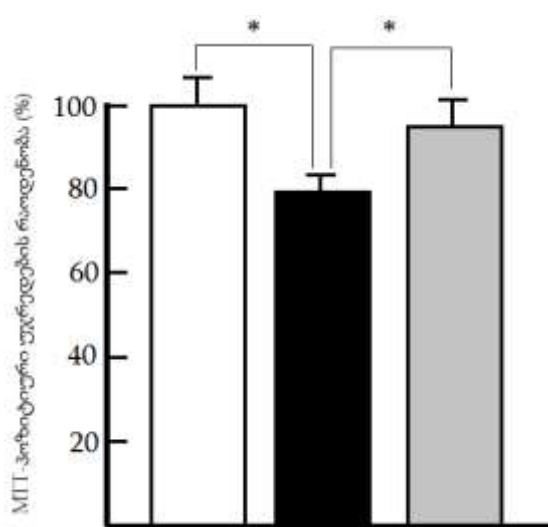
$E_{\text{საშ}}$ - მიღებული შუქშთანთქმების საშუალო

a – y ღერძის გადაკვეთის წერტილი

b - ხაზის დახრილობა

თავი III. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

ექსპერიმენტის პირველ სტადიაზე შესწავლილი იქნა კრეატინის გავლენა ჰიპოკამპის უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე (სურ.2). აღმოჩნდა, რომ სტრესირებული ვირთაგვების ჰიპოკამპში საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით, შემცირებულია სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა, იმ დროს, როცა 3-ჯგუფის ინდივიდებში, სადაც ეგზოგენურად, სტრესის პარალელურად, შეგვყავდა კრეატინი, მათი რაოდენობა სარწმუნოდაა მომატებული.



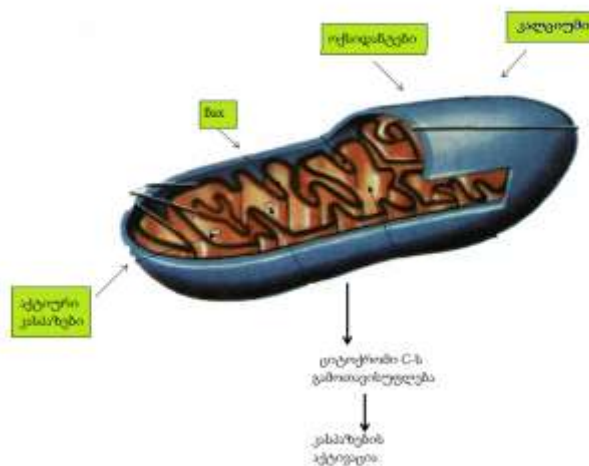
სურათი 2. სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის ცვლილება სტრესირებული ვირთაგვებში ეგზოგენური კრეატინის შეყვანით. შეყვანით
□ - 1-ჯგუფი (საკონტროლო); ■ - 2-ჯგუფი (სტრესირებული); ▒ - 3-ჯგუფი (სტრესირებული + კრეატინი ჯგუფი)

როგორც მიღებული შედეგებიდან ჩანს, სტრესის პირობებში კრეატინის ინტრაპერიტონიალური შეყვანა ზრდის ამ ტიპის უჯრედების რაოდენობას (სურ.2). ამდენად იკვეთება, რომ კრეატინის დამატებით შეყვანა განაპირობებს მის კავშირს ჰიპოკამპში მიმდინარე აპოპტოზურ პროცესებთან. მიღებული მონაცემებიდან გამომდინარე, დგება საკითხი იმის გასრკვევად, თუ რა იწვევს კრეატინის ასეთ ეფექტს.

ცნობილია, რომ კრეატინის შეყვანა ხანგრძლივი ფსიქო-მოციური სტრესის პირობებში, მაგალითად დღე-ღამესთან მიახლოებული რიტმის (ცირკადული) დარღვევის პირობებში, იწვევს სტრესის შედეგად დაქვეითებული ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის გაუმჯობესებას, რაც გამოიხატება სხვადასხვა ფორმით, მაგალითად

მიტოქონდრიული კრების ციკლის ფერმენტების აქტივობის მატებით, ასევე გლიკოლიზური პროცესების გაუმჯობრსებით და სხვა. მიტოქონდრიულ პროცესებს შორის აღსანიშნავია მიტოქონდრიული კრეატინკინაზას აქტივაცია. ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის აქტივაცია აისახება ინდივიდის ფიზიოლოგიურ პარამეტრებზეც.

ამდენად, იკვეთება კრეატინის დამატებით ჰიპოკამპში სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების მატების ერთ-ერთი მიზეზი შესაძლებელია იყოს ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის გააქტივება. ჩვეულებრივ პირობებში უჯრედის მიერ ატფ-ის მოხმარება მუდმივ, დაბალანსებულ წონასწორობაშია, რასაც უზრუნველყოფს სხვადასხვა მეტაბოლური გზები (გლიკოლიზი, კრების ციკლი, ჟანგვითი ფოსფორილირება, ცხიმოვანი მჟავების დაჟნგვა და სხვა). ისინი საკმაოდ მგრძნობიარეა სხვადასხვა გარეგანი ფაქტორის მიმართ, რომელთა შორის არის ფსიქო-ემოციური სტრესიც.

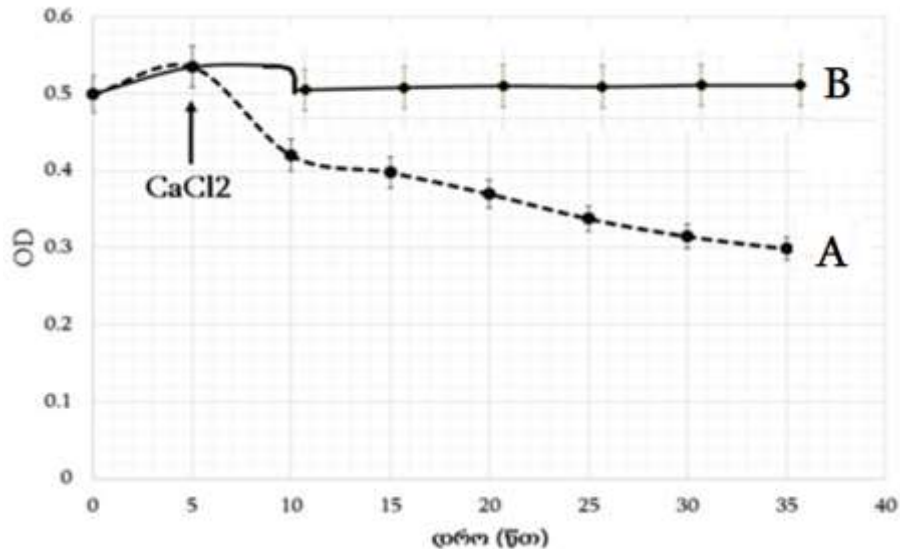


სურათი 3. მიტოქონდრიული ფორის აქტივაციაზე მოქმედი ფაქტორები

ცნობილია, რომ ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის მიმდინარეობა მჭიდრო კავშირშია მიტოქონდრიის ფუნქციურ მდგომარეობასთან. ლიტერატურული მონაცემებით ცნობილია, რომ Ca^{2+} -ის იონის ჭარბი კონცენტრაცია იწვევს მიტოქონდრიების გაჯირჯვებას, რისი მიზეზიცაა მიტოქონდრიის მემბრანაში არსებული ფორის გახსნა, რომელიც საგრძნობლად ზრდის მიტოქონდრიის მემბრანის განვლადობას. მას მიტოქონდრიის გარდამავალი ფორა განვლადობის ფორმა (MPTP) ეწოდება.

ცნობილია, რომ MPTP-ის აქტივაცია შესაძლებელია მოახდინოს სხვადასხვა სტრესულმა პროცესებმა. ამდენად, იკვეთება, რომ კრეატინის დამატებით მიღებული

შედგების მიზეზი ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის აქტივაციის გარდა შესაძლებელია იყოს ასევე MPTP-ის ცვლილებაც (სურ.3).



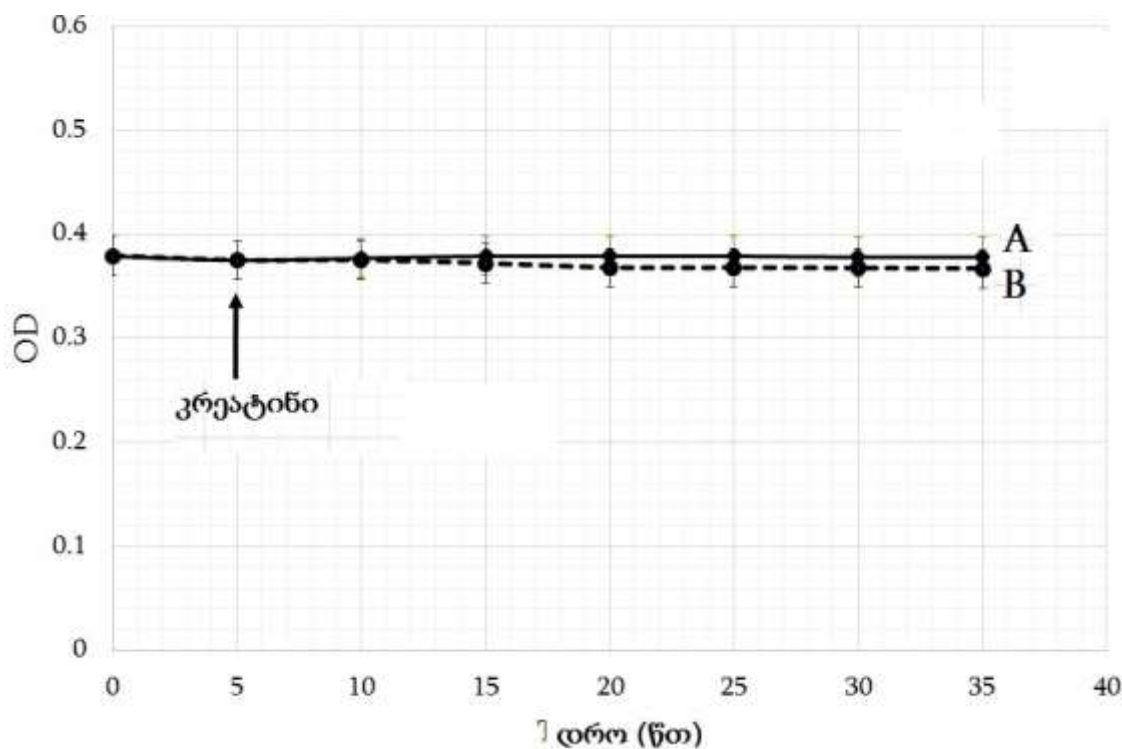
სურათი 4. საკონტროლო (A) და სტრესირებული (B) ცხოველების ჰიპოკამპის უჯრედებში მიტოქონდრიის გარდამავალი ფორის ფუნქციური მდგომარეობა CaCl_2 -ის დამატების პირობებში

ორდინატთა ღერძზე - მიტოქონდრიების შუქშთანთქმა

აბსცისათა ღერძზე - ცდის მიმდინარეობის ხანგრძლივობა (წთ)

როგორც სურათიდან ჩანს საკონტროლო ცხოველების ჰიპოკამპის უჯრედებში CaCl_2 -ის დამატებით მნიშვნელოვნად იცვლება საკონტროლო ჯგუფის ინდივიდების მიტოქონდრიების ფუნქციური მდგომარეობა (სურ.4 A). განსხვავებულია სტრესირებული ჯგუფის ინდივიდების მიტოქონდრიების მდგომარეობა. CaCl_2 -ის დამატება არ იძლევა იმ შედეგს, რაც დამახასიათებელია საკონტროლო ჯგუფის ინდივიდებისათვის, რაც მიაწინებს იმას, რომ ამ ჯგუფში შემავალი ინდივიდების მიტოქონდრიების ფორის დიდი ნაწილი უკვე გახსნილია (სურ.4 B).

ყოველივე ზემოთთქმულის გათვალისწინებით, საინტერესო იყო შეგვესწავლა MPTP-ის აქტივაციის ხარისხზე კრეატინის გავლენა, როგორც საკონტროლო, ასევე სტრესირებულ ცხოველებში. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 5.



სურათი 5. საკონტროლო (A) და სტრესირებული (B) ცხოველების ჰიპოკამპის უჯრედებში მიტოქონდრიის გარდამავალი ფორის ფუნქციური მდგომარეობა კრეატინის დამატების პირობებში

ორდინატა ღერძზე - მიტოქონდრიების შუქშთანთქმა

აბსცისათა ღერძზე - ცდის მიმდინარეობის ხანგრძლივობა (წთ)

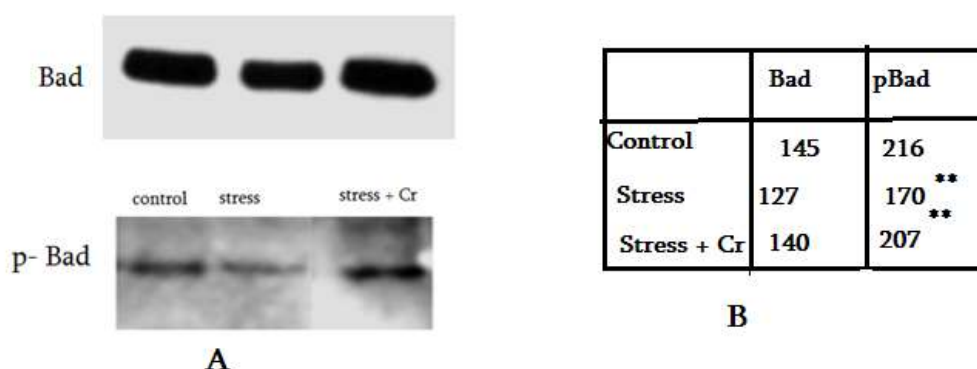
სურათიდან ჩანს, რომ კრეატინის დამატების პირობებში სტრესირებული ჯგუფის მიტოქონდრიების ფუნქციური მდგომარეობა პრაქტიკულად საკონტროლო ჯგუფის ანალოგიურია.

როგორც წარმოდგენილი მონაცემებიდან იკვეთება, კრეატინი გვევლინება როგორც მიტოქონდრიული ფორის მაინჰიბირებელი, რითაც იცავს უჯრედებს დაღუპვისაგან. თუმცა გაურკვეველია კრეატინის ეფექტის მიზეზი მიტოქონდრიულ ფორაზე.

დადგენილია, რომ MPTP წარმოადგენს არასპეციფიკურ, მაღალი გამტარებლობის არხს, რომელიც შედგება სხვადასხვა მაკრომოლეკულური კომპონენტებისგან და წარმოიქმნება მიტოქონდრიის გარე და შიდა მემბრანების ურთიერთშეხების ადგილებში. ფორის ზუსტი სტრუქტურა ჯერ-ჯერობით დაუდგენელია, თუმცა სავარაუდოა, რომ მის შექმნაში მონაწილეობას იღებს სხვადასხვა ცილოვანი მოლეკულები, Bcl-2, Bax, ასევე ადენინუკლეოტიდ-გადამტანი (ANT), გარე მემბრანის პოტენციალ-დამოკიდებული ანიონური არხი (VDAC) და ციკლოფილინ-D (მატრიქსში) [39].

MPTP-ის ფუნქციურ მდგომარეობაზე სხვადასხვა ფაქტორები მოქმედებენ, მაგალითად ფორის დახურვა (ბლოკირება) შესაძლებელია გამოიწვიოს მიტოქონდრიაში ადფ-ის მაღალმა და ატფ-ის დაბალმა კონცენტრაცია, ფორის გახსნაზე (აქტივაციაზე) პასუხისმგებელია ჟანგვითი პროცესების მაღალი ხარისხი, ასევე კალციუმის იონის მაღალი კონცენტრაცია და სხვ. ფორის აქტივაცია ასევე შესაძლებელია მიტოქონდრიული გარე და შიდა მემბრანების პოტენციალთა სხვაობის გაქრობის შედეგად და/ან თავისუფალი რადიკალების არსებობის გამო, ეს უკანასკნელი კი შიდაუჯრედული Ca^{2+} -ის მაღალი კონცენტრაციის ერთ-ერთი უარყოფითი შედეგია.

ასევე ისეთი ცილები, როგორიცაა Bcl-2, Bax და სხვა. ცნობილია, რომ ეს ცილები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ აპოპტოზის პროცესში, მაგალითად Bcl-2 და Bcl-x განიხილება როგორც ანტი-აპოპტოზური ცილები, იმ დროს, როცა Bax, Bad და Bak მიაწერენ პრო-აპოპტოზურ თვისებებს. ამის გათვალისწინებით, შემდგომ ექსპერიმენტში ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა Bcl-2 და Bax-ის რაოდენობრივი ცვლილებები სტრესის პირობებში და ამ ცვლილებებზე ინტრაპერიტონიალურად შეყვანილი კრეატინის ეფექტი. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 6.



სურათი 6. ცილა Bad -ისა და ფოსფორილირებული p-Bad-ს რაოდენობრივი ცვლილებები საკონტროლო, სტრესირებულ და ინტრაპერიტონიალურად შეყვანილი ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედებში

სურათზე 6-ზე წმოდგნილია სასიგნალო ცილის Bad-ისა და მისი ფოსფორილირებული (აქტიური) ფორმის p-Bad-ს ვესტერ-ბლოტის სურათი სტრესირებული და ინტრაპერიტონიალურად შეყვანილი კრეატინის პირობებში საცდელი ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედებში.

ცნობილია, რომ Bad, რომელიც Bcl-2 ცილების ოჯახს მიეკუთვნება შერჩევითად დიმერიზირდება ისეთ ცილებთან როგორიცაა Bcl-2 და Bcl-xL და ცილა Bax-ის გამოდევნით ჰეტაროდიმერიდან, ინჰიბირებს Bcl-2-ის ანტიაპოპტოზურ აქტივობას.

როგორც სურათიდან ჩანს, არაფოსფორილირებული Bad-ის რაოდენობა სტრესირებული ინდივიდების ჰიპოკამპის უჯრედებში, საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით არასარწმუნოდ არ იცვლება, ანალოგიურ ცვლილებებს აქვს ადგილი ორგანზმში ინტრაპერიტონიალურად კრეატინის შეყვანისას.

განსხვავებული შედეგებია მიღებული ფოსფორილირებული (აქტივირებული) Bad-ის შემთხვევაში. როგორც სურათი 6-დან ჩანს, არაფოსფორილირებული Bad-ისაგან განსხვავებით, სტრესირებული ინდივიდების ჰიპოკამპში საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით სარწმუნოდაა შემცირებული ამ ცილის რაოდენობა. ამის პარალელურად, მე-3 ჯგუფის ინდივიდებში Bad-ის რაოდენობა იზრდება და ეს მაჩვენებელი უახლოვდება საკონტროლო მაჩვენებელს.

ცილა Bad-ის პარალელურად შესწავლილი იქნა ცილა Bax-ის რაოდენობრივი შემცველობა სამივე ჯგუფის ცხოველების ჰიპოკამპის უჯრედებში. Bax ითვლება აპოპტოზის რეგულატორულ ცილად, რომელიც ასევე მიეკუთვნება Bcl-2 ცილების ჯგუფს. ეს ცილა ქმნის ჰეტეროდიმერს Bcl-2-თან, რის საშუალებითაც ჩართულია სხვადასხვა უჯრედულ პროცესებში. ითვლება რომ Bax ფუნქციონირებს, როგორც აპოპტოზური აქტივატორი და მონაწილეობს მიტოქონდრიის მეგაარხის გახსნაში, რასაც მოსდევს მიტოქონდრიის მემბრანული პოტენციალის დაკარგვა და ციტოქრომი c-ს გამოსვლა ციტოპლაზმაში. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 7.



control	154
stress	188
stress + Cr	160

სურათი 7. ცილა Bax -ის რაოდენობრივი ცვლილებები საკონტროლო, სტრესირებულ და ინტრაპერიტონიალურად შეყვანილი ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედებში

როგორც მღებული მონაცემებიდან ჩანს, Bax-ის შემთხვევაში არ იქნა ნანახი ცვლილებები.

შემდგომ ექსპერიმენტში შესწავლილ იქნა ცირკადული რიტმის დარღვევით გამოწვეული ხანგრძლივი სტრესის პირობები ცილა Bcl-2-ის რაოდენობრივი ცვლილებები და აპოპტოზური პროცესის მიმდინარეობა და კრეატინის როლი ამ პირობებში. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 8.



control	138
stress	105
stress + creatine	110

სურათი 8. ცილა Bcl-2-ის რაოდენობრივი ცვლილებები საკონტროლო, სტრესირებულ და ინტრაპერიტონიალურად შეყვანილი ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედებში

როგორც წარმოდგენილი სურათიდან ჩანს, სტრესის პირობებში საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით არ აღინიშნება Bcl-2 ცილის რაოდენობის სარწმუნო ცვლილებები. სარწმუნო ცვლილებები არ იქნა ნანახი ასევე G3 ჯგუფის შემთხვევაში.

ამდენად, მიღებული შედეგებიდან გამომდინარე სავარაუდოა, რომ ინტრაპერიტონიალურად შეყვანილი კრეატინის შემთხვევაში მიტოქონდრიული მეგაარხის ჰიპერაქტივაციის დაქვეითება და შესაბამისად, აპოპტოზური პროცესების შეფერხება და უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის გაზრდა არ არის დამოკიდებული კრეატინისა და Bcl-2 ცილის ურთიერთქმედებაზე. სავარაუდოა, რომ ამ პროცესის ძირითად საფუძველს წარმოადგენს კრეატინის შეყვანის პირობებში უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის გაძლიერება, როგორც მიტოქონდრიული ფერმენტების აქტივაციის შედეგი.

დასკვნა

1. ცირკადული რიტმის ხანგრძლივი დარღვევის შედეგად განვითარებული სტრესის პირობებში ნანახია ვირთაგვას თავის ტვინის ჰიპოკამპის უჯრედების სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის შემცირება. სტრესის პარალელურად კრეატინის ინტრაპერიტონიალური მიწოდება ზრდის ამ ტიპის უჯრედების რაოდენობას;

2. სტრესის პირობებში სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის შემცირების მიზეზი შესაძლებელია იყოს მიტოქონდრიების მეგაარხის აქტივაციის შედეგად განვითარებული აპოპტოზური პროცესები.

3. აპოპტოზური პროცესების შეფერხება და უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის გაზრდა არ არის დამოკიდებული კრეატინისა და Bcl-2 ცილის ურთიერთქმედებაზე. ამ პროცესის ძირითად საფუძველს წარმოადგენს კრეატინის შეყვანის პირობებში უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის გაძლიერება, როგორც მიტოქონდრიული ფერმენტების აქტივაციის შედეგი.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Kluwer Wolters Health 2019
<https://www.drugs.com/npp/creatine.html#moreResources>
2. Wyss and Kaddurah-Daouk, 2000. (Bertuccio, C.A., Cheng, S.X., Arrizurieta, E.E., Martin, R.S., Ibarra, F.R., 2003. Mechanisms of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ phosphorylation by PKC in the medullary thick ascending limb of Henle in the rat. *Pflügers Archiv* 447, 87–96;) <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0361923012001499>
3. 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
4. Birch Karen, Keith George & Don McLaren . BIOS Instant Notes in Sport and Exercise Physiology; (2005).
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
5. 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=YXPjJnWvP3&sig=ACfU3U3ndT8IF7YQOTkJKfUp6owh6vWV9A&hl=ru&sa=X&ved=2ahUKEwiZuN2oruLoAhVCAGMBHa5pCQsQ6AEwDnoECAsQKw#v=onepage&q=Cr%2FPCr%2FCK&f=false>
6. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/creatine#section=Chemical-and-Physical-Properties>
7. Kluwer Wolters Health 2019.
<https://www.drugs.com/npp/creatine.html#moreResources>
8. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18392746/>
9. <https://www.precisionnutrition.com/all-about-creatine>
10. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/creatine#section=Pharmacology-and-Biochemistry>
11. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/creatine#section=Pharmacology>
12. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/creatine#section=Mechanism-of-Action>
13. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1152>
14. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/creatine#section=Human-Metabolite->

Information

15. <https://www.aaltoscientific.com/product/creatine-kinase-bb/>
16. <https://www.aaltoscientific.com/product/creatine-kinase-bb/>
17. Mawer Rudy, MSc, CISSN on October 25, 2018
<https://www.healthline.com/nutrition/what-is-creatine#what-it-is>
18. Sakellaris George 1, Nasis George, Kotsiou Maria, Tamiolaki Maria, Charissis Giorgos, Evangeliou Athanasios. Prevention of Traumatic Headache, Dizziness and Fatigue With Creatine Administration.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18053002/>
19. Nauert Rick PhD Associate News Editor
<https://psychcentral.com/news/2012/08/07/creatine-for-depression/42787.html> Creatine for Depression?
20. 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
21. <https://www.tsu.ge/science/?leng=eng&cat=jurnal&jnomeri=4&tid=8>
22. Felman Adam, Why stress happens and how to manage it - Medically reviewed by Stacy Sampson, DO on March 12, 2020
<https://www.medicalnewstoday.com/articles/145855#causes>
23. <https://www.braintools.ru/article/9548>
24. <https://arlenetaylor.org/brain-references/brain-challenges/stress-and-the-brain/2697-distress-negative-stress>
25. <https://cyberleninka.ru/article/n/neyrofiziologicheskie-izmeneniya-pri-emotsionalnom-stresse>
26. <https://medach.pro/post/1016>
27. http://rsmu.ru/fileadmin/rsmu/img/lf/cpf/ucheb_rab/metodichki/stress.pdf
28. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6279965/>
30. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4933289/>
31. 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/>

32. J Biol Chem World. 2010 Jul 26; 1(7): 229–234. Published online 2010 Jul 26. Plasma membrane Ca^{2+} -ATPases in the nervous system during development and ageing.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3083968/>
- 33.. Paul H. Schlesinger. Apoptosis cytology
<https://www.britannica.com/science/apoptosis>
34. Kurdistan University of Medical Sciences 2016. Effect of creatine supplementation on the factors involved in apoptosis-related process (BAX, BCL-2) and their ratio (BCL-2/BAX) during acute resistance exercise in middle-aged men
https://www.researchgate.net/publication/311639653_Effect_of_creatine_supplementation_on_the_factors_involved_in_apoptosis-related_process_BAX_BCL-2_and_their_ratio_BCL-2BAX_during_acute_resistance_exercise_in_middle-aged_men
35. <https://www.lecturio.com/magazine/the-cell-cycle/#apoptosis>
The Cell Cycle: Regulation, Apoptosis, Mitosis and Replication of DNA)
36. Klauke, R. et. al.Eur.J.Clin.Chem.Clin.Biochem. 15, 901-909 (1993)
37. Dolder M., Walzel B., Speer O. et.al “Inhibition of the mitochondrial permeability transition by creatine kinase substrates” J. Biol. Chem. 2003; 278:17760-17766
- 38.Tietz, N. W. (ed.), Clinical Guide to Laboratory test; 3rd edition, WB Saunders Co, (1995)
39. Benedict C. Albeni, in [International Review of Neurobiology](#), 2019
<https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/mitochondrial-permeability-transition-pore>