ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

სხვადასხვა ადგილწარმოშობის საფერავის ჯიშის ყურძნიდან მიღებული ფლავონოიდების მოქმედება ვირთაგვის ღვიძლის ანტიოქსიდანტურ ფერმენტებზე

თამუნა მინდორაშვილი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი, ბიოლოგიის
დეპარტამენტი

ხელმძღვანელი : აკადემიური დოქტორი, ასისტენტ პროფესორი
ზურაბ ქუჩუკაშვილი

თბილისი

2017 წელი

სარჩევი

ანოტაცია 3
Abstract 4
შესავალი 5
თავი I - ოქსიდაციური სტრესი 8
1.1 ჟანგბადის აქტიური ფორმების წყაროები 8
1.2 ჟანგბადის აქტიური ფორმების როლი მეტაბოლური პროცესების რეგულაციაში 9
1.3 ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვა 13
თავი II ანტიოქსიდანტები 15
2.1 ანტიოქსიდანტური სისტემები 15
2.2 ფლავანოიდები 18
2.3 საფერავი და ფლავანოიდები 20
გამოყენებული მეთოდები 21
1. ჰომოგენიზაცია 21
2. სპექტროფოტომეტრია 23
3. კვლევის ობიექტი 24
4. ღვიძლის უჯრედების ფრაქციის გამოყოფა 24
5. ფერმენტ სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობის განსაზღვრა 26
6. ფერმენტ კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა 27
კვლევის შედეგები და მათი განხილვა 28
დასკვნა 33
გამოყენებული ლიტერატურა 34

ანოტაცია

უკანასკნელ პერიოდში ცოცხალ ორგანიზმზე მოქმედი გარემო ფაქტორებით გამოწვეული ნეგატიური ეფექტებიდან განსაკუთრებული ყურადღება მიიქცია ჟანგვითმა სტრესმა, რომლის ფონზეც მიმდინარეობს ისეთი პროცესები როგორიცაა ინფარქტი, ინსულტი, აპოპტოზი, გერონტოლოგიური ანუ სიბერესთან დაკავშირებული დაავადებების განვითარება და სხვა.

ცოცხალ ორგანიზმებს ჟანგვითი სტრესისგან თავის დასაცავად ჩამოუყალიბდათ მძლავრი ანტიოქსიდანტური სისტემები, რომლებიც შეიძლება იყოს ფერმენტულიც და არაფერმენტულიც. ფერმენტულ ანტიოქსიდანტურ სისტემას მიეკუთვნება : სუპეროქსიდდისმუტაზა, კატალაზა და პეროქსიდაზები, არაფერმენტულს კი ვიტამინები C, E, K, და ფლავანოიდები.

ფლავანოიდები მცენარის მეორადი მეტაბოლიტებია.მათი ყველაზე უფრო კარგად შესწავლილი თვისება ანტიოქსიდანტური მოქმედების უნარია. ისინი ამცირებენ თავისუფალრადიკალოვანი პროცესების ინტენსივობას. ჟანგბადის აქტიური ფორმების გაუვნებელყოფით ფლავანოიდებს შეუძლიათ ორგანიზმის დაცვა ოქსიდაციური სტრესისგან.

ჩვენი კვლევის მიზანი იყო სხვადასხვა ადგილწარმოშობის ქართული საფერავის ჯიშის ყურძნიდან , კერძოდ მისი კანიდან და წიბწიდან გამოყოფილი ფლავანოიდური ფრაქციების გავლენის შესწავლა ვირთაგვას ღვიძლის ანტიოქსიდანტურ ფერმენტებზე. კვლევის ობიქეტებს კი წარმოადგენდა ხაშმისა და ჯიმითის საფერავის ჯიშის ყურძნის კანიდან და წიბწიდან გამოყოფილი ფლავანოიდური ფრაქციები.

ექსპერიმენტი მიმდინარეობდა ორ ეტაპად. პირველ ეტაპზე მოხდა ვირთაგვის ღვიძლის უჯრედების გამოყოფა, და ინკუბაცია ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ინიციატორთან, როგორიცაა რკინის ორვალენტიანი იონი და ფლავანოიდურ ფრაქციებთან, რის შემდეგაც განვსაზღვრეთ ფერმენტების - სუპეროქსიდდისმუტაზას და კატალაზას აქტვობა სპექტროფოტომეტრული მეთოდით.

შედეგებმა გვიჩვენა, რომ სხვადასხვა ადგილწარმოშობის საფერავის ჯიშის ყურძნის კანიდან და წიბწიდან გამოყოფილი ფლავანოიდების ფრაქციები აკომპენსირებენ უჯრედის ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობას მაღალი ანტიოქსიდანტური თვისებების გამოვლენის ხარჯზე.

Abstract

In recent years, the special interest has been paid to the oxidative stress as one of the negative effects of harmful environmental factors affecting living organisms. The oxidative stress always accompanies the processes like heart attack, stroke, immune reactions to various infections, apoptosis, senile or age-related diseases, etc.

To protect from oxidative stress, living organisms have developed powerful anti-oxidative systems which can be enzymatic or nonenzymatic. The antioxidant-defense mechanisms of the organism include the enzymes superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase as well as nonenzymatic antioxidants, such as vitamins C, K and E and flavonoids.

Flavonoids are secondary plant metabolites. The best-described property of every group of flavonoids is their capacity to act as antioxidants. They reduce the intensity of free radical processes. Flavonoids can protect living organisms from oxidative stress by stabilizing the reactive oxygen species.

The aim of our research was to study the effect of flavonoid fractions isolated from seeds and skin of Sapheravi grapes on the antioxidant enzymes found in rat liver. The objects under study were flavonoid fractions extracted from the seeds and skin of Sapheravi grapes that had been collected from different regions of Georgia – Khashmi and Jimiti.

The two stepped experiment was conducted. At first, liver cells were isolated from the rat and incubated with the initiator agents of lipid peroxidation (e.g. Fe^{2+}) and with flavonoid fractions. Spectrophotometry was used to measure the activity of the enzymes – catalase and superoxide dismutase.

The results obtained showed that the flavonoid fractions extracted from the Sapheravi grapes seeds and skin obtained from different regions of Georgia compensate the antioxidant activity of enzymes due to exhibition of their high antioxidative features.

შესავალი

ჩვეულებრივ პირობებში, ორგანიზმში ლიპიდების ზეჯანგური ჟანგვა გარკვეული ინტენსივობით მუდმუვად მიმდინარეობს, თუმცა, ჟანგვა აღწევს სტაციონალურ მდგომარეობას, როდესაც ჟანგვის პროცესების გამომწვევი რადიკალების წარმოქმნის და ელიმინაციის სიჩქარეები ტოლია.

ჟანგვით სტრესსში განსაკუთებული როლი ენიჭება თავისუფალ რადიკალურ პროცესებს.

თავისუფალი რადიკალი არის მოლეკულა ან ატომი, რომელსაც გარე ელექტრონულ ორბიტაზე აქვს გაუწყვილებელი ელექტრონი.

თავისუფალ რადიკალებს გააჩნიათ სხვადასხვა რეაქციული თვისებები, რომელიც რადიკალის ბუნებაზეა დამოკიდებული, ასევე, სარეაქციო არის ტემპერატურაზე, მოლეკულების რაოდენობაზე. 37°C -ზე მიმდინარე პროცესებისას რადიკალები ხასიათდებიან მაღალი რეაქციისუნარიანობით. მათი სიცოცხლის ხანგრძლივობა ბიოლოგიურ სისტემებში მიკროსეკუნდიდან ნანოსეკუნდამდეა, ამიტომაც ისინი მუდმივად დაბალი კონცენტრაციით გვხვდებიან უჯრედში. მათი რაოდენობის მკვეთრი მატება ასოცირდება პათოლოგიასთან და განისაზღვრება როგორც ოქსიდაციური სტრესი.

ორგანიზმში თავისუფალი რადიკალები წარმოშობის მიხედვით შეიძლება დავყოთ: ბუნებრივი მეტაბოლური პროცესებით წარმოქმნილ და გარეშე ფაქტორებით ინიცირებულ რადიკალებად. ეს უკანასკნელი შეიძლება იყოს ფიზიკური ან ქიმიური ფაქტორების მოქმედება. მაგალითად: მაიონიზირებელი გამოსხივება, რენდგენის სხივები, ულტრაიისფერი რადიაცია, ასევე ორგანიზმზე ქიმიური ნაერთების ზემოქმედება და სხვ.

ბუნებრივ რადიკალებს მიეკუთვნება სუპეროქსიდი, ნიტროქსიდი, უბიქინონი და სხვ. აღნიშნული რადიკალები ასრულებენ ორგანიზმისთვის აუცილებელ სასიცოცხლო ფუნქციებს. მაგალითად, მონაწილეობენ იმუნურ პასუხში, ანადგურებენ ორგანიზმში შემოჭრილ მიკრობებს. ისინი მონაწილეობენ სუნთქვით ჯაჭვში (უბიქინონი-ელექტორნების გადამტანია სუნთქვის ჯაჭვში), აზოტოს ჟანგი კი ხელს უწყობს სისხლძაღვთა ენდოთელიუმის მიერ მარელაქსირებელი ფაქტორის გამომუშავებას, სისხლძაღვთა მოდუნებას, გაფართოებას, ანუ ვაზოდილატაციას და ა.შ.

სუპეროქსიდის მეტაბოლური გარდაქმნის შედეგად შეიძლება წარმოიქმნას აქტიური მოლეკულური ნაერთები: წყალბადის ზეჟანგი, ჰიპოქლორიდი, ლიპიდების ჰიდროზეჟანგი და სხვ. ეს უკანასკნელნი სახიფათოა ორგანიზმისთვის. ისინი წარმოიქმნებიან პირველად მაინცირებადი რადიკალების უკონტროლო ზრდით და მათი შემდგომი მოდიფიცირებით.

ზეჯანგური ჟანგვის ძლიერ კატალიზატორებს წარმოადგენს ცვალებადი ვალენტობის მქონე მეტალები, მაგალითად, Fe^{2+} , რომლებსაც შეუძლიათ ჰიდროგენაზებთან შევიდნენ რეაქციაში და დაშალონ ისინი თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნით. შესაბამისად სისტემაში ახალი რადიკალური ჯაჭვი ჩნდება :

$$ROOH + Fe^{2+} \rightarrow RO\cdot + OH^{-} + Fe^{3+}$$

აღნიშნული ნეგატიური მოვლენისგან თავის დასაცავად ორგანიზმებს ჩამოუყალიბდათ მძლავრი ანტიჟანგვითი სისტემა, რომელიც ხელს უწყობს ბალანსის შენარჩუნებას პროოქსიდანტებს და ანტიოქსიდანტებს შორის.

ანტიოქსიდანტები , ანუ ბიოანტიმჟანგველები მოქმედების მექანიზმის მიხედვით იყოფიან : ანტირადიკალურ ინჰიბიტორებად- მოქმედებენ ორგანულ რადიკალებზე,; ანტიმჟანგველები- ორგანული პეროქსიდების დამშლელები; ხელატორები- ზჟანგური ჟანგვის კატალიზატორების, კერძოდ ცვალებადი ვალენტობის მქონდე მეტალთა იონების შემბოჭველები.

ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე, ორგანიზმს მუდმივად სჭირდება ანტიოქსიდანტური პრეპარატები, რომლებიც სინთეზირებულია ხელოვნურად და საკმაოდ ძვირია;

ლიტერატურულ წყაროებზე დაყრდნობით, ღვინის დადებითი გავლენა ადამიანის ორგანიზმზე, გარკვეულ წილად გამოწვეულია მასში ფენოლური ნაერთების შემცველობით. ღვინო სულ უფრო ფართოდ განიხილება როგორც ფუნქციური საკვები და მისი ხარისხის შეფასებაში უმნიშვნელოვანესი როლი ენიჭება ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებებს, მათ შორის ფენოლურ ნაერთებს, ორგანულ მჟავებს, ამინომჟავებსა და სხვა.

წითელ ღვინოებში აღმოჩენილია მთელი რიგი ანტიოქსიდანთური თვისების მქონე ორგანული ნაერთები. ისინი ძირითადად ლოკალიზირებულნი არიან ყურძნის კანში,

წიბწასა და კლერტში. მათ მიეკუთვნება: რეზვერატროლი, მონომერული ფლავანოიდები, კატეხინები, ეპიკატეხინები, პოლიმერული პროანტოციანიდინები, ფენოლ მჟავები, გალმჟავა, ელაგის მჟავა და ანტოციანები. აღნიშნულ ნაერთებს სხვადასხვა ბიოლოგიური ეფექტი ახასიათებს: in vitro და in vivo პირობებში, ლიპოპროტეინული ოქსიდაციის ინჰიბირების (კარდიოვასკულარული დაავადებების ძირითადი გამომწვევი); დნმ-ს ოქსიდაციისაგან დაცვა; ანტითრომბული, ანტიმუტაგენური, ანტიკანცეროგენური, ანტისკლეროტული, ანთების საწინააღმდეგო, ანტიალერგიული, რადიოპროტექტორული, ნაღვლმდენი; სპაზმოლიტიკური, ანტიოქსიდანტური თვისებები. დადებითად მოქმედებენ გულ-სისხლძარღვთა სისტემაზე, საჭმლის მომნელებელ ტრაქტზე, გავლენას ახდენს ღვიძლის ფუნქციაზე, ავთვისებიანი სიმსივნის განვითარებაზე; მაღალი ანტიოქსიდანტური თვისებების გამო ამაღლებს ხანდაზმულთა აზროვნების უნარს;

აღსანიშნავია, რომ ღვინის წარმოების პროცესში გროვდება დიდი რაოდენობით გამოუყენებელი ნარჩენები, რომლებიც საკმაოდ მდიდარია ანტიოქსიდანტური ნაერთებით. ნარჩენებიდან გამოყოფილი ეს ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები შეგვიძლია გამოვიყენოთ როგორც სხვადასხვა ფარმაცევტული წარმოებისთვის ისე საკვები დანამატების სახით და ასევე კოსმეტიკაში; ფენოლური კომპლექსების შედგენილობა, მათი რაოდენობა, ღვინის ანტიოქსიდანტური და ანტირადიკალური თვისება დამოკიდებულია მრავალ ფაქტორზე: ყურძნის ჯიშზე, ვენახის ადგილმდებარეობაზე, კლიმატურ პირობებზე, ნიადაგის ტიპზე და ღვინის დაყენების ტექნოლოგიურ ოპერაციებზე.

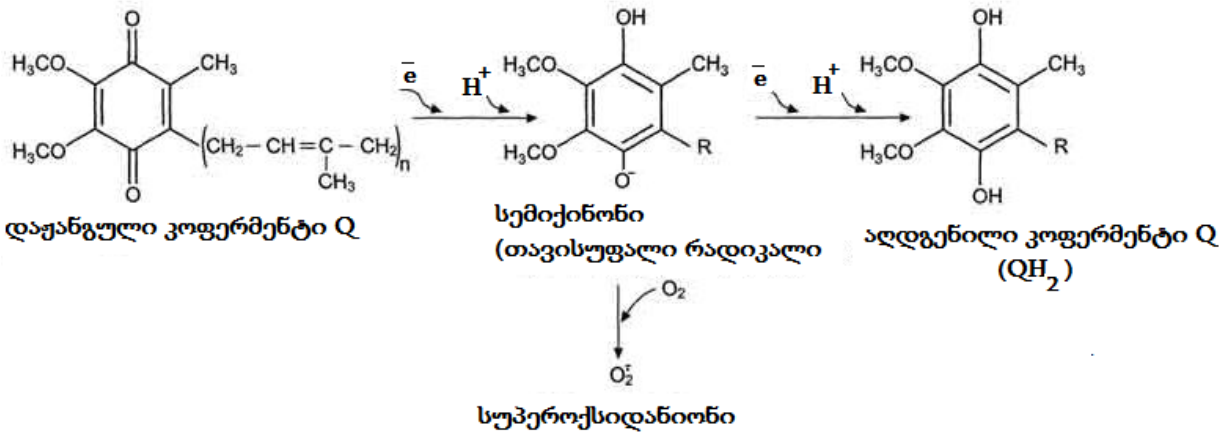
ჩვენი მიზანი იყო შეგვესწავლა სხვადასხვა ადგილწარმოშობის საფერავის ჯიშის ყურძნიდან მიღებული ფლავონოიდების მოქმედება ვირთაგვის ღვიძლის ანტიოქსიდანტურ ფერმენტებზე და მოგვეხდინა ფრაქციების შედარებითი ანალიზი. ამისათვის დავისახეთ შემდეგი ამოცანები :

- ღვიძის უჯრედების გამოყოფა;
- უჯრედებში ზეჟანგური ჟანგვის ინიცირება;
- ფერმენტების სუპეროქსიდდისმუტაზას და კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა.

თავი I - ოქსიდაციური სტრესი

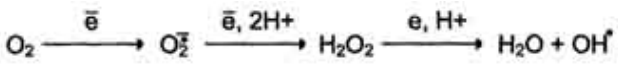
1.1 ჟანგბადის აქტიური ფორმების წყაროები

უჯრედების უმრავლესობაში ჟანგბადის აქტიური ფორმების წარმოქმნის ძირითად მიზეზს წარმოადგენს ელექტრონის გაჟონვა სატრანსპორტო ჯაჭვიდან და მათი ურთიერთქმედება ჟანგბადთან.[1]



სურ.1 სუნთქვის ჯაჭვში უბიქინინოს თანმიმდევრობით აღდგენა

უბიქინონი (კოფერმენტი Q) ელექტრონების სატრანსპორტო ჯაჭვის დონორებიდან იღებს ერთ ელექტრონს და გარდაიქმნება სემიქინონად. CoQH (სურ 1). წარმოქმნილ რადიკალს შეუძლია უშუალო ურთიერთქმედება ჟანგბადთან და სუპეროქსიდანიონის წარმოქმნა, რომელიც თავის მხრივ ჟანბადის სხვა აქტიურ ფორმად გარდაიქმნება:



ჟანგბადის აღმდგენელი ფერმენტების -ოქსიდაზების მონაწილეობით წყალბადის ზეჟანგის წარმოქმნა მიმდინარეობს შემდეგი რეაქციით:

$O_2 + SH_2 \rightarrow S + H_2O_2$,

სადაც SH_2– დასაჟანგი სუბსტრატია.

ამ ტიპის ოქსიდაზების მაგალითია ამინომჟავების ოქსიდაზები, სუპეროქსიდდისმუტაზა (სოდ), პეროქსისომებში ლოკალიზებული ოქსიდაზები და

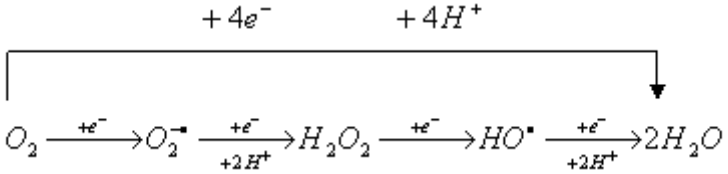
ა.შ. პეროქსისომების ოქსიდაზები ჟანგავს გრძელი ჯაჭვის მქონე ცხიმოვან მჟავებს, შედარებით მოკლე ჯაჭვის მქონე ცხიმოვან მჟავებამდე, რომლებიც შემდეგ მიტოქნოდრიებში განიცდის β დაჟანგვას. [2]

წყალბადის ზეჟანგი ქიმიურად არ არის მაღალაქტიური, მაგრამ შეუძლია ჟანგბადის გაცილებით ტოქსიური ფორმის -ჰიდროქსილის რადიკალის წარმოქმნა ($OH^{\cdot}$):

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^{\cdot}.$$

1.2 ჟანგბადის აქტიური ფორმების როლი მეტაბოლური პროცესების რეგულაციაში

აერობული უჯრედების მიტოქონდრიების სუნთქვის ჯაჭვში ყოველთვის მიმდინარეობს ერთ და სამელექტრონიანი აღდგენა, სხვადასხვა ჟანგბადის აქტიური ფორმების (ჟ.ა.ფ.) შემდგომი წარმოქმნით:



სადაც $O^{\cdot-}_2$ - სუპეროქსიდ ანიონ-რადიკალია; H_2O_2-წყალბადის პეროქსიდი; $HO^{\cdot}$ - ჰიდროქსილის რადიკალი. [2]

ჟანგბადის აქტიურ ფორმებს გარდა $O^{\cdot-}_2$, H_2O_2, $OH^{\cdot}$ მიეკუთვნება ასევე სინგლეტური მოლეკულური ჟანგბადი $^1O_2$, პერჰიდროქსილური რადიკალი $HO^{\cdot}_2$, ჰიპოჰალოიდები, პეროქსიდული რადიკალი $RO^{\cdot}_2$. მათ შეუძლიათ გენერირება სხვადასხვაგვარ ფერმენტულ და არაფერმენტულ რეაქციებისას უჯრედის ყველა ნაწილში. მათ წარმოშობაში ყველაზე დიდი წვლილი შეაქვს მიტოქონდრიის სუნთქვის ჯაჭვს, ასევე ციტოქრომ P450 -ს სისტემას, რომელიც ლოკალიზებულია ენდოპლაზმურ ბადეში. ჟანგბადის აქტიური ფორმები წარმოიქმნება როგორც სპონტანურად ასევე ფერმენტულადაც (მაგ, NADPH - ოქსიდაზის მონაწილეობით სუნთქვითი „აფეთქებისას“ პლაზმურ მემბრანაში და ქსანტინოქსიდაზები ჰიალოპლაზმაში). ისინი იწვევენ ორგანული ჰიდროპეროქსიდების ROOH წარმოქმნას ბიოლოგიურ მოლეკულებთან ურთიერთქმედებისას (დნმ, ცილებით, ლიპიდებით). რეაქციას, რომელიც ახდენს ჟანგბადის აქტიური ფორმების ინდუცირებას და განაპირობებს ჰიდროპეროქსიდების და

შემდეგ მეორადი ჟანგვითი პროდუქტების წარმოქმნას (სპირტები, ალდეჰიდები, ეპოქსიდები), უწოდებენ მოლეკულების ოქსიდაციურ მოდიფიკაციას.

სუპეროქსიდ ანიონ- რადიკალი წარმოიქმნება ჟანგბადის ერთელექტრონიანი აღდგენის გზით ან წყალბადის პეროქსიდის ერთელექტრონიანი დაჟანგვით. ფაგოციტური უჯრედების მემბრანები - ქსოვილოვანი მაკროფაგები, მონოციტების და სისხლის გრანულოციტები- შეიცავენ ფერმენტულ კომპლექსს - NADPH - ოქსიდაზას, რომელიც NADPH-ს ჟანგავს NAD^+-მდე, ამასთანავე ხდება მოლეკულური ჟანგბადის ერთელექტრონიანი აღდგენა სუპეროქსიდ-რადიკალამდე. სუპეროქსიდ ანიონ-რადიკალი წარმოადგენს ჟანგბადის ტოქსიური მოქმედების მნიშვნელოვა ფაქტორს, ხასიათდება მაღალრეაქციული უნარით ბიოსისტემების სხვადასხვა კომპონენტებისადმი. ფიქრობენ, რომ $O^{\div}2$თავს ესხმის უშუალოდ დნმ-ს, ან განაპირობებს მეორადი რადიკალების წარმოქმნას, რომლებიც მოქმედებენ დნმ-ზე. სუპეროქსიდ რადიკალმა შეძლება გამოიწვიოს მჟავე პოლისაქარიდების დეპოლიმერიზაცია და ასევე ლიპიდების პეროქსიდული ჟანგვა, მეტაბოლური პროცესების ნორმალური მიმდინარეობისას $O^{\div}2$ არ გროვდება უჯრედებში, შედეგად მას სუპეროქსიდდისმუტაზა გაუვნებელყოფს, თუმცა ის ძნელად გადალახავს მემბრანას და ტოქსიურ გავლენას ახდენს თავისუფალი რადიკალების ინტენსიური წარმოქმნის პირობებსა და უჯრედების ანტიოქსიდანტური სისტემების აქტივობის შემცირებისას.

წყალბადის პეროქსიდი - ჟანგბადის ყველაზე სტაბილური ინტერმედიატია - შეუძლია უჯრედის დატოვება როგორც უფრო ჰიდროფილურ ნაერთს $O^{\div}_2$-თან შედარებით. ის უფრო რეაქციისუნარიანია და ადვილად აღმოჩენადი. H_2O_2შეიძლება მიღებულ იქნეს O_2 - ს პირდაპირი ორელექტრონიანი აღდგენით $O^{\div}_2$-ს შემდგომი დისმუტაციით. წყალბადის პეროქსიდი ტოქსიურია, იწვევს სულფჰიდრილური ნაერთებისა და ცილების მეთიონური ნარჩენების ჟანგვას, ასევე პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავების პეროქსიდულ ჟანგვას.

სუპეროქსიდ ანიონ-რადიკალსა დაწყალბადს შეუძლიათ ძალიან აქტიური მჟანგავის გენერირება - ჰიდროქსილის რადიკალი, შემდეგ ჯაჭვურ რეაქციაში:

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \text{ –> } Fe^{3+} + OH^- + OH\cdot,$$

$$OH\cdot + H_2O_2 \rightarrow H_2O + H^+ + O^{\div}_2,$$

$$O^{\div}_2 + H_20_2 \rightarrow O_2 + OH\cdot + OH^-,$$

$$Fe^{3+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{2+} + 2H^+ + O^{\div}_2,$$

$$Fe^{3+} + O^{\div}_2 \rightarrow Fe^{2+} + O_2$$

რკინის მარილებისა და წყალბადის პეროქსიდის ნარევს უწოდებენ ფენტონის რეაქციას და ფართოდ გამოიყენება, როგორც მაჰიდროქსირილებელი აგენტი. ჰიდროქსილის რადიკალი წარმოიქმნება ასევე წყლის რადიოლიზისას, რაც საფუძვლად უდევს ბიომემბრანებზე მაიონიზირებელი გამოსხივების დამაზიანებელ მოქმედებას. ჰიდროქსილის რადიკალი აზიანებს ნუკლეინის მჟავებს, უჯრედებზე ახდენს როგორც მუტაციურ ასევე ლეტალურ გავლენას, ინიცირებს ლიპიდების პეროქსიდულ ჟანგვას, ფერმენტების ინაქტივაციას და ა.შ. ხასიათდება მაღალი ციტოტოქსიურობით.

სუპეროქსიდ ანიონ-რადიკალს, წყალბადის პეროქსიდს და პერჰიდროქსილურ რადიკალს შეუძლიათ სინგლეტური ჟანგბადის გენერირება. ის განსხვავდება ჟანგბადის სხვა აქტიური ფორმებისაგან იმით, რომ მისი მიღებისათვის საჭიროა მხოლოდ ენერგიის შთანთქმა, ჟანგბადის მოლეკულების ქიმიური მოდიფიკაციის გარეშე. უნდა ღინიშნოს რომ O_2 მოლეკულა არის ტრიპლეტურ მდგომარეობაში, თუმცა ენერგიის შთანთქმისას ჟანგბადის მოლეკულები გადადიან უფრო დაბლა მყოფ სინგლეტურ დენეებზე $^1\Sigma g+$ და $^1\Delta g$. $^1\Sigma g+$დონეზე გადასვლისათვის საჭირო ენერგია, რომელიც შეესაბამება λ=760ნმ ფოტონებს, $^1\Delta g$-სათვის λ=1270ნმ. $^1\Sigma g+$ მდგომარეობაში ელექტრონები მდებარეობენ განსხვავებულ ორბიტალებზე და სივრცობრივად გაყოფილები არიან. $^1\Delta g$ - მდგომარეობაში დაკავებულია ერთი და იგივე ორბიტალი.

ასე რომ სინგლეტურ ჟანგბადს უწოდებენ აღზნებულ-ელექტრონულ მდგომარეობაში მყოფ O_2 -ს, რომელიც მდებარეობს ერთ-ერთ აღნიშნულ სინგლეტურ დონეზე. ერთ-ერთ ყველაზე ეფექტურ მექანიზმს $^1O_2$-ს წარმოსაქმნელად არის, როგორც ჩანს, მისი გენერაციის პროცესი ტრიპლეტური მოლეკულების სხვადასხვა ნაერთებიდან ჟანგბადზე ენერგიის გადატანის შედეგად. ეს მექანიზმი განაპირობებს სინგლეტური ჟანგბადის ფოტოსენსიბიზირებულ წარმოქმნას ანაერობულ პირობებში, მრავალგვარ სენსიბიზატორების ხსნარებში.

მიელოპეროქსიდაზური რეაქციის მიმდინარეობისას წყალბადის პეროქსიდი ფერმენტულად გარდაიქმნება ჰიპოქლორიდ-ანიონში, რომელიც წარმოადგენს ქლორის აქტიურ ფორმას და ძლიერ მჟანგავს. რკინის იონების თანაობისას მას აქვს უნარი გარდაიქმნას $OH^{\bullet}$-ში. მიელოპეროქსიდაზური რეაქცია ხორციელდება მაკროფაგებში და აუცილებელია ინფექციასთან ბრძოლისას და უჯრედების დაზიანებების მოსაცილებლად. მაკროფაგები მიგრირებენ ანთებით კერაში, სადაც გენერირებენ სუპეოქსიდ ანიონ-რადიკალს და სინგლეტურ ჟანგბადს NADPH-ოქსიდაზური რეაქციის ხარჯზე,

წყალბადის პეროქსიდს სუპეროქსიდდისმუტაზისა და ჰიპოქლორიდ-ანიონის OCl^- დახმარებით.

NO-რადიკალი (NO•) გამომუშავდბა ფერმენტულად, ფაგოციტების NO-სინთაზითა და გლუვკუნთოვანი სისხლძარღვების უჯრედებით და ასრულებს გლუვი კუნთებისათვის რელაქსანტის როლს, გუანილატციკლაზის აქტივაციის შედეგად. ეს შენაერთი განიხილება როგორც მეორადი მესენჯერი წარმოქმნილი კონტროლირებული საშუალების შედეგად, ის ხასითდება უჯრედულ მემბრანაში შეღწევის მაღალი სიჩქარით და სიცოცხლის ხანგრძლივი დროით (რამდენიმე წამი). უჯრედში NO• ურთიერთქმედებს დაბალმოლეკულურ თიოლებთან, მონო და დინიტროზილური კომპლექსების წარმოქმნით, რომელიც ტოქსიურია უჯრედებისათვის. მონონიტროზოგლუტათიონს შეუძლია გამოიწვიოს უჯრედების პროგრამული კვდომა - აპოპტოზი.

პროოქსიდანტებს უწოდებენ ნივთიერებებს, რომლებიც აძლიერებენ ჟანგვითი ჯაჭვის განშტოებას, ბიომოლეკულების ჰიდროქსიპეროქსიდებთან ურთიერთქმედების შედეგად, ცოცხალ ორგანიზმში პროოქსიდანტების განუწყვეტელი წარმოქმნა გაწონასწორებულია ანტიოქსიდანტების მიერ მათი დეზაქტივაციით, რაც საფუძვლად უდევს მეტაბოლური პროცესების შიდაუჯრედული რეგულაციის მექანიზმებს - რედოქსო რეგულაცია. ქსოვილებში ანტიოქსიდანტებისა და პროოქსიდანტების ბალანსის გადახრა პროოქსიდანტების სასარგებლოდ ჟანგვით სტრესს უწოდებენ. ჟანგვითი სტრესის შედეგს წარმოადგენს ქსოვილების ჟანგვითი დაზიანება, რომელსაც თან ახლავს სხვადასხვა პათოლოგიური მდგომარეობა (60 დაავადებაზე მეტი) - სხვადასხვა ანთებები, რევმატული ართრიტი, გასტრიტი, წყლული, კოლიტი, ცისტიტი, ბრუნხული დაავადებები, კანცეროგენეზი, შაქრიანი დიაბეტი, ათეროსკლეროზი, სიბერე, ნეიროდეგენერაციული პროცესები (პარკინსონიზმი, ალცჰეიმერის დაავადება) და სხვა თუმცა დღევანდელ დღემდე უპირატესად ჟანგბადის აქტიური ფორმები განიხილებოდა, პათოგენური ფუნქციებით. ბოლო წლების გამოკვლევებმა გამოავლინა პროოქსიდანტების მონაწილეობა სისხლძარღვების ტონუსის რეგულაციაში, უჯრედული პროლიფერაციის, პროსტაგლანდინების სინთეზის, ფაგოციტების მიკრობული მოქმედების, მეტაბოლური პროცესების რეგულაციაში, შიდაუჯრედული მესენჯერის სახით, იმუნური რეაქციის ინდუქციით. ამიტომ დღეს საკმაოდ აქტუალურია შეკითხვა, ჟანგბადის აქტიური ფორმების დადებითი და უარყოფითი როლის ურთიერთქმედების შესახებ, უჯრედული მეტაბოლიზმისა და რეგულაციისას, ასევე პრო და ანტიოქსიდანტების დინამიური თანასწორობის რეგულაციისას და

განსაზღვრულპირობებში ჟანგბადის აქტიური ფორმების სინთეზის მიზანმიმართული ინჰიბირებისას.

პათოლოგიური მდგომარეობა წარმოიშობა ჟანგბადის აქტიური ფორმების გადაჭარბებული დაგროვებით და მოლეკულების ოქსიდაციური მოდიფიკაციის ინტენსიფიკაციით. ოქსიდაციური სტრესის ინდუქციის ფაქტორების სახით, გამოყოფენ ჭარბ O_2-ს (განსაკუთრებით ჰიპერბარიციული ოქსიგენაციისა და რეპორფუზიისას), ძლიერი ანთებითი პროცესებისა და მაკროფაგების აქტივაციით, მაიონიზირებელი და ულტრაიისფერი გამოსხივება, ჰემის სიჭარბე, Fe^{+}, ქსენობიოტიკების ზემოქმედება, A და D ვიტამინების დიდი დოზების მოქმედბა. ჟანგბადის აქტიური ფორმები, მაღალ კონცენტრაციებში იწვევენ მუტაციებს, დნმ-ს სინთეზისა და უჯრედების დაყოფის ინჰიბირებას, შეუძლიათ აპოპტოზის აქტივაცია. ცილების ჟანგვითი მოდიფიკაციის შედეგად ხდება მათი სტრუქტურული და ფუნქციური თვისებების დაზიანება, მათი მოლეკულების აგრეგაცია და დენატურაცია. ლიპიდების პეროქსიდული ჟანგვის პროდუქტები ავლენენ მუტაგენურ და ციტოტოქსიურ ეფექტებს. ამის გარდა, ზოგიერთი ეიკოზანოიდის სიჭარბე აინდუცირებს თრომბოზსა და ჰიპერტონიას (თრომბოქსანტები), ჰიპერმგრძნობელობას, მონაწილეობს მიოკარდის ინფაქტის, კუჭის წყლულის, ბრონქიალური ასთმის (ლეიკოტრიენები) განვითარებაში. [3, 4]

1.3 ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვა

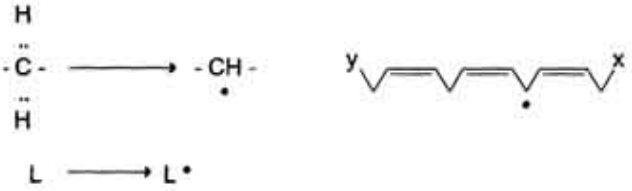
ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვა (ლზჟ) თავისუფალ-რადიკალურ პროცესებს მიეკუთვნება და იგი ორგანიზმში მუდმივად მიმდინარეობს, რასაც მოსდევს სხვადასხვა მოლეკულების სტრუქტურის რღვევა. ცილებში ხდება ზოგიერთი ამინომჟავის დაჟანგვა, რის შედეგადაც ირღვევა ცილის სტრუქტურა და წარმოიქმნება კოვალენტური „ნაკერები“. ყველა ეს პროცესი ააქტივებს უჯრედის პროტეოლიზურ ფერმენტებს, რომლებიც დაზიანებული ცილის ჰიდროლიზს იწყებენ. [5]

ჟანგბადის აქტიური ფორმები ასევე იოლად არღვევს დნმ-ის სტრუქტურასაც. დნმ-ის მოლეკულასთან არასპეციფიკურად დაკავშირებული Fe^{2+} აიოლებს ჰიდროქსილ-რადიკალების წარმოქმნას, რომლებიც აზიანებს აზოტოვანი ფუძეების სტრუქტურას. განსაკუთრებულ მგრძნობელობას ჟანგბადის აქტიური ფორმების მიმართ ავლენს ცხიმოვანი მჟავები ორმაგი ბმებით, რომლებიც განლაგებულია CH_2 – ჯგუფის ორივე მხარეს. სწორედ ამ ჯგუფებიდან იღებს იოლად ელექტრონს

თავისუფალი რადიკალი (დაჟანგვის ინიციატორი) და ლიპიდს, რომელიც ასეთ ცხიმოვან მჟავას შეიცავს, გარდაქმნის თავისუფალ რადიკალად. ლჟზ- ჯაჭვური რეაქციებია, რომელიც უზრუნველყოფს თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნას, რომლებიც თავის მხრივ, ხელს უწყობსზეჟანგური ჟანგვის გავრცელებას. [6, 7]

ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის სტადიები

- თავისუფალი რადიკალის წარმოქმნის ინიციაცია: (L•)



რეაქციის იმიციატორი ყელაზე ხშირად არის ჰიდროქსილის რადიკალი, რომელიც იღებს წყალბადს პოლიენური მჯავების CH_2 ჯგუფებიდან, რასაც მოსდევს ლიპიდური რადიკაილს წარმოქმნა.

- ჯაჭვის წარმოქმნა:

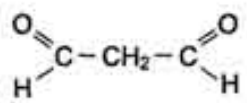
$$L^{\bullet} + O_2 \rightarrow LOO^{\bullet}$$

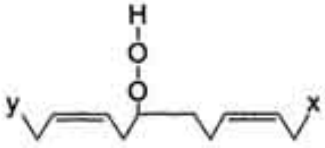
$$LOO^{\bullet} + LH \rightarrow LOOM + LR^{\bullet}$$

ჯაჭვის წარმოქმნა მიმდინარეობს O_2–ის მიერთებით და ლიპოპეროქსიდ-რადიკალისა (LOO•) ან პეროქსიდ-ლიპიდის (LOOH) მიღებით. ლჟზ წამოადგენს თავისუფალ-რადიკალურ ჯაჭვურ რეაქციებს, ანუ ყოველი წარმოქმნუილი რადიკალი ინიცირებს რამდენიმე სხვა რადიკალის წარმოქმნას.

- ლიპიდის სტრუქტურის რღვევა

პოლიენური მჟავების ლიპიდური ჟანგვის საბოლოო პროდუქტებია მალონის დეალდეჰიდი და ჰიდროპეროქსიდის მჟავა.





მალონის დეალდეჰიდი **ჰიდროპეროქსიდის მჟავა**

ჟანგბადის აქტიური ფორმები აზიანებს დნმ-სა და ცილების მოლეკულებს, ასევე უჯრედის მემბრანებს. მემბრანის ჰიდროფობურ შრეში უჯრედის ცხიმოვანი მჟავების ჰიდროოქსიდების წარმოქმნის შედეგად მირებული ჰიდროფილური ზონების გაჩენა ხელს უწყობს უჯრედში წყლის Na^+ -ისა და Ca^+ -ის იონების შეღწევას, უჯრედისა და ორგანელების გაჯირჯვებას და მათ ჩაშლას. ზეჟანგური ჟანგვის აქტივაცია მრავალი დაავადების საფუძველია, მაგალითად, კუნთების დისტროოფია (დიუშენის დაავადება) პარკინსონის დაავადება, რომლის დროსაც ლზჟ შლის ნერვულ უჯრედებს თავის ტვინის ღეროვან ნაწილში, ათეროსკლეროზი, სიმსივნის განვითარება და სხვა პათოლოგიები.

თავი II ანტიოქსიდანტები

2.1 ანტიოქსიდანტური სისტემები

თავისუფალ-რადიკალური პროცესებისგან თავის დასაცავად ცოცხლა ორგანიზმებს ევოლუციის პროცესშ ჩამოუყალიბდათ მძლავრი ანტიოქსიდანტური სისტემები.

უჯრედებში არსებობს რამდენიმე გამშვები და დამცველობითი სისტემა, რომელიც განიხილება როგორც ლიპიდების ჟანგვის სიჩქარეზე სხვადასხვა სტადიაზე მოქმედი ფაქტორები (ჯაჭვის წარმოშობა და გაგრძელება, ჯაჭვის გაწყვეტა):

— სისტემები პასუხისმგებელი ლიპიდების მკაცრად განსაზღვრული სტრუქტურის ორგანიზაციისა და ლიპიდების ჟანგვის სიჩქარეზე სხვადასხვა სტადიისას (ჟაჭვის წარმოშობა და გაგრძელება; ჟაჭვის გაწყვეტა);

— ფერმენტული სისტემები, პასუხისმგებელი ჟანგბადის აქტიური ფორმებისა და თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნასა და განადგურებაზე ან მონაწილენი პეროქსიდების ჩაწყობაში არარადიკალური გზით.

— სისტემები, რომლებიც არეგულირებენ მემბრანის ფოსფოლიპიდების ცვლას და მოქმედებენ ჯაჭვის ინიცირებისა და გაგრძელების სიჩქარეზე, ფოსფოლიპიდების უჯერო ცხიმოვანი მჟავების შემადგენლობის ცვლილებით.

— დაბალმოლეკულური რეგულატორების სისტემები, რომლებიც ასრულებენ ინიციატორების, ინჰიბიტორებისა როლს და მოქმედებენ ინიცირების სტადიაზე, ჯაჭვის განშტოებასა გაწყვეტაზე.

ანტიოქსიდენტური სისტემა ორგანიზმში წარმოდგენილია ფერმენტული და არაფერმენტული ფორმით. ენდოგენური ანტიოდქსიდანტები 3 დიდ ჯგუფად იყოფა: I

ჯგუფი – ანტიოქსიდანტური ფერმენტებია, რომლებიც ძირითადად ორგანიზმის საკუთარ ანტიოქსიდანტურ დაცვას უზრუნველყოფენ. ესენია: კატალაზა, სუპეროქსიდდისმუტაზა, გლუტათიონპეროქსიდაზა.

ამ ფერმენტების აქტივობა განსაკუთრებით მაღალია ღვიძლში, თირკმელსა და თირკმელზედა ჯირკვალში, სადაც მიტიქონდრიების, პეროქსისომებისა და ციტოქრომ P_{450} -ის შემცველობა სხვა ქსოვილებთან შედარებით მომატებულია.

სუპეროქსიდდისმუტაზა (სოდ) გარდაქმნის სუპეროქსიდის ანიონებს წყალბადის ზეჟანგად :

$$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

სოდ-ის იზოფერმენტები გვხვდება ციტოზოლსა და მიტოქონდრიებში და წარმოადგენს უჯრედის დაცვის I ხაზს, ვინაიდან სუნთქვის ჯაჭვიდან ელექტრონების გაჟონვის შემთხვევაში, თავდაპირველად წარმოიქმენბა სწორედ სუპეროქსიდული რადიკალები. სოდ-ის მიერ ვალენტობის შეცვლის უნარი განაპირობებს ფერმენტის აქტიური ცენტრის ელექტრონის სატრანსპორტო ფუნქციას. ის ახდენს თავისუფალი რადიკალების დისმუტაციას. ამ პროცესში მნიშვნელოვან როლს თამაშობს სპილენძის ატომი, ხოლო თუთიის ატომი ასრულებს სტაბილიზატორის როლს.

$$ECu2+ + O2 > ECu{+}{+}O2$$

ამ შემთხვევაში წყალბადის ზეჟანგის წარმოქმნის გამო ანტიოქსიდანტური დაცვა არასრულყოფილია. სუპეროქსიდრადიკალების დისმუტაციის რეაქცია წყალთან H2O2-ის წარმოქმნით მიმდინარეობს სპონტანური ან სუპეროქსიდდისმუტაზას წარმოქმნით. სოდ-ის ეფექტიანობა ძალზე მაღალია. უჯრედის ყველა კომპონენტებიდან მხოლოდ აზოტის ჟანგი (NO) შედის O2-თან რეაქციაში სოდ-ზე უფრო სწრაფად. NO-ს დაბალი კონცენტრაციის დროს სუპეროქსიდი, როგორც წესი იშლება სუპეროქსიდდის-მუტაზების მეშვეობით და ვერ ასწრებს სხვა ქიმიურ რეაქციაში ჩართვას.

სუპეროქდისდისმუტაზა ინდუცირებადი ფერმენტია, რაც მიანიშნებს რომ უჯრედში ზეჟანგური ჟანგვის პროცესის გაძლიერების პარალელურად მატულობს მისი სინთეზიც.

მაშასადამე H2O2-ის დაგროვება უჯრედში O2-ის სინთეზის ძირითადი შედეგია. წყალბადის ზეჟანგის მოცილება ხდება სხვადასხვა კლასის ფერმენტებით.

წყალბადის ზეჟანგი, რომელიც ინიცირებს რადიკალების ყველაზე აქტიური ფორმის წარმოქმნას იშლება ფერმენტ კატალაზათი:

$$2H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2.$$

კატალაზა ძირითადად გვხვდება პეროქსისომებში, სადაც ხდება დიდი რაოდენობით წყალბადის ზეჯანგის წარმოქმნა. [8]

გლუტათიონპეროქსიდაზა უმნიშვნელოვანესი ფერმენტია, რომელიც უზრუნველყოფს ჟანგბადის ქტიური ფორმების ინაქტივაციას. იგი შლის როგორც წყალბადის ზეჯანგს, ასევე ლიპიდების ჰიდროზეჟნგებს. ფერმენტი აკატალიზირებს პეროქსიდების აღდგენას ტრიპეპტიდ გლუტათიონის დახმარებით, რომლის სულფჰიდრილის ჯგუფი (-SH) წარმოადგენს ელექტრონების დონორს და წარმოქმნის გლუტათიონის დისულფიდურ, დაჟანგულ ფორმას, სადაც 2 მოლეკულა გლუტათიონი ერთმანეთთან დისულფიდური ბმითაა დაკავშირებული.

$$H_2O_2 + 2\ GSH \rightarrow 2\ H_2O + G\text{-}S\text{-}S\text{-}G.$$

დაჟანგული გლუტათონი აღდგება ფერმენტ გლუტათიონრედუქტაზათი:

$$GS\text{-}SG + NADPH + H^+ \rightarrow 2\ GSH + NADP^+.$$

გლუტათიონპეროქსიდაზა აღადგენს მემბრანის ლიპიდების ჰიდროზეჟანგებს. იგი კოფერმენტის სახლით შეიცავს სელენს (საკვების აუცილებელი მიკროელემენტი).სელენის ნაკლებობისას ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური სისტება სუსტდება.

ვიტამინი E - ძლიერი ანტიოქსიდანტია და შეუძლია თავისუფალი რადიკალების ინაქტივირება უშუალოდ მემბრანის ჰიდროფობურ შრეში და ამ გზით ზეჟანგური ჟანგვის აცილება. მისი მოქმედების მექანიზმი დაფუძნებულია მის თვისებაზე გადასცეს H ატომი ლიპიდების პეროქსიდებს ($ROO^{\bullet}$) და აღადგინოს ისინი ჰიდროპეროქსიდებამდე (ROOH).

ვიტამინი C (ასკორბინის მჟავა) ასევე ანტიოქსიდანტია და მონაწილეობს ლჟბ-ს პროცესსში ორი განსხვავებული მექანიზმით.

- აღადგენს ვიტამინ E-ს დაჟანგულ ფორმას და ამ გზით უზრუნველყოფს მისი კონცენტრაციის მუდმივობას.
- იგი ურთიერთქმედებს ჯანგბადის აქტიურ ფორმებთან და იწვევს მათ ინაქტივაციას.

β - კაროტინი – ვიტამინი A-ს წინამორბედი, ასევე ანტიოქსიდანტური ნაერთია. მას ახასიათებს ანტიკანცეროგენული თვისებები. [9]

2.2 ფლავანოიდები

საერთოდ, ფერმენტული ანტიოქსიდანტები წარმოადგენენ უჯრედშიდა დაცვით მექანიზმს, ხოლო შრატსა და ლიმფაში მათი რაოდენობა ძალიან მცირეა. ორგანიზმის ლიპიდურ და წყლიან ფაზაში მუდმივად მიმდინარეობს რადიკალების წარმოქმნა, ამიტომ აღნიშნულ სისტემებში უნდა არსებობდეს ძლიერი ანტიოქსიდანტური სისტემა, რომელსაც ფენოლური ანტიოქსიდანტები ასრულებენ. ეს უკანასკნელნი წარმოადგენენ ნაერთებს, რომლებიც თავის სტრუქტურაში შეიცავენ არომატულ ბირთვს და მასთან დაკავშირებულ ერთ ან რამოდენიმე ჰიდროქსილის ჯგუფს _ Ar(OH)n. არომატული ფრაგმენტის (Ar) ბუნების მიხედვით არჩევენ: საკუთრივ ფენოლებს, ნაფტოლებს და სხვა ჰეტეროარომატული ნაერთების ოქსინაწარმებს. [10]

ფენოლური ანტიოქსიდანტების უნარს, შეაჩეროს რადიკალური პროცესებით გამოწვეული ჟანგვა, ძირითადად განაპირობებს არომატულ ბირთვთან დაკავშირებული ჰიდროქსილური ჯგუფი. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ფენოლური ანტიოქსიდანტის აქტივობა დამოკიდებულია OH- ჯგუფების განლაგებაზე ბირთვში და, აგრეთვე, თვითონ ნაერთის მდებარეობაზე ჟანგვით სისტემაში. ფენოლური ანტიოქსიდანტები ეფექტურად აინჰიბირებენ სუპეროქსიდ-ანიონ-რადიკალს, სინგლეტურ ჟანგბადს, პეროქსიდრადიკალებს და ლიპიდების ზეჟანგურ ჟანგვას.

ფენოლური ანტიოქსიდანტები, თავის უნარის გამო - ადვილად გასცემენ და მიიერთონ ელექტრონი, შეიძლება მოგვევლინონ, როგორც აღმდგენები. ასე მაგალითად, უბიქინონი მიტოქონდრიებში შეიძლება დაიჟანგოს მოლეკულური ჟანგბადით და შესაბამისად წარმოქმნას $O^{\cdot-}_2$, ანუ შეასრულოს პროოქსიდანტის როლი. კიდევ ერთი მნიშვნელოვანი ანტიოქსიდანტი არის ასკორბინის მჟავა, რომელიც შეიძლება იყოს წყალბადის, როგორც დონორი, ასევე აქცეპტორი. იგი ამჟღავნებს მოქმედების ფართო სპექტრს, კერძოდ: აუვნებელყოფს ClO, $O^{\cdot-}_2$, $HO_2^{\bullet}$, $RO_2^{\bullet}$, O_2', $HO^{\bullet}$, აღადგენს α-ტოკოფეროლის რადიკალს და, შესაბამისად, მის ანტიოქსიდანტურ თვისებებს. ასკორბინის მჟავა წარმოადგენს ერთ-ერთ ყველაზე ეფექტურ ანტიოქსიდანტს, რომელიც მოქმედებს პლაზმაში. მაგრამ, უნდა აღინიშნოს, რომ რკინის იონების თანაობისას ასკორბინის მჟავა გვევლინება ძლიერ პროოქსიდანტად. მისი ეს თვისება დამოკიდებულია სუბსტრატის კონცენტრაციაზე. კერძოდ, დაბალი კონცენტრაციისას იგი

ასრულებს პროოქსიდანტის როლს, ხოლო მაღალი კონცენტრაციის დროს ანტიოქსიდანტის. [11]

ფლავონოიდები მიეკუთვნებიან მცენარეული წარმოშობის ფენოლური ნაერთების ჯგუფს.

ფლავანოიდების მოლეკულა შესდგება ორი ბენზოლის ბირთვისაგან (A და B), რომლებიც შეერთებულია ერთმანეთთან სამნახშირბადის ფრაგმენტით.

ქიმიური თვალსაზრისით, ფლავონოიდური ნაერთები მაღალი რეაქციის უნარით ხასიათდებიან, მაგრამ მათი ფუნქციის საკითხი მცენარეში ჯერჯერობით ნაკლებადაა შესწავლილი. მათი ქიმიური აღნაგობის მრავალგვარობიდან გამომდინარე ფლავანოიდების ფუნქციები მრავალფეროვანია.

ცნობილია, რომ მცენარის მდგრადობა პათოგენის მიმართ კორელირებს ფენოლური ნაერთების მაღალ რაოდენობასთან. ყველა პათოგენი (სოკო, ბაქტერია, ვირუსი) საპასუხო რეაქციის სახით მცენარეში იწვევს ფენოლური ნაერთების წარმოქმნას, რომელსაც თან ახლავს შესაბამისი ფერმენტების აქტივობის ინდუქცია.

ფენოლურ ნაერთებს ახასიათებს ანტიმუტაგენური აქტივობაც.

ფენოლური ნაერთები მონომერული ნაერთების სახით წარმოადგენენ საწყის კონპონენტებს ლიგნინის წარმოქმნაში. ლიგნინს მნიშვნელოვანი როლი მიეკუთვნება დაცვით მექანიზმებში:

- მცენარის უჯრედის მექანიკური წინააღმდეგობის გაზრდა მიკრობის შეჭრის მიმართ;
- მცენარის დაცვა მიკრობის ჰიდროლიზური ფერმენტებისაგან;
- მიკრობის ფერმენტებისა და ტოქსინის დიფუზიის დაბრკოლება;
- ლიგნინის წინამორბედები ახდენენ სოკოს ფერმენტების ინაქტივაციას;
- ლიგნიფიკაციის მეშვეობით სოკოვანი წარმონაქმნებისაგან დაცვა.

ის ფაქტი, რომ ფლავონოიდების დღიური ნორმა ადამიანისათვის 1გ.-ს აღწევს და გაცილებით აღემატება ორგანიზმისთვის მნიშვნელოვანი სხვა ანტიოქსიდანტების α-ტოკოფეროლის, ასკორბატისა და გლუტათიონის მოთხოვნის დონეს, მიუთითებს მათ დაბალ ტოქსიურობაზე და უდიდეს მნიშვნელობაზე ადამიანისა და ცხოველთა ორგანიზმში რომელთაც განვითარებული აქვთ ამ ბუნებრივი ნაერთების სასარგებლო თვისებების გამოყენების უნარი.[12]

2.3 საფერავი და ფლავანოიდები

წითელი ღვინის შემადგენელ ფენოლურ ნაერთებს გააჩნიათ ადამიანის ორგანიზმში დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების დაჟანგვის ინჰიბირების უნარი. 1000-ჯერ განზავებული წითელი ღვინო, რომელიც შეიცავს 10 მგ.მოლი/ლ ფენოლურ ნაერთებს, ლიპოპროტეინების ოქსიდაციის მნიშვნელოვანი ინჰიბიტორია. განსაკუთრებით უნდა აღინიშნოს ფენოლური ნაერთების ანტიოქსიდანტური აქტივობა, რაც ფაქტობრივად განაპირობებს ღვინის და ყურძნისეული წარმოშობის ბიოლოგიურად აქტიური დანამატების სასარგებლო თვისებებს და შესაბამისად, სამკურნალო-პროფილაქტიკურ ღირებულებას. [13]

ერთ-ერთი აქტიური წარმომადგენელია კვერცეტინი, რომლითაც ყველაზე მეტად მდიდარია კიტრი. კვერცეტინი ასევე აღმოჩენილია წითელ ღვინოში, წითელ და ყვითელ ხახვში. ეს არის ძლიერი ანტიკანცეროგენული ნივთიერება. მეცნიერების ვარაუდით, კვერცეტინი ინერტულ მდგომარეობაში იმყოფება, ვიდრე მასზე არ იმოქმედებენ საჭმლის მომნელებელი სისტემის ბაქტერიები, ამის შემდეგ იძენს იგი ანტიოქსიდანტურ თვისებებს.

ასევე განსაკუთრებით საინტერესოა რეზვერათროლი. აქ გვერდს ვერ ავუვლით ე.წ. „ფრანგულ პარადოქსს“ – კვლევებით დადგინდა, რომ ფრანგები, სხვა ხალხებთან შედარებით, ნაკლებად არიან მიდრეკილი გულ-სისხლძარღვთა დაავადებებისადმი [13]. ეფექტი დაუკავშირეს ფრანგების მიერ, გასაგები მიზეზების გამო, წითელი ღვინის უფრო მეტ მოხმარებას. წითელ ღვინოში იდენტიფიცირებული იყო პოლიფენოლური ნაერთი რეზვერატროლი, რომელიც ძლიერი ანტიოქსიდანტური უნარით ხასიათდება. „ფრანგული პარადოქსი“ სწორედ რეზვერატროლს დაუკავშირეს. თუმცა, როგორც ზემოთ აღინიშნა, ღვინო მრავალ სხვა ანტიოქსიდანტური ბუნების მქონე ნაერთსაც შეიცავს, რომლებიც, რეზვერატროლთან ერთად, ღვინის სამკურნალო ეფექტს განაპირობებენ. თავად რეზვერატროლი კი, 10-20-ჯერ უფრო ძლიერი ანტიოქსიდანტია, ვიდრე ბუნებრივი ანტიოქსიდანტები – C და E ვიტამინები. [14]

რეზვერატროლი განსაკუთრებით ეფექტურია გულ-სისხლძარღვთა დაავადების სამკურნალოდ. თავისუფალი რადიკალები აზიანებენ სისხლძარღვის კედლებში შემავალი ცილების სტრუქტურას, რის შედეგაც სისხლძარღვი უხეშდება, კარგავს ელასტიურობას, მის კედლებში გამოლექვას იწყებს ე.წ. „ცუდი“ ქოლესტერინი, წარმოიქმნება ათეროსკლეროზული ფოლაქები, და სისხლძარღვი ეფექტურად ვეღარ

უზრუნველყოფს სისხლის დინებას. ბიოქიმიური თვალსაზრისით ეს პროცესი ასე აღიწერება – თავისუფალი რადიკალების მოქმედების შედეგად ოქსიდირებული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები (LDL) არტერიების კედლების უჯრედებს ეკვრის, ქმნის მზარდ სტრუქტურას, რაც საბოლოოდ სწორედ ხსენებულ ფოლაქს წარმოადგენს.

ის აინჰიბირებს დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების ოქსიდაციის პროცესს და ხელს უშლის ათეროსკლეროზული ფოლაქების წარმოქმნას. შესაბამისად, სისხლში რეზვერატროლის კონცენტარციის ზრდა ხელს უშლის დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების ლიპიდურ პეროქსიდაციას. არსებობს მონაცემები, რომ რეზვერატროლს სხვადასხვა გენეზის სიმსივნის ინიციაციის, ზრდისა და განვითარების სტადიებზე მოქმედების გარკვეული უნარი გააჩნია. სიმსივნის ინიციაციისას რეზვერატროლი მოქმედებს როგორც თავისუფალი რადიკალების ინჰიბიტორი და როგორც ანტი-მუტაგენი.

ამდენად, დიდი მნიშვნელობა ენიჭება ღვინოში რეზვერატროლის და სხვა ანტიოქსიდანტების რაოდენობრივ შემცველობას, რამეთუ ალკოჰოლის გამო ღვინის დღიური მოხმარების ნორმა განუსაზღვრელი არ არის და დაახლოებით მამაკაცებისთვის 300 მლ-ს, ქალებისთვის კი 150-მლ-ს შეადგენს .

აღსანიშნავია, ფლავონოიდები და სტილბენები თავმოყრილია ყურძნის მარცვლის კურკასა (წიპწასა) და კანში და მათი ექსტრაქცია ღვინის დუღილის პროცესში ხდება. ამდენად, საყურადღებოა ღვინის დაყენების კახური (ტრადიციული ქართული) მეთოდი, სადაც ღვინის (როგორც თეთრის, ასევე წითლის) დადუღება ჭაჭის მოუხსნელად (ჭაჭის დიდი ან მთლიანი რაოდენობის თანაობისას) ხდება, რაც მაცერაციის პროცესს აძლიერებს. გასათვალისწინებელია, აგრეთვე, მაცერაციის დროც.[15]

გამოყენებული მეთოდები

1. ჰომოგენიზაცია

ჰომოგენიზაცია, არის პროცესი, რომლის მეშვეობით ცალკეული ქსოვილიდან მათი დაქუცმაცებისა და სტრუქტურების დარღვევის გზით მიიღება ერთგვაროვანი მასა. სასურველია, ეს პროცესი ჩატარდეს ისათ პირობებში, სადაც მისაღები ბიომოლეკულები

შეინარჩუნებენ თავიანთ ფიზიკურ და ქიმიურ თვისებებს. პროცესი წყალხსნარებში მიმდინარეობს, ამასთან, უნდა მოვერიდოთ pH-ის ექსრემალურ მნიშვნელობებს, ოსმოსურ წნევასა და მაღალ ტემპერატურას. გამოყოფის უმეტესი სტადიები უნდა ტარდებოდეს 0-4°C ტემპერატურაზე - ცივ ოთახში ან ყინულზე. ოთახის ტემპერატურის პირობებში, მისაღები ბიომოლეკულები განიცდიან რა სხვადასხვა ჰიდროლიზური ფერმენტების, პროტეაზებისა და ნუკლეაზების ზემოქმედებას, კარგავენ ფიზიკურ და ქიმიურ თვისებებს, ჩვეულებრივ, ექსრაქციისთვის იყენებენ0.25M საქაროზას იზოოსმოსურ ხსნარს, რომელის ფიზიოლოგიურთან მიახლოებული კონცენტრაციით შეიცავს K-სა და Mg-ის იონებს, ხოლო pH-ს ნეიტრალურ (7.4) ნიშნულზე აყენებენ 0.05M ტრისჰიდროქსიმეთილ-ამინომეთანჰიდროქლორიდის (მარილ-მჟავა ტრისის) ბუფერით.

ბიომოლეკულების მისაღებად, პირველ ყოვლისა, საჭიროა უჯრედების დანგრევა - ჰომოგენიზაცია, იმის გათვალისწინებით, როგორია დასამუშავებელი ობიექტი შეარჩევენ შესაბამის აპარატურას - ჰომოგენიზატორს. ჩვენს შემთხვევაში, ღვიძლის ქსოვილის ჰომოგენიზირება მოვახდინეთ შემდეგნაირად : გამოვიყენეთ შლიფიანი და უშლიფო ჰომოგენიზატორები . თავდაპირველად, ლანცეტით და დანით წინასწარ დაქუცმაცებული ქსოვილი მოვათავსეთ მინის ცილინდრული ფორმის ჭურჭელში, და შემდეგ 3-5 მოძრაობით მოვახდინეთ ქსოვილის ჰომოგენიზირება. [16]

სურ2. შლიფიანი ჰომოგენიზატორი

2. სპექტროფოტომეტრია

ორგანული ნაერთების მიერ 100-800 ნმ ტალღის სიგრძის გამოსხივების შთანთქმისას ადგილი აქვს ელექტრონების აღზნებას. ერთი და იგივე ნივთიერება სხვადასხვა ტალღის სიგძის მქონე სინათლეს არათანაბრად შთანთქავს. მრუდს, რომელიც ამყარებს დამოკიდებულებას შთანთქმასა და ტალღის სიგრძეს შორის, ეწოდება შთანთქმის სპექტრი. როგორც წესი, მოლეკულათა შთანთქმის სპექტრი უწყვეტი მრუდია. მას ახასიათებს მაქსიმუმი იმ უბანთან, სადაც ხდება მილეკულის მიერ მოცემული ტალღის სიგრძის ქვანტების მაქსიმალური შთანთქმა. შთანთქმის სპექტი იყოფა ულტრაიისფერი (უი, 100-400 ნმ) და ხილული (400-800 ნმ) უბნების სპექტრებად. ხილული უბნის ცალკე გამოყოფა განპირობებულია იმ გარემოებით, რომ შთანთქმა 400-800 ნმ ტალღის უბანში აღიქმება ადამიანის მხედველობითი ორგანოების მიერ. [16]

შთანთქმის სპექტრის შესწავლა საშუალებას იძლევა: განისაზღვროს, თუ რომელი ნივთიერება განაპირობებს შთანთქმას ამა თუ იმ ფოტობიოლოგიურ პროცესში. შთანთქმის სპექტრს იღებენ სპეციალური სპექტროფოტომეტრების საშუალებით. გამოსხივების წყაროდან მიღებული სხივი გადის მონოქრომატორს, საიდანაც გამოსულ სხივს აქვს განსაზღვრული ტალღის სიგრძე. კიუვეტაში მოთავსებულია ოპტიკურად სუფთა გამხსნელი, ხოლო მეორე კიუვეტაში კი - იმავე გამხსნელში გახსნილი საკვლევი ნივთიერება. ნიმუშიდან გამოსული შესუსტებული სინათლის ნაკადი გადაეცემა ფოტოელექტროგამაძლიერებელს, რომელშიც ქვანტის ენერგია გარდაიქმნება ელექტრონულ ენერგიად და იგი ძლიერდება. აქედან ელექტრული იმპულსები გადაეცემა მარეგისტრირებელ ხელსაწყოს, მონაცემები ან აითვლება გალვანომეტრის შკალაზე, ან ჩაიწერება თვითჩამწერზე. სტანდარტული კიუვეტის გამოყენება საშუალებას იძლევა, საკვლევი ნივთიერების სპექტრიდან გამორიცხული იქნას გამხსნელის შთანთქმა.

გამოსხივების ინტენსივობა აღიწერება ლამბერტ-ბუგერ-ბერის კანონით. შთანთქმის სპექტრი წარმოადგენს გრაფიკს, რომელიც აღწერს ოპტიკური სიმკვრივისა D და ტალღის სიგრძის λ დამოკიდებულებას.

სურ.3 Thermoscientific spectrophotometer.

ჩვენს ექსპერიმენტში გამოვიყენეთ 410 და 540 ნმ ტალღის სიგრძეები და შთანთქმა გავზომეთ სურ3.-ზე მოცემული სპექტროფოტომეტრის გამოყენებით.

3. კვლევის ობიექტი

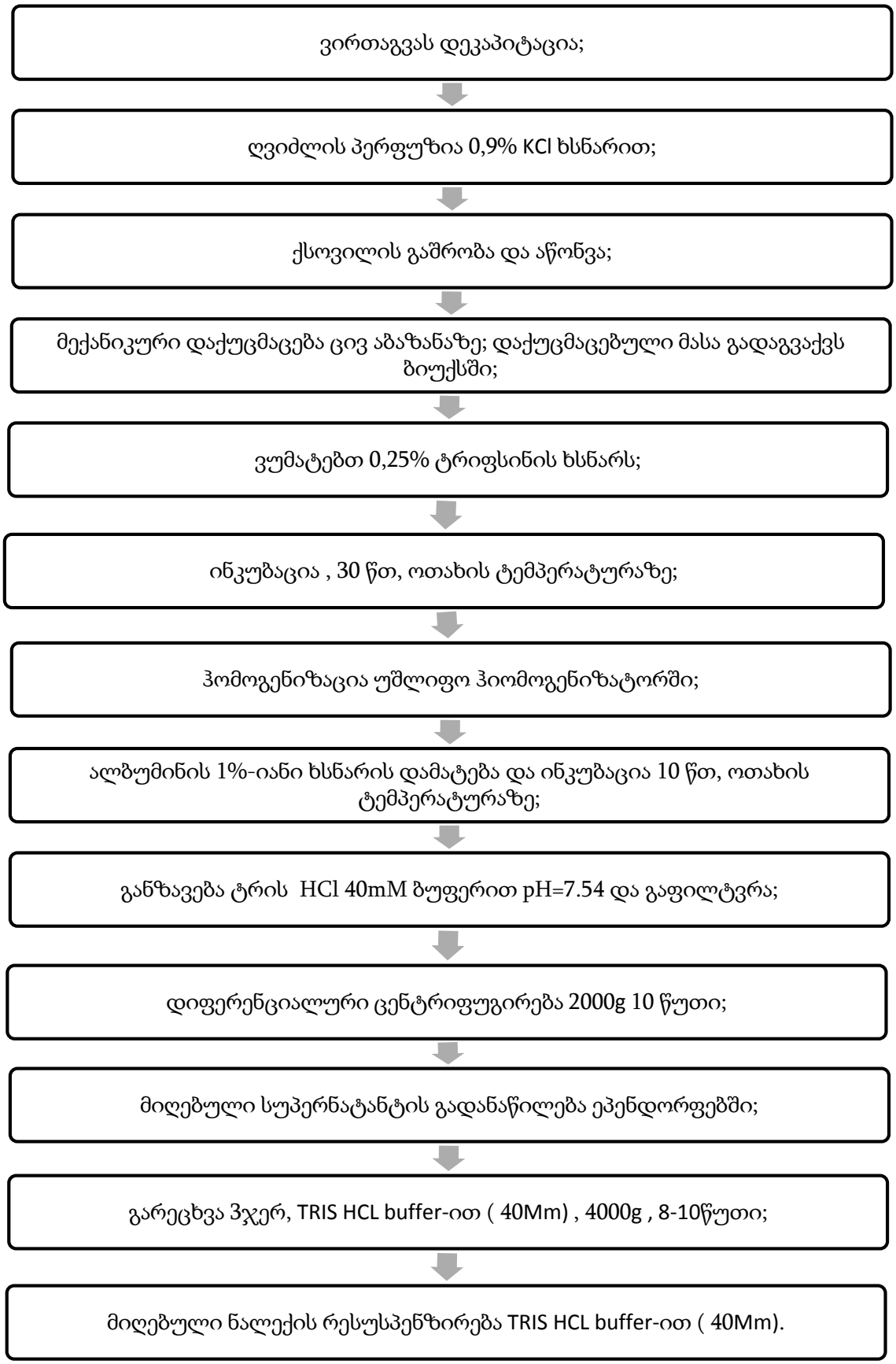
ჩვენი კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა სხვადასხვა ადგილწარმოშობის, კერძოდ ჯიმითისა და ხაშმის საფერავის ჯიშის ყურძნის კანიდან და წიბწიდან გამოყოფილი ფლავანოიდური ფრაქციები, რომელთა გამოყოფაც მოხდა სოქსლეტის აპარატით გამოწვლილვის მეთოდის გამოყენებით.[15]

- F_1 – ჯიმითის წიბწადან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია;
- F_2 – ხაშმის წიბწადან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია;
- F_3 – ჯიმითის კანიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია;
- F_4 – ხაშმის კანიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია.

4. ღვიძლის უჯრედების ფრაქციის გამოყოფა

ღვიძლის უჯრედების ფრაქციის გამოყოფა მოხდა მოზრდილი ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილიდან. ღვიძლის მასა, რომლიდანაც მოხდა საბოლოოდ უჯრედული ფრაქციის გამოყოფა იყო 10 გრამი. უჯრედული ფრაქციის გამოყოფის სქემა მოცემულია სქემა 1-ზე.

სქემა 1. ღვიძლის უჯრედული ფრაქციის გამოყოფა.



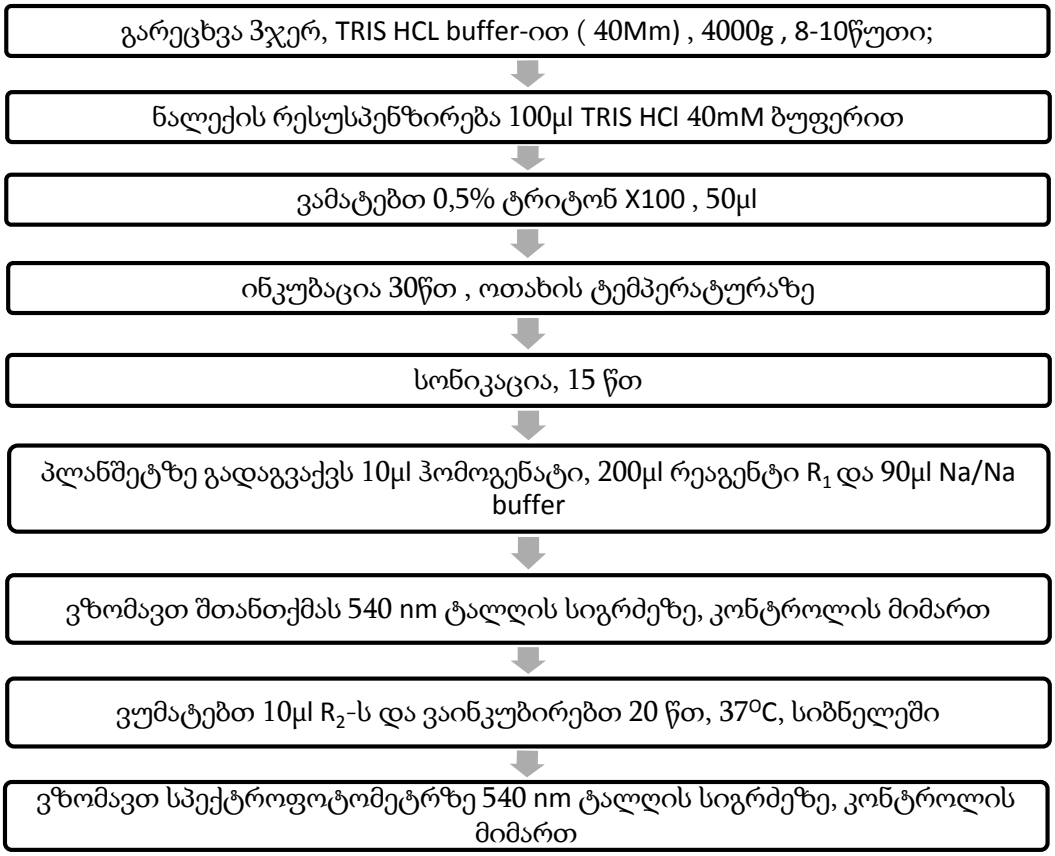
5. ფერმენტ სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობის განსაზღვრა

შემდეგი ეტაპია უჯრედებში ზეჟანგური ჟანგვის ინიცირება რკინის ორვალენტიანი იონების საშუალებით და საკვლევ ნიმუშებთან ინკუბაცია, ცხრილი1-ის მიხედვით. ინკუბაცია გრძელდებოდა 30 წუთის განმავლობაში, 37 ^{O}C-ზე. საკვლევი ნიმუშები გახსნილი იყო სპირტში და ხსნარის სახით ემატებოდა საინკუბაციო არეს.

ცხრილი 1. უჯრედების ინკუბაცია რკინის იონებთან და ფლავანოიდებთან

ცდის ვარიანტი	K	Fe	Flvanoid	Fe+ Flavanoid
უჯრედების სუსპენზია	500mkl	500mkl	500mkl	500mkl
ფლავანოიდი 2mg/ml	____	____	10mkl	10mkl
Fe 100mM საწყისი	____	100mkl	____	100mkl
tris HCl pH=7.54	500mkl	400mkl	490mkl	390mkl

სქემა 2. ფერმენტ სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობის განსაზღვრა სპექტროფოტომეტრული მეთოდით.



მეთოდის პრინციპი მდგომარეობს ნიტროლურჯი ტეტრაზოლიუმის აღდგენის რეაქციის შებოჭვის ხარისხის განსაზღვრაში.[17]

რეაქციის ინტენსივობაზე ვმსჯელობდით I და II მაჩვენებელს შორის სხვაობით.

ფერმენტ სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობას ვითვლიდით 1 მგ ცილაზე **(A mM/მგ ცილა).**

ცილის რაოდენობა დავითვალეთ ლოურის მეთოდით. [18]

6. ფერმენტ კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა

ფერმენტ კატალაზას აქტივობას ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრული მეთოდით. [19] მეთოდის პრინციპი მდგომარეობს იმაში, რომ წყალბადის ზეჟანგი მოლიბდენის მარილებთან ქმნის ჩალისფრად შეფერილ კომპლექსს.

კატალაზას აქტივობის განსაზღვრისთვის 0,1მლ ჰომოგენატს ვუმატებდით 2მლ 0,03%-იან წყალბადის ზეჟანგის ხსნარს და ვაყოვნებთ 10 წთ ოთახის ტემპერატურაზე. რეაქციას ვაჩერებთ 1მლ 4%-იანი ამონიუმის მოლიბდატის ხსნარის დამატებით. სინჯებს ვაცენტრიფუგირებდით 3 000 g–ზე 10წთ . სუპერნატანტის შეფერვის ინტენსივობას (A ცდა) ვზომავდით სპექტროფოტომეტრზე 410 nm ტალღის სიგრძეზე, კონტროლის მიმართ. პარალელურად ვზომავდით შეტანილი ზეჯანგის (0,3%) ამონიუმის მოლიბდატთან წარმოქმნილ შეფერვის ინტენსივობას ($A_{H_2O_2}$). მიღებული სხვაობით ($A_{H_2O_2}$ - A ცდა) ვითვლიდით კატალაზას აქტივობას - გარდაქმნილი მკმოლ H_2O_2/1 მგ ცილაზე წთ-ში.

H_2O_2-**ის** რაოდენობას ვსაზღვრიდით მსგავსად, თუმცა 0,1მლ ჰომოგენატს 0,03%-იანი H_2O_2-**ის** ნაცვლად ვუმატებდით 2მლ H_2O-ს, შემდეგ 1მლ 4%-იან ამონიუმის მოლიბდატს. ცენტრიფუგირების შემდეგ შეფერვის ინტენსივობას ვსაზღვრავდით 410 ნმ ტალღის სიგრძეზე.

სქემა 3. ფერმენტ კატალაზას აქტივობის განსაზღვრის სქემა სპექტროფოტომეტრული მეთოდით.

50 µl ჰომოგენატი გადაგვაქვს სინჯარებში

↓

ვუმატებთ 0,03%-იან H_2O_2-ს - 1მლ-ს

↓

ინკუბაცია 10წთ, ოთახის ტემპერატურაზე

↓

ვუმატებთ 4%-იან ამონიუმის მოლიბდატს 500µl

↓

ვზომავთ სპექტროფოტომეტრზე, 410ნმ ტალღის სიგრძეზე, კონტროლის მიმართ

მიღებული მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება

მონაცემების სტატისტიკური დამუშავებისთვის გამოვიყენეთსტატისტიკური პროგრამა SPSS, კერძოდ , ONE WAY ANOVA, ანუ ერთფაქტორიანი დისპერსიული ანალიზი. კონკრეტულ ჯგუფებს შორის განსხვავების დასაზუსტებლად გამოვიყენეთ ტუკის ტესტი.

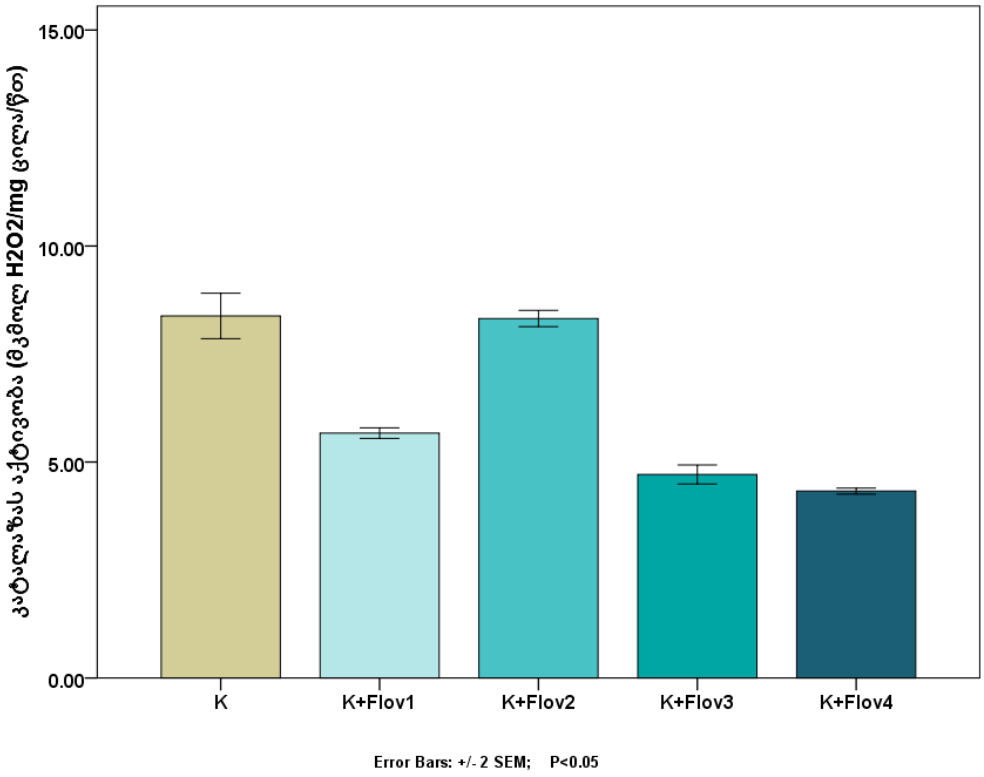
კვლევის შედეგები და მათი განხილვა

დისპერსიულმა ანალიზმა გამოავლინა სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება საკვლევ ჯგუფებს შორის α=0,05, სარწმუნოობის დონეზე (P< 0.05).

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
SODActivity	Between Groups	2082.757	9	231.417	12.997	.000
	Within Groups	1602.542	90	17.806		
	Total	3685.299	99			

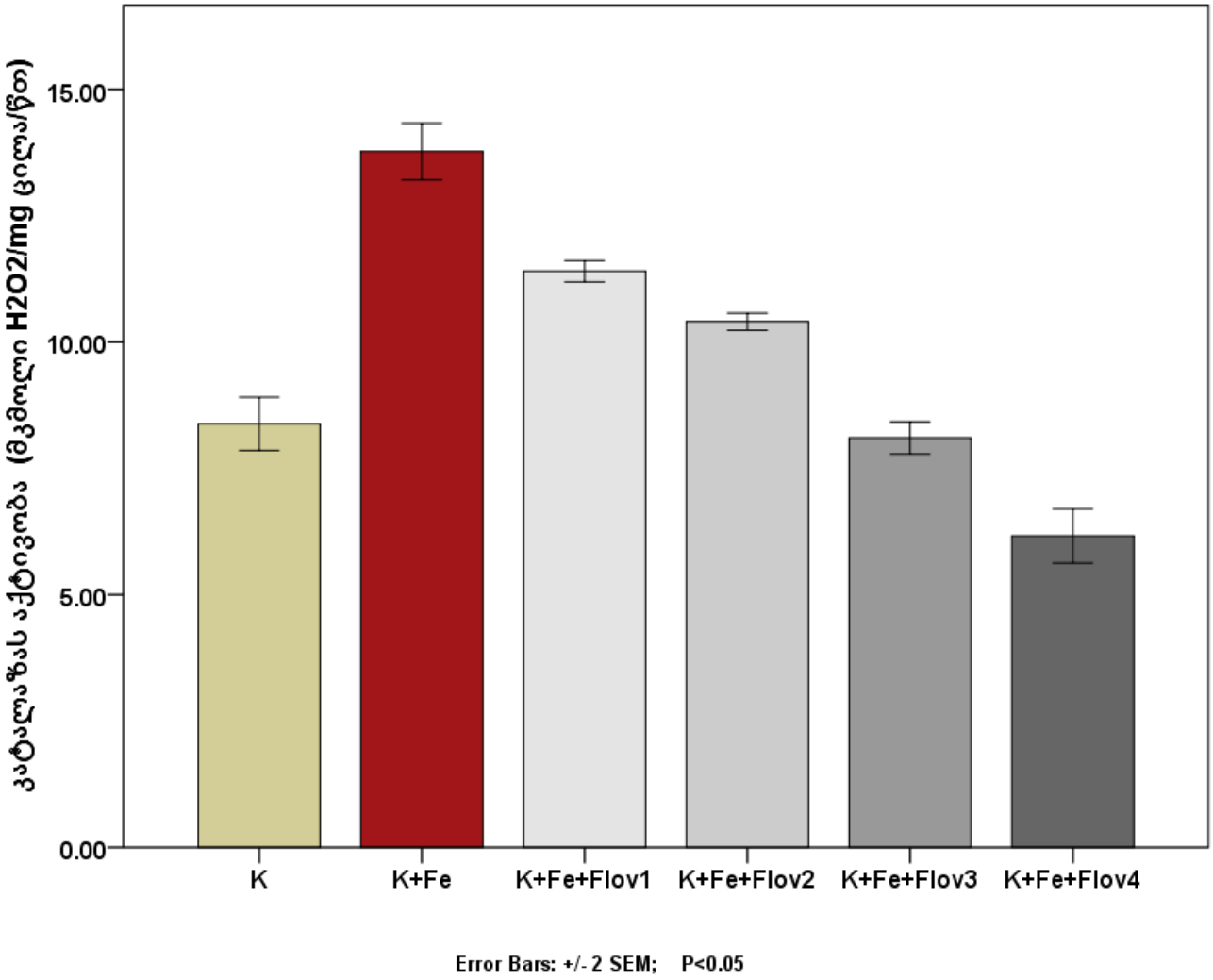
კონტროლის მონაცემების შედარებამ მხოლოდ ფლავანოიდებთან ერთად ინკუბირებულ ნიმუშებთან, სადაც არ გამოგვიწვევია ზეჯანგური ჟანგვა, გვიჩვენა, რომ ფლავანოიდური ფრაქციების დამატება არეში იწვევს ფერმენტის - კატალაზას აქტივობის შემცირებას კონტროლთან შედარებით.



სურ4. ფერმენტ კატალაზას აქტივობა. K-კონტროლი; Flov1 ჯიმითის საფერავის წიბწიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია; Flov2 ხაშმის საფერავის წიბწიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია; Flov3 ჯიმითის საფერავის კანიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია; Flov4 ხაშმის საფერავის კანიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია.

გარდა ამისა, კარგად ჩანს, რომ ხაშმის საფერავის წიბწიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია თითქმის არ ცვლის ფერმენტის აქტივობას. (იხ.სურ4.)

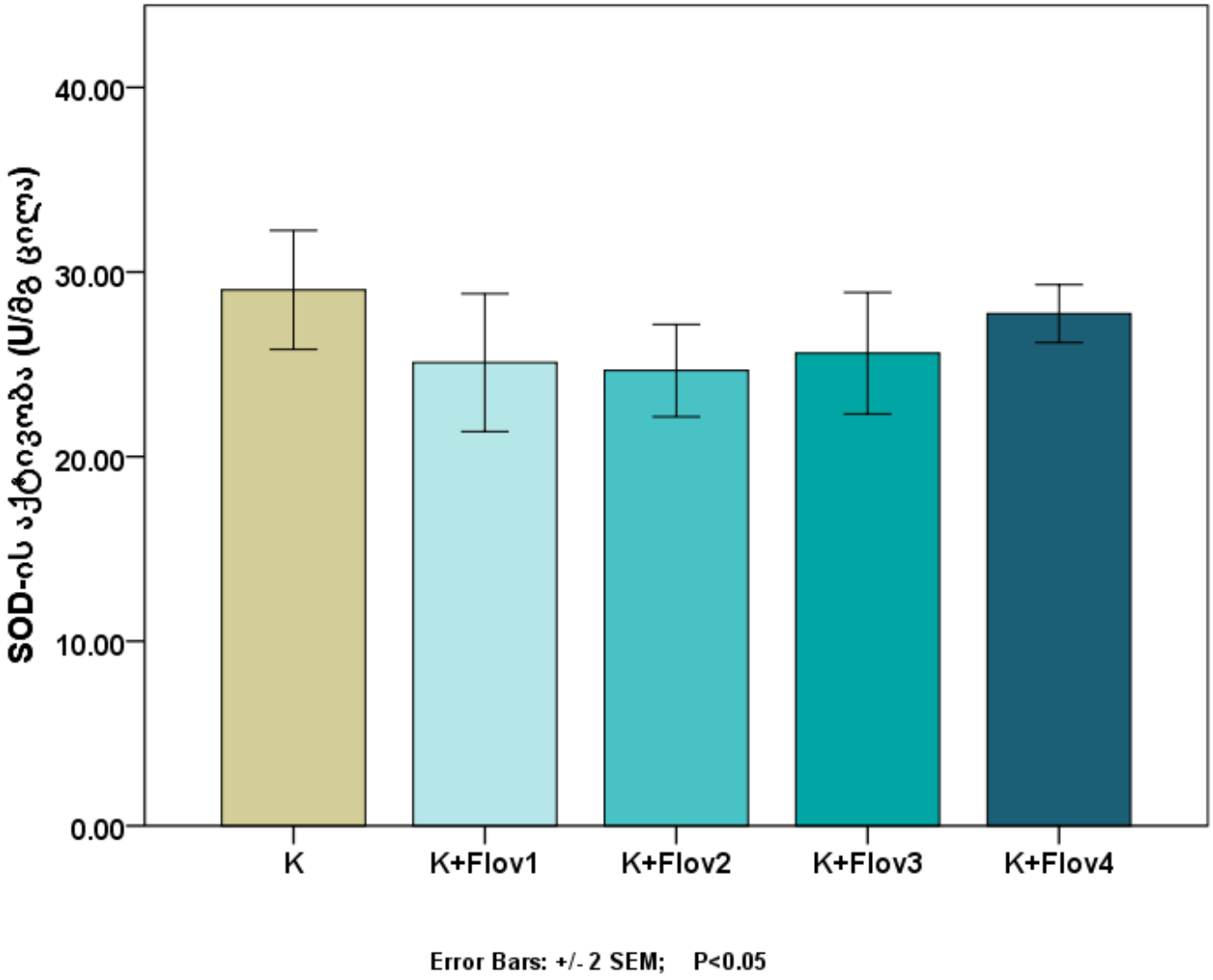
რაც შეეხება რკინასთან და ფლავანოიდურ ფრაქციებთან ერთად ინკუბირებულ ნიმუშებს, შედეგები ასე გამოიყურება :



სურ5. ფერმენტ კატალაზას აქტივობა რკინის ორვალენტიანი იონებით გამოწვეულ ზეჟანგური ჟანგვის მოდელში. K-კონტროლი; Fe რკინის ორვალენტიანი იონი; Flov1 ჯიმითის საფერავის წიბწიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია; Flov2 ხაშმის საფერავის წიბწიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია; Flov3 ჯიმითის საფერავის კანიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია; Flov4 ხაშმის საფერავის კანიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია.

წარმოდგენილი მონაცემებით ჩანს, რომ რკინის ორვალენტიანი იონებით ზეჟანგური ჟანგვის ინიცირების შემდეგ ფერმენტ კატალაზას აქტივობა საგრძნობლად იზრდება კონტროლთან შედარებით. რაც შეეხება ფლავანოიდებთან ინკუბირებულ ნიმუშებს, ამ შემთხვევაში, ფერმენტ კატალაზას აქტივობა სარწმუნოდაა შემცირებული K+Fe-სთან შედარებით და თითქმის გათანაბრებულია კონტროლთან, ხაშმის საფერავის

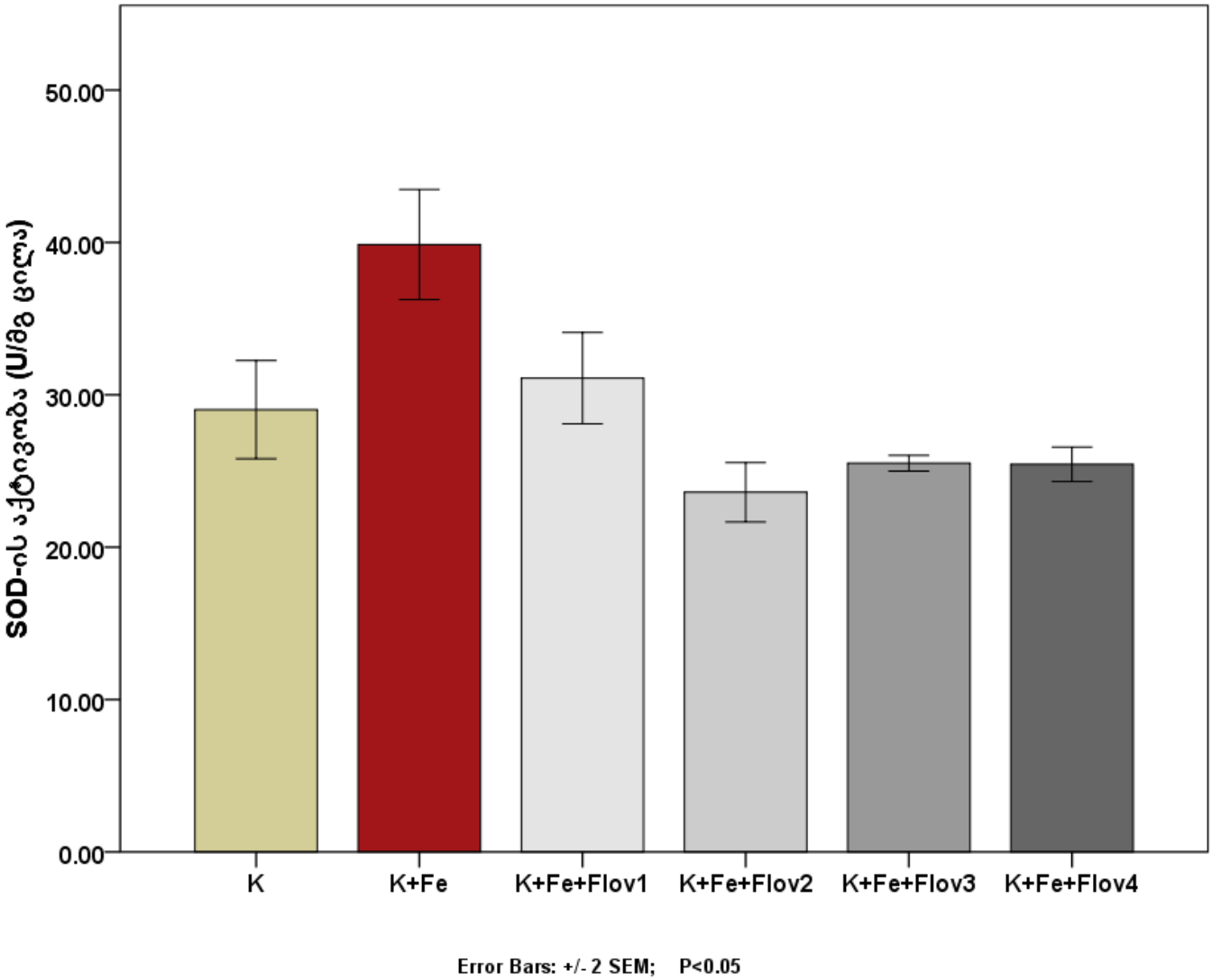
კანიდან გამოყოფილი ფლავანოიდური ფრაქციის შემთხვევაში კი იგი კონტროლის მაჩვენებელზე დაბალია. ჯიმითის და ხაშმის საფერავის კანიდან გამოყოფილი ფლავანოიდური ფრაქციები უფრო მეტად ამცირებენ ფერმენტის აქტივობას, ვიდრე მათი წიბწიდან გამოყოფილი ფლავანოიდური ფრაქციები. (იხ.სურ.5)



სურ6. ფერმენტ სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობა კონტროლსა და მხოლოდ ფლავანოიდებთან ინკუბირებულ სისტემაში. K-კონტროლი; Flov1 ჯიმითის საფერავის წიბწიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია; Flov2 ხაშმის საფერავის წიბწიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია; Flov3 ჯიმითის საფერავის კანიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია; Flov4 ხაშმის საფერავის კანიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია.

როგორც სურ6-დან ჩანს, ფერმენტ სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობაში არ შეინიშნება განსხვავებები კონტროლსა და ფლავანოიდებთან ინკუბირებულ სისტემაში.

განსხვავებული სურათი გვაქვს რკინის იონებით ინიცირებულ ზეჟანგური ჟანგვის მოდელში :



სურ7. ფერმენტ სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობა ორვალენტიანი რკინის იონებით ინიცირებულ ზეჟანგური ჟანგვის მოდელში. K-კონტროლი; Fe რკინის ორვალენტიანი იონი; Flov1 ჯიმითის საფერავის წიბწიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია; Flov2 ხაშმის საფერავის წიბწიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია; Flov3 ჯიმითის საფერავის კანიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია; Flov4 ხაშმის საფერავის კანიდან მიღებული ფლავანოიდური ფრაქცია.

როგორც მონაცემებიდან ჩანს, ფერმენტ სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობა რკინის იონებით ინიცირეულ ზეჟანგური ჟანგვის მოდელში საგრძნობლად გაზრდილია კონტროლთან შედარებით, ხოლო ფლავანოიდურ ფრაქციებთან ინკუბაციის შემტხვევაში ფერმენტის აქტივობა შემცირებულია ზეჟანგური ჯანგვის მოდელთან შედარებით და თითქმის გათანაბრებულია კონტროლთან. (იხ.სურ7)

დასკვნა

სხვადასხვა მიკროზონის საფერავის ჯიშის ყურძნის კანიდან და წიბწიდან გამოყოფილი ფლავანოიდების ფრაქციები, მაღალი ანტიოქსიდანტური თვისებების გამოვლენის ხარჯზე, განსხვავებული ინტენსივობით აკომპენსირებენ ღვიძლის უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების, სუპეროქსიდდისმუტაზას და კატალაზას აქტივობას.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Michael P. MURPHY1. “How mitochondria produce reactive oxygen species.” MRC Dunn Human Nutrition Unit, Hills Road, Cambridge CB2 0XY, U.K. Biochem. J. (2009) 417, 1–13 (Printed in Great Britain) doi:10.1042/BJ20081386
2. В.Г. Артюхов, М.А. Наквасина. Биологические мембраны: “структурная организация, функции, модификация физико -химическими агентами.” издательства Воронежского государственного университета, 2000. Стр. 102-114,247.
3. Malgorzata Stanczyk, Jolanta Gromadzinska and Wojciech Wasowicz: “Roles of reactive oxygen species and selected antioxidants in regulation of cellular metabolism”. Department of Toxicology and Carcinogenesis Nofer Institute of Occupational Medicine Łódź, Poland, International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health, 2005;18(1):15 — 26
4. Assim A. Alfadda and Reem M. Sallam. “Reactive Oxygen Species in Health and Disease.” Hindawi Publishing Corporation Journal of Biomedicine and Biotechnology Volume 2012, Article ID 936486, 14 pages doi:10.1155/2012/936486.
5. Marisa Repetto, Jimena Semprine and Alberto Boveris. “Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination”. http://dx.doi.org/10.5772/45943
6. Soumen Bhattacharjee: “Membrane lipid peroxidation and its conflict of interest: the two faces of oxidative stress” . Plant Physiology and Biochemistry Research Laboratory, Centre for Advanced Study, Department of Botany, University of Burdwan, Burdwan 713 104, India. Current science , vol 107, no. 11, 10 december, 2014.
7. B. Grigorov . “Reactive oxygen species and their relation to carcinogenesis.” Trakia Journal of Sciences, Vol. 10, No 3, pp 83-92, 2012 . Available online at: http://www.uni-sz.bg .
8. Shafaq Noori/ An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System. Open Access Scientific Reports.
9. Thomas D (2004). "Vitamins in health and aging". Clin Geriatr Med 20 (2): 259–74.

10. Øyvind M. Andersen Kenneth R. Markham. „FLAVONOIDS Chemistry, Biochemistry and Applications“. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, FL 33487-2742. © 2006 by Taylor & Francis Group, LLC CRC Press is an imprint of Taylor & Francis Group.
11. Pier-Giorgio Pietta „Flavonoids as Antioxidants“ . *J. Nat. Prod.*, 2000, *63* (7), pp 1035–1042 DOI: 10.1021/np9904509. Publication Date (Web): May 27, 2000
Copyright © 2000 American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy
12. DR. MARK PERCIVAL. „Antioxidants“ NUT031 1/96 Rev. 10/98 CLINICAL NUTRITION INSIGHTS Copyright © 1996 Advanced Nutrition Publications, Inc., Revised 1998
13. Renaud S, de Lorgeril M (June 1992). "Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease".
14. Folts JD: „Potential health benefits from the flavonoids in grape products on vascular disease. Adv Exp Med Bio. 2002;505:95-111.
15. Jonathan M. Hodgson:“ Red wine flavonoids and vascular health“. Nutrition and Aging 2 (2014) 139–144 DOI 10.3233/NUA-130026 IOS Press. School of Medicine and Pharmacology, University of Western Australia, Western Australia, Australia.
16. დავით ძნელაძე „ბიოტექნოლოგიის კვლევის თანამედროვე მეთოდები და აპარატურა“, თბილისი 2011;
17. Navneet Omprakash Soni;” ANTIOXIDANT ASSAY IN VIVO AND VITRO”. International Journal of Phytopharmacology.
18. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R., j. Protein measurement with the Folin phenol reagent. // J. Biol. Chem., 1951, Vol. 193, P. 265-275.
19. Higesh T., 1963; Hook D., 1997.