

თ.სანიკიძე, ი.ჩხიკვიშვილი, ლ.ჩატიანი, ი.დათუნაშვილი,  
თ.მკედლიშვილი, ნ.გოგია, მ.მაჭავარიანი, მ.ენუქიძე, მ.გამყრელიძე



# პოლიფენოლებით მდიდარი ქართული სანელებლები

ანტიოქსიდანტური აქტივობის შესწავლა  
მოდელურ სისტემაში Jurkat  
უჯრედების კულტურაზე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის  
სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი

თ. სანიკიძე, ი. ჩხიკვიშვილი, ლ. რატიანი,  
ი. დათუნაშვილი, თ. მჟიფლიშვილი, ნ. გობია,  
მ. მაჭავარიანი, მ. ენუქიძე, მ. გამყრელიძე

**პოლიფენოლებით მდიდარი ქართული  
სანელებლები**  
ანტიოქსიდანტური აქტივობის შესწავლა მოდეულურ  
სისტემაში Jurkat უჯრედების კულტურაზე

*(GNSF პროექტი N 381*

დაფინანსებულია შოთა რუსთაველის ეროვნული  
სამეცნიერო ფონდის მიერ)

**რედაქტორი – მედიცინის დოქტორი,  
პროფესორი მ. გიორგობიანი**

**რეცენზენტი – მედიცინის დოქტორი ლ. გაბუნია**

დასავლურ ქვეყნებში მოსახლეობის სიკვდილობის 50% გულსისხლძარღვთა დაავადებებით, ხოლო 25% ავთვისებიანი სიმსივნეებითაა განპირობებული. ქვეყნის განვითარების დონის მიუხედავად, ავთვისებიანი სიმსივნეები მთელი მსოფლიოს მნიშვნელოვანი პრობლემაა როგორც მოსახლეობის ჯანმრთელობის, ისე ხოციალური თვალსაზრისითაც. ამჟამად ყოველ წელიწადში ავთვისებიანი სიმსივნის დაახლოებით 10 მილიონი ახალი შემთხვევა დისგნოსტირდება. დასავლეთ ევროპაში და აშშ-ში გაერცელების მიხედვით მეორე ადგილი კოლორექტალურ კიბოს უკავია – მამაკაცებში ფილტვის კიბოს, ხოლო ქალებში სარძევე ჯირკვლის კიბოს შემდეგ (Boyle P, Langman JS., 2000; *Statistics for 2006. City of publication: American Cancer Society, 2006*). მთელ მსოფლიოში სწრაფად იზრდება კოლორექტალური კანცერის შემთხვევათა რიცხვი.

კოლორექტალური კიბო მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყნებში არათანაბრადაა გაერცელებული; სხვადასხვა პოპულაციებში დროის განმავლობაში მისი დონე, აგრეთვე, იცვლება. აშშ-ში კოლორექტალური კიბო უფრო მეტად გაერცელებულია აფრო-ამერიკელებს შორის თეთრკანიან ამერიკელებთან შედარებით.

კოლორექტალური კიბოს ეთნიკური და რასობრივი თავისებურებანი, ასევე ემიგრანტებზე ჩატარებული კვლევები ამ დაავადების ეტიოლოგიაში გარემომცველი ფაქტორების მნიშვნელოვანი როლის შესახებ მეტყველებს. ევროპაში, ან აშშ-ში დაბადებული ებრაელი მამაკაცები იმყოფებიან კოლორექტალური კიბოს განვითარების გაცილებით მაღალი რისკის ქვეშ, აფრიკასა და აზიაში დაბადებულებთან შედარებით. აშშ-ში მიგრირებული იაპონელების

შთამომავლობაში კოლორექტალური კიბოს შემთხვევათა რიცხვი აჭარბებს იგივე პოპულაციის თეთრ მოსახლეობაში ფიქსირებულ სიხშირეს და 3-4 ჯერ უფრო მაღალია, ვიდრე იაპონიაში მცხოვრებ იაპონელებში (Boyle P, Langman JS. 2000). მსგავსი მიზეზების გამო კოლორექტალური კიბო “გარემო პირობებით” - კულტურული, სოციალური პირობებით და ცხოვრების წესით - განპირობებულ დაავადებად არის მიჩნეული. უკანასკნელი განაპირობებს კოლერექტალური ნეოპლაზიის მიზეზების სწრაფი იდენტიფიკაციისა და დაავადების პრევენციის თეორიული შესაძლებლობის არსებობას. კოლორექტალური კიბოს პრევენციის წარმატებულობა დამოკიდებულია იმ რისკ-ფაქტორების იდენტიფიკაციაზე, რომლებიც ამ დაავადების სიხშირის ზრდასთანაა ასოცირებული. მრავალი ეპიდემიოლოგიური კვლევით დადგინდა, რომ კოლორექტალური კიბოს განვითარების რისკ-ფაქტორებს მიეკუთვნება: ასაკი, კვება, მემკვიდრეობა, ცხოვრების წესი, წყლულოვანი კოლიტის განვითარება (American Institute for Cancer Research, 1997; World Health Organization, 2003; Potter, J. D., 1993; Howe, G. R., et al., 1992; Howe, G. R., et al., 1997; World Cancer Research Fund, 1997). კვლევების თანახმად, კოლორექტალური კიბოს რისკი იზრდება ცხიმით (განსაკუთრებით ცხოველური წარმოშობის ცხიმით) მდიდარი და კალციუმით, ფოლატებით და ბოტკოთი ღარიბი კვების ფონზე (World Cancer Research Fund, 1997; Potter, J. D, 1993; Howe, G. R., et al., 1992; Chao A, et al., 2005). აქვე აღსანიშნავია, რომ სხვადასხვა დიეტურ მოდელებში ძნელია საჭმელის სხვადასხვა კომპონენტების ბიოლოგიური ურთიერთქმედების გათვალისწინება (Dixon L. B., et al., 2004). კვლევები მიანიშნებს, რომ სხვადასხვა ქვეყნებში კოლორექტ-

ტალური კიბოს გავრცელების მხრივ არსებული სხვაობა სწორედ კვების განსხვავებული ჩვევებით შეიძლება აიხსნას (*World Health Organization, 2003*).

ბოლო დროს ევროპაში ჩატარებულ კანცეროგენეზისა და კვების პროსპექტულ კვლევამ (EPIC) გამოავლინა მნიშვნელოვანი დადებითი კორელაციები ხორცის მოხმარების ინტენსივობასა და კოლორექტალური, კუჭისა და სხვა ტიპის ავთვისებიანი სიმსივნეების განვითარებას შორის. არსებობს მოსაზრება, რომ წითელი ხორცის, ან ხორცის პროდუქტებში შემცველი ცხოველური ცხიმის დაშლის (პიროლიზის) ტოქსიკური პროდუქტები, რომლებიც წარმოიქმნება თერმული დამუშავების პროცესში, ასრულებენ ოქსიდაციური დაზიანების კატალიზატორის როლს და მონაწილეობენ სხვადასხვა ტიპის ავთვისებიანი სიმსივნეების, მათ შორის, კოლორექტალური კიბოს ინიციაციაში (*de Kok, T. M., et al., 2000*). პოტენციურად მავნე ოქსიდაციური ნაერთების წარმოქმნა იწყება ხორცის თერმული დამუშავებისას და გრძელდება კუჭში საკვები კომპონენტების ინტენსიური პეროქსიდაციის პროცესში. ცხოველური ცხიმის პიროლიზის დროს წარმოიქმნება პოლიციკლური არომატული ჰიდროკარბონები და არილური ამინები, რომლებსაც შეუძლია ზემოქმედება მოახდინოს მუტაციების სიხშირესა და კოლონოციტების ნორმალურ დიფერენციაციაზე, და ხელი შეუწყოს კოლორექტალური კიბოს განვითარებას. უფრო მეტიც, კოლორექტალური კიბოს სტიმულაცია და აქტივაცია ხორცის და სხვა ჰემშემცველი ნაერთების მოხმარების შედეგად ექსპერიმენტულად იქნა დემონსტრირებული.

რიგი კვლევებისა განიხილავს მექანიზმს, რომლის მიხედვით მაღალი რისკის მატარებელი საკვები

პროდუქტები ხელს უწყობს მსხვილი ნაწლავის კიბოს წინამორბედ ლოკალურ დაზიანებათა განვითარებას. ეს მექანიზმი გულისსმობს გარკვეულ კერებში ნორმალური ეპითელური უჯრედების ბარიერული ფუნქციის მოშლას, რაც ბოლომდე დაუდგენელი გზით კეროვანი ანთებითი პროცესის განვითარებასა და ქანგბადის რეაქციული ნაერთების ლოკალურ გამონთავისუფლებას იწვევს; ეს კი როგორც ნორმალურ, ასევე დაზიანებულ უჯრედებში პროლიფერაციის, მუტაციის ინტენსიფიკაციას განაპირობებს და კოლორექტალური კანცეროგენუზისათვის დამახასიათებელ ონკოგენების აქტივაციას და სუპრეხორული გენების დათრგუნვას უწყობს ხელს.

ცხოველური ცხიმი ნაჯერი და უჯერი ცხიმოვანი მჟავეებითაა წარმოდგენილი. უჯერი ცხიმოვანი მჟავეები ადვილად ექვემდებარება ოქსიდაციურ მოდიფიკაციას და, შესაძლოა, მონაწილეობს კოლორექტალური კანცეროგენუზის კერების განვითარებაში (Roche, H. M., and Gibney, M. J., 1999; Paulsen, J. E., et al., 1998): ლიპიდები შეადგენს ეპითელური ბარიერული მემბრანების დიდ ნაწილს და კვების რაციონში მათი მაღალი შემცველობა, შესაძლოა, ხელს უწყობს კოლონოციტების ტერმინალურ ლიფერენციაციას (Bach, S. P., et al., 2000).

კუჭნაწლავის ტრაქტში ცხოველური ცხიმის დაშლა ხორციელდება ნაღვლის მჟავების მონაწილეობით; ეპიდემიოლოგიური კვლევების თანახმად, გამომჟღავნდა მჭიდრო კორელაცია ნაღვლის მჟავების ექსკრეციასა და კოლორექტალურ კიბოს შორის. ნაღვლის მჟავები კოლორექტალური კანცეროგენუზის მნიშვნელოვან ფაქტორად განიხილება (Bernstein et al., 1999). მაღალცხიმოვანი საკვების მოსმარების შემდეგ მსხვილი ნაწლავის შიგთავსში

ნადვლის მქავეების მაღალმა შემცველობამ შეიძლება მსხვილი ნაწლავის ეპითელიური უჯრედების აპოპტოზის ინტენსიფიკაცია გამოიწვიოს. კელევები უჩვენებს, რომ ნადვლის მარილები ასტიმულირებს ნაწლავური ეპითელიუმის პროლიფერაციულ აქტივობას, რაც შესაძლოა დაკავშირებული იყოს ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების გენერაციის გაძლიერებასთან ნადვლის მარილების მიერ ინდუცირებული ფოსფოლიპიდების დაშლის პროცესში (Craven P. A., et al., 1986). კორელაცია ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების გაძლიერებულ გენერაციასა და ნაწლავური ეპითელიუმის პროლიფერაციულ აქტივობას შორის გამოვლენილ იქნა, აგრეთვე, რელევანტური ნაწლავური ანთების პროცესების დროს გამოვლენილი პროლიფერაციული აქტივობის ზრდის შემთხვევაშიც. კელევები მიუთითებს, ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების მედიატორულ როლზე ნადვლის მარილებით ინდუცირებულ ნაწლავების ლორწოვანი გარსის პროლიფერაციული აქტივობის ზრდაში.

განსაკუთრებულ ინტერესს წარმოადგენს აზოტის ჟანგის (NO) როლი კოლორექტალური კანცეროგენეზის პათოგენეზში. უმარტივესი მოლეკულა აზოტის ჟანგი ცნობილია, როგორც სისხლის რეოლოგიური თვისებების ენდოგენური რეგულატორი (Ignarro L.J., 2002), ასრულებს უმნიშვნელოვანესი სასიგნალო მოლეკულის როლს უჯრედის სასიცოცხლო ფუნქციების რეგულაციაში, მაგრამ განსაზღვრულ პირობებში, აგრეთვე, უჯრედის დაზიანების პოტენციური მედიატორია (Pacher P, et al., 2007). NO ურთიერთქმედებს სუპეროქსიდრადიკალთან პეროქსინიტრიტის წარმოქმნით, რომელიც პირდაპირი ოქსიდაციური რეაქციების და არაპირდაპირი რადიკალ-გაშუალებული მექანიზმების საშუალებით ლიპიდების,



დნმ-ისა და ცილების მოდიფიკაციას ახდენს. NO, როგორც საკვანძო სასიგნალო მოლეკულა ფიზიოლოგიური და პათოლოგიური პროცესების დროს მონაწილეობს უჯრედების ფუნქციების რეგულაციაში სამიზნე მოლეკულების (ცილების, თიოლემბის) და მათ შორის კასპაზების ნიტროზილირების მეშვეობით; აპოპტოზის რეგულაციაში NO-ს მნიშვნელოვანი როლის შესახებ მრავალი კვლევა მოწმობს. ბოლო დროს გამოქვეყნებული კვლევების შედეგები უჩვენებს, რომ ენდოთელურ NO სინთაზასაც კი შეუძლია სიმსივნესთან დაკავშირებული პროცესების - ანგიოგენეზის, აპოპტოზის, უჯრედული ციკლის, ინვაზიისა და მეტასტაზების განვითარების მოდულირება (Hirst D, Robson T., 2007, Ying L, Hofseth LJ., 2007). უფრო მეტიც, NO-ს შეუძლია პოტენციურად გაზარდოს რადიო- და ქემოთერაპიის ეფექტურობა, მაგრამ ასეთი სტრატეგია მოითხოვს NO-ს შესაბამისი კონცენტრაციის მიღწევას (Hirst D, Robson T., 2007; Rao CV., 2004; Dall'Agnol M, et al., 2006).

დადგენილია, რომ ნადველის მჟავების მაღალი ფიზიოლოგიური კონცენტრაციები *in vitro* (0.5 mM) ხელს უწყობენ ნიტროთიროზინული ნაშთების ფორმირებას, რაც აზოტის რეაქტიული ნაერთების, მათ შორის პეროქსინიტრიტის გაძლიერებულ წარმოქმნას განაპირობებს (Washo-Stultz D. et al., 1999). ეს მონაცემები მეტყველებს აზოტის ჟანგისა და სუპეროქსიდ ანიონის როლზე ნადველის მჟავებით ინდუცირებული აპოპტოზის განვითარებაში, და გვაფიქრებინებს, რომ NO შესაძლებელია პასუხისმგებელი იყოს უჯრედების აპოპტოზის მიმართ რეზისტენტობაზე. აღსანიშნავია, რომ კოლორექტალური კიბოს მქონე პაციენტების მსხვილი ნაწლავის ნორმალურ ეპითელურ უჯრედებს უფრო მაღალი რე-

ზისტენტობა გააჩნია ნაღელის მუცავებით ინდუცირებული აპოპტოზის მიმართ, ვიდრე ჯანმრთელი ადამიანების მსხვილი ნაწლავის ეპითელურ უჯრედებს (Craven P. A., et al., 1986) რაც, შესაძლოა, განპირობებულია კოლონოციტების მალიგნიზაციის მოვლენებით, NO-სინთაზური სისტემის აქტიუობასა და NO-ს ოქსიდაციური ინაქტივაციის პროცესებს შორის დამოკიდებულების არსებობით.

უჯრედების სიკვდილ-სიცოცხლის რეგულაციას მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება სხვადასხვა დაავადებების მკურნალობისათვის. აპოპტოზი – უჯრედის სიკვდილის აქტიური, ორგანიზებული ფორმაა, ჯანმრთელ ქსოვილში მოქმედებს, როგორც უჯრედთა რაოდენობისა და ხარისხის მაკონტროლებელი მექანიზმი და ჰომეოსტაზის შენარჩუნებას უზრუნველყოფს. აპოპტოზის მეშვეობით ხდება გადაგვარებული, ფუნქციურად ინაქტივირებული უჯრედების ელიმინაცია. სხვადასხვა ფაქტორების ზემოქმედებით აპოპტოზის მექანიზმებისა და პროცესის დარღვევა მძიმე დაავადებებს იწვევს. ნეიროდეგენერაციულ, იშემიურ, სისხლის დაავადებებს, ღვიძლის ციროზს, შექნილ იმუნოდეფიციტის სინდრომს, გასტრიტსა და *Helicobacter pylori*-ით ინდუცირებულ კუჭის წყლულს საფუძვლად აპოპტოზის ინტენსივობის ზრდა და ამ გზით უჯრედთა გაძლიერებული დაღუპვა უდევს. აპოპტოზის ინტენსივობის დათრგუნვამ კი შეიძლება გამოიწვიოს კანცეროგენეზი და ხელი შეუწყოს აუტოიმუნური დაავადებების განვითარებას.

სრულიად აშკარაა, ჩამოთვლილ დაავადებათა ეფექტური მკურნალობისათვის დიდი მნიშვნელობა ენიჭება ისეთ პრეპარატებს, რომლებსაც აპოპტოზის ინტენსივობაზე მოქმედების უნარი გააჩნია. აპოპტოზის სასიგნალო გზებში მონაწილე მოლეკულათა

სიმრავლე და აპოპტოზის მარეგულირებელი მექანიზმების მრავალფეროვნება თერაპიული მიზნებით აპოპტოზის მოდულაციის ფართო საშუალებას იძლევა. ამდენად სხვადასხვა ქსოვილებში და უჯრედებში აპოპტოზის მექანიზმების შესწავლა აუცილებელია მისი რეგულაციის მეთოდების შემუშავებისათვის.

მთელ მსოფლიოში კოლორექტალური კანცეროგენეზის გაერცვლების და ლეტალობის მზარდი ტენდენცია ამ დაავადების პრევენციისათვის ახალი ეფექტური მეთოდების ძიების აუცილებლობას განაპირობებს. გროვდება სულ უფრო მეტი მონაცემი იმის შესახებ, რომ კვებითი ჩვევების შეცვლა კიბოს რისკის შემცირებისა და სიმსივნეთა ბიოლოგიური “ქცევის” მოდიფიცირების ეფექტურ და შედარებით იაფ გზას წარმოადგენს. ახალ ეფექტური მეთოდებს შორის ბოლო წლებში განსაკუთრებული ყურადღება ეძღვნება ნატურალური, ან სინთეტიკური კვებითი აგენტების გამოყენებას. კვებითი რაციონის კორექცია, მცენარეული პროდუქტებით გამდიდრება ხშირად ხელს უწყობს კოლორექტალური კანცეროგენეზის რისკის შემცირებას და სიმსივნეების ბიოლოგიური თვისებების მოდიფიკაციას (*Milner JA., 2004; Liu RH., 2003; Davis CD., 2007*).

ცნობილია, რომ მცენარეებში ფიტოქიმიურ ნივთიერებათა ფართო სპექტრი სინთეზირდება, მათ შორის, ფლავონოიდები, პოლიფენოლები და ანტოციანინები, რომლებიც პათოგენების მიმართ მცენარეთა რეზისტენტობას უწყობს ხელს. თითოეული ეს ფიტოქიმიური ნაერთი სიმსივნის/ კიბოს განვითარების ძლიერი ინჰიბიტორია (*Rodrigo R., Bosco C., 2005; Auger C. et al. 2005; Pignatelli P. et al., 2005; Daroch F. et al., 2001; Kim M. et al., 2005*), მაგრამ ამავე დროს

სრულიად უვნებელია ნორმალური უჯრედებისათვის. ფიტოქიმიური ნაერთების დიფერენცირებული ზემოქმედება ნორმალურ და მალიგნიზირებულ უჯრედების მიმართ განპირობებულია მათ მიერ სიმსივნური უჯრედების აპოპტოზის ინდუცირების უნარით და ამავე დროს ნორმალურ უჯრედებში მეტაბოლური რეაქციების რეგულაციისა და დეტოქსიკაციური სისტემების გააქტივების უნარით. ეს თვისებები განაპირობებს კანცეროგენების პრევენციისათვის ფიტოპრეპარატების გამოყენებისადმი მეცნიერთა მზარდ ინტერესს (*Fini L, et al., 2007; Linsalata M, Russo F. 2008 Kahle K, et al., 2007; Patel R, Ingle A., 2008; Fini L, et al., 2008 Tabernero M, et al., 2007; Rudolf E, et al., 2007; Corona G, et al., 2007; Kahle K, et al., 2006; Pajak B, et al., 2005*).

მართალია, ავთვისებიან სიმეიწებთან ბრძოლის მიზნით განსაზღვრული პროდუქტებისა და მათი ბიოაქტიური კომპონენტების მოხმარება გონივრულ, არაინვაზიურ და იაფ სტრატეგიად ისახება, ეს სულაც არ გახლავთ მარტივი პროცესი (*Milner JA., 2004*). ადამიანები ყოველდღიურად ათასობით ნაერთს მოიხმარენ და ძალზე მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენს მათ შორის კრიტიკული კომპონენტების იდენტიფიცირება. უფრო მეტიც, საკვების შემადგენელი გარკვეული კომპონენტების შესახებ რაოდენობრივი ინფორმაციის სიმცირე აფერხებს იმის გარკვევას, თუ რომელი კომპონენტებია ყველაზე მნიშვნელოვანი. თუმცა დადგენილია, რომ ადამიანი 5000-ზე მეტ ინდივიდუალურ ფლაავონოიდს მოიხმარს, მხოლოდ მცირე-ოდენი მათგანი იქნა შემოწმებული სიმსივნის საწინააღმდეგო ეფექტზე (*Milner JA., 2004*). სამწუხაროდ, ბევრი კვებითი ფიტოქიმიური ნაერთი ჯერ კიდევ არ არის სათანადოდ დახასიათებული და ეს ხელს უშლის ჯან-

მროთელობის განსაზღვრაში დიეტის ჭეშ-მარიტი როლის დადგენას. საკვებ პროდუქტში სხვადასხვა კომპონენტებს შორის ურთიერთქმედება შესაძლოა ახსნა იმისა, თუ რატომ იძლევა ხოლმე იზოლირებული კომპონენტები თავად პროდუქტისაგან განსხვავებულ ბიოლოგიურ ეფექტს (Davis CD, 2007).

რადგან კვების რაციონის მოდიფიცირებას დიდი პოტენციალი გააჩნია კოლორექტალური კიბოს რისკის შემცირების მხრივ, სარწმუნო ბიომარკერები მნიშვნელოვნად შეუწყობდა ხელს კვლევებს ამ სფეროში. ასეთი ბიომარკერების მეშვეობით შესაძლებელი გახდება კვების რაციონის ცვლილების ბიოლოგიური ეფექტის შეფასება, და ამ უკანასკნელის მექანიზმში გარკვევა; ბიოაქტიური კომპონენტების ისეთ კონცენტრაციათა განსაზღვრა, რომლებიც ეფექტურად აღწევს სამიზნე ქსოვილებს; ასევე იმ პაციენტთა კატეგორიის იდენტიფიკაცია, რომლებიც უფრო მგრძობიარეა კვების რაციონის ცვლილების მიმართ.

ეკონომიკურ-სოციალურ სფეროში დაძაბულობის მიუხედავად, საქართველოს მოსახლეობის სიცოცხლის ხანგრძლივობა ყველაზე დიდია პოსტ-საბჭოურ ქვეყნებს შორის, ხოლო 100 წლის ასაკს გადაცილებული პირების პროცენტული რიცხვი ერთ-ერთი ყველაზე მაღალია მსოფლიოში. საქართველო და ზოგადად სამხრეთ კავკასიის რეგიონი წარმოადგენს “გადახრას” იმ საერთო სურათზე, რომელიც მსოფლიოში კოლორექტალური კიბოსა და წითელი ხორცის მოხმარების გაერცვლებას ასახავს. კერძოდ, ამ რეგიონში კოლორექტალური კიბოს სიხშირე შედარებით დაბალია წითელი ხორცის საკმაოდ უხვი მოხმარების მიუხედავად (The World Factbook – 2007). მაგ. ხორცის მოხმარება თითქმის ერთნაირი

მოცულობისაა გერმანიასა და საქართველოში, მაგრამ ამ უკანასკნელში კოლორექტალური კიბო 4-5 - ჯერ ნაკლებად არის გავრცელებული. საქართველოში ჩატარებული ეპიდემიოლოგიურ კვლევათა მონაცემები ეწინააღმდეგება მსოფლიოს ჯანმრთელობის სტატისტიკის ძირითად კანონზომიერებებს, კერძოდ კორელაციას მთლიან ნაციონალურ პროდუქტსა და დღეგრძელობას შორის, და ხორცის მოხმარებასა და კოლორექტალურ კიბოს შორის (Lindstrom C, Lindstrom M., 2006; *The World Factbook* – 2007), და წარმოადგენს “ქართული დღეგრძელობის” სახელწოდებით ცნობილ “საქართველოს პარადოქსს”, რაც შესაძლოა, ქართული კვების თავისებურებებთან და ქართულ საკვებ პროდუქტებში ბიოაქტიური ნივთიერებების მაღალ შემცველობასთან იყოს დაკავშირებული (Fox Shaffer, 2004). ამ მოსაზრების სასარგებლოდ მეტყველებს მონაცემები საქართველოს დიდი ქალაქების ინდუსტრიალიზაციის შემდგომი მოსახლეობის დასავლეთის უნიფიცირებულ კვებაზე გადასვლის შემდეგ ამ პოპულაციებში დღეგრძელობის შემცირების შესახებ (Fox Shaffer, 2004; Liliashvili et al., 2003).

სამეცნიერო ლიტერატურაში თითქმის არ არსებობს მონაცემები ქართული ტრადიციული საკვები პროდუქტების დადებითი თვისებებისა, მათი მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების შესახებ. ქართულ ტრადიციულ სამზარეულოში ხორცეული კერძების მრავალი სახეობა გამოირჩევა როგორც მომზადების, ასევე მირთმევის პროცესში მრავალფეროვანი სანელებლებისა და საკმაზების გამოყენებით (მათ შორის ღვინო, ბროწეულის წვენი, ტყემალი, აჯიკა, ხმელი სუნელი და სხვა). შესაძლოა,

ქართული სამზარეულოს ეს თავისებურებები წარმოადგენს კავკასიური დღეგრძელობის საიდუმლოს.

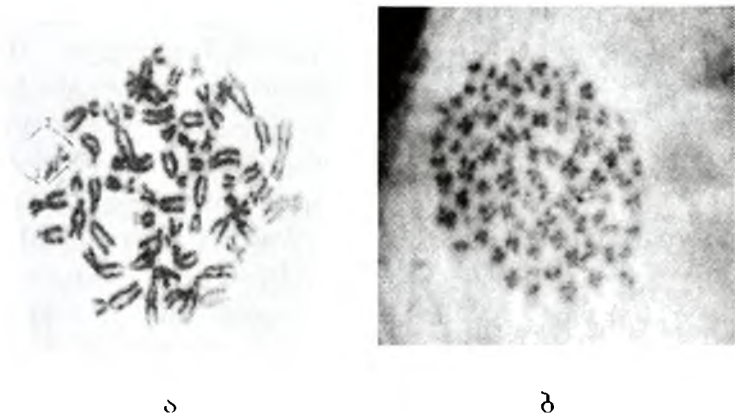
**ჩვენი სამუშაო პიპოტეზა მდგომარეობს იმაში რომ ტრადიციული ქართული სანელებლები და საკმაზები, რომლებიც გამოიყენება ხორცის მომზადების და მოხმარების დროს, თავის ანტიოქსიდანტური თვისებების გამო ქართული სამზარეულოს (ხორციანი კერძების) უვნებლობას განაპირობებს.**

აქედან გამომდინარე, მიზნად დავისახეთ ცხოველქმედებისათვის მნიშვნელოვან პროცესებზე (აპოპტოზი, იმუნური აქტივობა, თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვა და ა.შ.) ქართული სამზარეულოს სხვადასხვა ხორცის სანელებლებისა და საკმაზების შემოქმედების მექანიზმების შესწავლა *in vitro* მოდელურ სისტემებზე.

ანტიკანცეროგენულ პრეპარატთა უმეტესობის მოქმედების მექანიზმი მათ მიერ სამიზნე უჯრედებში პროგრამირებული სიკვდილის – აპოპტოზის ინდუცირების უნარს უვაკშირდება (Hannun YA., 1997). ანტისიმსივნური ქიმიოთერაპიის ერთ-ერთი მიმართულებაა სწორედ ისეთი პრეპარატების განეითარება, რომლებიც შერჩევითად აინდუცირებს აპოპტოზს. ანტიკანცეროგენული მოქმედების მქონე სინთეტიური და ბუნებრივი პრეპარატების პირველადი შერჩევის მიზნით ფართოდ გამოიყენება მათი ტესტირება სიმსივნური უჯრედების კულტურებზე *in vitro*. ამ მხრივ, Jurkat უჯრედების კულტურა შესაფერისი მოდელია.

## Jurkat უჯრედები

Jurkat უჯრედები პირველად გამოყოფილია 1970 წელს T უჯრედების ლეიკემიით დაავადებული 14 წლის ბიჭის პერიფერიული სისხლიდან (Schneider U, et al., 1977). ინტენსიურად პროლიფერირებადი ლეიკემიური Jurkat უჯრედების წარმოებულები (დერივატები) ინახება უჯრედული კულტურების ბანკებში (სურათი 1).



სურათი 1  
ადამიანის ნორმალური (ა) და ლეიკემიური (ბ) T  
ლიმფოციტების გენომი

Jurkat უჯრედების კულტურა გამოიყენება, აგრეთვე, ორგანიზმზე სხვადასხვა ანტისიმსივნიური და იმუნომოდულატორული პრეპარატების და რადიაციის სხვადასხვა დოზების ზემოქმედების კვლევისათვის. Jurkat უჯრედები – აპრო-ბირებუდი მოდელია აპოპტოზის მექანიზმებისა და სხვადასხვა



პრეპარატების აპოპტოზზე მასტიმულირებელი და მაინჰიბირებელი ეფექტების კვლევისათვის.

Jurkat ლეიკემიური T უჯრედების კულტურა მოსახერხებელი მოდელია T ლიმფოციტების აქტივაციის პირობების შესწავლისათვის, რაც ჩვეულებრივ, IL-2-ის სეკრეციით განისაზღვრება (IL-2 ხელს უწყობს T ლიმფოციტების პროლიფერაციას). Jurkat უჯრედების კულტურას ფიტოჰემაგლუტინინით ან კონკანავალინ A-თი (Con A) სტიმულირების შემთხვევაში შეუძლია 100 და 300-ჯერ მეტი IL-2 პროდუცირება, ვიდრე ლექტინით სტიმულირებულ ადამიანის ჩვეულებრივი პერიფერული სისხლის ლიმფოციტებს, რადგანაც Jurkat უჯრედების მიერ გამოიმუშავებული IL-2 ინარჩუნებს უნარს, აინდუციროს ანტიგენაქტივირებული ადამიანის ეფექტორული უჯრედების პროლიფერაცია *in vitro*, ამდენად, Jurkat უჯრედების კულტურა ღირებული რეაგენტია იმ მკვლევართათვის, რომლებიც დაინტერესებულნი არიან სხვადასხვა ანტიგენური და ეფექტორული სპეციფიკურობის მქონე კლონალური ადამიანის T უჯრედების პროლიფერაციით. Jurkat უჯრედებზე შესაძლებელია როგორც ჯანმრთელი, ისე ანთებითი T უჯრედების (რომლებიც სხვადასხვანაირად რეაგირებს ჟანგვითი მეტაბოლიზმის დარღვევებზე და მის პროდუქტებზე (მაგალითად, აზოტის ჟანგზე - NO, წყალბადის ზეჟანგზე - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)) პასუხის მოდელირება (Nindl G, et al. 2004). T უჯრედებზე ჟანგვითი მეტაბოლიზმისა და მისი პროდუქტების, ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების მოქმედების შესწავლა და მისი რეგულაციის გზების მონახვა მეტად პერ-სპექტიულია ანთებით/იმუნურ დაავადებათა მკურნალობის გასაუმჯობესებლად.

დღეისათვის T უჯრედული იმუნური პასუხის დარღვევის მექანიზმის ერთერთ მაჩვენებლად ითვლება უჯრედების აქტივაციურ-ინდუცირებული სიკვდილი აპოპტოზის გზით. ნაჩვენებია, რომ T უჯრედების მომატებული მგრძობელობა ინდუცირებული აპოპტოზის მიმართ მნიშვნელოვან როლს ასრულებს კრიტიკული მდგომარეობების პათოგენეზში. ადამიანის ღიმფობლასტოიდური Jurkat T უჯრედების კულტურა ჩვეულებრივ, ფართოდ გამოიყენება აპოპტოზის პროცესებისა და მექანიზმების კვლევის მიზნით და უნიკალურად მოსახერხებელია ამ თვალსაზრისით.

## **Jurkat უჯრედები, როგორც პრეპარატთა ეფექტურობისა და მოქმედების მექანიზმების კვლევის სამოდელიო სისტემა**

აპოპტოზი უჯრედის სიკვდილის აქტიური ფორმაა, რომელიც წარმოადგენს მისი გენეტიკური პროგრამის რეალიზაციის ან გარეშე სტიმულების შემოქმედებაზე პასუხის შედეგს და მოითხოვს ენერჯის დახარჯვას და მაკრომოლეკულების სინთეზს *de novo*. აპოპტოზს მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება სხეულის ზომებისა და ფორმის დეტერმინაციაში, მორფოგენეზის პროცესებში, უჯრედული პოპულაციების ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში; ხოლო აპოპტოზური ჯაჭვების ინდუქციისა და რეგულაციის დარღვევა პათოლოგიური პროცესების განვითარებას უწყობს ხელს. ეს ყველაფერი აპოპტოზის რეგულაციის უნარის მქონე პრეპარატთა ძიების მნიშვნელობას განაპირობებს.

ცნობილია, რომ ანტიკანცეროგენულ პრეპარატთა უმეტესობის მოქმედების მექანიზმი მათ მიერ სამიზნე უჯრედებში პროგრამირებული სიკვდილის – აპოპტოზის ინდუცირების უნარს უკავშირდება (Hannun YA., 1997, Shabani F. et al., 2008). ანტისიმსივნიური ქიმიოთერაპიის ერთ-ერთი მიმართულებაა სწორედ ისეთი პრეპარატების განვითარება, რომლებიც შერჩევითად აინდუცირებს აპოპტოზს. ანტიკანცეროგენული მოქმედების მქონე სინთეტური და ბუნებრივი პრეპარატების პირველადი შერჩევის მიზნით ფართოდ გამოიყენება მათი ტესტირება სიმსივნური უჯრედების კულტურებზე *in vitro*.

აპოპტოზის მაინდუცირებელი სიგნალები ორ ძირითად ჯგუფად შეიძლება დავეყთ: 1. პირველნი იწვევენ სიკვდილის მაინდუცირებელი სასიგნალო კომპლექსის ფორმირებას სიკვდილის რეცეპტორების ციტოპლაზმურ ნაწილში, რასაც უჯრედის სიკვდილზე პასუხისმგებელი პროტეოლიზური კასპაზების კასკადის პირდაპირი აქტივაცია მოჰყვება; 2. მეორენი დახაწყისში მიტოქონდრიებიდან აპოპტოგენური ცილების (ციტოქრომ c) გამოთავისუფლებას ახდენენ. თუმცა გამონაკლისის სახით არსებობს უჯრედები, რომლებშიც სიკვდილის რეცეპტორებით ინიცირებული აპოპტოზური სიგნალებიც კი მიტოქონდრია-დამოკიდებული გზით აინდუცირებს უჯრედის სიკვდილს. Jurkat უჯრედები სწორედ ამ უნიკალურ კატეგორიას მიეკუთვნება (Song R. et al., 2004). ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებული აპოტოზის მექანიზმები კი, როგორც გამოკვლევებმა აჩვენა, პირდაპირ ვაეშირშია მიტოქონდრიების აპოპტოზურ ფუნქციებთან.

ამ მხრივ, Jurkat უჯრედების კულტურა შესაფერისი მოდელია: Jurkat უჯრედებში აპოპტოზის მე-

ქანიზმი მიტოქონდრიულ ციტოქრომ C-ზე არის დამოკიდებული; ქიმიოთერაპიულ საშუალებათა მიერ სიმსივნურ უჯრედებში ინდუცირებული აპოპტოზი კი, როგორც გამოკვლევებმა აჩვენა, პირდაპირ კავშირშია მიტოქონდრიების აპოპტოზურ ფუნქციებთან.

ამგვარად, Jurkat უჯრედების მოდელი საშუალება მოგვცემს, ვაწარმოთ პოტენციურად ანტისიმსივნური მოქმედების მქონე პრეპარატთა ერთდროული გაფართოებული სკრინინგი და პირველადი შერჩევა, შევისწავლოთ ამ პრეპარატთა მოქმედების უჯრედული და მოლეკულური მექანიზმები. საშუალება გვექნება დავადგინოთ ამ პრეპარატთა ეფექტის დამოკიდებულება მათ კონცენტრაციასა და მოქმედების დროზე, რაც ძალზე მნიშვნელოვანია, რადგან წამლის კონცენტრაციისა და საინკუბაციო დროის გაზრდასთან ერთად, როგორც წესი, უჯრედთა კულტურაში იზრდება აპოპტოზურ უჯრედთა ხვედრითი წილი, მაგრამ გარკვეული კრიტიკული ზღვარის ზემოთ დოზისა და საინკუბაციო დროის ზრდა ნეკროზული უჯრედების სიჭარბეს განაპირობებს. ასევე უნდა აღინიშნოს, რომ როგორც Jurkat უჯრედულ კულტურაში დოზა-დამოკიდებული პასუხის ანალიზმა აჩვენა, წამლების ის კონცენტრაციები, რომლებიც *in vitro* აპოპტოზის ინდუცირებისათვისაა საკმარისი, *in vivo* აპოპტოზის ინდუცირებისათვის ოპტიმალურ კონცენტრაციებს შეესაბამება (Meyn RE, 1995).

ამგვარად, Jurkat უჯრედების მოდელზე ანტისიმსივნური აგენტების მიერ ინდუცირებული აპოპტოზის ანალიზი მეტად სასარგებლო იქნება იმისათვის, რომ წინასწარ გავთვალოთ ორგანიზმში სიმსივნურ უჯრედთა საპასუხო რეაქცია ციტო-

ტოქსიურ პრეპარატთა ზემოქმედებაზე და მოვახდინოთ ქიმიოთერაპიის ოპტიმიზაცია.

ასევე თერაპიულად მნიშვნელოვანია ის პრეპარატები, რომლებიც Jurkat უჯრედების მოდელში აპოპტოზის დამორგუნეელ მოქმედებას ავლენენ.

მრავალრიცხოვანი ექსპერიმენტალური კვლევები ადასტურებს, რომ აპოპტოზი იშემია/რეპერფუზიით გამოწვეული კარდიომიოციტების სიკვდილის მნიშვნელოვან კომპონენტს წარმოადგენს (*Bromme, HJ, Holtz J., 1996. Dong, Z, et al., 2000, Kang, PM, et al., 2000, Malhotra R. et al., 2001*) აღმოჩნდა, რომ აპოპტოზი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს რეპერფუზიულ პროცესებში, ასევე მიოკარდიუმის ზოგიერთი პათოლოგიური მდგომარეობის განვითარებაში (არითმო-გენური მარჯვენა პარკუჭოვანი დისპლაზია, ვოლფ-პარკინსონ-უაიტის სინდრომი, პარკუჭების ელექტროსტიმულაციით ინდუცირებული კარდიომიოპათია, გულის უკმა-რისობა, და სხვა).

ამ თვალსაზრისით, საინტერესოა აპოპტოზის ბლოკატორების კარდიოპროტექტორული მოქმედება. განსაკუთრებული ინტერესის საგანია მედიკამენტები, მოქმედი იმ მეტაბოლურ რგოლებზე, რომლებშიც ფორმირდება მიოკარ-დიული უჯრედის იშემიური მდგომარეობიდან აპოპტოზში გადასვლა. სხვადასხვა ფერმენტების აქტივობის ერთერთი კარგად ცნობილი მოდულატორია ბიოფლავონოიდი კვერცეტინი – ანტიოქსიდანტი, რომელიც აინჰიბირებს ლიპოქსიგენაზას და ააქტივებს ნიტროქსიდსინთაზას, და მისი წყალში ხსნადი ანალოგი – კორვიტინი. მიოკარდიუმზე კარდიოპროტექტორულ მოქმედებას ენერგოდეფიციტის პირობებში ავლენს მილდრონატი, რომელიც ცხიმოვანი მჟავების მეტაბოლიზმის დათრგუნვის გზით ასტიმულირებს

მიოკარდიუმში გლუკოზის დაჟანგვას. ჩამოთვლილი პრეპარატები მნიშვნელოვნად ამაღლებს გულსისხლძარღვთა დაავადებების ტრადიციული მკურნალობის ეფექტურობას, თუმცა მათი ანტიაპოპტოზური პოტენციალი დღემდე ნაკლებადაა შესწავლილი ექსპერიმენტულ-კლინიკურ პირობებში (*З а л е с с к и й В. Н., и др., 2002*).

ამდენად, სრულიად ნათელია კარდიომიოციტების როგორც ნეკროზული, ისე აპოპტოზური სიკვდილით გამოწვეული მიოკარდიუმის იშემიურ-რეპერფუზიური დაზიანების პრევენციული მკურნალობის პრინციპულად ახალი მიმართულების განვითარების აქტუალობა. ასეთი მკურნალობა უშუალოდ უჯრედებზე ზემოქმედებას გულისხმობს და არ არის დაკავშირებული ჰემოდინამიკის ცვლილებასთან. ასეთი მიმართულების შემდგომ განვითარებაში მნიშვნელოვნად დაგვეხმარება პოტენციური კარდიოპროტექტორების მიერ აპოპტოზის მახლოკორებელი მოქმედების შესწავლა Jurkat უჯრედების კულტურაზე, როგორც აპოპტოზური კვლევისათვის მეტად მოსახერხებელ მოდელზე.

უჯრედის აპოპტოზი მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული იონთა უჯრედშიდა კონცენტრაციაზე (*Razik M.A. Cidlowski JA. 2002*). ნაჩვენები იქნა, რომ აპოპტოზური უჯრედების საერთო ნიშანი, უჯრედის შეჭმუხვნა უჯრედიდან  $\text{Na}^+$  და  $\text{K}^+$  იონების დიდ რაოდენობით გადინების შედეგია (*Bortner CD, 1997*). უჯრედშიგა  $\text{K}^+$  კონცენტრაციის შემცირება პროტეაზების, უმთავრესად, კასპაზების, და აპოპტოზური ნუკლეაზების გააქტივებას უწყობს ხელს, რაც უჯრედის სიკვდილს იწვევს (*Cain K, 2001*). უჯრედებში  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-აზას დათრგუნვა პლაზმური მემბრანის დეპოლარიზაციას აჩქარებს

და აპოპტოზური სტიმულისადმი უჯრედის მგრძობელობას ზრდის (Mann CI, et al., 2001). Jurkat T უჯრედების მოდელზე დადასტურდა, რომ აპოპტოზური მდგომარეობა უჯრედშიდა კალციუმის ზრდასთანაც არის დაკავშირებული. ეს უკანასკნელი აუცილებელია ქრომატინის დეგრადაციაში მონაწილე აპოპტოზური ნუკლეაზების გააქტივებისათვის და ამგვარად, მნიშვნელოვან როლს ასრულებს აპოპტოზის ბოლო სტადიებზე დნმ-დაშლაში. მაგალითად, ნაჩვენები იქნა, რომ პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავები უჯრედშიდა კალციუმის მომატების გზით აინჰიბირებს Jurkat T უჯრედების პროლიფერაციას (Bonin A., 2000).

ამგვარად, უჯრედშიდა იონური კონცენტრაციების ცვლილებები არსებით როლს თამაშობს აპოპტოზის ინდუცირებასა და პროგრესირებაში. მოლეკულური მექანიზმები, რომლებიც იონური ნაკადების ცვლას აპოპტოზურ მექანიზმებთან აკავშირებს ჯერ კიდევ შეუსწავლელია და მისი ასპექტები გამოსაკვლევია უჯრედის სხვადასხვა სახის სიკვდილის დროს. ამ მოლეკულური მექანიზმების შესწავლა საშუალებას მოგვცემს, უჯრედში იონური ნაკადების კონტროლირების გზით უჯრედის აპოპტოზური სიკვდილის პროცესების მანიპულირება მოვახდინოთ; ეს მეტად მნიშვნელოვანია იმ დაავადებათა მკურნალობისათვის, რომლებსაც საფუძვლად არასაემარისი ინტენსივობის აპოპტოზი ან ჭარბი პროლიფერაცია უდევს. საინტერესოა Jurkat უჯრედების კულტურაზე იონური ცვლის შესწავლა სიგმა-1 რეცეპტორების ლიგანდების გამოყენებით. სიგმა-1 რეცეპტორები, რომლებიც უხვად არის ექსპრესირებული T ლიმფოციტების ზედაპირზე, სხვა რეცეპტორებზე

ბევრად უფრო ეფექტურად აინჰიბირებს ყველა ტიპის კალციუმის არხებს და კალციუმის უჯრედშიდა კონცენტრაციას არეგულირებს.

გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ მთელი რიგი დაავადებების პათოგენეზში (იხ. ზემოთ) აპოპტოზის ინტენსივობის გაძლიერება მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის მუშაობის დარღვევას, თავისუფალი რადიკალების ჰიპერპროდუქციას და უანგვითი სტრესის განვითარებას უკავშირდება. ამდენად იმ პრეპარატების კვლევა, რომლებიც მიტოქონდრიული ელექტრონულ-სატრანსპორტო ჯაჭვსა და თავისუფალ რადიკალური უანგვის ინტენსივობაზე მოქმედების გზით აპოპტოზის პროცესებს არეგულირებს, ჩვენი ინტერესის საგანს წარმოადგენს. ანტიოქსიდანტური პრეპარატების დამცველი ეფექტებისა და მოქმედების ზუსტი მექანიზმების შესწავლის მიზნით Jurkat უჯრედების მოდელზე ჩატარებულ კვლევებში ჩვენს მიერ გამოყენებული იქნება ელექტრონულ პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) მეთოდი.

დღეისათვის განსაკუთრებულ ინტერესს წარმოადგენს აპოპტოზის როლი იმუნური პასუხის რეგულაციაში, იმუნოდეფიციტური მდგომარეობებისა და იმუნოპათოლოგიების განვითარებაში. ინტენსიურად პროლიფერირებადი ლეიკემიური T უჯრედებისაგან მიღებული Jurkat უჯრედების კულტურა ფართოდ გამოიყენება სამეცნიერო და თერაპიულ კვლევებში, როგორც ადამიანის T ლიმფოციტების მოდელი. Jurkat უჯრედებზე შესაძლებელია როგორც ჯანმრთელი, ისე ანთებითი T უჯრედების მოდელირება, რომლებიც განსხვავებულად რეაგირებენ უანგვითი მეტაბოლიზმის დარღვევებზე და მის პროდუქტებზე (მაგალითად,



წყალბადის ზეჟანგზე  $H_2O_2$ ) (Nindl G, et al., 2004). T უჯრედებზე ჟანგვითი მეტაბოლიზმისა და მისი პროდუქტების, ჟანგბადის რეაქციული ფორმების მოქმედების შესწავლა და მისი რეგულაციის გზების მონახვა მეტად პერსპექტიულია ანთებით/იმუნურ დაავადებათა მკურნალობის გასაუმჯობესებლად. T ლიმფოციტებში აპოპტოზის ინდუცირება შეიძლება იყოს ერთ-ერთი თერაპიული სტრატეგია ისეთი დაავადებების შემთხვევაში, როგორცაა ტრანსპლანტანტ-მასპინძლის რეაქცია, აუტოიმუნური დაავადებები.

მზარდ ყურადღებას იპყრობს აპოპტოზის მონაწილეობა ინფექციურ დაავადებათა პათოგენეზში, რადგანაც მათი გამომწვევები არაერთგვაროვან ზემოქმედებას ახდენს უჯრედების პროგრამირებულ სიკვდილზე – ასტიმულირებს ან თრგუნავს აპოპტოზს (Teodoro, J. G., Branton, P. E., 1997, Roulston A., et al., 1999, Paroli, M., et al., 2000). აპოპტოზი ორგანიზმის მნიშვნელოვანი დაცვითი ფაქტორია, რომელიც ინფიცირებული უჯრედების სიკვდილს აჩქარებს და ამით ვირუსის რეპლიკაციასა და გავრცელებას ზღუდავს. შედეგად, ბევრმა ვირუსმა გამოიმუშავა სხვადასხვა მექანიზმი, რომელთა წყალობით აინჰიბირებს ან თავს არიდებს აპოპტოზს. გარდა ამისა, ნეკროზის მაგივრად აპოპტოზის გზით სიკვდილი მნიშვნელოვნად ზრდის ფაგოციტების მიერ ვირუსული ანტიგენების შებოჭვას და T უჯრედებისადმი პრეზენტაციას (Ronchetti, A., et al., 1999. Rovere, P., et al., 1998). ნაჩვენებია იქნა, რომ გარკვეული ვირუსები (ადენოვირუსი, ჰერპესის ვირუსი HSV-1 და HSV-2, პარაგრების ვირუსი 1 და 2, რესპირატორულ-სინციტიალური ვირუსი *in vitro* ადამიანის პერიფერიული სისხლის ნატიური T

ლიმფოციტების მემბრანაზე აპოპტოზური Fas რეცეპტორის ექსპრესიას ზრდის, რაც აპოპტოზის მიმართ ამ უჯრედების მგრძობელობას აძლიერებს, და T ლიმფო-ციტების აპოპტოზს აინდუცირებს (Livne, A., et al., 2001). ამავე დროს ზოგიერთი ვირუსი (ადამიანის იმუნოდეფიციტის ვირუსი (HIV-1), ეპშტეინ-ბარის ვირუსი) იმუნური სისტემის უჯრედების აპოპტოზზე ორმაგ მოქმედებას ახდენს: ინფიცირებულ იმუნურ უჯრედებს (B ლიმფოციტებს) აპოპტოზისაგან იცავს და ერთდროულად CD4<sup>+</sup> და CD8<sup>+</sup> T უჯრედების Fas-დამოკიდებულ აპოპტოზს აძლიერებს (Lama, J. & Ware, C. F., 2000., Li, C. J., et al., 1995, Mosialos, G., et al., 1995, McCloskey, T. W., et al., 1997, Henderson, S., et al., 1991), რაც როგორც ჩანს, ვირუსინდუცირებული იმუნოსუპრესიის მნიშვნელოვან მექანიზმს წარმოადგენს.

აპოპტოზის მექანიზმების შესწავლას სხვადასხვა ვირუსული ინფექციების პათოგენეზში და ორგანიზმის ხაპასუსო იმუნურ რეაქციებში უდავოდ დიდი მნიშვნელობა გააჩნია ეფექტური ვირუს-საწინააღმდეგო ვაქცინების შემუშავებისათვის. ამგვარი კვლევებისათვის მოსახერხებელია და აქტიურად გამოიყენება Jurkat T უჯრედების მოდელი (Pongpanich A, et al., 2004).

ბოლო დროს დიდ ინტერესს იწვევს ათეროსკლეროზის განვითარების აუტოიმუნურ/ანთებითი მექანიზმი, და ამდენად, ათეროსკლეროზის დროს იმუნური უჯრედების რეკრუტორების, დიფერენციაციისა და აქტივაციის მექანიზმები. ცნობილია, რომ ათეროსკლეროზული ფოლაქების ინფილტრირება აქტივირებული T ლიმფოციტებით ადრეულ ეტაპზევე ხდება და მათ მიერ გამოთქმული ციტოკინები აქტიურად ერთვება ანთებით პროცესში (Berliner JA,

*et al., 1995, Seino Y, et al., 1994. Hansson GK, 1989; Kishikawa H, et al., 1993, Libby P, Hansson GK., 1991).* პროანთებით და ანტიანთებით ციტოკინებს შორის ბალანსს შეიძლება გადამწყვეტი მნიშვნელობა ჰქონდეს ათეროსკლეროზის პროგრესირებისათვის (*Laura J. et al., 2002*). პროანთებითად, და ამდენად, პროათეროგენურად ითვლება ციტოკინები: სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი -  $\gamma$  (TNF-  $\gamma$ ), ინტერლეიკინ-1 (IL-1), IL-6; IL-8, IL-12; ანტიანთებითად და ანტიათეროგენურად - IL-4, IL -10.

ათეროსკლეროზის პათოგენეზის აუტოიმუნურ-ანთებითი თეორიას ათეროსკლეროზის მკურნალობისა და პროფილაქტიკის ახალი და დამაიმედებელი სტრატეგიის განვითარება მოჰყვა, რაც იმუნომოდულირების გზით პროათეროგენური იმუნური ფაქტორების დათრგუნვასა და ათერო-პროტექტორული იმუნური ფაქტორების აქტივაციაში მდგომარეობს. Jurkat T უჯრედების მოდელზე მოსახერხებელია შევისწავლოთ პოტენციურად ანტიათეროგენური ბუნების მედიკამენტების მოქმედება ციტოკინებსა და ათეროსკლეროზთან ასოცირებულ აუტოანტიგენებზე, როგორცაა დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეიდები, სითბური შოკის ცილები, კარდიოლიპინი, ბეტა-2-გლიკოპროტეინი.

ყველაზე გამოხატული ათეროგენული თვისებები მოდიფიცირებულ (ოქსიდირებულ, გლიკოზირებულ) ლიპოპროტეიდებს გააჩნია. ოქსიდირებული LDL (oxLDL) წარმოადგენს აუტოანტიგენებს, რომლებიც ათეროსკლეროზულ ფოლაქში ძლიერ ლოკალურ იმუნურ პასუხს აინდუცირებს და რომელთა მიმართ ათეროსკლეროზული ფოლაქის მაინფილტრირებელი T უჯრედები სპეციფიკურად არის აქტივირებული. ამიტომ აქტუალურია იმ მედიკამენტოზური

საშუალებების მოძიება, რომლებიც ამ ათეროგენურ oxLDL-ზე იმოქმედებს. ნაჩვენები იქნა, რომ oxLDL ციტოტოქსიურობას ავლენს კულ-ტივირებული T ლიმფოციტების მიმართ; და რომ oxLDL აინდუცირებს აპოპტოზს აქტივირებულ ლიმფოციტებში, რაც დადასტურდა oxLDL - თან კულტივირებულ Jurkat T უჯრედების მოდელზე (Alcouffe, J., S., et al., 1999). T ლიმფოციტების აპოპტოზის ინდუცირებას ათეროსკლეროზული დაზიანების არეში შეუძლია ხელი შეუწყოს T უჯრედების არაადეკვატურ ლოკალურ იმუნურ პასუხს და შესაბამისად, პათოლოგიური პროცესის პროგრესირებას. ამდენად, მნიშვნელოვანია პოტენციურად ანტიათეროგენული მედიკამენტების მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების შესწავლა, რისი განხორციელება, ჩვენი აზრით, წარმატებით შეიძლება Jurkat უჯრედების მოდელზე.

საინტერესოა, რომ სიგმა-1 რეცეპტორი, რომელიც ექსპრესირებულია ლიმფოციტების და კერძოდ, Jurkat T უჯრედების ზედაპირზე, მნიშვნელოვან მონაწილეობას ღებულობს იმუნორეგულატორულ პროცესებში. სიგმა-1 რეცეპტორის ლიგანდები იმუნო-სუპრესორულ და ანტიანთებით თვისებებს ავლენს და შეუძლია არეგულიროს ციტოკინების სინთეზი და დათრგუნოს T ლიმფოციტების პროლიფერაცია.  $\sigma_1$  რეცეპტორის ზოგიერთ ლიგანდი ასტიმულირებს აქტივირებული Th2 CD4<sup>+</sup> T უჯრედების მიერ ანტიანთებითი ციტოკინის IL-10-ს გამოთავისუფლებას, და ერთდროულად, მნიშვნელოვნად თრგუნავს Th1 CD4<sup>+</sup> T უჯრედების მიერ პროანთებითი ციტოკინის TNF-აღფას სეკრეციას. ასეთი ორმაგი მოქმედება დღემდე არც ერთი იმუნომოდულატორისათვის არ აღმოუჩენიათ. ამ

მიმართულებით კვლევების გაგრძელება და სიგმა-I რეცეპტორის ლიგანდების შესწავლა Jurkat T უჯრედების კულტურაზე მეტად პერსპექტიულად გვეჩვენება. პრო- და ანტიანტებითი ციტოკინების დისბალანსი წამყვან როლს ასრულებს ისეთი ანთებითი და აუტოიმუნური დაავადებების პათოგენეზში, როგორცაა რევმატოიდური ართრიტი, აუტოიმუნური გასტროინტესტინალური დაავადებები, შაქრიანი დიაბეტი და სსვა.

### **ნაშრომის მიზანია:**

ქართული სამხარეულოს პოლიფენოლებით მდიდარი ხორცის სანელებლებისა და საკმახების ზემოქმედების შესწავლა უჯრედების პროლიფერაცია/სიკედილის მექანიზმებზე *in vitro* მოდელურ სისტემებზე.

დასახული მიზნის მისაღწევად ჩატარებულ იქნა შემდეგი კვლევები:

I. ქართული წარმოშობის ხორცის სანელებლებიდან (უცხო სუნელი, ძირა, ყვითელი ყვაილი, ხმელი სუნელი, სვანური მარილი, შაშკიტამი, ქონდარი, ქინძი, კელიავი, წითელი წიწაკა, შავი წიწაკა, კოწახური) პოლიფენოლური ნაერთების რაოდენობრივი და თვისობრივი შესწავლა, შერჩევა და გამოყოფა:

I.1 ქართული წარმოშობის ხორცის სანელებლებიდან პოლიფენოლური ნაერთების რაოდენობრივი და თვისობრივი შესწავლა (სპექტროფოტომეტრული მეთოდით);

I.2. პოლიფენოლების ყველაზე მაღალი შემცველობის მქონე ქართული ხორცის სანელებლების

ფრაქციონირება, ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფა და იდენტიფიკაცია (LC-MS/MS – სა და, თუ საჭიროა,  $^1\text{H}$  და  $^{13}\text{C}$  NMR სპექტროსკოპიის გამოყენებით);

I.3. შერჩეული ქართული ხორცის სანელებლების პოლიფენოლების რაოდენობრივი და თვისობრივი შესწავლა (მაღალი წნევის ქრომატოგრაფიის მეთოდით);

I.4. ქართული ხორცის სანელებლების სტანდარტიზაცია ანტიოქსიდანტური აქტივობის მიხედვით (უცხოურ სტანდარტებთან და ანალოგებთან შედარებით) (სპექტროფოტომეტრული მეთოდით).

II. კვლევის პირველ ეტაპზე ქართული წარმოშობის ხორცის სანელებლებიდან გამოყოფილი და შერჩეული მეტად აქტიური ნაერთების აქტივობის (პრო- ანტიაპოპტოზური, პროლიფერაციული, ანტი-ანთებითი, ანტი-, პროოქსიდანტური) შესწავლა ოქსიდაციური სტრესის ექსპერიმენტულ მოდელებზე Jurkat უჯრედების კულტურაზე. ამისთვის შესწავლილი იქნება:

II.1. Jurkat უჯრედების კულტურაზე სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის მოდელირება;

II.2. Jurkat უჯრედების უჯრედული ციკლი ფაზებში გადანაწილების ცვლილებები (გამდინარე ციტომეტრიის მეთოდით);

II.3. მიტოქონდრია-ინდუცირებული აპოპტოზის მარკერის, მემბრანული პოტენციალის ( $\Delta\psi$ ) განსაზღვრა (გამდინარე ციტომეტრიის მეთოდით);

II.4. ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობა (სუპეროქსიდრადიკალების ( $\text{O}_2^-$ ) და ლიპოპეროქსიდრადიკალების ( $\text{LOO}^\cdot$ ) ეპრ სიგნალების ინტენსივობის მიხედვით);

II.5 თავისუფალი NO-ს შემცველობა და მიტოქონდრიული ელექტრონების სატრანსპორტო (ჰემური და არაჰემური რკინის შემცველი) ცილების ნიტროზილირების ხარისხი (ეპრ სპექტროსკოპიის მეთოდით);

II.6. მიტოქონდრიული სუნთქვის ინტენსივობა და ელექტრონული სატრანსპორტო ჯაჭვის მთლიანობა (ეპრ სპექტროსკოპიის მეთოდით);

II.7. შიგაუჯრედოვანი  $Ca^{2+}$  იონების შემცველობა (ალბანი ფოტომეტრიის მეთოდით);

II.8. ანტიოქსიდანტური ფერმენტების, კატალაზას, გლუტათიონრედუქტაზასა და სუპეროქსიდ-დისმუტაზას აქტივობა (სპექტროფოტომეტრული მეთოდით);

II.9. პრო- (IL-2) და ანტიანთებითი (IL-10) ციტოკინების ბალანსი.

### **მასალა და მეთოდები**

ნაშრომში *in vitro* Jurkat უჯრედების მოდეულურ სისტემებზე შესწავლილია და შერჩეულია ქართული სამხარეულოს ხორცის სანელებლებისა და საკმაზებიდან გამოყოფილი ანტიოქსიდანტური აქტივობის მქონე პოლიფენოლური ნაერთები, შესწავლილია მათი რაოდენობრივი და თვისობრივი პარამეტრები, და უჯრედების პროლიფერაცია/ სიკვდილზე ზემოქმედების ეფექტურობა და მექანიზმები..

კვლევა ჩატარდა ყვითელი ყვავილის, ქონდარის, კოწახურის, კვლიავის (ძირას), ხმელი სუნელის, -ქინძის, ნიორის, ტარხუნის, ნიგოზის, უცხო სუნელის, ომბალოს ნიმუშებზე. საანალიზოდ მომზადდა ჩამოთვლილი ნიმუშების სპირტიანი და წყლის ექსტრაქტები. ამისათვის ნიმუშებს უკეთებ-

დით სამჯერად ექსტრაქციას სპირტით და სხვა გამხსნელის და საკელევი მასალის შეფარდება 1:5. გაერთიანებულ ექსტრაქტებს ვაორთქლებდით დაბალ ტემპერა-ტურაზე ვაკუუმში. წლის ექსტრაქცია ხდებოდა ცხელი გამოხდილი წყლით 90° C.

თანმიმდევრული ექსტრაქციისთვის სანელებლეუბის დაქუცმაცებული ნიმუშების წონაკებს (1 გრ) ვათავსებდით კოლბაში და ვაწარმოებდით ექსტრაგირებას თანმიმდევრულად ქლოროფორმით (1:20), გამხსნელის შეღებვის შეწყვეტამდე და ვაშრობდით ამწოვ კარადაში ქლოროფორმის ნარჩენის აორთქლებამდე. შემდგომ ნარჩენს ექსტრაგირებას ვუკეთებდით ეთილაცეტატით და ასევე გაშრობის შემდეგ სპირტით და ბოლოს წყლით. ცდის შედეგების ხარშმუნობას მისი ხამჯერადი განმეორებით უზრუნველყოფდით.

კვლევა შესრულებულია მაღალი წნევის ქრომატოგრაფიის, ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსი (ეპრ), სპექტროფოტომეტრული, გამდინარე ციტომეტრიის, ალიანი ფოტომეტრიის, იმუნოფერმენტული ანალიზის და სხვა მეთოდების გამოყენებით.

### **1. მაღალი წნევის ქრომატოგრაფიის მეთოდი.**

ქართული წარმოშობის ხორცის სანელებლებში პოლიფენოლური ნაერთების დაყოფა მოხდა მაღალი წნევის ქრომატოგრაფიის მეთოდით. შერჩეულია ქრომატოგრაფიული სეეტი **Radia-Park C18 (8 10)**-თ; სეეტის ტემპერატურა 35° C, ნაკადის სიჩქარე 1,8 მლ/წთ; ნიმუშის რაოდენობა 20 მკლ. გამხსნელთა სისტემა: ხსნარი ა-0,1% სამიფტორქმარმუაჟა, ხსნარი ბ-60% აცეტონიტრილი (მოცულობით). შერჩეულია



გრადიენტის კომპოზიცია, რომელიც უზრუნველყოფს საუკეთესო დაყოფას.

ინდივიდუალური ნაერთების პრეპარატიული გამოყოფისთვის გამოყენებულია პრეპარატიული თანმიმდევრული ექსტრაქციის მეთოდი სხვადასხვა პოლარობის გამხსნელებით. შერჩეული გამხსნელებიდან ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფის მიზნით 600 გრამი ყვითელი ყვავილის გამშრალი ნიმუშის ფხნილის ექსტრაქცია მოხდა ჯერ დიქლორეთანით, ხოლო პოლიფენოლების ექსტრაქცია ეთილის სპირტით. ყვითელი ყვავილის სპირტიანი ექსტრაქტის დაყოფა თხელფენოვანი ქრომატოგრაფიის მეთოდით სილიკაგელის ფირფიტებზე შესაბამისი გამხსნელთა სიტემების გამოყენებით (ქლოროფორმი-მეთანოლი და დიქლორეთან-მეთანოლი). ფლავონოიდების გამჟღავნების მიზნით ფირფიტებს ეასხურებდით ალუმინის ქლორიდის 1%-იანი ხსნარით სპირტში. გაცხელების შედეგად ფირფიტაზე წარმოქმნილი ყვითელი შეფერილობა მეტყველებს იმაზე, რომ ეს ლაქა ფლავონოიდური ბუნებისაა. დანარჩენი ნაერთებს არსებობას ფირფიტაზე ეამოწმებდით 20%-იანი გოგირდმჟაეას შესხურებით და შემდგომი გაცხელებით 100° C. ფირფიტაზე დამუშავებული დაყოფის პირობები შემდეგ ეტაპზე გამოყენებული იყო სპირტიანი ექსტრაქტის ქრომატოგრაფირებისთვის სვეტის მეშვეობით.

ანტიოქსიდანტური აქტივობა ისაზღვრებოდა იმ დროის (წამები) მიხედვით რომელიც სჭირდება 2,2-დიფენილ-1-პიკრილჰიდრაზინის ხელოენურ რადიკალის განეიტრალების 50%-ს. რაც ნაკლები დრო სჭირდება ხსნარს, რომელსაც ეუმატებთ მით უფრო მაღალია მისი ანტიოქსიდანტური აქტივობა. ნიმუშების ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრას

ვაწარმოებდით სპექტროფოტომეტრის საშუალებით (ტალღის სიგრძე – 515მმ).

**2. უჯრედული კულტურა:** კვლევები ჩატარდება ადამიანის ლეიკემია ტრანსფორმირებულ მომწიფებულ T უჯრედებზე (Jurkat უჯრედები) (DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (Germania)). უჯრედები გამრავლდებიან ბიოლოგი-ურად აქტიური არის RPMI 1640 (GIBSO), ინაქტი-ვირებული ემბრიონული სბოს შრატის (Sigma), L-გლუტამინის (4mM), პენიცილინის (100 ერთ/მლ) და სტრეპტომიციინის (100 ერთ/მლ) შემცველ სუსპენ-ზიაში 37°C ტემპერატურაზე, ნოტიო 5% CO<sub>2</sub> შემცველ არეში. ექსპერიმენტები ჩატარდება უჯრედების კონცენტრაციაზე 0,3 – 0,6 x 10<sup>6</sup> უჯრედი 1 მლ არეში.

**3. ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებული აპოპტოზის მოდელირება:** ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებული აპოპტოზის მოდელირების მიზნით Jurkat უჯრედების საინკუბაციო სუსპენზიაში ემატება 30%-ნი წყალბადის ზეჟანგი (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Sigma) დოზით 100, 50, 25 μM და მიმდინარეობს ინკუბაცია 6, 8, 24, 48 და 72 საათის განმავლობაში. საკონტროლო ჯგუფს შეადგენენ ინტაქტური Jurkat უჯრედები (Kim H., 2004).

**4. უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შეფასების (სიცოცხლისუნა-რიანობის) MTT ტესტი.**

უჯრედების სუსპენზიას (2x10<sup>6</sup> უჯრედი/მლ) საეკვებ არეში (PRMI-1640+10%სბოს ემბრიონული შრატი (Sigma) + 1% პენიცილინ/სტრეპტომიციინი) ვაინკუბირებთ (წყალბადის ზეჟანგთან და ლიმფომიოზტთან ერთად) 24 საათის განმავლობაში 37°C –ზე 5%-ან CO<sub>2</sub> ატმოსფეროში. საინკუბაციო

პერიოდის შემდეგ სუსპენზიას ვაცენტრიფუგირებთ 1500 გ-ზე 5 წუთის განმავლობაში, სუპერნატანტის გადაქცევის შემდეგ უჯრედებს ვამატებთ MTT-ს (3-(4,5-დიმეთილთიაზოლ-2)-2,5-დიფენილტეტრაზოლიუმ ბრომიდი) (Sigma) ხსნარს (30 მკლ სუსპენზიის 100 მკლ-ზე) (MTT იხსნება ბუფერში (140 mM NaCl, 5mM HEPES, pH 7,4) დოზით 2,5 მგ MTT 300 მკლ ბუფერზე) და ვაინკუბირებთ 4 საათის განმავლობაში 37°C-ზე 5% CO<sub>2</sub>-ის პირობებში. ინკუბაციის შემდეგ ფრთხილად ვიღებთ სუპერნატანტს; ნალექს ეუმატებთ გამხსნელს 100% დიმეთილსულფოქსიდს (DMSO) 100 მკლ-ის ოდენობით.

შთანთქმა იზომება სპექტროფოტომეტრზე ტალღის სიგრძეზე 570 ნმ.

გამოსაკვლევი სუსპენზიისათვის ვსაზღვრავთ გაზომვის საშუალო მაჩვენებელს, ვაკლებთ კონტროლის (ცალკე ნიადაგის) საშუალო მაჩვენებელს. ეანგარიშობთ პროლიფერაციის კოეფიციენტს ფორმულით:

$$K = A_{\text{ცდ}} / A_{\text{კონტროლი}}$$

**4. ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსი (ეპრ):** უჯრედული კულტურის ეპრ სპექტრების რეგისტრაცია ჩატარდება რადიოსპექტრომეტრზე P3-1307, რომელიც ოპერირებს ზემდალ სიხშირეზე 9.77 GHz მოდულაციური სიხშირით 50 kHz თხევადი აზოტის ტემპერატურაზე (-196°C). თავისუფალი აზოტის უანგის განსაზღვრის მიზნით ვიყებნთ სპინ-ხაფანგს ნატრიუმის დიეთილდითიოკარბამატს (DETC) (Sigma) (დოზით 10 მგ 0,6 ხ 10<sup>6</sup> უჯრედზე 0,5 მლ არეში) და Fe<sup>2+</sup>-ციტრატი (0,5 მგ FeSO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O+ 2,5

მგ ნატრიუმის ციტრატი 10 მგ  $0,6 \times 10^6$  უჯრედზე 0,5 მლ არეში) (*Beltran B., et al., 2000*).  $\text{NO-Fe}^{2+}$ -(DETC)<sub>2</sub> კომპლექსების ეპრ სპექტრებს ესაზღვრავთ თხევადი აზოტის ტემპერატურაზე მიკროტალღოვან სიმძლავრეზე 20 mVt (*Galagan M.E., u др., 1997, Meng F., Lowell C.A., 1997*).

პეროქსიდრადიკალების ( $\text{LOO}^\cdot$ ) განსაზღვრის მიზნით ვიყენებთ სპინხაფანგს  $\alpha$ -ფენილ-ტერტ-ბუტილნიტროს (PBN) (SIGMA), დოზით 50 mM  $0,6 \times 10^6$  უჯრედზე 0,5 მლ არეში (*Tabatabaie T., et al., 1997*).  $\text{LOO}^\cdot$ -ს ეპრ სპექტრებს ესაზღვრავთ ოთახის ტემპერატურაზე მიკროტალღოვან სიმძლავრეზე 20 mVt.

უანგბადის თავისუფალი რადიკალების (სუპეროქსიდრადიკალების) განსაზღვრის მიზნით ვიყენებთ სპინ-ხაფანგს 5,5 დიმეთილ-1-პიროლინ-IV-ოქსიდი (DMPO) (Sigma). (დოზით 50 mM  $0,6 \times 10^6$  უჯრედზე 0,5 მლ არეში) (*Sweet M.J. et al 1996*). სუპეროქსიდრადიკალების ეპრ სპექტრებს ესაზღვრავთ ოთახის ტემპერატურაზე მიკროტალღოვან სიმძლავრეზე 20 mVt.

### **5. სპექტროფოტომეტრული მეთოდი:**

ქართული ხორცის სანელებლების სტანდარტიზაცია ანტიოქსიდანტური აქტივობის მიხედვით (უცხოურ სტანდარტებთან და ანალოგებთან შედარებით) მოხდება სპექტროფოტომეტრული მეთოდით. ნტიოქსიდანტური აქტივობა შეფასდება დროის მიხედვით, რომელიც სჭირდება 1,1-დიფენილ-2-პიკრილჰიდრაზილის რადიკალის 50% განვიტრალებას).

**ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის განსაზღვრა:**

*Jurkat უჯრედული ექსტრაქტის მიღება:*

Jurkat უჯრედული ექსტრაქტის მიღება ხდება უჯრედული სუსპენზიას 500გ-ზე დაცენტრიფუგირებით მიღებული უჯრედული ნალექის ჰომოგენიზაციით. ნალექს ეუმატებთ ორჯერ მეტი მოცულობით ლიზისის ბუფერს (1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 10mM KCl, 1mM DTT, ლეუპეპტინი, აპროტინინი, 10mM HEPES, pH7,9). უჯრედების ლიზისს ეაწარმოებთ №27 ნემსში ათჯერ გატარებით. მიღებულ ჰომოგენატს ვაცენტრიფუგირებთ 20 წუთი 10000გ-ზე. სუპერნატანტი გამოიყენება ფერმენტული აქტივობის განსაზღვრისათვის

*სუპეროქსიდლისმუტაზის აქტივობის (სოდ) განსაზღვრა.*

საინკუბაციო არე შეიცავს 50 mM კალიუმის ფოსფატს, 50  $\mu$ M ნიტროტეტრაზოლიუმის ლურჯს (NBT), 150  $\mu$ M NADPH და 50  $\mu$ M ფენაზონიუმის მეთილსულფატს (PMS) pH 7.4. რეაქცია იწყება 100 $\mu$ ლ უჯრედული ექსტრაქტის დამატებით. დაკვირვება წარმოებს სპექტროფოტომეტრულად 5406მ-ზე 5 წუთის განმავლობაში. აღდგენილი ნიტროტეტრაზოლიუმის ლურჯის კონცენტრაციის ცვლილება გადაითვლება 1 მგ ცილაზე.

*გლუთათიონრედუქტაზის აქტივობის განსაზღვრა:*

საინკუბაციო არე შეიცავს 67 mM ნატრიუმის ფოსფატს, 27  $\mu$ M დაუანგულ გლუთათიონს, 20  $\mu$ M NADPH pH 6.6. რეაქცია იწყება 50 $\mu$ ლ უჯრედული ექსტრაქტის დამატებით. დაკვირვება წარმოებს სპექტროფოტომეტრულად 3406მ-ზე 5 წუთის განმავლობაში. დაუანგული NADPH-ის კონცენტრაციის ცვლილება გადაითვლება 1 მგ ცილაზე.

*კატალაზის აქტივობის განსაზღვრა:*

საინკუბაციო არე შეიცავს 50 mM კალიუმის ფოსფატს, 0.06% წყალბადის ზეუანგს pH 6.6. რეაქცია იწყება 100 $\mu$ l უჯრედული ექსტრაქტის დამატებით. დაკვირვება წარმოებს სპექტროფოტომეტრულად 2406მ-ზე ყოველ 10 წამში 70 წამის განმავლობაში. დაშლილი H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ის კონცენტრაციის ცვლილება გადაითვლება 1 მკ ცილაზე.

*ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა:*

ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა სდება ლოურის მეთოდით "Sigma"-ს კიტის გამოყენებით.

**6. გამდინარე ციტომეტრიის მეთოდი:**

უჯრედულ კულტურაში *მიტოქონდრიული პოტენციალის  $\Delta\Psi$ -ს განსაზღვრა.*

უჯრედულ კულტურაში მიტოქონდრიული პოტენციალის  $\Delta\Psi$ -ს მნიშვნელობა განსაზღვრული იქნება გამდინარე ციტომეტრიის მეთოდით ლიპოფილური კათიონური სინჯის 3,3'-dihexyloxocarbocyanine iodide - DiOC<sub>6</sub> გამოყენებით. გამდინარე ციტომეტრია ფლუორესცენტულ სინჯთან ერთად უჯრედების დიდი რაოდენობის ჰეტეროგენულ პოპულაციაში მიტოქონდრიული მემბრანული პოტენციალის განსაზღვრის საშუალებას იძლევა. ანალიზათვის საკმარისია უჯრედების შედარებით მცირე რაოდენობა (10<sup>3</sup>-10<sup>5</sup>), რომლებიც იღებება დაბალი კონცენტრაციის პირობებში (<1  $\mu$ M) (Castedo et al., 2002). მიტოქონდრიული პოტენციალის განსაზღვრის მიზნით აწარმოებენ 1x10<sup>5</sup> უჯრედის ინკუბაციას DiOC<sub>6</sub>-ის 0.2  $\mu$ M-ულ ხსნარის 120  $\mu$ ლ-ში 15 წუთის განმავლობაში 37°C ტემპერატურაზე. კვლევები ტარდება აპარატზე Becton Dickinson (US); DiOC<sub>6</sub>-ის აღზნება ვლინდება ტალღის სიგრძეზე 488 ნმ, ემისია იზომება 530 ნმ-ზე.

უჯრედულ კულტურაში უჯრედების უჯრედული ციკლი ფაზებში გადანაწილების შესწავლა.

ჯრედების უჯრედული ციკლის ფაზებში გადანაწილების შესწავლა ჩატარდება გამდინარე ციტომეტრიის საშუალებით პროპოდიუმ იოდიდის შედეგის მეთოდით. პროპოდიუმ იოდიტით შედეგის მეთოდი ფართეთ გამოიყენება უჯრედული ციკლის სურათის მიღებისათვის. პროპოდიუმ იოდიტი (ინტერკალატორალური საღებავი) უკავშირდება დნმ-ის დიპლოიდურ ჯაჭვებს და საშუალებას იძლევა წარმოდგენა მივიღოთ უჯრედული ციკლის ფაზებში დნმ-ს გაორმაგებული ჯაჭვების განაწილების შესახებ (Crissman H.A., Steinkamp J.A., 1973, Krishan A., 1975) უჯრედები ფიქსირდება 70%-ან ეთანოლში ტემპერატურაზე  $+4^{\circ}\text{C}$  12 საათის განმავლობაში. ეთანოლის მოშორების შემდეგ უჯრედულ ნალექს უმატებენ RNK-ასას (Sigma) (10  $\mu\text{g}/\mu\text{ლ}$ ) და აწარმოებენ ინკუბაციას 30 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე. შემდეგ უჯრედებს უტარებენ სუსპენდირებას პროპოდიუმ იოდიტის ხსნარში. უჯრედების ოთახის ტემპერატურაზე 30 წუთიანი ინკუბაციის შემდეგ მიმდინარეობს გაზომვა გამდინარე ციტომეტრიის მეთოდით.

**7. Jurkat უჯრედების კულტურაში  $\text{Ca}^{2+}$  იონების შემცველობის განსაზღვრა:**  $\text{Ca}^{2+}$  იონების შემცველობას ესაზღვრავდით ალიანი ფოტომეტრიის მეთოდით (Эйнштейн Я.А., 1957, Спиричева Н.Т., Спиричев В.Б., 1965).

**8. პრო- და ანთებითი ციტოკინების ბალანსის განსაზღვრა:** პრო- და ანტიანთებით ციტოკინების ბალანსის შეფასების მიზნით განსაზღვრული იქნება IL-2 და IL-10 ELISA-ს მეთოდით,

იმუნოფერმენტულ რიდერზე (Roche ფირმის რეაქტივით).

**9. მიღებული შედეგების სტატისტიკური დამუშავება:** მიღებული შედეგების სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა SPSS (ვერსია 10.0) პროგრამული პაკეტით. გამოთვლილია საშუალო სიდიდეები და საშუალო სიდიდეების სტანდარტული ცდო-მიდეების სახით. სხვაობა ჯგუფებს შორის შეფასდა სტუდენტის t-კრიტერიუმით. ყველა შემთხვევაში სტატისტიკური სარწმუნოება განისაზღვრებოდა  $P < 0,05$ -ით. გამოთვლილია კორელა-ციები პარამეტრებს შორის.



# ქართული წარმოშობის ხორცის სანელებლებიდან პოლიფენოლური ნაერთების რაოდენობრივი და თვისობრივი შესწავლა, შერჩევა და გამოყოფა

1. პირველ ეტაპზე ჩვენი კვლევის სტრატეგია მდგომარეობდა ქართული სამზარეულოს მეტად ხშირად გამოყენებადი სანელებლების ანტიოქსიდანტური აქტივობის შეფასებაში; შემდეგ გამოვლენილი საუკეთესო სანელებლებიდან გამოყოფილ იქნა ჯერ ფრაქციები (სხვადასხვა გამხსნელებში), მხოლოდ მათ შორის ყველაზე მაღალ აქტივობის მქონე ფრაქციებიდან ინდივიდუალური ნაერთები. შემდგომში ინდივიდუალურ ნაერთებს შორის მოხდა ყველაზე მაღალი აქტივობის ნივთიერებების საფუძვლიანი იდენტიფიკაცია და მათ საფუძველზე სანელებლის სტანდარტიზაცია.

სანელებლების, მათი ფრაქციებისა და ინდივიდუალური ნაერთების ანტიოქსიდანტური აქტივობის შეფასების მიზნით შემუშავებულია ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრის მეთოდი 2,2-დიფენილ-1-პიკრილჰიდრაზილის გამოყენებით.

კვლევის შედეგად მოხდა ყვითელი ყვავილის (*Tagetes patula* L.), ქონდარის (ხმელი და ნედლი) (*Satureja hortensis* L.), კოწასურის (*berberis vulgaris* L.), კვლიავის (*Carum carvi* L.), უცხო სუნელი (*Trigonella caerulea* L.), ქინძი (*Corindrum sativum* L.), ხმელი სუნელი, ძირა (*Cuminum cuminum* L), სვანური მარილი, შაშკულამი (*Ocimum basilicum* L.), წითელი წიწაკა (*Capsicum annuum* L.), შავი წიწაკა (*Piper nigrum* L.) შემადგენლობაში შემავალი პოლიფენოლური ნაერთების რაოდენობრივი და თვისობრივი შესწავლა,

შერჩევა და გამოყოფა მათი სხვადასხვა პოლარობის ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტივობის შესწავლა (*in vitro*) და აქტიური ნაერთების გამოყოფა.

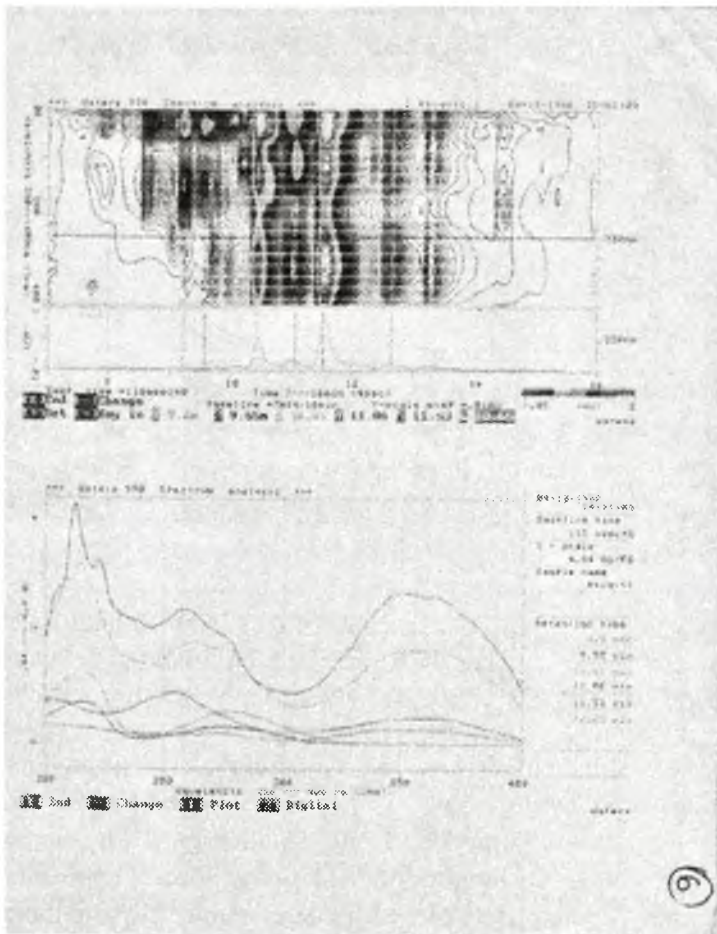
სპირტიანი ექსტრაქტებიდან ყველაზე მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობა გამოავლინეს **ომბალომ, ნიგოზმა, ტარხუნამ, ქონდარმა, ყვითელმა ყვავილმა, ხმელმა სუნელმა**. მათ შორის საუკეთესო აქტივობა აჩვენა **ნიგეზის სპირტიანმა ექსტრაქტმა**, რომელიც აღემატებოდა ომბალოსა და ქონდარის სპირტიანი ექსტრაქტების აქტივობას. მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობა გამოვლინდა **ომბალოს, ყვითელი ყვავილის და ქონდარის** წყლის ექსტრაქტებში.

დადგინდა, რომ აღნიშნულ ნიმუშებში პოლიფენოლების რაოდენობა კორელაციაშია ანტიოქსიდანტურ აქტივობასთან

მიღებული იყო ყვითელი **ყვავილის, ქონდარის, ქინძის, ძირას, ტარხუნის, უცხო სუნელის**, მაღალი წნევის თხევადი ქრომატოგრაფიული პროფილები ფენოლური ნაერთების თვისობრივი შესწავლის მიზნით.

ქრომატოგრაფიული დაყოფის სურათებიდან ჩანს, რომ ყვითელი ყვავილი წარმოდგენილი სპექტრის მიხედვით შეიცავს ფლაवონოიდების 4 პიკს (სურათი 2), ქონდარი 1 ფლაवონოიდს და 2 ფენილპროპანოიდს (სურათი 3); ტარხუნაში ვხედავთ 4 ფენილპროპანოიდს და 1 ფლაवონოიდს (სურათი 4); ხოლო უცხო სუნელში 3 ფლაवონოიდი (სურათი 5) ძირაში მხოლოდ ფენილპროპანოიდებია (სურათი 6). ამრიგად შეიძლება დავასკვნათ, რომ ანტიოქსიდანტური აქტივობა ტარხუნაში და ძირაში განპირობებულია ფენილპროპანოიდებით, ხოლო ყვითელ

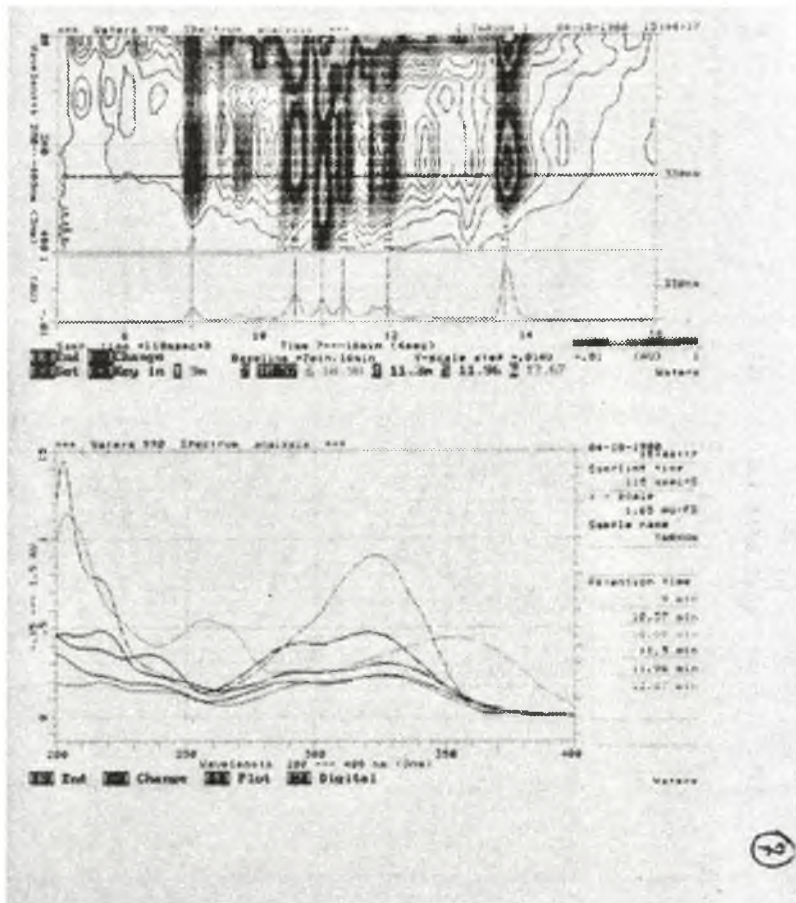
ყვავილში და უცხო სუნელში – ფლავონოიდებით, ქონდარში კი, როგორც ფლავონოიდებით, ასევე ფენილპროპანოიდებით. ასევე შეიძლება დაეასკენათ, რომ შესწავლილ ნიმუშებში პოლიფენოლები წარმოდგენილია ფლავონოიდებით და ფენილპროპანოიდებით.



## სურათი 2

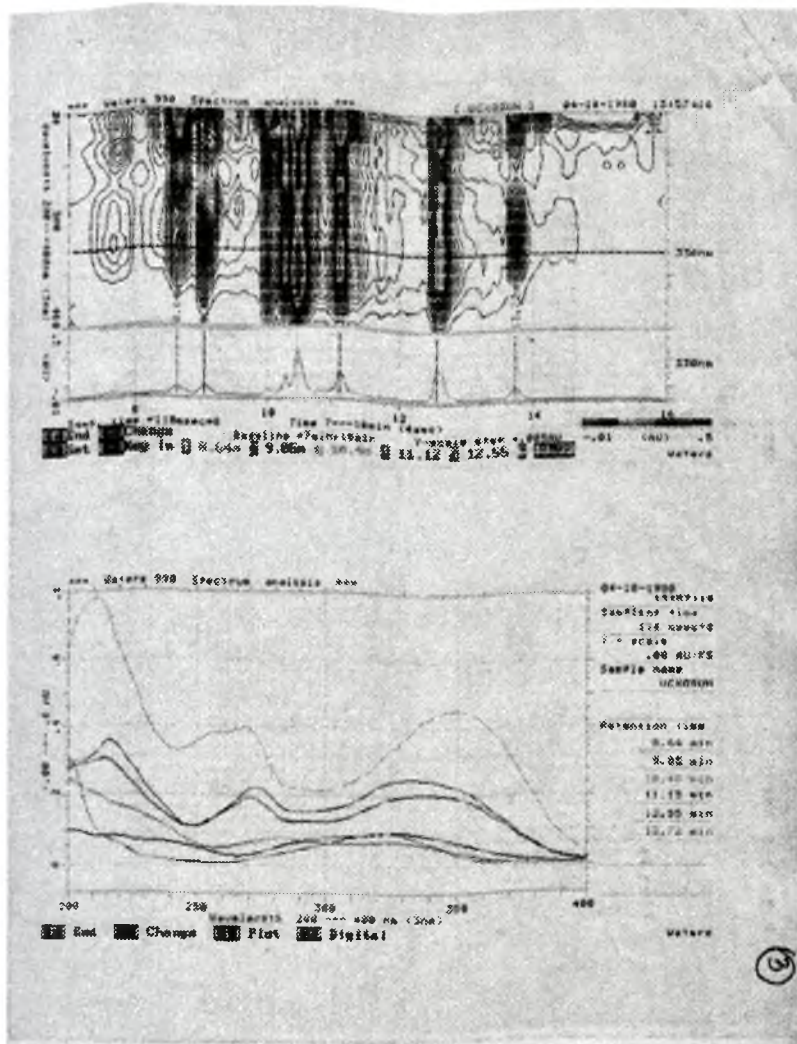
ყვითელი ყვავილის ქრომატოგრაფიული დაყოფის სურათი



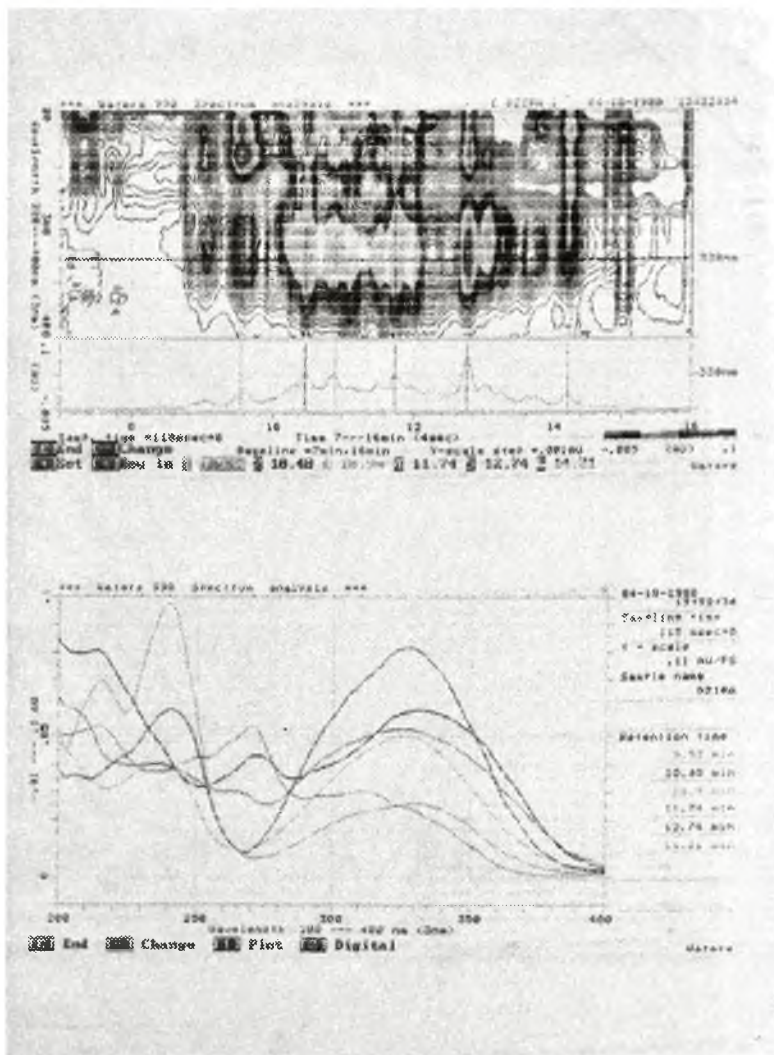


სურათი. 4  
ტარხუნის ქრომატოგრაფიული დაყოფის სურათი





სურათი 5  
 უცხო სუნელის ქრომატოგრაფიული დაყოფის სურათი



სურათი 6  
ძირას (კლიავის) ქრომატოგრაფიული დაყოფის სურათი

2. კვლევის შემდეგ ეტაპზე ჩატარებულია სანელებლების თანმიმდევრული ექსტრაქცია სხვადასხვა პოლარობის გამსხნელებით.

შერჩეული გამსხნელებიდან ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფის მიზნით 600 გრამი ყვითელი ყვავილის გამშრალი ნიმუშის ფხნილის ექსტრაქცია მოხდა ჯერ დიქლორეთანით (სოქსლეტის აპარატში), ხოლო ფლაგონილების ექსტრაქცია ეთილის სპირტით.

ქონდარიდან ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფის მიზნით 100 გრამი ქონდარის გამშრალი ნიმუშის ფხნილის ექსტრაქცია მოხდა 3 ჯერადად ეთილის სპირტით 500 მლ ოდენობით. გაერთიანებული ეთილის სპირტის ექსტრაქტები გაიფილტრა, დაკონცენტრირდა ვაკუუმის გამოყენებით არა უმეტეს 40°C-ზე. ქონდარის ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფის მიზნით ასევე წყლის ექსტრაქცია გაუკეთდა ქონდარის 100 გრამ მშრალ მასალას.

სანელებლების საერთო ექსტრაქტების მომზადება Jukart უჯრედების კულტურაზე შესწავლის მიზნით.

გაკეთდა ყვითელი ყვავილის, ქონდარის (ხმელი), ქონდარის (ნედლი), კოწახურის, კელიავის (ძირას), ხმელი სუნელის, ქინძის (ხმელი), ქინძის (ნედლი), ნიორის, , ტარხუნას, ნიგოზის, უცხო ხუნელის, ომბალოს სპირტიანი და წყლის ექსტრაქტები.

თანმიმდევრული ექსტრაქცია ხდებოდა შემდეგი გამსხნელებით ქლოროფორმით, ეთილაცეტატით, სპირტით და წყლით.

თანმიმდევრული ექსტრაქცია: 1 გრამი ნიმუშებს ვამატებდით 20 მილილიტრ ქლოროფორმს ვაყოვნებდით 48 საათის განმავლობაში, მიღებულ ექსტრაქტს ვფილტრავდით და ვაკონცენტრირებდით



გაკუუმ ამაორთქლებელში არა უმეტეს 40°C-ზე. მსგავსი პროცედურებით გაკეთდა ექსტრაქცია სხვა გამხსნელებით, კერძოდ ეთილაცეტატით და სპირტით. წყლის შემთხვევაში ექსტრაქცია ხდებოდა ადუღებული გამოხდილი წყლის გამოყენებით. ნარჩენი მშრალი მასა 2 მილიგრამის ოდენობით ექვემდებარებოდა შემდგომ კელევას Jurkat უჯრედების კულტურაზე).

**3. კელევის შემდეგ ეტაპზე მეტად აქტიური სანელებლებიდან გამოყოფილ და იდენტიფიცირებულ იქნა აქტიური ნიეთიერებები:**

- ყვითელი ყვავილიდან გამოყოფილი იყო ნიეთიერება 1 - პატულეტინი, ნიეთიერება 2 - ფენილპროპანოიდი, ნიეთიერება 3 - კაროტინოიდი, ნიეთიერება 4,5 - ორი ფლაეონოიდის ნარევი;

- ქონდარიდან გამოყოფილი ნიეთიერება ქ-1 და ქონდარის საერთო ექსტრაქტი.

მიღებული ექსტრაქტების და ნაერთების ბიოლოგიური აქტიუობა შეისწავლებოდა Jukart უჯრედების კულტურაზე.

ყვითელი ყვავილიდან სუფთა ნაერთების გამოყოფის მიზნით გამოვიყენეთ ქრომატოგრაფიის მეთოდი დიქლორეთანის და სპირტის ექსტრაქტების დაყოფა სხვადასხვა გამხსნელების სეგტებზე. შესაბამისი გამხსნელთა სისტემების გამოყენებით (ქლოროფორმი-მეთანოლი და დიქლორეთანი-მეთანოლი) სეგტიდან მიღებული ფრაქციები, რომელთა თეისობრივი შედგენილობის შესწავლა ხდებოდა თხელფენოვან ფირფიტებზე. ფლაეონოიდების გამჟღავნების მიზნით ფირფიტებს ვასხურებდით ალუმინის ქლორიდის 1%-იანი ხსნარით სპირტში. გაცხელების შედეგად ფირფიტაზე წარმოქმნილი ყვითელი შეფერილობის ლაქა მეტყველებს იმაზე

რომ ეს ლაქა ფლავონოიდური ბუნებისაა. ფირფიტაზე დამუშავებული დაყოფის პირობები შემდეგ ეტაპზე გამოყენებული იყო სპირტიანი ექსტრაქტის ქრომატოგრაფირებისთვის სვეტის მეშვეობით სადაც შესაძლებელია ნაერთების დიდი რაოდენობით გამოყოფა. შერჩეული იყო სვეტის სორბენტი სილიკაგელი და სისტემა დიქლორეთანი-მეტანოლი უკანასკნელის თანდათანობითი კონცენტრაციის მატებით სვეტიდან ელუირებული იყო ფრაქციები. რომლებიდანაც ხდებოდა ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფა. კერძოდ მეორე ფრაქციიდან დამატებითი ქრომატოგრაფირების მეშვეობით სეფადექს ლხ-20 სვეტზე მივიღეთ *ნიეთი-ურება 1* და დაეიწყეთ მისი იდენტიფიკაცია. კერძოდ გადავიღეთ მისი უვ-სპექტრი, მასში დაფიქსირებულია ორი მაქსიმუმი 250 და 350 ნანომეტრის ფარგლებში, რაც დამახასიატებელია *ფლავონოიდუ-ბისტვის*.

შემდეგ გრძელდებოდა ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფა და გასუფთავება. კერძოდ ყვითელი ყვავილის *ლიპოფილური ფრაქციიდან (ექსტრაქცია დიქლორეთანით)* სილიკაგელის სვეტიდან მიღებული პირველი ფრაქციის (ელუცია დიქლორეთანით) დაყოფა განხორციელდა ისევე სილიკაგელის სვეტზე ჰექსანი - ქლოროფორმის ნარეით. ჰექსანის ელუციის შემდეგ ფრაქციების მიღება ხორციელდებოდა ქლოროფორმის კონცენტრაციის მატებით, რის შედეგად მიღებული ფრაქციების კონცენტრირება ხდებოდა არა უმეტეს 40 გრადუსისა ცელსიუსზე ვაკუუმში. მიღებული ფრაქციების თვისობრივი შედგენილობა მოწმდებოდა თხელი ფენის სილიკაგელის ფირფიტებზე (მერკის უფ-254). შედეგად მივიღეთ ინდივიდუალური *ნიეთიურება 3*.

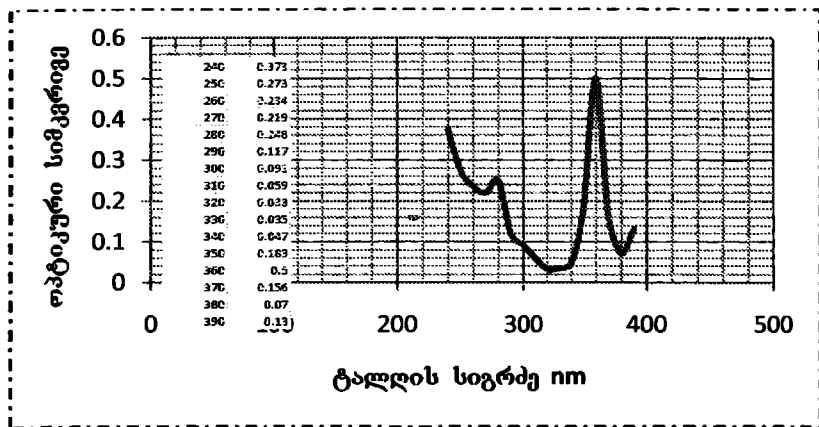
ასევე მიმდინარეობდა პიდროფილური ფრაქციებიდან ინდივიდუალური ნაერთების მიღების სამუშაოები. სპირტის ექსტრაქტის სილიკაგელზე ქრომატოგრაფირება ხდებოდა ქლოროფორმის და ქლოროფორმ-მეთანოლის ნარევებით რის შედეგად მივიღეთ ფრაქციები, მათ შორის ერთ-ერთი ფრაქციაში დომინირებადი ნივთიერება 4. ხელახალი ქრომატოგრაფირების პოლიამიდის სვეტზე წყალისპირტის ხსნარებით შესაძლებელი გახდა ნივთიერება 4-ის ინდივიდუალური სახით მიღება.

ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფის მიზნით ჩატარებული სამუშაოები მიმდინარეობდა სვეტის სორბენტის სილიკაგელის და სისტემის დიქლორეთანი-მეტანოლის შერჩევით. მეთანოლის თანდათანობით კონცენტრაციის მატებით სვეტიდან მივიღეთ 7 ფრაქცია. მათ შორის ფრაქცია 1 ელუირებული იყო 2%-ანი მეთანოლით დიქლორეთანში, ფრაქცია 2- 4%-იანი, ფრაქცია 3-5%-იანი, ფრაქცია 4- 7%-იანი და ფრაქცია 5- 10%-იანი მეთანოლით დიქლორეთანში. რომლებიდანაც ხდებოდა ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფა კერძოდ პირველი ფრაქციიდან დამატებითი ქრომატოგრაფირების მეშვეობით სეფადექს ლხ-20 სვეტზე განხსნელთა სისტემა 2%-ანი მეთანოლი დიქლორეთანში მივიღეთ ნივთიერება 1.

ამ ნაერთის ულტრაიისფერი (UV)-სპექტრში არის ორი მაქსიმუმი 250 და 350 ნანომეტრის ფარგლებში, რაც დამახასიათებელია ფლავონოიდებისთვის (სურათი 7).

ყვითელი ყვავილის ლიპოფილური ფრაქციიდან (ექსტრაქცია დიქლორეთანით) და ზემოთ მიღებული პირველი სვეტის დიქლორეთანოლით ელუირებული გაერთიანებული ფრაქციის დაყოფა განხორციელდა ისევ სილიკაგელის სვეტზე ჰექსანი -

ქლოროფორმის ნარევით. ჰექსანის ელუციის შემდეგ ფრაქციების მიღება ხორციელდებოდა ქლოროფორმის კონცენტრაციის მატებით, რის შემდეგ მიღებული ფრაქციები 1-3. მათი დაეონცენტრირება ხდებოდა არა უმეტეს 40<sup>0</sup>C ვაკუუმში.



სურათი 7  
ნიეთიერება 1-ის (პატულეტინი) ულტრაიისფერი (UV) სპექტრი

მიღებული ფრაქციების თვისობრივი შედეგ-ნილობა მოწმდებოდა ქრომატოგრაფიებით თხელი ფენის სილიკაგელის ფირფიტებზე მსგავსი ფრაქციები ერთიან-დებოდა. შედეგად ფრაქცია 1-დან, რომელიც ელუირებული იყო 3%-ანი ქლოროფორმით ჰექსანში, მივიღეთ ნიეთიერება 2 და ფრაქცია 2-დან (ელუირებული 5%-ანი ქლოროფორმის კონცენტრაციით ჰექსანში მივიღეთ ინდივიდუალური ნიეთიერება 3, რომელიც თავისი შეფერილობით და

ქრომატოგრაფიული დაყოფის მახასიათებლებით სავარაუდოდ კაროტინოიდული ბუნებისაა.

დამატებით ნივთიერება 2-ის სპირტიანი ექსტრაქტის პირველი სვეტის ფრაქცია 5-დან ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფა მოხდა სილიკაგელის სვეტზე ქლოროფორმის და ქლოროფორმ-მეთანოლის ნარევიები ელუციით. რის შედეგად მივიღეთ ფრაქციები, მათ შორის ერთ-ერთ ფრაქციაში 3 (ელუცია 8%-ანი მეთანოლით ქლოროფორმში) დომინირებადი ნივთიერება 4-ს შედგენილობით. წყალისპირტის სსნარების ხელახალი ქრომატოგრაფირებით პოლიამიდის სვეტზე შესაძლებელი გახდა ნივთიერება 4-ის მიღება ინდივიდუალური სახით.

**4. თხელფენოვანი ქრომატოგრაფია.** თხელფენოვანი ქრომატოგრაფია გამოყენებული იყო სანულებლების თვისობრივი შესწავლისთვის და ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფისთვის.

**4.1 ყვითელი ყვავილის** სპირტიანი ექსტრაქტის დაყოფა თხელფენოვანი ქრომატოგრაფიის მეთოდით სილიკაგელის ფირფიტებზე შესაბამისი გამხსნელთა სისტემების გამოყენებით. საუკეთესო დაყოფა ლიპოფილური ფლაეონოიდებისთვის (პატულებინი, კვერცეტაგეტინი) დადგინდა დიქლორეთანი-მეთანოლი (9:1) და ქლოროფორმი-მეთანოლის (9:1) სისტემების შემთხვევებში. რაც შეეხება უფრო პოლარულ ფლაეონოიდებს (კვერცეტაგეტინ-7-გლუკოზიდს) დადგინდა, რომ მისი დაყოფა უძობესია ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყლის (26:14:3) ნარევით სილიკაგელის ფირფიტაზე. ქრომატოგრამების დათვალიერება ხდებოდა უფ-სხივების (360 ნმ) ზემოქმედების ქვეშ რეაგენტების შესხურებამდე და შეხხურების შემდეგ. დაყოფილი ფლაეონოიდების

გამჟღავნების მიზნით სილიკაგელის ფირფიტებს ვასხურებდით ალუმინის ქლორიდის 1%-იანი ხსნარით ეთილის სპირტში. გაცხელების შედეგად ფირფიტაზე წარმოქმნილი ყვითელი შეფერილობა მეტყველებს იმაზე რომ ეს ლაქა ფლავონოიდური ბუნებისაა. სხვა დანარჩენი ნაერთების გამჟღავნებისთვის ვიყენებდით 20%-ან გოგირდის მუავის ხსნარის შესხურებას შემდგომი გაცხელებით.

**42 ქონდარის ექსტრაქტები** წარმოდგენილია ძირითადად პოლარული ფენოლური ნაერთებით ამიტომ მათი დაყოფა ხდებოდა სილიკაგელის ფირფიტაზე ქლოროფორმი-მეთანოლი-წყლის (26:14:3) ნარევის გამოყენებით. ქრომატოგრამაზე ნივთიერებათა ლაქების გამჟღავნებას ვაწარმოებდით ყვითელი ყვავილის ქრომატოგრაფირების დროს ჩატარებული პროცედურების მსგავსად.

**5. სვეტის ქრომატოგრაფია.** სვეტის ქრომატოგრაფია გამოყენებული იყო ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფისთვის. თხელფენოვანი ქრომატოგრაფიის სილიკაგელის ფირფიტაზე დამუშავებული დაყოფის პირობები შემდეგ ეტაპზე გამოყენებული იყო სპირტიანი ექსტრაქტის ქრომატოგრაფირებისთვის სვეტის მეშვეობით რაც ხაშუალებას გვაძლევს მოვასდინოთ ინდივიდუალური ნაერთების დიდი რაოდენობით გამოყა, იდენტიფიკაცია და ბიოლოგიური აქტივობის შესწავლა.

**5.1 ყვითელი ყვავილის ქრომატოგრაფირებისთვის** შერჩეული იყო სვეტის სორბენტი სილიკაგელი და სისტემა დიქლორეთანი-მეთანოლი უკანასკნელის კონცენტრაციის თანდათანობით მატებით. ყვითელი ყვავილის დიქლორეთანის ექსტრაგირების შემდეგ მიღებული დაკონცენტრირებული სპირტიანი ექსტრაქტის 5 მლ-ს ეუმატებდით სილიკაგელის

სორბენტს 5 გრამის ოდენობით ვაშრობდით არა უმეტეს 40<sup>0</sup> C და შევიტანეთ დიქლორეთანით გაწონასწორებულ სვეტში ( 6 x 4 სმ) სორბენტის ოდენობა შეადგენს 30 გრამს და ელუცია მიმდინარეობდა 200 მილილიტრი (მლ) ქლოროფორმით, შემდეგ 500 მლ 3%-იანი მეთანოლი- ქლოროფორმის ნარევით, შემდეგ 500 მლ 7%-იანი მეთანოლი-ქლოროფორმის ნარევით, 500 მლ 10 % მეთანოლი-ქლოროფორმის ნარევით და ბოლოს სუფთა მეთანოლით. სილიკაგელის სვეტიდან ელუირებული ფრაქციების 1-10 დაკონცენტრირება ხდებოდა არა უმეტეს 40<sup>0</sup>-C ვაკუუმში. სილიკაგელის სვეტზე მსგავსი ფრაქციების გაერთიანება ხდებოდა თხელფენოვანი ქრომატოგრაფიის ჩატარების შემდეგ. ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფა მოხდა 3%-იანი მეთანოლი- ქლოროფორმის ნარევით ელუირებული ფრაქციიდან, დამატებითი ქრომატოგრაფირების მეშვეობით სეფადექს ლხ-20 სვეტზე იგივე გამსხნელით მივიღეთ ნივთიერება 1.

დიქლორეთანით ექსტრაგირებული ყვითელი ყვავილის ლიპოფილური ფრაქციის დაყოფა მიმდინარეობდა სილიკაგელის სვეტზე ჰექსანი - ქლოროფორმის ნარევით. ჰექსანის ელუციის შემდეგ ფრაქციების მიღება ხორციელდებოდა ქლოროფორმის კონცენტრაციის მატებით, რის შემდეგ მიღებული ფრაქციების დაკონცენტრირება ხდებოდა არა უმეტეს 40<sup>0</sup>-C ვაკუუმში. მიღებული ფრაქციების თვისობრივი შედგენილობა მოწმდებოდა ქრომატოგრაფირებით თხელი ფენის სილიკაგელის ფირფიტებზე ჰექსან-ქლოროფორმის (9:1) სისტემის გამოყენებით, მსგავსი ფრაქციები ერთიანდებოდა. 1-2%-იანი ქლოროფორმი- ჰექსანის ნარევით ელუირებული იყო კაროტინოიდი - ლუტეინი

(*ნივთიერება 3*), ხოლო 8-10 %-იანი ქლოროფორმი-ჰექსანის ნარევიტ მივიღეთ ინდივიდუალური *ნივთიერება 2*.

ასევე მიმდინარეობდა ჰიდროფილური ფრაქციებიდან ინდივიდუალური ნაერთების მიღების სამუშაოები. სპირტის ექსტრაქტის სილიკაგელზე ქრომატოგრაფირება ხდებოდა ქლოროფორმის და ქლოროფორმ-მეთანოლის ნარევიტით, რის შედეგად მივიღეთ ფრაქციები, მათ შორის ერთ-ერთ ფრაქციაში დომინირებადი ნივთიერება 4-ს და 5-ს შედგენილობით. ხელახალი ქრომატოგრაფირება პოლიამიდის სვეტზე წყალი-სპირტის ხსნარებით შესაძლებელი გახდა ნივთიერება 4-ის და 5-ს მიღება ინდივიდუალური სახით.

**52 ქონდარიდან** ინდივიდუალური ნაერთების გამოყოფის სამუშაოები, კერძოდ ქონდარის სპირტის ექსტრაქტიდან (იხ. 2) შედეგად გამოიღეკა მყარი მასა, რომლის გასუფთავების (დიქლორეთანით) შედეგად მივიღეთ *ნივთიერება 1*. წყლის ექსტრაქტი (იხ. 2) დატანილი იყო პოლიამიდის სვეტზე წყლის ელუციით სვეტი გასუფთავდა არაფენოლური ნაერთებისაგან, ხოლო ფენოლური ნაერთების ელუცია ხდებოდა სპირტის რაოდენობის თანდათანობით მატებით წყალში. 5-10 % -ანი სპირტით ელუცია ხდებოდა ფენილპროპანოიდების, ხოლო 15-100%-იანი სპირტის კონცენტრაციით წყალში ფლავონოიდების და სხვა პოლიფენოლების.

მიღებული ფრაქციებიდან ინდივიდუალური ნაერთების მიღებისთვის გამოყენებული სილიკაგელის სვეტი (ელუცია დიქლორეთანით და დიქლორეთანი-მეთანოლის ნარევიტით). მიღებული ფრაქციების დაკონცენტრირება ხდებოდა არაუმეტეს 40°C ვაკუუმში. მიღებული ფრაქციების



თვისობრივი შედეგენილობა მოწმდებოდა ქრომატოგრაფირებით თხელი ფენის სილიკაგელის ფირფიტებზე მსგავსი ფრაქციები ერთიანდებოდა. შედეგად მივიღეთ ინდივიდუალური **ნივთიერება ქ-2**.

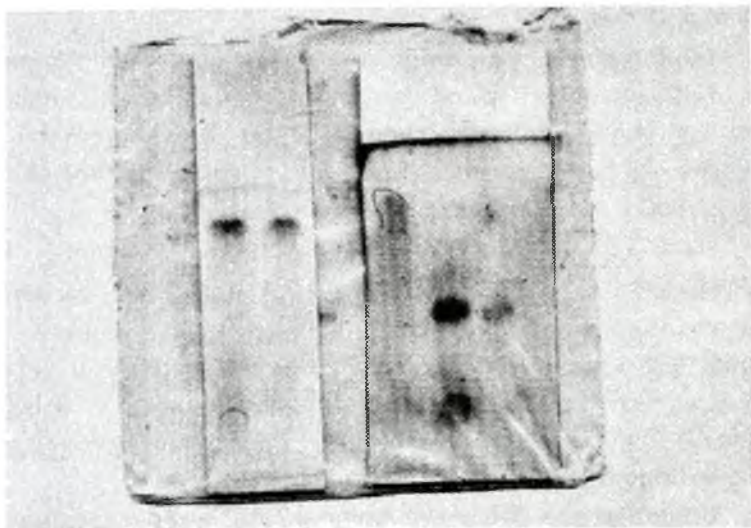
ასევე მიმდინარეობდა ხხეა ინდივიდუალური ნაერთების მიღების სამუშაოები. პოლიამიდის სვეტიდან სპირტის ელუენტის მიღებული სხვა ფრაქციების ქრომატოგრაფირება სილიკაგელის სვეტზე ხდებოდა ქლოროფორმის და ქლოროფორმ-მეტანოლის ნარეევით. რის შედეგად მივიღეთ ფრაქციები, მათ შორის ერთ-ერთ ფრაქციაში დომინირებადი ნივთიერება ქ-3 შედგენილობით. დამატებითმა ქრომატოგრაფირებამ სეფადექს ლხ-20 სვეტზე შესაძლებლობა მოგვცა ნივთიერება ქ-3 მიგველო ინდივიდუალური სახით.

ამრიგად საერთო ჯამში გამოყოფილია 6 ფენოლური ნაერთი მათ შორის ვვითეული ყვავილიდან 3 ფლაგონოიდი, კარტინოიდი და ფენილპროპანოიდი, ხოლო ქონდარიდან 2 - ფენილპროპანოიდი და ფლაგონოიდი.

6. ნივთიერებების იდენტიფიკაცია. იდენტიფიკაცია მიმდინარეობდა UV-სპექტრების და აუტენტური ნივთიერებების მიხედვით. ფლაგონოიდების გლიკოზიდების იდენტიფიკაციის დროს გამოყენებული იყო მუაეური ჰიდროლიზის მეთოდის შედეგად მიღებული პროდუქტების: აგლიკონის და ნახშირწლის იდენტიფიკაცია ქრომატოგრაფიული მეთოდით.

6.1 ვვითეული ყვავილიდან მიღებული ნივთიერება 1 (**პატულეტინი**) UV-სპექტრში არის ორი მაქსიმუმი 268 და 350 ნანომეტრის ფარგლებში (სურათი 7), რაც დამახასიათებელია ფლაგონოიდებისთვის, კერ-

ძოდ ფლავონების და ფლავონელობისთვის. აუტენტური პატულეტინის სპექტრი და შედარება მწსქ ქრომატოგრამების დროის შეკავება და ნივთიერება 1 ემთხვევა ერთმანეთს. ასევე პატულეტინის დამატება ზრდის ნივთიერება 1 პიკს. თხელფენოვანი ქრომატოგრაფირების დროს პატულეტინის ლაქა დროის შეკავების მიხედვით ემთხვეა ნივთიერება 1-ს. ასევე თხელფენოვანი ქრომატოგრაფირებით სილიკაგელის ფირფიტაზე ქლოროფორმ-მეთანოლის (9:1) გამოყენებით დადგინდა, რომ პატულეტინის ლაქა ემთხვეა ნივთიერება 1 ლაქას (სურათი 8 მარცხენა).



სურათი 8  
 პატულეტინის (მარცხენა) და ნივთიერება 2-ს  
 (ფენილპროპანოიდი) (მარჯვენა) თხელფენოვანი  
 ქრომატოგრამები

ალუმინის ქლორიდის შესხურების შედეგად ორთავე ნაერთი იძლევა ყვითელ შეფერილობას, რაც დამახასიათებელია ფლავონოიდებისთვის. ამრიგად შეიძლება დაეასკვნათ, რომ ყვითელი ყვავილიდან გამოყოფილი ნივთიერება 1 არის პატულეტინი.

სურათი 8-ზე (მარჯვენა) ასევე წარმოდგენილია **ნივთიერება 2-ის** დაყოფა თხელფენოვანი ქრომატოგრაფიებით სილიკაგელის ფირფიტაზე ქლოროფორმ-მეთანოლის (9:1) გამოყენებით. ალუმინის ქლორიდის შესხურება არ იძლევა ყვითელ შეფერილობას, ხოლო 20%-ან გოგირდის მჟავას სსნარის შესხურების შემდეგ სილიკაგელის ფირფიტის გაცხელება იძლევა იასამნის ფერის შეფერილობას, რაც როგორც წესი დამახასიათებელია **ფენილპროპანოიდებისთვის**.

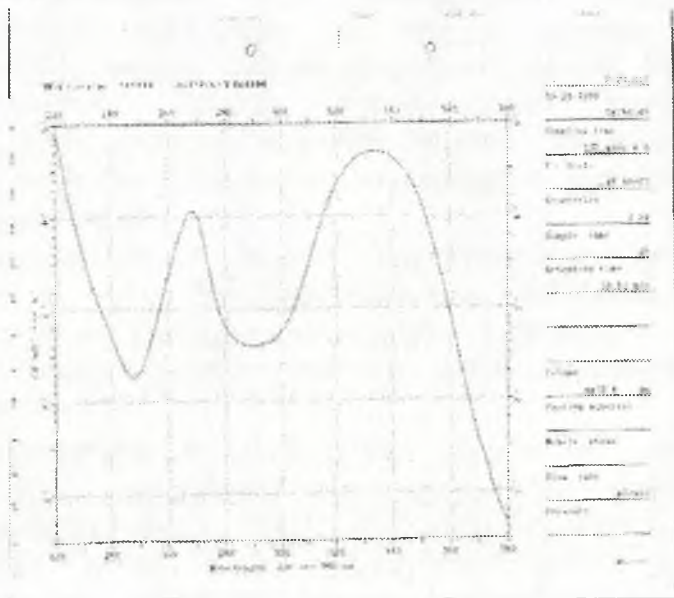
**ნივთიერება 3** თავისი შეფერილობით ყვითელი ფერისაა, მისი ქრომატოგრაფიული მახასიათებლები და ლიტერატურული მონაცემები საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოდ რომ ის არის **კაროტინოიდოლუტინი**.

**ნივთიერება 4** UV-სპექტრი თავისი მონაცემებით ემთხვევა აუტენტურ კვერცხტაგეტინს. დამთხვევა შეინიშნება ასევე მწთქ ქრომატოგრაფირების პროფილზე. გარდა ამისა აუტენტური ნაერთის კვერცხტაგეტინის დამატება ზრდის ნივთიერება 4-ს პიკს ქრომატოგრამაზე. ამრიგად შეიძლება დაეასკვნათ, რომ **ნივთიერება 4** არის **კვერცხტაგეტინი**.

**ნივთიერება 5-ს** იდენტიფიკაცია მოხდა ნივთიერება 4 მსგავსად აუტენტური **კვერცხტაგეტინ-7-გლუკოზიდის** მიხედვით.



დამუშავებულია მაღალი წნევის სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით ქართული სანელებლების დაყოფა. კერძოდ შერჩეულია ქრომატოგრაფიული სეეტი Radia-Park C18 (8x10); სვეტის ტემპერატურა 35 გრადუსი, ნაკადის სიჩქარე 1,8 მლ/წთ; ნიმუშის რაოდენობა 20 მკლ გამხსნელთა სისტემა: ხსნარი ა- 0,1% სამიფტორმარმუაჟა, ხსნარი ბ- 60% აცეტონიტრილი (მოცულობით). შერჩეულია გრადიენტის კომპოზიცია რომელიც უზრუნველყოფს საუკეთესო დაყოფას.

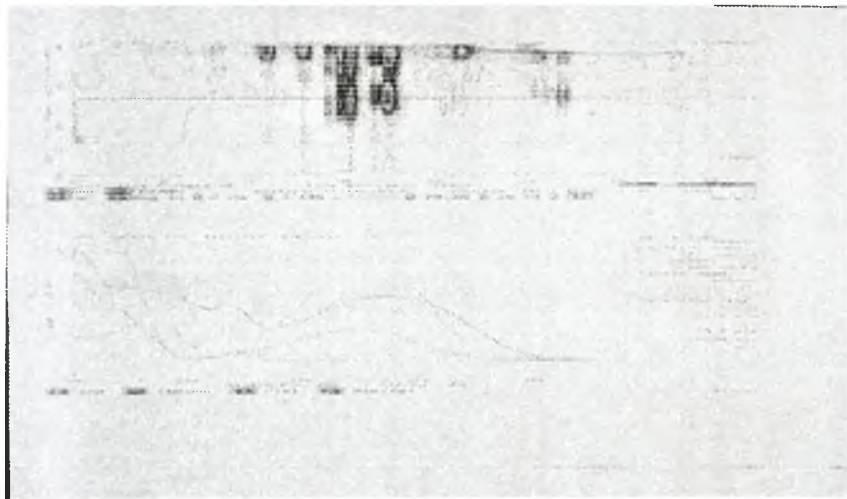


სურათი 10  
ნივთიერება *ჟ2* UV-სპექტრი

გაკეთდა ყვითელი ყვავილის, ქონდარის, ქინძის, ძირას, ტარხუნას, უცხო სუნელის, წიწმატის, მწვანე წიწაკის და ნიახურის თვისობრივი შესწავლა პოლიფენოლების მიხედვით. თვისობრივი შესწავლა

ქრომატოგრაფიული პროფილების მიხედვით წარმობდა მწსქ მიხედვით. პოლიფენოლების პიკები წარმოდგენილია შესაბამის სურათებზე.

ქრომატოგრაფიული დაყოფის სურათებიდან ასევე ჩანს, რომ **წიწმატში** (სურათი 11) **2 ფლავონოიდი და 2 ფენილპროპანოიდი**.



სურათი 11.

წიწმატის ქრომატოგრაფიული დაყოფის პროფილი მწსქ

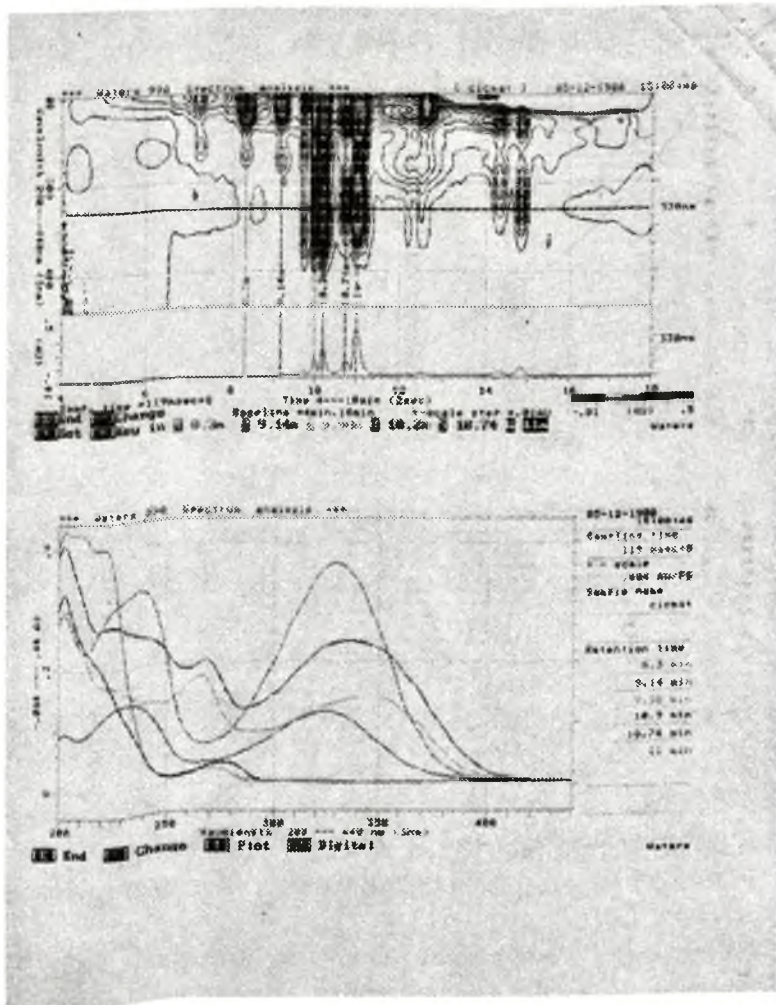
**მწვანე წიწაკაში** (სურათი 12) ვხედავთ **1 ფენილპროპანოიდს და 1 ფლავონოიდს**.

**ნიახურში** გამოვლენილია **3 ფლავონოიდი** (სურათი 13).

ამრიგად დადგინდა, რომ აღნიშნულ ნიმუშებში პოლიფენოლების რაოდენობა კოელაციამია ანტიოქსიდანტურ აქტიუობასთან (იხ ნაწილი 1)

ამრიგად შეიძლება დავასკვნათ, რომ ანტიოქსიდანტური აქტიუობა ნიახურში განპირობებულია

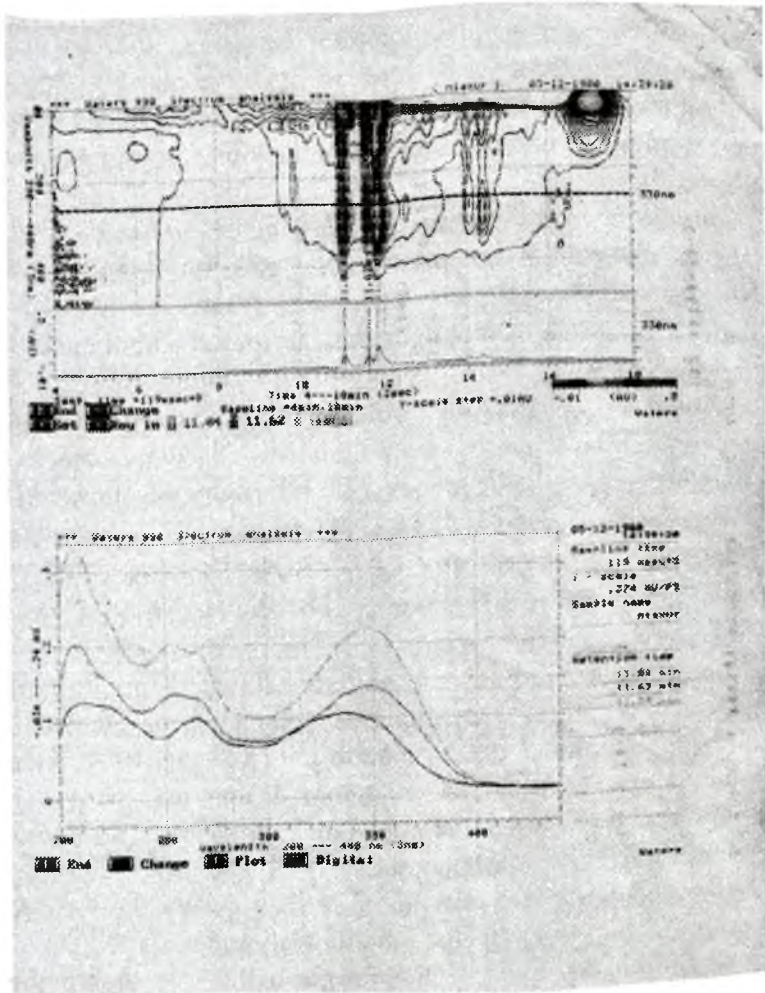
ფლავონოიდებით, ხოლო მწვანე წიწაკაში და წიწმატში როგორც ფლავონოიდებით ასევე ფენილ-პროპანოიდებით.



სურათი 12.

მწვანე წიწაკას ქრომატოგრაფიული დაყოფის პროფილი მწსქ





სურათი 13  
 ნიახურის ქრომატოგრაფიული დაყოფის პროფილი მწსქ



## 8. სანელებლებში ფენოლური ნაერთების რაოდენობრივი განსაზღვრა

### 8.1 საერთო ფენოლების განსაზღვრის მეთოდიკა.

ფოლინ-დენისის რეაქტივის მომზადება : 100გ ნატრიუმის ვოლფრამატს და 20გ ფოსფორმობდენის მჟავას უმატებენ 50 მლ 85% ფოსფორ მჟავას და 750 მლ წყალს უკუმაცივრით ვადუღებთ 2 საათის განმავლობაში, იფილტრება და ივსება 1ლ-მდე.

საერთო ფენოლების სტანდარტიზაცია ხდება გალის მჟავის მიხედვით. 5 მლ გალის მჟავას ეხსნით 250 მლ შემჟავებულ წყალში [pH=3.2] 1,2,3,4,5 მლ გალის მჟავა მოვათავსეთ 50 მლ-იან საზომ ვოლბაში, დაუვმატეთ 1 მლ ფოლინის რეაქტივი 2 მლ ნატრიუმის აცეტატის ხსნარი და შევაესეთ წყლით ჭდემდე. 60 წუთის დაყოვნების შემდეგ ოპტიკური სიმკვრივე განესაზღვრეთ 725 ნმ ტალღის სიგრძეზე.

საერთო ფენოლების რაოდენობას ვითვლიდით შემდეგი ფორმულით :  $C=A \cdot O \cdot \Pi$  სადაც A -არის განზავება  $O \cdot \Pi$  -სიმკვრივე, ამ მონაცემებით ავაგეთ სტანდარტული მრუდი.

საკვლევი მასალა ავიღეთ 1 გ და მდულარე წყლით 30 (მლ) გაუუკეთეთ ექსტრაქცია 6 საათის განმავლობაში. ამ დროის გასვლის შემდეგ თითოეული ნიმუშიდან ავიღეთ 1 მლ და დაუვმატეთ ფოლინ დენისის რეაქტივი ზემოთ აღწერილი მეთოდიკის მიხედვით. გალის მჟავის სტანდარტული მრუდიდან გამოანგარიშებით მივიღეთ შემდეგი მონაცემები (ცხრილი 1).

**ფენოლური ნაერთების რაოდენობა სანელებლებში.** ანალიზის შედეგები: სანელებლების წყალხსნარების საერთო ფენოლები ფოლინდენისის მეთოდით. ომბალო - 340 მგ/გ,

ნიგოზი - 335 მგ/გ, ყვითელი ყვავილი - 330 მგ/გ, ტარხუნა - 325 მგ/ გ, კოწახური - 320 მგ/გ, ქონდარი - 300 მგ/გ. უცხო სუნელი - 280 მგ/გ, შავი წიწაკა - 260 მგ/გ, წითელი წიწაკა - 240 მგ/გ, ხმელი სუნელი - 200 მგ/გ, კვლიავი - 180 მგ/გ, შაშკულამი - 160 მგ/გ, სვანური მარილი - 145 მგ/გ, ძირა - 140 მგ/გ, ქინძი - 135 მგ/გ.

### ცხრილი 1

ნიმუშებში საერთო ფენოლების რაოდენობა

ნიმუში	სიმკვრივე	რაოდენობა (მგ/გ)
ნიგოზი	1,233	335
შაშკულამი	0,589	160
კოწახური	1,178	320
უცხო სუნელი	1,03	280
ქინძი	0,497	135
წითელი წიწაკა	0.883	240
შავი წიწაკა	0,957	260
ძირა	0,515	140
ქონდარი	1,1055	300
სვ. მარილი	0,533	145
კვლიავი	0,662	180
ხმელი სუნელი	0,736	200
ტარხუნა	1,196	325
ყვთ. ყვავილი	1,215	330
ომბალო	1,251	340

## 82 ფლავონოიდების რაოდენობრივი განსაზღვრა.

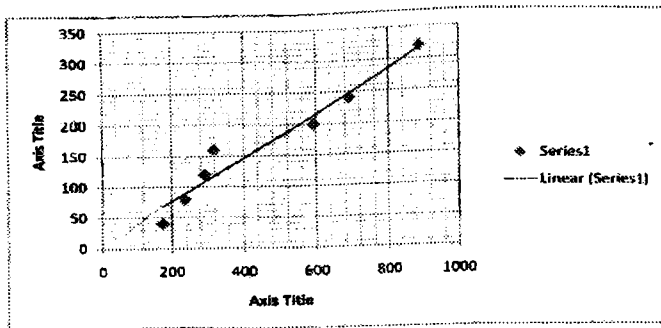
ყვითელი ყვავილის (*Tagetes patula*) ფლავონოიდების რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდი. საკვლევი ნიმუშის 100 მგ დამუშავდა ბენზოლით (1:3 მოცულობით) კოლბაში უკუმაცივრით 3 საათის განმავლობაში. ნარჩენი გაშრობის შემდეგ ექსტრაგირება გაუკეთდა 70%-ინი ეთილის სპირტით 3-ჯერ თითო საათის განმავლობაში. გაერთიანებული ექსტრაქტები გაიფილტრა და დაკონცენტრირდა 50 მლ-დე. ამ მოცულობიდან 2 მლ ხსნარს ემატებოდა 2 მლ ალუმინის ქლორიდის 10%-ინი ხსნარი, 0,5 მლ ძმარმეავის ხსნარი და შევსებული იყო მჭემდე 25 მლ საზომ კოლბაში. დაეაყოვნეთ ნახევარი საათი და განესაზღვრეთ ოპტიკური შთანქმა 1 მლ სისქის კიუვეტაში 410 ნმ ტალღაზე. შედარებისთვის ვიყენებდით საკონტროლო ნიმუშს ალუმინის ქლორიდის დამატების გარეშე. ფლავონოიდების ჯამის დაანგარიშება ხდებოდა შემდეგი ფორმულით:

$$X = \frac{D_1 \times A_0 \times V_1 \times V_2 \times V_6 \times 100 \times 100}{D_0 \times A \times V_3 \times V_4 \times V_5 \times 100}$$

82.1 ფლავონოიდების საკალიბრო მრუდი აგებულია ყვითელი ყვავილიდან გამოყოფილი და იდენტიფიცირებული პატულეტყინის მიხედვით (სურათი 14).

ყვითელი ყვავილის ნიმუშები აღებული იყო ყვავილობის დაწყებიდან 25, 35, 45 და 60 დღის შემდეგ. ნიმუშები აღებული იყო 5 რაიონიდან (სამეგრელო, კახეთი, აჭარა, ქართლი და გურია) ჩამოტანილი თესლების აღმონაცენებიდან მიღებული

ევაილები სახით. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილი ცხრილში 2.



სურათი 14  
ფლავონოიდების რაოდენობრივი განსაზღვრისთვის საკალიბრო მრუდი პატულეტინის მიხედვით.

**ცხრილი 2**

ფლავონოიდების რაოდენობა ყვითელ ყვავილას სხვადასხვა რეცეპტების თესლებიდან ყვავილობის დღეების დინამიკის მიხედვით

თესლის წარმომავლობა	ყვითლობიდან დაწყებული დღეების რაოდენობა	რაოდენობა მკგ/ში ყვავილობის 100 მგ მშრალ მასაზე				ფლავონოიდების რაოდენობა კაბოსასხული %-ში			
		25	35	45	60	25	35	45	60
სამეგრელო		24	210	280	260	0,4	3,09	4,51	4,4
კახეთი		65	70	210	180	1	1,19	3,17	2,88
აჭარა		60	130	210	80	0,82	2,3	3,19	1,32
ქართლი		65	80	200	150	0,92	1,08	3,09	2,44
გურია		18	170	260	210	0,29	2,58	4,07	3,26

ცხრილიდან ჩანს, რომ ყველაზე მაღალი ფლავონოიდების შემცველობა აღინიშნებოდა ყვავილობის დაწყებიდან 45-ე დღეს ყველა ნიმუშებში. შემდგომ პერიოდში ხდებოდა ყვავილებში ფლავონოიდების რაოდენობის კლება. შესწავლილი ნიმუშებიდან ყველაზე მაღალი ფლავონოიდების რაოდენობა აღინიშნაბოდა სამეგრელოდან ჩამოტანილი თესლიდან აღმოცენებული ყვითელი ყვავილის 45 დღის ნიმუშში და შეადგენდა 280მკგ/100მგ მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით, რაც შეადგენს 4,5 %. ყველაზე დაბალი ფლავონოიდების შემცველობის მაჩვენებელი იყო ქართლიდან ჩამოტანილი თესლიდან აღმოცენებული ყვითელი ყვავილის 45 დღის ნიმუშში და შეადგენდა 200მკგ/100მგ მშრალ მასაზე და კახეთიდან ჩამოტანილი თესლიდან აღმოცენებული ყვითელი ყვავილის 45 დღის ნიმუშში და შეადგენდა 210მკგ/100მგ მშრალ მასაზე.

**მეტად აქტიური ქართული წარმოშობის  
სანელებლების ექსტრაქტების და აქტიური  
ნაერთების აქტივობის შესწავლა  
ოქსიდაციური სტრესის პირობებში  
ინკუბირებულ ექსპერიმენტულ Jurkat  
უჯრედებზე**

სანელებლების, მათი ფრაქციებისა და ინდივიდუალური ნაერთების ანტიოქსიდანტური აქტივობის შეფასების მიზნით აგრეთვე გამოვიყენეთ ოქსიდაციური სტრესის პირობებში მყოფი Jurkat (DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (Germania)) უჯრედების სამოდულო სისტემა. ოქსიდაციური სტრესის მოდელირების მიზნით Jurkat უჯრედების საინკუბაციო სუსპენზიაში ემატება 30%-ნი წყალბადის ზეჟანგი ( $H_2O_2$ ) (Sigma) სხვადასხვა დოზით ( $H_2O_2$  -ს კონცენტრაცია 100  $\mu$ გ, 50  $\mu$ გ, 25  $\mu$ გ, 10  $\mu$ გ); ინკუბაცია მიმდინარეობდა 2 ს., 4 ს., 6 ს., 24 საათის განმავლობაში.

კვლევის ამ ეტაპზე შესწავლილია სანელებლების სხვადასხვა პოლარულობის ხსნარებში მიღებული ექსტრაქტების და მათგან გამოყოფილი აქტიური ნივთიერებების აქტივობა Jurkat უჯრედების ექსპერიმენტულ მოდელზე.

**1. სანელებლების წყლიანი ექსტრაქტების წყალხსნარები 1გ 35 მლ წყალი) აქტივობა (Jurkat უჯრედების მოდელურ სისტემაში..**

Jurkat უჯრედების კულტურაზე ოქსიდაციური სტრესის მეტად ოპტიმალურ მოდელზე ( $H_2O_2$ -ს კონცენტრაცია 50  $\mu$ გ და 25  $\mu$ გ; ინკუბაციის ვადა 24

საათი) *in vivo* შესწავლილია *სანელებლების წყლიანი ექსტრაქტების აქტივობა.*

1.1 სანელებლების წყლიანი ექსტრაქტების ზემოქმედება Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე (MTT ტესტი)

**ცხრილი 3**

Jurkat უჯრედების სიცოცხლიუნარიანობა (MTT ტესტი)

	ინტაქტური	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 მკმ	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 50 მკმ
Jurkat	0,66	0,53	0,25
Jurkat+ყვითელი ყვავილი	0,56	0,53	0,49
Jurkat+სვანური მარილი	0,59	0,52	0,26
Jurkat+ უცხო სუნელი	0,56	0,63	0,33
Jurkat+ოხრახუში	0,58	0,52	0,20
Jurkat+ტარსუნა	0,48	0,44	0,21
Jurkat+ქინძი	0,63	0,63	0,40
Jurkat+შავი წიწაკა	0,53	0,55	0,22
Jurkat+ქონდარი	0,61	0,67	0,68
Jurkat+წითელი ყვავილი	0,45	0,68	0,50
Jurkat+ომბალო	0,59	0,66	0,65
Jurkat+ძირა	0,58	0,19	0,11
Jurkat+ხმელი სუნელი	0,55	0,50	0,47
Jurkat+კვლიავი	0,56	0,57	0,47
Jurkat+კოწახური	0,63	0,63	0,54
Jurkat+ნიორი	0,46	0,45	0,35
Jurkat+ნიხური	0,67	0,63	0,65
Jurkat+რეხანი	0,73	0,58	0,52

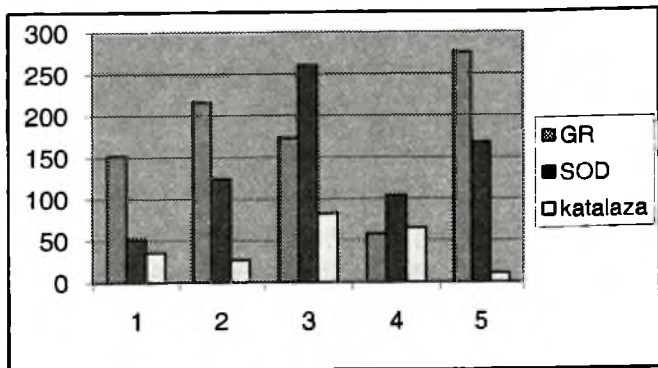
ცხრილში 3 ნაჩვენებია **ყვითელი ყვავილის, ომბალოს, ქონდარის, ძირას სვანური მარილის, ოხრახუშის, უცხო სუნელის, ტარსუნას, ქინძის, შავი წიწაკას, ქონდრის, წითელი წიწაკის, ნიასურისა და რესანის** ზემოქმედება დაბალი ( $H_2O_2$  - ს კონცენტრაცია 25  $\mu$ გ) და ძლიერი ( $H_2O_2$  - ს კონცენტრაცია 50  $\mu$ გ) ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული **Jurkat** ჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე. როგორც აღმოჩნდა ყველა შესწავლილი ხსნარებიდან **ძირა** ხასიაღფება ყველაზე დაბალი აქტივობით. (ცხრილი 3)

**12 სანელებლების წყლიანი ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური აქტივობა** სანელებლების წყლიანი ექსტრაქტების ზემოქმედება ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული **Jurkat** უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (კატალაზა, სუპეროქსიდდისმუტაზა, გლუტათიონრედუქტაზა) აქტივობაზე.

სურათზე 15 ნაჩვენებია **ყვითელი ყვავილის, ომბალოს, ქონდარისა და ძირას** ზემოქმედება ინტაქტური **Jurkat** უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობაზე. როგორც აღმოჩნდა ყველა შესწავლილი ხსნარი ხელს უწყობს **Jurkat** უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის გაძლიერებას (ყველაზე ნაკლები ეფექტი გააჩნია **ქონდარს**).

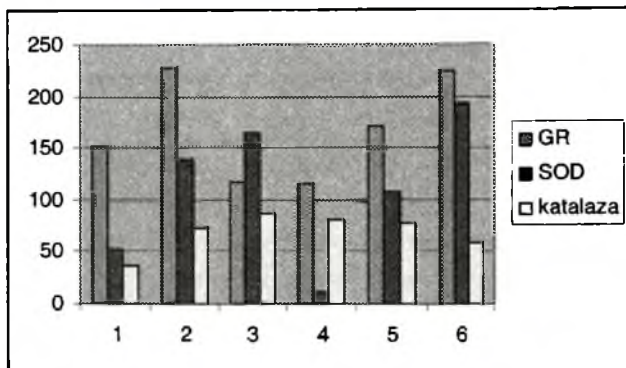
სურათზე 16 ნაჩვენებია **ყვითელი ყვავილის, ომბალოს, ქონდარისა და ძირას** ზემოქმედება ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პრობებში ( $H_2O_2$  - ს კონცენტრაცია 50  $\mu$ გ) ინკუბირებულ **Jurkat** უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობაზე.





სურათი 15

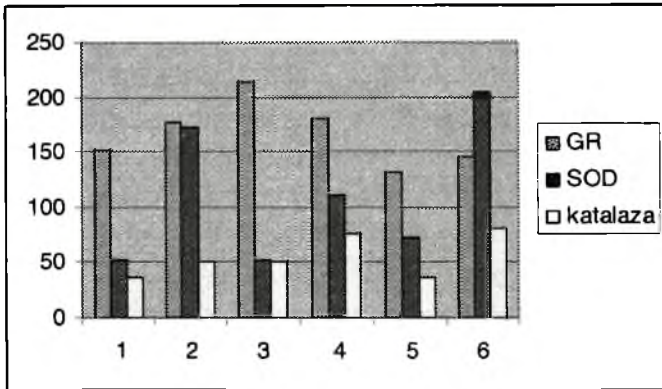
**ყვეთელი ყვავილის, ომბალოს, ქონდარისა და ძირას**  
 ზემოქმედება ინტაქტური Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობაზე. (1 –Jurkat ინტაქტური; 2 - Jurkat +ყვეთელი ყვავილი; 3 - Jurkat +ომბალო; 4 - Jurkat +ქონდარი; 5 - Jurkat +ძირა)



სურათი 16

**ყვეთელი ყვავილის, ომბალოს, ქონდარისა და ძირას**  
 ზემოქმედება ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პრობებში ( $H_2O_2$  – ს კონცენტრაცია 50  $\mu$ კმ) ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობაზე. (1 –Jurkat ინტაქტური; 2 – Jurkat+ $H_2O_2$  50 mkm; 3 – Jurkat+ $H_2O_2$  50 mkm +ყვეთელი ყვავილი; 4 - Jurkat+ $H_2O_2$  50 mkm +ომბალო; 5 - Jurkat+  $H_2O_2$  50 mkm +ქონდარი; 6 - Jurkat+  $H_2O_2$  50 mkm +ძირა)

როგორც აღმოჩნდა ყველა შესწავლილი სსნარებიდან ძირას წყლიანი სსნარის ანტიოქსიდანტური აქტივობა ყველაზე დაბალია (ამ სსნარის ფონზე ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების კომპენსატორული აქტივობა ყველაზე მაღალია).



სურათი 17

*ყვითელი ყვავილის, ომბალოს, ქონდარისა და ძირას* ზემოქმედება დაბალი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ( $H_2O_2$ -ს კონცენტრაცია  $25 \mu g$ ) ინკუბირებული Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობაზე. (1 – Jurkat ინტაქტური; 2 – Jurkat+  $H_2O_2$  25 mkM ; 3 – Jurkat+  $H_2O_2$  25 mkM +ყვითელი ყვავილი; 4 – Jurkat+  $H_2O_2$  25 mkM +ომბალო; 5 - Jurkat+  $H_2O_2$  25 mkM +ქონდარი; 6 - Jurkat+  $H_2O_2$  25 mkM +ძირა)

სურათზე 17 ნაჩვენებია *ყვითელი ყვავილის, ომბალოს, ქონდარისა და ძირას* ზემოქმედება დაბალი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ( $H_2O_2$  –ს კონცენტრაცია  $25 \mu g$ ) ინკუბირებული Jurkat უჯრე-

დების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობაზე. როგორც აღმოჩნდა ყველა შესწავლილი ხსნარებიდან ქონდარის ხსნარი ხასიათდება ყველაზე მკვეთრად გამოხატული ანტიოქსიდანტური აქტივობით, რაც ვლინდება უჯრედების ენდოგენური ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის ნორმალიზაციით.

**13 სანელებლების წყლიანი ექსტრაქტების ზემოქმედება Jurkat უჯრედების პროქსიდანტური სისტემის აქტივობაზე**

ცხრილში 5 ნაჩვენებია ყვითელი ყვავილის, ომბალოს, ქონდარის, ძირას ზემოქმედება ინტაქტური, დაბალი ( $H_2O_2$ -ს კონცენტრაცია 25  $\mu g$ ) და ძლიერი ( $H_2O_2$  -ს კონცენტრაცია 50  $\mu g$ ) ოქსიდაციური სტრესის პრობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების პროქსიდანტური სისტემოს აქტივობაზე (სუპეროქსიდრადიკალების შემცველობაზე) (ცხრილი 4).

**ცხრილი 4**

Jurkat უჯრედების კულტურაში სუპეროქსიდრადიკალების შემცველობის ცვლილებები (ეპრ კვლევის შედეგები)

	$O_2^-$				
	ყვითელი ყვავილი	ქონდარი	ომბალო	ძირა	
Jurkat	-	-	-	-	-
Jurkat+ $H_2O_2$ 50 mkm	6.0±0.3	3.6±0.4	2.0±0.3	2.2±0.3	4.2±0.6
Jurkat+ $H_2O_2$ 25 mkm	3.0±0.4	1.3±0.5	1.5±0.2	1.9±0.4	2.8±0.5

როგორც აღმოჩნდა ყველა შესწავლილი ხსნარებიდან **ძირა** ხახიალფება ყველაზე დაბალი ანტიოქსიდანტური აქტივობით (ცხრილი 4).

### ცხრილი 5

Ca<sup>2+</sup>- ის იონების შემცველობის ცვლილებები ოქსიდაციური სტრესის პრობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედებში (და მათზე სხვადასხვა მცენარეული ხსნარების ზემოქმედებით)

	ინტრა – Ca <sup>2+</sup>	ექტრა – Ca <sup>2+</sup>
Jurkat	8,8±0,1	8,3±0,2
Jurkat+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 მკმ	9,3±0,2	7,8±0,2
Jurkat+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25მკმ+ყვითელი ყვავილი	8,5±0,2	8,1±0,1
Jurkat+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25მკმ+სვანური მარილი	8,9±0,1	7,9±0,1
Jurkat+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 მკმ+ უცხო სუნელი	9,5±0,2	8,1±0,1
Jurkat+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 მკმ+ოხრახუში	9,4±0,2	8,2±0,1
Jurkat+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 მკმ+ტარხუნა	9,0±0,2	8,1±0,1
Jurkat+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 მკმ+ ქინძი	8,4±0,2	7,6±0,1
Jurkat+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 მკმ+ შავი წიწაკა	9,5±0,2	8,1±0,1
Jurkat+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 მკმ+ ქონდარი	8,9±0,2	7,8±0,2
Jurkat+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25მკმ+წითელი წიწაკა	9,5±0,2	8,1±0,3
Jurkat+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 მკმ+ ომბალო	9,0±0,2	8,0±0,1
Jurkat+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 მკმ+ ძირა	9,5±0,3	8,1±0,2

**14 სანელებლების წყლიანი ექსტრაქტების ზემოქმედება Jurkat უჯრედებში  $Ca^{2+}$ -ის იონების პომეოსტაზზე.**

ცხრილში 5 მოყვანილია მონაცემები ოქსიდაციური სტრესის პრობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედებში (და მათზე სხვადასხვა მცენარეული სხსნარების ზემოქმედებით)  $Ca^{2+}$ -ის იონების შემცველობის ცვლილებების შესახებ.

**15 სანელებლების წყლიანი ექსტრაქტების ზემოქმედება Jurkat უჯრედების უჯრედული ციკლის ფაზებში გადანაწილებაზე.**

კვლევის ამ ეტაპზე შესწავლილი სანელებლების წყლიანი ექსტრაქტების (*ქონდარი, ყვითელი ყვავილი, ტარხუნა, უცხო სუნელი*) ზემოქმედება ინტაქტური და ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების უჯრედული ციკლის ფაზებში გადანაწილებაზე.

**ცხრილი 6**

ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების უჯრედული ციკლის ფაზებში გადანაწილების და მათზე *ომბალო, ქონდარი და ყვითელი ყვავილის* ზემოქმედების შედეგები.

	$G_0/G_1$	S	$G_2/M$	$G_0/Apoptozi$
Jurkat	23,8±3,4	54,5±3,3	9,0±2,9	2,7±3,6
Jurkat+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 mkm	42,3±3,3	36,7±3,4	12,5±1,7	8,5±1,9
Jurkat+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 mkm+ომბალო	43,0±3,3	35,0±3,4	16,5±1,7	5,5±1,9
Jurkat+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 mkm+ქონდარი	37,5±2,5	43,0±3,3	6,0±3,4	3,5±1,3
Jurkat+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25 mkm+ყვითელი ყვავილი	30,5±2,5	48,0±3,3	18,5±3,4	3,0±1,3

ექსპერიმენტებით დადგინდა, რომ შესწავლილი სანელებლები არ მოქმედებენ ინტაქტური Jurkat უჯრედების უჯრედული ციკლის ფაზებში გადანაწილებაზე (მონაცემები ნაჩვენები არ არის).

ცხრილში 6 მოყვანილია ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების უჯრედული ციკლის ფაზებში გადანაწილების და მათზე **ომბალო, ქონდარი და ყვითელი ყვავილის** ზემოქმედების შედეგები. ცხრილში მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, რომ ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში იზრდება ჰაპლოიდური (აპოპტოზური) უჯრედების რაოდენობა; ამ დროს დიპლოიდური უჯრედების შემცველობა (ფაზა G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>) საკმაოდ მაღალია, მაშინ როდესაც ტეტრაპლოიდური უჯრედების რაოდენობა (ფაზა G<sub>2</sub>/M) და უჯრედების რაოდენობა S ფაზაში მცირდება. საინკუბაციო არეში **ომბალოს, ქონდარის და ყვითელი ყვავილის** დამატებისას უჯრედების უჯრედული ციკლის ფაზებში გადანაწილება უახლოვდება საკონტროლოსაკენ. აღსანიშნავია, რომ საუკეთესო შედეგები მივიღეთ ყვითელი ყვავილის შემთხვევაში.

## 2. სანელებლების სხვადასხვა პოლარობის ექტრაქტების ეფექტურობა Jurkat უჯრედების მოლეკულურ სისტემაში.

### 2.1 ყვითელი ყვავილის ექსტრაქტების ეფექტურობა.

დამზადდა სხვადასხვა გამხსნელების გამოყენებით **ყვითელი ყვავილის ექსტრაქტები**. შესწავლილია ყვითელი ყვავილისაგან ქლოროფორმით (I ფრაქცია) ეთილაცეტატით (II ფრაქცია) და სპირტით (III ფრაქცია) მიღებული ფრაქციების (გახსნილი ან

თვით გამოყენებული გამსხნელში, ან უჯრედების საკვებ არეში) Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე (MTT ტესტი) მოქმედების ეფექტურობა. კვლევის შედეგად აღმოჩნდა, რომ **ქლოროფორმის და სპირტის ხსნარები ავლენენ ციტოტოქსიურობას**, მაშინ როდესაც **ეთილაცეტატის ხსნარები არ ახდენს უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე შესამჩნევ გავლენას** (ცხრილი 7).

### ცხრილი 7

ყვითელი ყვავილის I, II, III, IV ფრაქციების ზემოქმედება Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე (MTT ტესტის მონაცემები)

	jurkat	jurkaT +H2O2 50 mM	jurkaT +H2O2 25 mM
jurkat	0,600±0,012		
jurkat +H2O2 50 mM		0,130±0,006	
jurkaT +H2O2 25 mM			0,300±0,002
ყვითელი ყვ. ექსტრაქტი I (ქლოროფორმი)	0,540±0,016	0,430±0,013	0,487±0,002
ყვითელი ყვ. ექსტრაქტი II (ე.ა.)	0,600±0,012	0,336±0,012	0,461±0,012
ქ ყვითელი ყვ. ექსტრაქტი III (სპირტი)	0,570±0,013	0,300±0,012	0,381±0,012

კვლევის შედეგად დადგინდა:

- ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 50 μg) პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში, უჯრედების საკვებ არეში სანელელებების I, II, III ფრაქციების დამატებისას გამოვლინდა რომ **I ფრაქცია (ქლოროფორმის) გამოიჩნევა და ხასიათდება ხსვა**

**ფრაქციებთან შედარებით ციტოპროტექტური აქტივობით.**

- სუსტი ოქსიდაციური სტრესის ( $H_2O_2$  25  $\mu g$ ) პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში უჯრედების საკვებ არეში გახსნილი I, II, III ფრაქციების დამატებისას გამოვლინდა რომ I და II ფრაქცია ხასიათდება III ფრაქციასთან შედარებით და ავლენს სუსტი ციტოპროტექტურ აქტივობას.

საშუალო და ძლიერი ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში ყვითელი ყვავილის სხვადასხვა პოლარობის ექსტრაქტების დამატებისას ოქსიდაციური სტრესის მაჩვენებლების ცვლილებები (ეპრ კვლევა) მოყვანილია ცხრილი 8-ზე

**ცხრილი 8**

ყვითელი ყვავილის სხვადასხვა ექსტრაქტების ზემოქმედება სახვადასხვა რეჟიმების ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში სუპეროქსიდრადიკალებისა ( $O_2^-$ ) და ლიპოპეროქსიდრადიკალების ( $LOO^-$ ) შემცველობაზე

	jurkat		jurkaT +H2O2 50 mM		jurkaT  O2 25 mM		
	$O_2^-$	$LOO^-$	$O_2^-$	$LOO^-$	$O_2^-$	$LOO^-$	
jukat ინტაქტური	--	-	-	-	-	-	
jurkat +H2O2			3,1±0,1	3,8±0,3	2,4±0,2	3,0±0,2	
jurkaT	ქლორო-ფორ	-	-	0,5±0,3	0,7±0,3	0,1±0,1	0,2±0,2
+H2O2 25+	ეა	-	-	1,1±0,2	0,8±0,3	1,0±0,2	1,2±0,2
ყვითელი ყვავილი	სპირტი	-	-	1,3±0,2	1,8±0,4	1,1±0,2	1,4±0,2



## 2.2 ქონდრის ექსტრაქტების ეფექტურობა.

დამზადდა სხვადასხვა გამსხნელების გამოყენებით შესწავლილია **ქონდრის ექსტრაქტების** ქლოროფორმით (I ფრაქცია) ეთილაცეტატით (II ფრაქცია) და სპირტით (III ფრაქცია) Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე (MTT ტესტი) მოქმედების ეფექტურობა (ცხრილი 9).

### ცხრილი 9

ქონდრის I, II, III, IV ფრაქციების ზემოქმედება Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე (MTT ტესტის მონაცემები)

	jurkat	jurkaT +H2O2 50 mM	jurkaT +H2O2 25 mM
jurkat	0,694		
jurkat +H2O2 50 mM		0,297	
jurkaT +H2O2 25 mM			0,616
ქონდრის ექსტრაქტი I (ქლოროფორმი)	0,628	0243	0.373
ქონდრის ექსტრაქტი II (ე.ა.)	0,578	0,420	0,470
ქონდრის ექსტრაქტი III (სპირტი)	0.735	0,659	0,659
საერთო სპირტი	0.633	0,640	0,640
ნივთიერება I	0.748	0.621	0,621

MTT ტესტის ედეგების საფუძველზე დადგენილია, რომ **ქონდრის ექსტრაქტები** ქლოროფორმში და ეთილ აცეტატში უმნიშვნელოდ ამცირებენ ინტაქტური Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობას; **ქონდრის სპირტიანი ექსტრაქტი ზრდის ინტაქტური Jurkat უჯრედების**

**სიცოცხლის უნარიანობას; სუფთა ნითიერება 1 აგრეთვე ზრდის ინტაქტური Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობას.**

ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში დამატებისას ყველა ექსტრაქტი და სუფთა ნითიერება ზრდის Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობას. განსაკუთრებით ეფექტურია ქონდრის სპირტოვანი ექსტრაქტი, სპირტი და ნითიერება 1.

საშუალო ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში დამატებისას ქონდრის ქლოროფორმისა და ეთილაცეტატის ექსტრაქტი არაეფექტური აღმოჩნდა, ხოლო ქონდრის სპირტიანი ექსტრაქტი და სუფთა ნითიერება აღადგინეს Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობას.

საშუალო და ძლიერი ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში ქონდრის ქლოროფორმისა და ეთილაცეტატის ექსტრაქტების, ოფილ ნითიერება 1-ის და საერთო სპირტიანი ნაყენის დამატებისას ოქსიდაციური სტრესის მაჩვენებლების ცვლილებები (ეპრ კვლევა) მოყვანილია მე-10 ცხრილში.

### **2.3 ომბალოს, ტარსუნას და ნიგვზის ექსტრაქტების ეფექტურობა.**

დამზადდა სხვადასხვა გამსხნელების გამოყენებით ომბალოს, ტარსუნას და ნიგვზის ექსტრაქტები. შესწავლილია მათი ქლოროფორმით (I ფრაქცია) ეთილაცეტატით (II ფრაქცია) და სპირტით (III ფრაქცია) მიღებული ფრაქციების (გახსნილი ან თვით გამოყენებული გამსხნელში, ან უჯრედების საკვებ არეში) Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე (MTT ტესტი) მოქმედების ეფექტურობა (ცხრილი II).

### ცხრილი 10

ქონდრის სხვადასხვა ექსტრაქტების ზემოქმედება  
სახვადასხვა რეჟიმების ოქსიდაციური სტრესის პირობებში  
ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში სუპეროქსიდრადიკალებისა  
(O<sub>2</sub><sup>-</sup>) და ლიპოპეროქსიდრადიკალების (LOO<sup>·</sup>) შემცველობაზე

		Jurkat		jurkaT+H2O2 50 mM		jurkaT+H2O2 25 mM	
		O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	LO O <sup>·</sup>	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	LOO <sup>·</sup>	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	LOO <sup>·</sup>
jurkat	ინტაქტური	-	-	3,1± 0,1	3,8±0, 3	2,4±0,2	3,0±0,2
jurkaT	ქლორო- ფორმი	-	-	2,1± 0,2	2,8±0, 3	2,0±0,2	3,2±0,2
ქონდ	ე.ა	-	-	2,1± 0,2	2,8±0, 3	2,0±0,2	3,2±0,2
არი	სპირტი	-	-	0,1± 0,1	-	-	-
jurkaT+H2O2		-	-	1,1± 0,2	1,8±0, 3	1,0±0,2	2,2±0,2
25mkm+ნიეთიერე	ბა ქ-2						
jurkaT+H2O2		-	-	0,1± 0,1	0,5±0, 1	0,3±0,1	-
25mkm+ სპირტის	საერთო						
ექსტრაქტი							

### ცხრილი 11

სანელებლების (ომბალოს, ტაეხუნას და ნიგეზის) სხვადასხვა ექსტრაქტების ზემოქმედება სახედასხვა რეჟიმების ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლიუნარიანობაზე (MTT ტესტი)

		jurkat	jurkaT +H2O2 50 mM	jurkaT +H2O2 25 mM
	<b>jurkat ინტაქტური</b>	0,68±0,02	0,19±0,01	0,17±0,02
<b>jurkaT + ომბალო</b>	<b>ქლოროფორმი</b>	0,81±0,03	0,84±0,03	0,75±0,03
	ეა	0,80±0,02	0,78±0,04	0,77±0,02
	შპირტი	0,68±0,01	0,67±0,02	0,63±0,01
<b>jurkaT + ტარსუნა</b>	<b>ქლოროფორმი</b>	0,61±0,04	0,51±0,03	0,48±0,03
	ეა	0,53±0,02	0,49±0,02	0,42±0,02
	შპირტი	0,89±0,03	0,79±0,01	0,81±0,04
<b>jurkaT + ნიგეზი</b>	<b>ლოროფორმი</b>	0,66±0,03	0,19±0,03	0,20±0,03
	ეა	0,69±0,02	0,17±0,01	0,18±0,04
	შპირტი	0,75±0,01	0,72±0,02	0,73±0,02

საშუალო და ძლიერი ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში ომბალოს, ტაეხუნას და ნიგეზის დამატებისას ოქსიდაციური სტრესის მაჩვენებლების ცვლილებები (ეპრ კელევა) მოყვანილია ცხრილი 12-ზე

## ცხრილი 12

სანელებლების (ომბალოს, ტარხუნას და ნიგეზის) სხვადასხვა ექსტრაქტების ზემოქმედება სახედასხვა რეჟიმების ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში სუპეროქსიდრადიკალებისა ( $O_2^-$ ) და ლიპოპეროქსიდრადიკალების ( $LOO^-$ ) შემცველობაზე

		jurkat		jurkat +H2O2 50 mM		jurkat +H2O2 25 mM	
		$O_2^-$	$LOO^-$	$O_2^-$	$LOO^-$	$O_2^-$	$LOO^-$
jurkat	ინტაქტური	-	-	3,1±0,1	3,8±0,3	2,4±0,2	3,0±0,2
jurkat + ომბალო	ქლოროფო რმი	-	-	1,8±0,2	2,2±0,2	1,3±0,1	1,8±0,2
	ე.ა	-	-	2,5±0,1	2,9±0,3	2,3±0,2	2,5±0,4
	სპირტი	-	-	2,8±0,2	3,0±0,2	2,1±0,1	2,8±0,2
jurkat + ტარხუნა	ქლოროფო რმი	-	-	2,8±0,2	3,0±0,2	2,3±0,1	2,5±0,1
	ე.ა	-	-	2,6±0,1	3,0±0,3	2,5±0,2	2,2±0,4
	სპირტი	-	-	2,8±0,2	3,0±0,2	2,5±0,5	2,8±0,3
jurkat + ნიგოზი	ქლოროფო რმი	-	-	2,1±0,2	1,7±0,2	1,7±0,1	1,8±0,2
	ე.ა	-	-	1,5±0,1	1,9±0,3	1,9±0,2	1,5±0,4
	სპირტი	-	-	1,8±0,5	2,0±0,4	2,3±0,1	2,1±0,2

### 3.1 ქართული წარმოშობის სანელებლებიდან გამოყოფილი მეტად აქტიური ნაერთების აქტივობა.

შესწავლილია ქართული წარმოშობის სანელებლებიდან გამოყოფილი მეტად აქტიური ნაერთების აქტივობა ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების მოდელურ სისტემაზე.

### ცხრილი 13

სანელებლებიდან იდენტიფიცირებული ნივთიერება  
**პატულეტინი, ფენილპროპანოიდი, კაროტინოიდი, ორი  
 ფლაგონოიდის ნარევი** ზემოქმედება სახეადასხვა რეჟიმების  
 ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat  
 უჯრედების სიცოცხლიუნარიანობაზე (MTT ტესტი)

პატულეტინი (I)		ფენილპროპანოიდი (II)		კაროტინოიდი (III)		ორი ფლაგონოიდის ნარევი (IV)	
J	0,61	J	0,61	J	0,54	J	0,54
J+H2O2 50	0,12	J+H2O2 50	0,12	J+H2O2 50	0,51	J+H2O2 50	0,51
J+ H2O2 25	0,130	J+H2O2 25	0,130	J+ H2O2 25	0,57	J+ H2O2 25	0,57
J+I (2mgx1ml)	0,517	J+II(2mg x1ml)	0,690	J+III (2mgx1ml)	0,55	J+IV (2mgx1ml )	0,73
J+I (0,04mgx 1ml)	0,551	J+II (0,04mg x 1ml)	0,595	J+III(0,04mg x 1ml)		J+IV(0,04 mg x 1ml)	
J+ H2O2 50+I (2mgx1ml)	0,163	J+H2O2 50+ II(2mgx1 ml)	0,367	J+ H2O2 50+ III (2mgx1ml)	0,48	J+ H2O2 50+ IV (2mgx1ml)	0,71
J+ H2O2 50+I(0,04 mgx1ml)	0,148	J+H2O2 50+II(0,0 4mgx1m l)	0,199	J+H2O2 50+ III(0,04mg x1ml)		J+ H2O2 50+ IV(0,04mg x1ml)	
J+ H2O2 25+ I (0,04mgx 1ml)	0,403	J+H2O2 25+ II(2mgx1 ml)	0,483	J+ H2O2 25+ III(0,04mg x1ml)	0,60	J+ H2O2 25+IV(0,0 4mgx1ml)	0,72
J+ H2O2 25+ I (2mgx1ml)	0,167	J+H2O2 25+ II(0,04m gx 1ml)	0,382	J+ H2O2 25+ III (2mgx1ml)		J+ H2O2 25+ IV(2mgx1 ml)	

შესწავლილია ყვითელი ყვავილიდან (პატულეტინი (ნივთიერება I), ფენილპროპანოიდი (ნივთიერება II), კაროტინოიდი (ნივთიერება III), ორი ფლავონოიდის ნარევი (ნივთიერება IV) და ქონდარიდან (ქონდარიდან გამოყოფილი ნაერთი კ-I (როზმარინის მყავა) და ქონდარის საერთო ექსტრაქტის) გამოყოფილი და იდენტიფიცირებული ნივთიერებების ზემოქმედება ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე (ცხრილი 13, 14).

#### ცხრილი 14

სანელებლებიდან იდენტიფიცირებული ნივთიერება ქონდარი -1 ნივთიერება, ქონდარის სპირტიანი ექსტრაქტი ზემოქმედება სახედასხვა რეჟიმების ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლიუნარიანობაზე (MTT ტესტი)

<i>ქონდარი -1 ნივთიერება (I)</i>		<i>ქონდარის სპირტიანი ექსტრაქტი (II)</i>	
J	0,68	J	0,68
J+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 50	0,10	J+H2O2 50	0,10
J+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25	0,38	J+H2O2 25	0,38
J+I	0,66	J+II	0,72
J+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 50+I	0,21	J+H2O2 50+ II	0,44
J+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25+II	0,64	J+H2O2 25+II	0,55

ამ ექსპერიმენტის შედეგებიდან გამოვლინდა, რომ შესწავლილი ნივთიერებებიდან Jurkat უჯრედების მიტოქონდრიულ დეჰიდროგენაზებზე ყველაზე ზლიერი მასტიმულირებელი ზემოქმედება გააჩნია ორი ფლავონოიდის ნარევის (ნივთიერება IV)

და ქონდრის სპირტიანი ვესტრაქტს, შედარებით ნაკლები - პატულეტინს.

შესწავლილია ყვითელი ყვავილიდან (პატულეტინი (ნივთიერება I), ფენილპროპანოიდი (ნივთიერება II), კაროტინოიდი (ნივთიერება III), ორი ფლავონოიდის ნარევი (ნივთიერება IV)) გამოყოფილი და იდენტიფიცირებული ნივთიერებების ზემოქმედება ოქსიდაციური ხტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების ოქსიდაციური ხტრესის მარკერებზე – ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობაზე (ცხრილი 15) და სუპეროქსიდ და ლიპოპეროქსიდრადიკალები (ცხრილი 16).

### ცხრილი 15

სანელებლებიდან იდენტიფიცირებული ნივთიერებათა (პატულეტინი I, ფენილპროპანოიდი II, კაროტინოიდი III, ორი ფლავონოიდის ნარევი IV) ზემოქმედება ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობაზე

	GR	შოდ
Jurkat	252,1	18,4
Jurkat+H2O2 25 mkm	296,2	27,9
ჟურკატ+ 2 2 25 მკმ + ყვ ყვავილი I	329,7	41,2
Jurkat+H2O2 25 mkm + ყვ ყვავილი II	174,8	16,7
Jurkat+H2O2 25 mkm + ყვ ყვავილი III	119,5	14,8
Jurkat+H2O2 25 mkm + ყვ ყვავილი IV	212,4	23,4

როგორც მე-15 ცხრილიდან გამომდინარეობს, ყვითელი ყვავილიდან იდენტიფიცირებული პატულეტინის ზემოქმედებით იზრდება Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობა, რაც ამ ნაერთის მკვეთრად გამოხატული ანტიოქსიდანტური აქტივობის შესახებ მეტყველებს. ფენილპროპანოიდი



**II, კაროტინოიდი III, ორი ფლავონოიდის ნარკევი IV)** ზემოქმედებით ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობა მცირდება. აღნისნული შეიზლება იყოს განპირობებული ამ ნაერთების იჯრედების მიტოქონდრიული დეჰიდროგენაზების აქტივობაზე (და მაშასადამე მიტოქონდრიული სუნთქვის ინტენსივობაზე) მეტნაკლებად გამოხატული მასტიმულირებელი აქტივობით. მიტოქონდრიული სუნთქვის ინტენსიფიკაციის შედეგად ძლიერდება ელექტრონების სატრანსპორტო ჯაჭვის მუშაობის ინტენსივობა, რაც მიიტოქონდრია-ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციას (და შესაბამისად, ანტიოქსიდანტური ფერმენტების ინაქტივაციას) უწყობს ხელს. ეს მოსაზრება დასტურდება ეპრ კვლევის მონაცემებით Jurkat უჯრედებში სუპეროქსიდრადიკალებისა ( $O_2^-$ ) და ლიპოპეროქსიდრადიკალების შემცველობის ცვლილებების შესახებ (ცხრილი 16).

შესწავლილია ყეითელი ყვავილიდან (პატულეტინი (ნივთიერება I), ფენილპროპანოიდი (ნივთიერება II), კაროტინოიდი (ნივთიერება III), ორი ფლავონოიდის ნარკევი (ნივთიერება IV)) და ქონდარიდან (ქონდარიდან გამოყოფილი ნაერთი ქ-I (როზმარინის მჟავა) და ქონდარის საერთო ექსტრაქტის) გამოყოფილი და იდენტიფიცირებული ნივთიერებების ზემოქმედება ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედებში აპოპტოზის ინტენსივობაზე (მიტოქონდრიული პოტენციალის მნიშვნელობაზე, განსაზღვრული გამდინარე ციტომეტრიის მეთოდით) (ცხრილი 17). ინკუბაციის სხვადასხვა პირობებში განსაზღვრულია

ჯანსაღი და აპოპტოზური უჯრედების რაოდენობის შეფარდება.

**ცხრილი 16**

სანელებლებიდან იდენტიფიცირებული ნივთიერება **პატულეტინი, ფენილპროპანოიდი, კაროტინოიდი, ორი ფლავონოიდის ნარევი** ზემოქმედება სახეადასხვა რეჟიმების ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში სუპეროქსიდრადიკალებსა ( $O_2^-$ ) და ლიპოპეროქსიდრადიკალების ( $LOO^{\cdot}$ ) შიმცველობაზე

	Jurkat		jurkaT +H2O2 50 mM		jurkaT +H2O2 25 mM	
	$O_2^-$	$LOO^{\cdot}$	$O_2^-$	$LOO^{\cdot}$	$O_2^-$	$LOO^{\cdot}$
jukat ინტაქტური	-	-	3,1±0,1	3,8±0,3	2,4±0,2	3,0±0,2
jurkaT + პატულეტინი	-	-	0,1±0,1	0,3±0,1	0,1±0,2	0,1±0,2
jurkaT + ფენილპროპანოიდი	-	-	0,4±0,1	0,8±0,2	0,4±0,2	0,3±0,2
jurkaT + karotinoidi	-	-	0,5±0,2	0,7±0,2	0,4±0,2	0,3±0,2
jurkaT + ori ფლავონოიდის ნარევი	-	-	0,5±0,2	0,9±0,2	0,5±0,2	0,3±0,2

**ცხრილი 17**

ჯანსაღი და აპოპტოზური Jurkat უჯრედების შეფარდება  
(**K**) სხვადასხვა პირობებში ინკუბაციის დროს

	ონტროლი	პატულეტინი	ფენილპროპანოლი	კაროტინოიდი	ორი ფლაგონოიდის ნაერვი	ქონდარი-დან გამოყოფილი ნაერთი ქ-1	ქონდარის საერთო ექსტრაქტი
Jurkat	212/8 <b>K=26,5</b>						
Jurkat +H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25	268/3519 <b>K=0,08</b>	1326/32 <b>K=41</b>	1106/97 <b>K=11</b>	957/94 <b>K=10</b>	1704/529 <b>K=3</b>	1211/108 <b>K=3</b>	2090/531 <b>K=3,9</b>

როგორც მე-17 ცხრილში მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, ყველა შესწავლილი ნაერთები ხასიათდებიან ოქსიდაციური ხტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედებში აპოპტოზის მიმართ პროტექციული აქტივობით (რაც ჯანსაღი და აპოპტოზური უჯრედების რაოდენობების შეფარდების ცვლილებებით ვლინდება). უნდა აღინიშნოს პატულეტინის განსაკუთრებით მარალი ანტიაპოპოზური აქტივობა (**K** = 41, ნორმაში **K** =26,5), რაც განპირობებული უნდა იყოს ამ ნაერთის მარალი ანტოქსიდანტური აქტივობით.

შესწავლილია ყვითელი ყვავილიდან (პატულეტინი (ნიეთიერება I), ფენილპროპანოლი (ნიეთიერება II), კაროტინოიდი (ნიეთიერება III), ორი

**ფლაგონოიდის ნარევი (ნივთიერება IV)** და ქონდარიდან (**ქონდარიდან გამოყოფილი ნაერთი ქ-I (როზმარინის მჟავა)**) და **ქონდარის საერთო ექსტრაქტი**) გამოყოფილი და იდენტიფიცირებული ნივთიერებების შემოქმედება ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედებში პრო- და ანტიანთებითი ინტერლეიკინების სინთეზის ინტენსივობაზე (ცხრილი 18).

**ცხრილი 18**

სანელებლებიდან იდენტიფიცირებული ნივთიერებათა (**პატულეტინი, ფენილპროპანოიდი, კაროტინოიდი, ორი ფლაგონოიდის ნარევი, ქონდარიდან გამოყოფილი ნაერთი და ქონდარის საერთო ექსტრაქტი**) შემოქმედება სახედასხვა რეჟიმების ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში პრო- და ანტიანთებითი ციტოკინების სინთეზის ინტენსივობაზე

	კონტროლი	პატულეტინი	ფენილპროპანო-იდი	კაროტინოიდი	ორი ფლაგონოიდის ნარევი	ქონდარიდან გამოყოფილი ნაერთი	ქონდარის საერთო ექსტრაქტი	
Jurkat	IL-2	0,9						
	IL-10	3,2						
	IL-2/ IL-10	0,28						
Jurkat+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 25	IL-2	2,6	19	48,7	9,3	11,6	20,8	15,3
	IL-10	6,8	5,0	6,1	7,8	1,9	38,4	20,0
	IL-2/ IL-10	0,38	3,8	7,9	1,2	6,1	0,54	0,76



როგორც ცხრილში 18 მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, სანელებლებიდან იდენტიფიცირებული ნივთიერებების სახვადასხვა რეჟიმების ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე ზემოქმედების შედეგად ამ უჯრედებში ძლიერდება პრო- და ანტიანთებითი ციტოკინების სინთეზის ინტენსივობა, რაც ამ ნერთების ანტიმიკობული აქტივობის შესახებ მეტყველებს. განხაკუთრებით აღსანიშნავია ყვითელი ყვავილის *ფენილპროპანოიდის, ორი ფლავენოიდის ნარევის, პატულეტინის ციტოტოქსიური მოქმედება* – იწვევენ პრო- და ანტიანთებითი ციტოკინების ბალანსის გადახრას პროანთებითისაკენ.

# დასკვნა

**პროექტის მიზანია:** ქართული სამსარეულოს პოლიფენოლებით მდიდარი ხორცის სანელებლებისა და საკმაზების ზემოქმედების შესწავლა უჯრედების პროლიფერაცია/სიკვდილის მექანიზმებზე *in vitro* მოდეულურ სისტემებზე.

პროექტში დასასული მიზნის მისაღწევად აუცილებელი იყო ძირითადი ამოცანების შესრულება:

**I.** ქართული წარმოშობის ხორცის სანელებლებიდან (უცხო სუნელი, ძირა, ყვითელი ყვავილი, ხმელი სუნელი, ხვანური მარილი, ქონდარი, ქინძი, კვლიავი, წითელი წიწაკა, შავი წიწაკა, კოწახური) პოლიფენოლური ნაერთების რაოდენობრივი და თვისობრივი შესწავლა, შერჩევა და გამოყოფა.

**II.** მეტად აქტიური ნაერთების აქტიუობის (პრო-ანტიპოპოტოზური, პროლიფერაციული, ანტიანთებითი, ანტი-, პროოქსიდანტური) შესწავლა ოქსიდაციური სტრესის ექსპერიმენტულ მოდელებზე Jurkat უჯრედების კულტურაზე.

სანელებლების წყალხსნარებში შეფასებულ იქნა საერთო ფენოლების რაოდენობა, შერჩეულია ფენოლების მაქსიმალური რაოდენობის შემცველი სანელებლები: ომბალო-340 მგ/გ, ნიგოზი-335 მგ/გ, ყვითელი ყვავილი-330 მგ/გ, ტარსუნა-325 მგ/გ, კოწახური-320 მგ/გ, ქონდარი-ველებლები 00 მგ/გ, უცხო სუნელი-280 მგ/გ, შავი წიწაკა-260 მგ/გ, წითელი წიწაკა-240 მგ/გ, ხმელი სუნელი-200 მგ/გ, კვლიავი-180 მგ/გ, შაშკულამი-160 მგ/გ, სეანური მარილი-145 მგ/გ, ძირა-140 მგ/გ, ქინძი-135 მგ/გ.

კვლევის შემდეგ ეტაპზე შერჩეული სანელებლებიდან მოხდა ინდივიდუალური ნაერთების გამო-

ყოფა. ფენოლური ნაერთებით გამორჩეულ ყვითელ ყვავილში და ქონდარში. სანელებლების თანმიმდევრული ექსტრაქცია ხირციელდებოდა სსუედასხვა პოლარობის გამსხნელებით. ქრომატოგრაფირების სხედასხვა მეთოდებით შესაძლებელი გასდა გამოგვეყო და იდენტიფიცირება მოგვეხდინა 6 ნაერთის, მათ შორის 3 ფლავონოიდის, 2 ფენილპროპანოიდის და კაროტინოიდის. მოყვანილია მათი ქრომატოგრაფირების და სპექტრების სურათები.

ქრომატოგრაფიული დაყოფის სურათებიდან ჩანს, რომ ყვითელი ყვავილი წარმოდგენილი სპექტრის მიხედვით შეიცავს ფლავონოიდების 4 პიკს, ქონდარი 1 ფლავონოიდს და 2 ფენილპროპანოიდს; ტარხუნაში ვხედავთ 4 ფენილპროპანოიდს და 1 ფლავონოიდს; ხოლო უცხო სუნელში 3 ფლავონოიდი ძირაში მხოლოდ ფენილპროპანოიდებია. წიწმატში 2 ფლავონოიდს და 2 ფენილპროპანოიდი. მწვანე წიწაკაში ვხედავთ 1 ფენილპროპანოიდს და 1 ფლავონოიდს, ხოლო ნიახურში 3 ფლავონოიდი. აღნიშნულ ნიმუშებში პოლიფენოლების რაოდენობა კორელაციაშია სანელებლების ანტიოქსიდანტურ აქტივობასთან. გაკეთებულია დასკვნა იმის შესახებ, რომ სანელებლების ანტიოქსიდანტური აქტივობა განპიროვნებულია როგორც ფლავონოიდებით, ფენილპროპანოიდებით და ლიპოფილური ფრაქციების კაროტინოიდებით.

სანელებლების, მათი ფრაქციებისა და ინდივიდუალური ნაერთების სტანდარტიზაციის და შეფასების მიზნით შემუშავებულია ანტიოქსიდანტური აქტივობის განსაზღვრის მეთოდი 2,2-დიფენილ-1-პიკრილჰიდრაზიდის გამოყენებით. სპირტიანი ექსტრაქტებიდან ყველაზე მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობა გამოავლინეს ომბალომ, ნიგოზმა, ტარ-

ხუნამ, ქონდარმა, ხმელმა სუნელმა. მათ შორის საუკეთესო აქტივობა აჩვენა ნიგვზის სპირტიანმა ექსტრაქტმა, რომელიც აღემატებოდა ომბალოსა და ქონდარის სპირტიანი ექსტრაქტების აქტივობას. მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობა გამოვლინდა ომბალოს, ყვითელი ყვავილის და ქონდარის წყლის ექსტრაქტებში. დადგინდა, რომ შესწავლილ ნიმუშებში პოლიფენოლების რაოდენობა კორელაციაშია ანტიოქსიდანტურ აქტივობასთან.

განხორციელდა მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტივობის მქონე ყვითელი ყვავილის სანელებლის სტანდარტიზაცია ფლავონოიდების რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდით. ყველაზე მაღალი ფლავონოიდების შემცველულობა აღინიშნებოდა ყვავილობის დაწყებიდან 45 დღეს ყველა ნიმუშებში. შემდგომ პერიოდში ხდებოდა ყვავილების ფლავონოიდების რაოდენობის კლება. შესწავლილი ნიმუშებიდან ყველაზე მაღალი ფლავონოიდების რაოდენობა აღინიშნაბოდა სამეგრელოდან ჩამოტანილი თესლიდან აღმოცენებული ყვიტელი ყვავილის 45 დღის ნიმუშში და მან შეადგინა 280 მკგ/100 მგ მშრალ მასაზე გადაანგარიშებით. რაც შეადგენს 4,5 %. ყველაზე დაბალი მაჩვენებელი ფლავონოიდების რაოდენობის მიხედვით 45 დღეს იყო ქართლის 200 მკგ/100 მგ მშრალ მასაზე და კახეთის 210 მკგ/100 მგ მშრალ მასაზე. ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემების ლიტერატურიდან ცნობილი მონაცემებთან შედარება გვიჩვენებს, რომ ქართულ ყვითელ ყვავილში ფლავონოიდების რაოდენობა და შესაბამისად ანტიოქსიდანტური აქტივობა არანაკლებია სხვა წარმოშობის მცენარეებთან შედარებით.

სანელებლების, მათი ფრაქციებისა და ინდივიდუალური ნაერთების ანტიოქსიდანტური აქტივობის შეფასების მიზნით აგრეთვე გამოვიყენეთ



ოქსიდაციური სტრესის პირობებში მყოფი Jurkat (DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (Germania)) უჯრედების სამოდულო სისტემა. ოქსიდაციური სტრესის მოდელირების მიზნით Jurkat უჯრედების საინკუბაციო სუსპენზიაში ემატება 30%-ნი წყალბადის ზეჟანგი ( $H_2O_2$ ) (Sigma) სხვადასხვა დოზით ( $H_2O_2$  -ს კონცენტრაცია 50  $\mu$ გ, 25  $\mu$ გ); ინკუბაცია მიმდინარეობდა 24 საათის განმავლობაში.

კვლევის პირველ ეტაპზე *in vitro* შერჩეულ მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტიუობის მქონე სანელებლებში Jurkat უჯრედების მოდულურ სისტემაში ფასდებოდა მათი ანტიოქსიდანტური, იმუნომოდულატორული აქტიუობა, უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე (მიტოქონდრიული სუნთქვის ინტენსიუობაზე), აპოპტოზის ინტენსიუობაზე ზემოქნედების მიხედვით. შეფასებულია სანელებლების ხსნარები სხვადასხვა პოლარობის გამხსნელებში და აგრეთვე ცალკეული გამოყოფილი აქტიური ნაერთები.

Jurkat უჯრედებში ჩატარებული კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ:

- წყალხსნარებიდან ძირა ხასიაღფება ყველაზე დაბალი ანტიოქსიდანტური აქტიუობით, ომბალო, ქონდარი და ყვითელი ყვავილი – მაღალი ანტიოქსიდანტური აქტიუობით;

- ომბალოს, ქონდარის და ყვითელი ყვავილის, რეხანის, ნიახურის წყალხსნარები ხასიათდება მაღალი ციტოპროტექტორული აქტიუობით;

- ყვითელი ყვავილის ლიპოფილური ექსტრაქტები (ქლოროფორმით) ხასიათდება სხვა ფრაქციებთან შედარებით მაღალი ციტოპროტექტორული აქტიუობით;

- ქონდრის სპირტიანი ექსტრაქტი და მისგან გამოყოფილი სუფთა ნაერთი (როზმარინის მჟავა) და ნიგოზის სპირტიანი ექსტრაქტი ხასიათდება გამორჩეული ციტოპროტექტორული აქტივობით;

- ყვითელი ყვავილიდან გამოყოფილი და იდენტიფიცირებული ნივთიერება კაროტინოიდი (ლუტეინი) და ორი ფლავონოიდის ნარევი (კვერცეტაგეტინი და კვერცეტაგეტინ-7-გლუკოზიდი) ხასიათდებიან ანტიოქსიდანტური, მიტოქონდრიული სუნთქვის მასტიმულირებელი აქტივობით.

- ყვითელი ყვავილიდან გამოყოფილი პატულეტინი ზრდის Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (გლუტათიონ რედუქტაზა და სუპეროქსიდდისმუტაზა) აქტივობას, რაც ამ ნაერთის მკვეთრად გამოხატული აპოპტოზის დამათრგუნველი აქტივობას უდევს საფუძვლად.

- ყვითელი ყვავილიდან გამოყოფილი ფენილპროპანოიდი II, კაროტინოიდი III, ორი ფლავონოიდის ნარევი IV თრგუნავს Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (გლუტათიონ რედუქტაზა და სუპეროქსიდდისმუტაზა) აქტივობას, რაც განპირობებულია მისი მასტიმულირებელი აქტივობით (MTT ტესტის შედეგები); მიტოქონდრია-ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაცია ამ ნაერთების დაბალი ანტიაპოპტოზური აქტივობის მიზეზს წარმოადგენს.

- ყვითელი ყვავილიდან და ქონდრიდან გამოყოფილი აქტიურ ნაერთებში გამოვლინდა ციტოტოქსიური IL-2-ის წარმოქმნის მასტიმულირებელი აქტივობა (განსაკუთრებით ყვითელი ყვავილის ფენილპროპანოიდი, და ქონდრიდან გამოყოფილი ნაერთი – როზმარინის მჟავა), რაც ამ

ნაერთების ანტიმიკრობული აქტივობაზე  
მეტყველებს.

პროექტის ამოცანებით გათვალისწინებული კვლევების შედეგად პრაქტიკულად პირველად სტანდარტულ პირობებში თანამედროვე მაღალმგრძობიარე მეთოდების გამოყენებით ჩატარდა ქართული წარმოშობის ხორცის სანელებლების პოლიფენოლური ნაერთების აქტივობის შეფასება, სანელებლების პოტენციური ციტოტოქსიური და/ან ციტოპროტექტორული აქტივობის სკრინინგი, შესწავლილ იქნა მათი მოქმედების უჯრედული და მოლეკულური მექანიზმები.

პროექტში მიღებული შედეგები შეავსებს სამეცნიერო ინფორმაციას ქართული ტრადიციული საკვები პროდუქტების დადებითი თვისებების, მათი მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების შესახებ.

ჩატარებული კვლევები დაედება ხორცის პროდუქტების ადგილობრივ წარმოებაში ქართული ხორცის სანელებლების ჩართვის რეკომენდაციების, ან ქართული პოლიფენოლებით გამდიდრებული ანტიოქსიდანტური, ანტიკანცეროგენული აქტივობის მქონე ფიტოპრეპარატის (ან კვების დანამატის) შექმნას საფუძვლად.

## ഇന്റർനെറ്റ്

1. Alcouffe, J., S. Caspar-Bauguil, V. Garcia, R. Salvayre, M. Thomsen, and H. Benoist.. *J. Lipid Res.*, . 1999, 40, 1200–1210.
2. Auger C. et al. - Polyphenols-enriched Chardonnay white wine and sparkling Pinot Noir red wine identically prevent early atherosclerosis in hamsters// *J. Agric. Food Chem.*,2005, 53(25), 9823.
3. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Watson AD, Lusis AJ. *Circulation.*, . 1995; 91: 2488–2496.
4. Bonin A., Khan N. A. *Journal of Lipid Research*, 2000, 41, 277-284.
5. Bortner CD, Hughes, FM Cidlowski JA *J Biol Chem .*, 1997, 272, 32436-32442.
6. Boyle P, Langman JS. ABC of colorectal cancer—epidemiology. *BMJ* 2000;321:805–8.
7. Bromme, HJ, and Holtz J. *Mol Cell Biochem* 1996, 275, 163-164.
8. Cain K, Langlais C, Sun X, Brown DG, Cohn GM *J Biol Chem.* 2001, 276: 41985-41990.
9. Chao A, Thun MJ, Connell CJ, McCullough ML, Jacobs EJ, Flanders WD, Rodriguez C, Sinha R, Calle EE. *JAMA* 2005;293:172-82.
10. Corona G, Deiana M, Incani A, Vauzour D, Dessì MA, Spencer JP. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007 Oct 26;362(3):606-11.
11. Daroch F. et al. *Microbios.*, 2001, 104(408), 79.
12. Davis CD. Nutritional interactions: credentialing of molecular targets for cancer prevention. *Exp Biol Med* 2007; 232: 176–834.
13. Davis CD. *Exp Biol Med* 2007; 232: 176–834.

14. de Kok, T. M., van Faassen, A., Glinghammar, B., Pachen, D. M., Eng, M., Rafter, J. J., Baeten, C. G., Engels, L. G., and Kleinjans, J. C. Dig. Dis. Sci., 44: 2218–2225, 2000.
15. Dixon L. B., Balder H.F., Virtanen M. J., Rashidkhani B., Mañnistö S., Krogh V., van Den Brandt P. A., Hartman A. M, Pietinen P., Tan F., Virtamo J., Wolk A., Goldbohm R. A. Am J Clin Nutr 2004;80:1003–11.
16. Dong, Z, Saikumar P, Patel Y, Weinberg JM, and Venkatachalam MA. Biochem J., 2000, 347, 669-677.
17. Fini L, Hotchkiss E, Fogliano V, Graziani G, Romano M, De Vol EB, Qin H, Selgrad M, Boland CR, Ricciardiello L. Carcinogenesis. 2008 Jan;29(1):139-46.
18. Fini L, Selgrad M, Fogliano V, Graziani G, Romano M, Hotchkiss E, Daoud YA, De Vol EB, Boland CR, Ricciardiello L. J Nutr. 2007 Dec;137(12):2622-8.
19. Fini L, Selgrad M, Fogliano V, Graziani G, Romano M, Hotchkiss E, Daoud YA, De Vol EB, Boland CR, Ricciardiello L. J Nutr. 2007 Dec;137(12):2622-8.
20. Fox W. Shaffer, 100 Healthy: Living Longer with Phytomedicines from the Republic of Georgia, Book , 2004, Woodland Publishing.
21. Hannun YA. Blood, 1997, 89, 1845-53.
22. Hansson GK, Holm J, Jonasson L. Am J Pathol. 1989;135:169–175.
23. Henderson, S., Rowe, M., Gregory, C., Croom-Carter, D., Wang, F., Longnecker, R., Kieff, E. & Rickinson, A. Cell, 1991, 65, 1107–1115.
24. Howe, G. R., Aronson, K. J., Benito, E., Castelleto, R., Cornee, J., Duffy, S., Gallagher, R. P., Iscovich, J. M., Dengao, J., Kaaks, R., Kune, S., Lee, H. P., Lee, M., Miller, A. B., Peters, R. K., Potter, J. D., Riboli, E., Slattery, M. L., Tichopoulos, D., Tuyns, A., Tzonou, A., Watson, L. F., Whittemore, A. S., Shu, Z., et al. Cancer Causes Control, 8: 215–228, 1997.

25. Howe, G. R., Bemito, E., Castellato, R., Comee, J., Esteve, J., Gallagher, R. P., Iscovich, J. M., Deng-ao, J., Kaaks, R., Kune, G. A., Kune, S., L'Abbe, K. A., Lee, H. P., Miller, A. B., Peters, R. K., Potter, J. D., Riboli, E., Slattery, M. L., Trichopoulos, D., Tuyns, A., Tzonou, A., Whittemore, A. S., Wu-Williams, A. H., and Zheng, S.. *J. Natl. Cancer Inst.*, 84: 1887–1896, 1992.
26. Kahle K, Huemmer W, Kempf M, Scheppach W, Erk T, Richling E. *J Agric Food Chem.* 2007 Dec 26;55(26):10605-14.
27. Kahle K, Kraus M, Scheppach W, Ackermann M, Ridder F, Richling E. *Mol Nutr Food Res.* 2006 Apr;50(4-5):418-23.
28. Kang, PM, Haunstetter A, Aoki H, Usheva A, Izumo S. *Circ Res.*, 2000, 87: 118-125.
29. Kim M. et al. SNU-C4 cells// *Food Chem. Toxicol.*,2005, 20.
30. Kishikawa H, Shimokama T, Watanabe T. *Virchows Arch.* 1993;423:433–442.
31. Lama, J. & Ware, C. F. *Journal of Virology.*, 2000, 74, 9396–9402.
32. Li, C. J., Friedman, D. J., Wang, C., Metelev, V. & Pardee, A. B. *Science*, 1995, 268, 429–431.
33. Libby P, Hansson GK.. *Lab Invest.* 1991;64:5–15.
34. Liluashvili Z. *The Georgian Agriculture and Food Products Market by Zurab Liluashvili, September 2003, www-wds.worldbank.org.*
35. Lindstrom C, Lindstrom M. "Social capital," GNP per capita, relative income, and health: an ecological study, 2006
36. Linsalata M, Russo F.. *Nutrition.* 2008 Apr;24(4):382-9.
37. Liu RH. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 517S–20S.
38. Livne, A., Shtrichman, R. & Kleinberger, T. *Journal of Virology.*, 2001,. 75, 789–798.
39. Mann CI, Bortner CD, Jewell CM, Cidlowski JA. *Endocrinology*, 2001, 142, 5059-5068.

40. McCloskey, T. W., Ott, M., Tribble, E., Khan, S. A., Teichberg, S., Paul, M. O., Pahwa, S., Verdin, E. & Chirmule, N. *Journal of Immunology.*, 1997, 158, 1014–1019.
41. Meyn RE, Stephens LC, Hunter NR, Milas L. *Anticancer drugs.* 1995, 6: 443-8.
42. Meyn RE, Stephens LC, Hunter NR, Milas L. *Anticancer drugs.* 1995, 6: 443-8.
43. Milner JA. Molecular targets for bioactive food components. *J Nutr* 2004; 134: 2492s–8;
44. Milner JA.. *J Nutr* 2004; 134: 2492s–8;
45. Mosialos, G., Birkenbach, M., Yalamanchili, R., VanArsdale, T., Ware, C. & Kieff, E. *Cell.*, 1995, 80, 389–399.
46. Nindl G, Peterson NR, Hughes EF, Waite LR, Johnson MT. *Biomed Sci Instrum.*, 2004, 40,123-8.
47. Pajak B, Gajkowska B, Orzechowski A. *J Physiol Pharmacol.* 2005 Jun;56 Suppl 3:119-41.
48. Paroli, M., Schiaffella, E., Di Rosa, F. & Barnaba, V. *Journal of Neuroimmunology.*, 2000, 107, 201–204.
49. Patel R, Ingle A, Maru GB. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008 Feb 15;227(1):136-46.
50. Pignatelli P. et al. *Atherosclerosis*, 2005, 22, 18.
51. Pongpanich A, Bhattarakosol P, Chirathaworn C.. *J Med Assoc Thai.* 2004 , 87, 2, S140-5.
52. Potter, J. D. *Epidemiol. Rev.*, 15: 499–545, 1993.
53. Razik M.A. Cidlowski JA. *Biol Res.*, 2002, 35: 203-207.
54. Rodrigo R., Bosco C. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*, 2005, 24, 16.
55. Ronchetti, A., P. Rovere, G. Iezzi, G. Galati, S. Heltai, M. P. Protti, M. P. Garancini, A. A. Manfredi, C. Rugarli, and M. Bellone... *J. Immunol.* 1999, 163, 130-136.
56. Roulston, A., Marcellus, R. C. & Branton, P. E. *Annual Review of Microbiology.*, 1999, 53, 577–628.

57. Rovere, P., C. Vallinoto, A. Bondanza, M. C. Crosti, M. Rescigno, P. Ricciardi-Castagnoli, C. Rugarli, and A. A. Manfredi. *J. Immunol.* 1998, 161, 4467-4471.

58. Rudolf E, Andelová H, Cervinka M. *Anticancer Agents Med Chem.* 2007 Sep;7(5):559-75. Review.

59. Seino Y, Ikeda U, Ikeda M, Hasegawa T, Misawa Y, Yamamoto K, Kano S, Shimada K. *Cytokine.*, 1994, 6, 87-91.

60. Song R. Zhou Z. Kim PK. Shapiro RA. Liu F. Ferran C. Choi A. Otterbein LE. *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, 43, 44327-44334.

61. *Statistics for 2006.* City of publication: American Cancer Society; 2006.

62. Taberner M, Serrano J, Saura-Calixto F. *J Agric Food Chem.* 2007 Nov 14;55(23):9443-9.

63. Teodoro, J. G. & Branton, P. E. *Journal of Virology.*, 1997, 71, 1739-1746

64. В.Н.Залесский, Т.И.Гавриленко, А.А.Фильченков. "Лікарська справа" 2002, № 1.