

მერაბ დეკანოსიძე

აზოტის ოქსიდის და კალციტონინის გენთან
დაკავშირებული პეპტიდის როლი ყბა-სახის
მიკროცირკულაციის მარეგულირებელი
მექანიზმების ფუნქციონირებაში

ნიუ ვიჟენ უნივერსიტეტის გამომცემლობა
თბილისი
2021

მერაბ დეკანოსიძე
აზოტის ოქსიდის და კალციტონინის გენტან დაკავშირებული
პეპტიდის როლი ყბა-სახის მიკროცირკულაციის
მარეგულირებელი მექანიზმების ფუნქციონირებაში

ნიუ ვიჟენ უნივერსიტეტი, თბილისი, 2021
მედიცინის სადოქტორო პროგრამა

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:
ხათუნა საგანელიძე, პროფესორი
თანახელმძღვანელი: ნოდარ მითაგვარია, აკადემიკოსი

სარჩევი

შესავალი - 3

თავი პირველი - ლიტერატურის მიმოხილვა - 7

თავი მეორე - მასალა და მეთოდები - 26

თავი მესამე - მიღებული შედეგები - 41

თავი მეოთხე - შედეგების განხილვა - 67

დასკვნები - 79

გამოყენებული ლიტერატურა - 80

შესავალი

ორგანიზმში სხვადასხვა ორგანოებისა და უბნების სისხლით ადეკვატური მომარაგება ხორციელდება საკმაოდ რთული მარეგულირებელი სისტემის მეშვეობით. ზოგადად ეს სისტემა იყოფა 4 შემადგენელ ქვესისტემად, რომელთა ფუნქცია შეიძლება განისაზღვროს შემდეგნაირად:

1. სისხლის ნაკადის ადგილობრივი (ლოკალური) რეგულირება ყოველ ცალკეულ ქსოვილში მისი მეტაბოლური მოთხოვნის ადეკვატურად; ამ ქვესისტემას ხშირად მარეგულირებელი სისტემის მეტაბოლურ რგოლს უწოდებენ.

2. სისხლის ნაკადის რეგულირება ნერვული სისტემით (ანუ მარეგულირებელი სისტემის ნეიროგენური რგოლი), რომელიც გავლენას ახდენს სისტემური და ორგანული ცირკულაციის შედარებით დიდ სეგმენტებზე.

3. სისხლის ნაკადის ჰუმორული რეგულირება, ანუ სისხლში გახსნილი სხვადასხვა სუბსტანციებით (ჰორმონები, იონები და სხვა ქიმიური შენაერთები) სისხლის ნაკადის ლოკალური ან ფართო, გენერალიზირებული ცვლილება.

4. არის აგრეთვე მარეგულირებელი სისტემის მიოგენური რგოლი, რომელიც რეაგირებს სისხლძარღვშიდა წნევის ცვლილებაზე.

მე-20 საუკუნის დასასრულს აზოტის ოქსიდის (NO) როლის დადგენამ (უძლიერესი ვაზოდილატატორი) სისხლის მიმოქცევის რეგულაციაში ზემოთმოყვანილი კონცეფციის ნაწილობრივი ტრანსფორმაცია გამოიწვია.

ასეთივე პრინციპული როლი შეასრულა კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის ანალოგიური როლის გარკვევამ სისხლძარღვთა და ზოგიერთი ორგანოს გლუკუკუნთოვანი უჯრედების ტონუსის რეგულირებაში.

გამომდინარე ზემოთქმულიდან მნიშვნელოვნად მიგვაჩნია შევისწავლოთ ამ ორი მკვეთრად გამოხატული ვაზოდილატატორის

როლი (ურთიერთდამოკიდებული თუ დამოუკიდებელი) ყბა-სახის მიდამოს მიკროცირკულაციის მარეგულირებელი მექანიზმების ფუნქციონირებაში, კერძოდ: ცხვირის, ყბის, ხახისა და ტუჩების ლორწოვან ქსოვილებში, რაც ჩვენთვის ხელმისაწვდომ ლიტერატურაში არ არის სრულად გაანალიზებული, ხოლო თუ ცნობილ ფაქტებს შევაჯამებთ მოკლედ (ვრცელი ანალიზი მოცემულია ლიტერატურის მიმოხილვაში), უნდა აღინიშნოს შემდეგი:

კალციტონინის გენის მოლეკულური კლონირებისას 1983 წელს აღმოჩენილი იყო კალციტონინის გენთან დაკავშირებული 37-მონოამინიანი პეპტიდი - CGRP [Rozenfeld et al., 1983).

არტერიულ სისტემაში CGRP-რეცეპტორები, განაწილების სხვადასხვა სიხშირით ნაპოვნია სისხლის მიმოქცევის როგორც პერიფერიულ, ისე ცენტრალურ სისტემებში. მსხვილ არტერიებში იგი დაბალი სიხშირითაა წარმოდგენილი (McCormack et al., 1989). როგორც წესი, CGRP-რეცეპტორების განაწილება შეესატყვისება თვით პეპტიდის განაწილებას (Ursell et al., 1991). თუმცა გამონაკლისებიც არის, მაგალითად, ნათხემი, რომელიც გამოირჩევა რეცეპტორების სიჭარბით. უნდა აღინიშნოს, რომ უკანასკნელი მონაცემების მიხედვით CGRP-რეცეპტორები ნათხემში ძირითადად გლიალურ უჯრედებშია და არა პურკინიეს უჯრედებში, როგორც ადრე იყო მიღებული.

CGRP პეპტიდს გააჩნია მაღალი ვაზოდილატატორული აქტივობა (Franco-Cereceda, 1991), ამ პეპტიდის ფართო გავრცელება გულსისხლძარღვოვან სისტემაში და პერივასკულურ ნერვებში აგრეთვე მეტყველებს იმაზე, რომ იგი დიდ როლს უნდა თამაშობდეს პერიფერიული სისხლძარღვოვანი ტონუსისა და ორგანული სისხლის ნაკადის რეგულაციაში (Wimalawansa, 1996).

ცნობილია, რომ ზოგ სისხლძარღვოვან რეგიონში CGRP-ის ვაზოდილატატორული ეფექტი ხორციელდება ენდოთელური წარმოშობის აზოტის ოქსიდის (NO) მეშვეობით და K⁺ATP-აზის არხის გახსნით. Nelson et al., (1990) აღნიშნავენ, რომ არტერიულ გლუვ კუნთებში K⁺-არხის აქტივაციით CGRP იწვევს

ჰიპერპოლარიზაციას, მაგრამ ვირთაგვას იზოლირებულ კორონარულ არტერიაში K^+ ATP-ის არხის ანტაგონისტი უძლური აღმოჩნდა ჩაეხშო CGRP-ით გამოწვეული რელაქსაცია (Pernow, 1989).

ლიტერატურაში არსებული მონაცემების ანალიზი დღეისათვის არ გვამღვეს იმის უფლებას, რომ დაბეჯითებით ვამტკიცოთ NO-სა და ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის (cGMP) მონაწილეობა CGRP-ით გამოწვეულ ენდოთელიუმ-დამოკიდებულ ვაზორელაქსაციაში (Wimalawansa, 1996).

არსებული ინფორმაცია აზოტის ოქსიდის ვაზოდილატაციური ფუნქციის შესახებ ჩვენ გვამღვეს საშუალებას ვთქვათ, რომ NO-ს ქიმიური ბუნება მას უნარს აძლევს დიფუზიის გზით სწრაფად მიაღწიოს სამიზნე უჯრედებამდე, გააქტიუროს ციტოზოლური ფერმენტი - გუანილატ ციკლაზა და ამგვარად გამოიწვიოს ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის (cGMP) დაგროვება. ეს ნუკლეოტიდი კი პროტეინკინაზა G-ს აქტივაციის გზით ასტიმულირებს Ca -ATP-აზას, სისხლძარღვოვან გლუვ კუნთებში ამცირებს უჯრედშიდა Ca^{2+} და ამის შედეგად ვითარდება ვაზორელაქსაცია (Persson, 1991).

დასკვნის სახით შეიძლება ითქვას, რომ კალციტონინის გენტან დაკავშირებული პეპტიდის ვაზოდილატაციური მოქმედება ორგანიზმში (განსხვავებით აზოტის ოქსიდისგან) ატარებს მკვეთრად გამოხატულ რეგიონულ ხასიათს. მისი მოქმედება ხშირად კომბინირებულია აზოტის ოქსიდის მოქმედებასთან, თუმცა ხშირ შემთხვევაში აბოლუტურად დამოუკიდებელია. ამ მხრივ ცოტა რამ არის ცნობილი თუ რა ხდება ყბა-სახის მიდამოს ლორწოვან ქსოვილებში და სწორედ ამ საკითხის გარკვევა წარმოადგენს ამ სადოქტორო ნაშრომის ძირითად მეცნიერულ ამოცანას.

თავი პირველი ლიტერატურის მიმოხილვა

ითვლება, რომ ვაზოდინატივია ადამიანის პირსახის არეში უნდა ეფუძნებოდეს ქოლინერგული ბუნების მექანიზმს, რაც კარგად იყო ნაჩვენები ექსპერიმენტულ ცხოველებში. მაგალითად, არის რამდენიმე ექსპერიმენტული გამოკვლევა რომლებშიც ნაჩვენებია, რომ ტუჩების, ენის და სახის კანის არტერიები ინერვირებულია პარასიმპათიკური ბოჭკოებით (Kempainen et al., 2001). ამასთან ერთად ბოცვერის ენის არტერიის იზოლირებულ სეგმენტზე ნაჩვენებია, რომ ნერვული სტიმულაციით გამოწვეული ვაზოდინატივია შეიცავს როგორც ქოლინერგულ (ატროპინ-მგრძობიარე), ისე არაქოლინერგულ კომპონენტებს (Brayden, Large, 1999). ამ არტერიის განტოტებები ემსახურება არა მარტო ენის, არამედ ღრძილების სისხლით მომარაგებასაც. ავტორებს მიაჩნიათ, რომ ბოცვერის ენის არტერიის ნერვული ვაზოდინატივის ქოლინერგულ კომპონენტს თან სდევს ჰიპერპოლარიზაცია, ხოლო არაქოლინერგულს არ უნდა გააჩნდეს ელექტროფიზიოლოგიური კორელატი. ასეთი შერეული ტიპის დილატატორული პასუხი არ არის იშვიათი. ჯერ კიდევ წინა საუკუნის 70-80-ან წლებში იგი აღწერილი იყო სხვადასხვა ორგანოების ქსოვილებში, მათ შორის სანერწყვე ჯირკვალში, ცხვირის ლორწოვან გარსში და სხვ. (Brody, Shaffer, 1970; Eccles, Wilson, 1974; Lundberg, 1981; Lundberg et al., 1982).

ასევე წინა საუკუნის ოთხმოციან წლებში ძაღლებზე ჩატარებულ ცდებში ნაჩვენებია იყო, რომ ენის არტერიის რელაქსაცია, გამოწვეული პერივასკულური ნერვის სტიმულაციით, განპირობებულია კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის (CGRP) რეცეპტორების აქტივაციით (Kobayashi et al., 1985), რითიც დადგენილ იქნა ამ პეპტიდის მედიატორული მნიშვნელობა და როლი ენის არტერიის ნეიროგენურ ვაზოდინატივიაში. CGRP-ის აღმოჩენის ისტორია ასეთია:

1961 წელს კოპმა და კოლეგებმა განაცხადეს პეპტიდ კალციტონინის არსებობა Copp et al., 1961). მისი სტრუქტურის განსაზღვრამ აჩვენა, რომ კალციტონინი არის ერთჯაჭვიანი პეპტიდური ჰორმონი, რომელიც შეიცავს 32 ამინომჟავას. (Neher et al., 1968).

კალციტონინის გენის მოლეკულური კლონირებისას 1983 წელს აღმოჩენილი იყო კალციტონინის გენთან დაკავშირებული 37-მონოამინიანი პეპტიდი - CGRP (Rozenfeld et al., 1983). როგორც CGRP, ისე მისი რეცეპტორები ფართოდ არის გავრცელებული ცენტრალურ ნერვულ (Asghar et al., 2012) და კარდიოვასკულურ სისტემებში (Al-Rubaiee et al., 2013; Asghar MS et al., 2010). CGRP გვხდება პერიფერიულ ნერვულ სისტემაშიც (სენსორულ განგლიებში) სადაც ხშირად თანაარსებობს სუბსტანცია P-თან (Schlereth et al., 2016).

არტერიულ სისტემაში CGRP-რეცეპტორები განაწილების სხვადასხვა სიხშირით ნაპოვნია სისხლის მიმოქცევის როგორც პერიფერიულ, ისე ცენტრალურ სისტემებში. მსხვილ არტერიებში ისინი დაბალი სიხშირითაა წარმოდგენილი (Bowers, et al., 2005). როგორც წესი, CGRP-რეცეპტორების განაწილება შეესატყვისება თვით პეპტიდის განაწილებას (Chan et al., 2010). თუმცა გამონაკლისებიც არის, მაგალითად, ნათხემი, რომელიც გამოირჩევა რეცეპტორების სიჭარბით. უნდა აღინიშნოს, რომ უკანასკნელი მონაცემების მიხედვით CGRP -რეცეპტორები ნათხემში ძირითადად გლიალურ უჯრედებშია და არა პურკინიეს უჯრედებში, როგორც ადრე იყო მიღებული.

CGRP პეპტიდს გააჩნია მაღალი ვაზოდილატატორული აქტივობა (Russell et al., 2014), ამ პეპტიდის ფართო გავრცელება გულსისხლძარღვოვან სისტემაში და პერივასკულურ ნერვებში აგრეთვე მეტყველებს იმაზე, რომ იგი დიდ როლს უნდა თამაშობდეს პერიფერიული სისხლძარღვოვანი ტონუსის და ორგანული სისხლის ნაკადის რეგულაციაში (Wimalawansa, 1996).

ცნობილია, რომ ზოგ სისხლძარღვოვან რეგიონში CGRP-ის ვაზოდილატატორული ეფექტი ხორციელდება ენდოთელური

წარმოშობის აზოტის ოქსიდის მეშვეობით და K⁺ATP-აზის არხის გახსნით (Depre et al., 2013). აღნიშნავენ, რომ არტერიულ გლუვ კუნთებში K⁺-არხის აქტივაციით CGRP იწვევს ჰიპერპოლარიზაციას, მაგრამ ვირთაგვას იზოლირებულ კორონარულ არტერიაში K⁺ATP-აზის არხის ანტაგონისტი უძლური აღმოჩნდა ჩაეხშო CGRP-ით გამოწვეული რელაქსაცია (Pernow, 1989).

ლიტერატურაში არსებული მონაცემების ანალიზი დღეისათვის არ გვაძლევს იმის უფლებას, რომ დაბეჯითებით ვამტკიცოთ NO-სა და ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის (cGMP) მონაწილეობა CGRP-ით გამოწვეულ ენდოთელიუმ-დამოკიდებულ ვაზორელაქსაციაში (Sarchielli et al, 2000; Li, Vause, Durham, 2008).

ვირთაგვას აორტის რკალში CGRP-ით გამოწვეული ენდოთელიუმ-დამოკიდებული ვაზორელაქსაცია დაითრგუნა ჰემოგლობინით, რომელიც ბოჭავს ენდოთელურ NO-ს. ასეთივე ეფექტი მიღწეულ იქნა L-NAME-თი (ნიტრო L-არგინინ მეთილის ეთერი), რომელიც არის აზოტის ოქსიდის სინთაზების (NOS) ძლიერი, არასელექციური ინჰიბიტორი. L-NAME-ს ინჰიბიტორული ეფექტის რევერსი შესაძლებელია ჭარბი L-არგინინის შეყვანით.

ითვლება, რომ CGRP-ის ვაზორელაქსაციური პოტენციის განხორციელებისათვის აუცილებელი მოთხოვნა - ენდოთელიუმის ინტაქტურობა და ეს მოთხოვნა გამოირჩევა მკვეთრად გამოხატული რეგიონულობით. სხვადასხვა სისხლძარღვოვან უბნებში CGRP -ის მოქმედების პასუხად გამოვლინდა NO-ს გამონთავისუფლების მნიშვნელოვანი ვარიაბელურობა (Li, Vause, Durham, 2008).

რიგ პუბლიკაციებში ნაჩვენებია, CGRP-ის როგორც ენდოთელიუმ-დამოკიდებული, ისე დამოუკიდებელი ეფექტი. ასე მაგალითად, ითვლება, რომ აორტაზე ამ ეფექტის მისაღწევად ენდოთელიუმის ინტაქტურობა აბსოლუტურად აუცილებელია (Salsoso et al., 2014). ცნობილია, რომ ვირთაგვას აორტის რკალში CGRP ასტიმულირებს cGMP აკუმულაციას. უფრო მეტიც,

ვირთაგვას აორტის ვაზორელაქსაციური პასუხი (ინტაქტური ენდოთელიუმის შემთხვევაში) CGRP -ს მოქმედებაზე ითრგუნება მეთილენის ლურჯით - ციტოზოლური გუანილატ ციკლაზის ინჰიბიტორით და NO-ს სინთეზის ინჰიბიტორებით. მაგრამ, 1987 წელს გრეისმა (Grace) და თანამშრომლებმა (Grace et al., 1987) აღწერეს, რომ ვირთაგვას აორტის ვაზორელაქსაციის (გამოწვეული აცეტილქოლინით და ნატრიუმის ნიტროპრუსიდით) პარალელურად ვითარდება cGMP-ს აკუმულაცია ენდოთელიუმის როგორც არსებობის, ისე არარსებობის პირობებში, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ CGRP -ს პასუხად გამოყოფილი NO უნდა განსხვავდებოდეს აცეტილქოლინით გამონთავისუფლებულისგან.

არ არის გამორიცხული, რომ აზრთა სხვადასხვაობა CGRP-ის ეფექტის მისაღწევად ენდოთელიუმის არსებობის აუცილებლობის შესახებ, გამოწვეული იყოს მხოლოდ მეთოდური ასპექტებით. სავსებით შესაძლებელია, რომ ენდოთელიუმის არასრული ამოღებისას სისხლძარღვებში, ან ენდოთელიური ფენის დაზიანების შედეგად იმ სისხლძარღვებში, რომლებშიც ითვლება, რომ იგი ინტაქტურია, მივიღოთ პრინციპული სხვაობა იმ კვლევის შედეგებში, რომლებშიც შეისწავლება ენდოთელიუმ-დამოკიდებული NO-სა და cGMP-ს აკუმულაციის როლი CGRP -ს საპასუხოდ მიღებულ ვაზორელაქსაციაში.

ამგვარად, CGRP-ს ძირითადი ბიოლოგიური ეფექტი არის გლუვი კუნთების რელაქსაცია (Schaeffer et al., 2003; Deng et al. 2006). მისი ინტრავენური ინფუზია იწვევს სისტემური არტერიული წნევის დოზა-დამოკიდებულ დაქვეითებას, ხოლო მისი რეცეპტორების ანტაგონისტის გამოყენებისას ვიღებთ ამ ეფექტის რევერსს.

იმის მიუხედავად, რომ CGRP -ს მიაწერენ მნიშვნელოვან როლს მრავალი ბიოლოგიური პროცესების რეგულაციაში (Bowers et al., 2005) ყველაზე მნიშვნელოვან ფუნქციად მაინც ასახელებენ ორგანოებში სისხლის მიმოქცევის რეგულაციას. CGRP -ის სხვა დადგენილი ეფექტები გამოიხატება კარდიალურ აქსელერაციაში (Russel et al., 2014), ანთების დროს სუბსტანცია P-ს მოქმედების

მოდულაციაში, სენსორული აღქმის ნეირომოდულაციაში (Hernanz et al., 2003) და სხვ. CGRP აგრეთვე გარკვეულ გავლენას ახდენს ახალ სისხლძარღვთა ფორმირებაზე როგორც ფიზიოლოგიურ, ისე პათოლოგიურ პირობებში (ისქემია, ანთეზა). სხვა მედიატორებთან ერთად CGRP აგრეთვე მონაწილეობს ანთებითი ჰიპერემიის წარმოქმნაში (Mulle et al., 1988).

უკანასკნელ წლებში CGRP-სა და მისი ანალოგების ირგვლივ აღინიშნება მზარდი ინტერესი, როგორც თერაპიული საშუალებებისადმი მრავალი დაავადებების დროს. საკმარისია მხოლოდ იმის აღნიშვნა, რომ CGRP-ის შეუძლია უშუალოდ იმოქმედოს სისხლძარღვებზე, გამოიწვიოს პერიფერიული ვაზოდილატაცია, შეამციროს ვასკულური წინაღობა და ამ გზით მოგვევლინოს როგორც ჰიპერტონიის სამკურნალო საშუალება (Wang et al., 2015).

CGRP და მისი აგონისტები გამოიყენება აგრეთვე ისეთი პათოლოგიების დროს როგორცაა: გულის კორონარული სისხლძარღვების დაავადება და მიოკარდიუმის ინფარქტი, გულის უკმარისობა, არიტმია, პერიფერიული სისხლძარღვების დაავადება, რეინოს სინდრომი და სხვ. (DiPette, Wimalawansa, 1994)

არის თუ არა პლაზმაში ცირკულირებადი CGRP ჰორმონული ფუნქციის მატარებელიც, ჯერ-ჯერობით არაა გარკვეული, თუმცა ცხადია, რომ ინტრავენური ინფუზიიდან რამდენიმე წამში CGRP აღწევს სამიზნე ქსოვილს Wimalawansa, 1996).

უკანასკნელ წლებში ნაჩვენები იყო, რომ CGRP-ს გამონთავისუფლებაში სენსიტიური ნერვების პერიფერიული ტერმინალებიდან მნიშვნელოვან როლს თამაშობს კაჰსაიცინი (ვანილოიდი), რომელიც ასევე ჩართულია სუბსტანცია P-ს (SP) და სომატოსტატინის გამონთავისუფლებაშიც, რაც მიუთითებს პეპტიდების გამონთავისუფლების უშუალო, არა აქსონ-რეფლექსის მაგვარი მექანიზმების არსებობაზე (Sinclair et al., 2010) ამავე ავტორებმა პარალელურად შეისწავლეს სამივე ნეიროპეპტიდის (SP, CGRP და სომატოსტატინი) გამონთავისუფლება ვირთაგვას

ტრაქეადან, ინდუცირებული კაპსაიციინის 10^{-8} – 10^{-5} M კონცენტრაციით შეყვანით. გაირკვა, რომ არხების არცერთი ცნობილი ბლოკატორი არ თრგუნავს პეპტიდების გამონთავისუფლებას კაპსაიციინის ნებისმიერი გამოყენებული კონცენტრაციის პირობებში. შესაბამისად ჩამოაყალიბდა პოსტულატი, რომ სენსორული ნეიროპეპტიდების გამონთავისუფლების საიტი ასრულებს აგრეთვე სენსორული რეცეპტორების ფუნქციას.

სხვა გამღიზიანებელ ნივთიერებებს შორის, რომლებიც მოქმედებენ პირველად სენსორულ ნეირონებზე კაპსაიციინი გამოირჩევა გარკვეული უნიკალობით, რადგან მის მიერ გამოწვეულ საწყის სტიმულაციას თან სდევს ხანგრძლივი და სტაბილური რეფრაქტერული მდგომარეობა, რომელიც ტრადიციულად დესენსიტიზაციის სახელითაა ცნობილი (Amadesi et al., 2004). თუმცა კაპსაიციინი მოიხსენიება როგორც “ინსტრუმენტი” პირველადი სენსორული ნეირონებისათვის (Holzer, 1991), თავიდანვე გასაგები იყო, რომ მისი მოქმედების ყველა ასპექტი ვერ შემოისაზღვრებოდა მხოლოდ პირველადი სენსორული ნეირონების აქტივაციით. ერთ-ერთი ასეთი ასპექტია კაპსაიციინის ნეიროტოქსიკური მოქმედება.

1977 წელს ნაჩვენები იყო, რომ ახალშობილ ვირთაგვებში კაპსაიციინის შეყვანა იწვევს მცირე და საშუალო ზომის ნეირონებს კვდომას (Jancso et al., 1977). აქედან მოყოლებული კაპსაიციინის იყენებენ კაპსაიციინ-სენსიტიური ნერვული გზების იდენტიფიკაციის მიზნით და მათი როლისა და წვლილის დადგენისათვის ფიზიოლოგიურ თუ პათოლოგიურ მარეგულირებელ პროცესებში.

თითქმის დარწმუნებით შეიძლება ითქვას, რომ კულტურაში კაპსაიციინს შეუძლია ზრდასრული ნეირონების კვდომის გამოწვევაც (Amadesi et al., 2004). ასეთი ქმედება განპირობებული უნდა იყოს კალციუმით, ვინაიდან უჯრედგარეთა კალციუმის გამოდევნა ან ბლოკირება აფერხებს კაპსაიციინით ინდუცირებულ უჯრედების კვდომას. თუმცა in-vitro ცდებში კაპსაიციინით-

ინდუცირებულ ნეირონულ დეგენერაციაში კალციუმი გვევლინება მნიშვნელოვან მონაწილედ. საკითხი იმის შესახებ, რომ შეუძლია თუ არა უჯრედშიგა კალციუმს მიაღწიოს ისეთ მაღალ დონეს, რომ *in-vivo* გამოიწვიოს ზრდასრული ნეირონის შეუქცევადი დაზიანება, კვლავ დიაა.

ვინაიდან კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის მოქმედების მექანიზმები მჭიდროდ კორელირებს აზოტის ოქსიდთან და მათი ფუნქციები თითქმის კონკურენტულ ხასიათს ატარებენ, მიზანშეწონილად მიგვაჩნია NO-ს ბიოლოგიური მნიშვნელობისა და მისი მოქმედების მექანიზმების განხილვაც.

ორგანული სისხლის მიმოქცევის მარეგულირებელი მექანიზმების კვლევამ წლების განმავლობაში მრავალი პრინციპული მნიშვნელობის ცვლილება განიცადა.

მეოცე საუკუნის 90-ან წლებამდე ვაზოაქტიური მეტაბოლიტების ძირითადი სია ასე გამოიყურებოდა: ნახშირორჟანგი, ადენოზინი, კალიუმის და წყალბადის იონები, ჰისტამინი, სეროტონინი, ბრადიკინინი და ა.შ. (Sarchielli et al., 2008; Li et al., 2008).

გასული საუკუნის დასასრულს აზოტის ოქსიდის აღმოჩენამ პრინციპულად შეცვალა ექსპერიმენტული კვლევის მიმართულება მსოფლიოს მასშტაბით და ყურადღება მთლიანად იქნა გადართული ამ ახალი ფაქტორის როლისა და ფუნქციის დადგენისადმი სისხლის მიმოქცევის რეგულაციაში (Zoccoli, 2001, Homma et al., 2003). ინტენსიური კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ აზოტის ოქსიდი არის ის ძლიერი ვაზოდილატატორი, რომელიც თავდაპირველად იდენტიფიცირებული იქნა, როგორც ენდოთელიუმ-დამოკიდებული რელაქსაციური ფაქტორი (Furchgott, Zawadski, 1980). ეხლა უკვე ცნობილია, რომ იგი აგრეთვე გამომუშავდება თავის ტვინშიც პერივასკულური ნერვების, გლიის, აქტიური ნეირონების მიერ და ამდენად შეუძლია ფართოდ აკონტროლოს სისხლის მიმოქცევის ინტენსივობა თავის ტვინშიც. ზოგიერთ კვლევაში ნაჩვენებია იქნა, რომ აზოტის ოქსიდს

მნიშვნელოვანი წვლილი შეაქვს სისხლძარღვთა ბაზალურ ტონუსში და ასევე მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ნახშირორჟანგით გამოწვეულ სისხლის მიმოქცევის მატებაში (Wang et al., 2004).

მნიშვნელოვანი როლი მიანიჭეს აზოტის ოქსიდს სისტემური ჰიპოქსიის და ჰიპოტენზიის პირობებშიც (Levine A.B. · Punihaole D. · Levine T.B. , 2012).

დადგენილია, რომ ორგანიზმში აზოტის ოქსიდი (NO) წარმოადგენს სასიგნალო მოლეკულას, რომელიც გარდა სისხლძარღვთა ტონუსის რეგულაციისა, ჩართულია სხვადასხვა ბიოლოგიური ფუნქციების განხორციელებაში, მათ შორისაა იმუნური სისტემის რეაქციები და ნეიროტრანსმისია (Levine A.B. · Punihaole D. · Levine T.B. , 2012). აზოტის ოქსიდი ლიპოფილურია, ტრანსცელულარული დიფუზიით იოლად აღწევს ინტრაცელულარულ სამიზნეებს, რითაც გარკვეულწილად ემსგავსება ჰორმონს (Ghasemi A, Zahediasl S, 2011).

NO ხასიათდება ხანმოკლე სიცოცხლისუნარიანობით. ჟანგბადი აზოტის ოქსიდს ჟანგავს წყალსხნარში აზოტურ ანჰიდრიდამდე ნიტრიტის შემდგომი წარმოქმნით. თუ ჟანგბადისა და აზოტის ოქსიდის კონცენტრაცია შესაბამისად 20 და 1 მიკრომოლია, მაშინ აზოტის ოქსიდის ნახევარსიცოცხლის დრო დაახლოებით 500 წამია, მაგრამ in-vivo პირობებში ეს მაჩვენებელი განისაზღვრება 5 წამის ოდენობით, რაც იმაზე მეტყველებს, რომ აზოტის ოქსიდი აქტიურ ურთიერთქმედებაშია უჯრედოვან კომპონენტებთან. ყველაზე დიდი სიჩქარით აზოტის ოქსიდი (NO) რეაგირებს სუპეროქსიდურ ანიონთან (O_2^-) და გარდამავალ ლითონებთან: რკინისა და სპილენძის ჰემურ კომპლექსებთან, რკინაგოგირდოვან სტრუქტურებთან.

აზოტის ოქსიდის უმრავლესი უჯრედული ეფექტების გამოვლენა დამოკიდებულია NO და O_2^- კონცენტრაციათა თანაფარდობაზე, ვინაიდან ბევრ ჯგუფზე მოქმედებს არა უშუალოდ აზოტის ოქსიდი, არამედ პეროქსინიტრიტი, რომელიც არის ბევრად უფრო აქტიური და პოტენციურად უფრო ტოქსიური

შენაერთი ვიდრე ცალ-ცალკე აღებული NO და O₂. გარკვეულ პირობებში, მაგალითად, ციტოკინების მოქმედებისას, როდესაც უჯრედებში აქტიურად მიდის თიოლების და რვინაგოგირდოვანი ცენტრების ჟანგვა, ჭარბობს აზოტის ოქსიდის ციტოტოქსიური მოქმედება. მაგრამ თუ შეიცვალა კონცენტრაციების ბალანსი, ანუ თუ აზოტის ოქსიდის კონცენტრაცია მნიშვნელოვნად აჭარბებს O₂-ის კონცენტრაციას, მაშინ ხდება პეროქსინიტრიტის აღდგენა NO₂-მდე და ამ პირობებში NO მოქმედებს უკვე როგორც ანტიოქსიდანტი, რომელიც იცავს უჯრედებს ჟანგბადის აქტიური ფორმების ციტოტოქსიური მოქმედებისგან (Hummel et al., 2006).

გარდა მაღალი ქიმიური აქტივობისა, აზოტის ოქსიდის, როგორც სასიგნალო მოლეკულის მნიშვნელობა, განისაზღვრება მისი სწრაფი დიფუზიის უნართაც. თანახმად არსებული მონაცემებისა აზოტის ოქსიდი მის მასინთეზირებელი უჯრედისგან საკმარისად შორს და სწრაფად ვრცელდება. სინთეზის დაწყებიდან დაახლოებით ორი წამის შემდეგ მასინთეზირებელი უჯრედისგან 100 მკმ დაცილებით აზოტის ოქსიდის კონცენტრაცია წონასწორული მნიშვნელობის ნახევარს შეადგენს. წარმოქმნის ადგილიდან 160 მკმ დაცილებით (რაც დაახლოებით რვა უჯრედული დიამეტრის ტოლია) სინთეზის მუდმივი დონის შენარჩუნების პირობებში აზოტის ოქსიდის კონცენტრაცია კლებულობს ორჯერ (Zavorsky et al., 2017).

ტრადიციული ნეიროტრანსმიტერებისაგან განსხვავებით NO არ გროვდება ნერვული დაბოლოებების სინაფსურ ვეზიკულებში და გამოიყოფა სინაფსურ ნაპრალში არა ეგზოციტოზის მექანიზმის გზით. L-არგინინის L-ციტრულინად კატალიზურად გარდაქმნის თანაპროდუქტის ფერმენტ NO-სინთაზას (NOS) საშუალებით NO-ს მოლეკულა სინთეზირდება ფიზიოლოგიური მოთხოვნილების მიხედვით (Burnett, 1997).

აღმოჩნდა, რომ უჯრედში არსებობს NOS ჯგუფის ფერმენტები, რომლებიც შეიცავენ ნეირონალურ (nNOS), ენდოთელურ (eNOS) და ინდუცირებად (iNOS) იზოფორმებს. ისინი განსხვავდებიან მოლეკულური, ბიოქიმიური და

ფარმაკოლოგიური თავისებურებებით (Umar S, van der Laarse A., 2010; Chong et al., 2018).

კონსტიტუციური NOS-ის იზოფორმები (eNOS და nNOS) ჩვეულებრივ არსებობენ ენდოთელურ უჯრედებში და ნეირონებში და აქტივდებიან კალციუმის, კალციუმ-დამაკავშირებელი ცილა კალმოდულინის, ჟანგბადის თანაარსებობისას და იმლებიან ნიკოტინამიდ ფოსფატამდე, მაშინ როცა არგინინის დერივატები ჩვეულებრივ აინჰიბირებენ მათ კატალიზურ აქტივობას. კონსტიტუციური იზოფორმები, უჯრედშიდა კალციუმის დონის გაზრდამდე (შეესაბამება Ca^{2+} კონცენტრაცია – 0,4mcM) არიან არააქტიურ მდგომარეობაში. გაზრდის შედეგად კალმოდულინი დაუკავშირდება კალციუმს და კალციუმ-კალმოდულინის კომპლექსი უკავშირდება და ააქტივებს NOS-ს. უკვე შემდეგ NO სინთეზირდება და მცირე რაოდენობით გამოიყოფა, მანამ სანამ შემცირდება კალციუმის დონე. აზოტის ოქსიდის ასეთი პერიოდული წარმოქმნით ხდება სიგნალების გადაცემა. ამის საწინააღმდეგოდ, ინდუცირებადი NOS, იყენებს რატეტრაჰიდროობოპროტეინს, როგორც მის მთავარ კოფაქტორს, ჩვეულებრივ დაკავშირებულია მაკროფაგებთან და იმუნური ფუნქციის სხვა უჯრედებთან. ინდუცირებადი NOS-ის საშუალებით NO მუდმივად სინთეზირდება დიდი (1000-ჯერ მეტი) ოდენობით იმ უჯრედებში, რომლებიც ირგვლივ მყოფი უჯრედებისათვის პათოლოგიურს წარმოადგენენ, ანუ ბაქტერიებსა და პარაზიტებში. iNOS-ის აქტივაციისას NO-ს წარმოქმნა მკვეთრად იზრდება და მაქსიმალურ მნიშვნელობას აღწევს საათების შემდეგ (Меньшикова и др., 2000).

ჟანგბადის აქტიური ნაერთებიც ახდენენ გავლენას NOS-ის აქტივობაზე. დადგენილია, რომ თავის ტვინში L-არგინინსაგან NO-ს წარმოქმნის პროცესში, რომელიც კატალიზდება iNOS-ის ციტოლიზური იზოფორმით, მონაწილეობენ სუპეროქსიდ ანიონი, წყალბადის ზეჟანგი და ჰიდროქსილ რადიკალი (Chong et al., 2018).

პოსტულირებული იქნა NO-ს გავლენა NOS-ის აქტივობის უშუალო უკუკავშირის ინჰიბიციაცაზე, ენზიმის ჰემის ნაწილთან ურთიერთქმედებით.

NO-ს ძირითად ბიოქიმიურ ფუნქციას წარმოადგენს მეორადი სასიგნალო მოლეკულის 3',5'-ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის (cGMP) შიგაუჯრედული წარმოქმნის სტიმულირება. მის დამატებით ბიოქიმიურ ფუნქციებს კი შეადგენს ურთიერთობა ჰემოგლობინთან, სისხლის შრატის ალბუმინთან, არაჰემურ რკინა-გოგირდოვან ცილებთან და მათთან სტაბილური კომპლექსების შექმნა, რაც თავის მხრივ იწვევს NO-ს ბიოლოგიური ეფექტების გავრცელებას სისხლძარღვებზე (**Spinelli et al., 2016**).

NO გამოიყოფა ენდოთელიუმში და მიგრირებს სისხლძარღვთა კედლის გლუვკუნთოვან უჯრედებში, იწვევს რა მათ მოდუნებას და ამგვარად, NO წარმოადგენს ბუნებრივ მიორელაქსანტს, რომლის “სამიზნე” არის სისხლძარღვთა კედლის კუნთი. ნაჩვენებია, რომ ენდოთელური NOS გენის გამოთიშვას მივყავართ მკვეთრ ჰიპერტენზიამდე. ადამიანში NO-სინთაზას დეფექტებს გენში მივყავართ ათეროსკლეროზამდე.

ფიზიოლოგიურ პირობებში, როგორც ცნობილია ენდოთელიუმში წარმოქმნილი NO მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სისხლის მიმოქცევის რეგულაციასა და აუტორეგულაციაში (Kobari et al., 1994), ორგანოში მეტაბოლიზმისა და სისხლის ნაკადის შეუღლებაში, წარმოადგენს ნოციციპციის, თერმოგენეზის, ცნოსვის მედიატორს, მონაწილეობს ასევე ნეიროტრანსმისიისა და მეხსიერების ფორმირებაში, ნეიროენდოკრინული ფუნქციების მოდულაციაში და ქცევით აქტივობაში Szabo, 1996). დღეისათვის მას განიხილავენ სისხლძარღვების ენდოთელიუმ-დამოკიდებული რელაქსაციის განმარტციელებელ ფაქტორად. (**Loscalzo, 2013**)

ცენტრალურ და პერიფერიულ ნერვულ სისტემაში აზოტის ოქსიდის წყაროს წარმოადგენს არაქოლინერგული ნერვები, გლუტამატური ნეირონები, აგრეთვე სისხლძარღვების ენდოთელური უჯრედები, მიკროგლიის უჯრედები და

ასტროციტები (Lancaster, 1993). იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდების გამოყენებით დაადგინეს nNOS-ის ყველაზე მაღალი აქტივობა ნათხემის გაემ-ერგულ უჯრედებში და ასტროციტებში. NOS-ის ფერმენტული აქტივობის უფრო დაბალი დონე აღმოჩენილია ჰიპოთალამუსში, შუა ტვინში, სტრიატუმში, თავის ტვინის ქერქის ნეირონებში. ჰიპოკამპის პირამიდულ ნეირონებში აღმოჩენილია ენდოთელური NO-სინთაზას (eNOS-ის) მნიშვნელოვანი კონცენტრაცია (Меньшикова, 2000; Баикатова, Раевский, 1998). Ca^{2+} დამოკიდებული ინდუცირებადი NO-სინთაზა ნორმალურ თავის ტვინში აღმოჩენილი არ იყო (Sinz et al., 1999).

რამოდენიმე ჰიპოთეზა იყო მოწოდებული NO-ს წარმოქმნასა და მეტაბოლიზმზე თვით ჰიპოქსიის უშუალო გავლენის ასახსნელად. ჰიპოქსია იწვევს შიგაუჯრედული თავისუფალი Ca^{2+} -ის და Ca^{2+} -დამოკიდებული NO-სინთაზის გაზრდას (Luckhoff et al., 1986; Busse, Mulsch, 1990). ის ასევე თრგუნავს პეროქსიდული იონების გენერაციას, რომელიც იწვევს NO-ს ინაქტივაციას (Rubanyi, Vanhoutte, 1986; Rubanyi, Vanhoutte, 1986). ანოქსიის მდგომარეობაში NO-ს პროდუქცია არის დათრგუნული, რადგან NO-ს სინთეზი საჭიროებს ჟანგბადის მოლეკულების თანაარსებობას (Palmer et al., 1988). Pohl და Busse -მ (1989) უჩვენეს, რომ ჰიპოქსია ($PaO_2=24\pm 8$ mm.Hg) ასტიმულირებს NO-ს გამოყოფას სისხლძარღვებიდან და ენდოთელური უჯრედების კულტურებიდან. აღსანიშნავია, რომ $PaO_2=36-37$ mmHg ჰიპოქსიის დროსაც ხდება NO-ს სინთეზი და გამოყოფა, როგორც Pohl და Busse -ს შემთხვევაში, თუმცა ენდოთელური უჯრედების ან Ca^{2+} -ის და სუპეროქსიდ ანიონების როლი ჯერ კიდევ საჭიროებს გარკვევას (Ishimura et al., 1996).

დადგენილია, რომ ჟანგბადის და აზოტის რეაქციული სახეობები ჩართული არიან სხვადასხვა მწვავე და ქრონიკული ანთებითი პროცესების პათოგენეზში. კერძოდ, აზოტის ოქსიდს ხშირად შეუძლია გამოიწვიოს უარყოფითი მოქმედება ანთებით ქსოვილზე, რომელიც მანიფესტირდება გაუარესებული ენდოთელიუმ-დამოკიდებული ვაზოდილატაციით (Suzuki et al.,

2000), ბირთვული ტრანსკრიპციული ფაქტორების აქტივაციით, ანთებითი ციტოკინების შესაბამისი პროდუქციით, ლეიკოციტების მობილიზაციით და აქტივაციით, აჩქარებული აპოპტოზით (Zhai et al., 2000) და პარენქიმული უჯრედების ნეკროზით (McKenzie et al., 1997). არაისქემიურ ცდებში ნაჩვენებია იყო, რომ ეპითელიური ნეკროზი და/ან აპოპტოზი კორელირებს აზოტის ოქსიდის დისრეგულაციასთან (Elliot et al., 2000). ამავე ნაშრომში ნაჩვენებია იყო, რომ ლორწოვანი გარსის ადრეული ნეკროზი ვითარდება ლიპოპოლისაქარიდებით-ინდუცირებულ ანთების და მიკროცირკულაციის მოშლის შედეგად, ხოლო აზოტის ოქსიდის როლი გამოკვეთილია უფრო მოგვიანო სტადიაზე - ეპითელიური აპოპტოზის დროს.

ამგვარად აზოტის ოქსიდის ვაზოდილატაციური ფუნქციის შესახებ ჩვენ შეგვიძლია ვთქვათ, რომ NO-ს ქიმიური ბუნება მას უნარს აძლევს დიფუზიის გზით სწრაფად მიაღწიოს სამიზნე უჯრედებამდე, გააქტიუროს ციტოზოლური ფერმენტი - გუანილატ ციკლაზა და ამგვარად გამოიწვიოს ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის (cGMP) ფორმირება (Pietrobon et al., 2011). ეს ნუკლეოტიდი კი პროტეინკინაზა G-ს აქტივაციის გზით ასტიმულირებს Ca-ATPაზას, სისხლძარღვოვან გლუვ კუნთებში ამცირებს უჯრედშიდა Ca^{2+} და ამის შედეგად ვითარდება ვაზორელაქსაცია.

ცნობილია, რომ სისხლძარღვთა სისტემა სხვადასხვა სახის პათოლოგიურ პირობებში პირველ სამიზნეს წარმოადგენს ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალებისათვის (Trinity, Broxterman, Richardson, 2016). ამ მხრივ განსაკუთრებულ მდგომარეობაში იმყოფება პირის ღრუს სისხლძარღვოვანი სისტემა, რომელიც გამუდმებულად იმყოფება ენდო- და ეგზოგენური ხასიათის ზემოქმედების ქვეშ, რაც ასტიმულირებს ენდოგენური პროსტანოიდების პროდუქციას (Narumiya, 2007). ამ სისხლძარღვთა სისტემის რეაქტიულობა მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული სწორედ თავისუფალ რადიკალებზე. ცერებრულ არტერიოლებზე ნაჩვენებია იყო, რომ არტერიული წნევის მწვავე მატებისას რიგი

ბიოქიმიური გარდაქმნების შემდეგ (Okabe et al., 1985) დიდი რაოდენობით წარმოიქმნება ჰიდროქსილ რადიკალები (HO \cdot). ეს უკანასკნელი ცნობილია როგორც პოტენციური ოქსიდანტი, რომლის ფორმირება იწვევს გახანგრძლივებულ ვაზოდილატაციას და სისხლძარღვების ოქსიდაციურ დაზიანებას (Leonarduzzi et al., 2010).

თავისუფალი რადიკალებით გამოწვეული ცვლილებები სისხლძარღვოვანი სისტემის რეაქციებში დღეისათვის წარმოადგენენ კვლევის ერთ-ერთ ყველაზე აქტუალურ საკითხს, ვინაიდან უკავშირდებიან ისქემიასთან ასოცირებულ პათოლოგიური პროცესების განვითარების ერთ-ერთ ყველაზე მნიშვნელოვან პრობლემას (Mares et al., 2016). ნაჩვენებია, რომ თავისუფალი რადიკალების ძირითადი ქმედება გამოიხატება, როგორც ვაზოდილატაციით, ისე ვაზოდილატაციის უნარის მოშლით. უფრო მეტიც, დადგენილია, რომ ჰიდროქსირადიკალებით გამოწვეული ენდოთელური დაზიანება აინჰიბირებს როგორც ენდოთელიუმ-დამოკიდებული რელაქსაციური ფაქტორის გამომუშავებას, ისე ამ ფაქტორის მოქმედების ეფექტს (Mares et al., 2016).

ამგვარად, ვაზოდილატატორული ფუნქციის მოშლა, გამოწვეული თავისუფალი რადიკალების ჭარბი პროდუქციით, ხელს უწყობს ვაზოკონსტრიქტორული სტიმულისადმი რეაქტიულობის მატებას.

სისხლძარღვის კედელში გენერირებულ თავისუფალ რადიკალებს შეუძლიათ უშუალოდ იმოქმედონ გლუვ კუნთოვან უჯრედებზე, ან გავლენა მოახდინონ ენდოთელურ უჯრედებში ფორმირებული ენდოგენური ვაზოაქტიური მედიატორების პროდუქციასა და/ან ბიოლოგიურ აქტივობაზე. ამასთან ერთად უნდა აღინიშნოს, რომ პრაქტიკულად არ არის შესწავლილი თავისუფალი რადიკალების გავლენა CGRP-ით განპირობებულ ვაზოდილატაციურ რეაქციებზე.

თუ გავითვალისწინებთ, რომ ღრძილებისა და კბილების ჯანმრთელობა მნიშვნელოვანწილად არის დამოკიდებული

პირსახის სისხლით მომარაგების რეგულაციაზე, გასაგებია თუ რა დიდი თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა უნდა მიენიჭოს ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების მოქმედების კვლევას ენის არტერიის CGRP-თ განპირობებულ ნეიროგენურ ვაზოდილატაციაზე. კერძოდ, ირღვევა თუ არა თავისუფალი რადიკალებით CGRP-ით განპირობებული ნეიროგენური რელაქსაცია და თუ ეს ასეა, რა არის მოშლილი - რელაქსაციის მექანიზმი უჯრედულ დონეზე?

ნათელია, რომ სისხლძარღვის სეგმენტის ნებისმიერი რეაქცია არის გარეგანი და შინაგანი სისტემების ინტეგრაციული ურთიერთქმედების შედეგი, რომელშიც შიდა სისტემა ასრულებს აღმასრულებელი რგოლის როლს და განსაზღვრავს გარე სიგნალების ეფექტურობას. ეს კონცეფცია საკმარისად კარგად ეთანხმება (თეორიულ ასპექტებში) სისხლძარღვის კედლის ტონუსის რეგულაციის არსებულ სქემებს (Mitagvaria N., Bicher, 2009). ამავდროულად იგი საშუალებას იძლევა დავსახოთ კონკრეტული ამოცანები სისხლძარღვოვანი სისტემის თვისებების შესასწავლად. ცნობილია, რომ სისხლძარღვოვანი სისტემა ფუნქციურად ჰეტეროგენურია (Митагвария Н. 1983). სათანადოთ, ამ სისტემის გარკვეულ უბნებზე ხდება სისხლძარღვის კედლის და მისი გლუვი კუნთების თვისებების თანდათანობითი ან ნახტომისებრი ცვლილება. სავსებით დასაშვებია, რომ ყოველი სისხლძარღვოვანი სეგმენტის მიოგენური აქტივობის ფორმირება საბოლოო ჯამში დადის სამი ტიპის გლუვკუნთოვანი ელემენტების გამოყენებაზე:

1. გლუვი კუნთები, რომელთა უმრავლესობა ბუნებრივ პირობებში ავლენს რიტმულ აქტივობას და არ განსხვავდება ერთმანეთისგან აგზნებისა და გამტარიანობის თვალთახედვით.

2. გლუვი კუნთები, რომლებიც შეიცავენ სხვადასხვა მიოგენური აქტივობის მქონე უჯრედებს; უჯრედების ერთი ნაწილი გენერირებს აგზნების რიტმს, ხოლო მეორე – აქტივირდება გამტარიანობის ფუნქციის რეალიზაციისას;

3. გლუვი კუნთები, რომელთა უმრავლესობა აქტივირდება უმეტესწილად ნეიროგენურად და ბუნებრივ სიტუაციაში მიოგენურ აქტივობას არ ავლენს (Гуревич, Берштейн, 1984).

აღნიშნულის ნათელი მაგალითია ის, რომ თავის ტვინის მაგისტრალურ არტერიებს მოსვენებულ მდგომარეობაში რიტმული სპონტანური აქტივობა არ გააჩნიათ. მისი ინიციაცია ხდება მხოლოდ მაშინ, როდესაც კალიუმი ახდენს გლუვკუნთოვანი უჯრედების მემბრანის დეპოლარიზაციას (Орлов, Азин, 1974; Азин и др., 1974). გამონაკლისს შეადგენს ადამიანის შიდა საძილე არტერიის გლუვი კუნთები, რომელთაც გააჩნიათ რიტმული სპონტანური აქტივობის უნარი (სიხშირით 5-6 მეკუმშვა წუთში) (Азин, 1982). დეცეის მონაცემების მიხედვით (Decey et al., 1981) ვირთაგვას შიდა საძილე არტერიის სეგემენტები ავლენენ სპონტანურ აქტივობას in-vitro პირობებში. სპონტანური აქტივობის მაქსიმუმი ვლინდება მადეპოლარიზირებელი KCl-ის ხსნარის (140 მმოლი) მოქმედების შემდეგ.

არსებობს სისხლძარღვების გლუვი კუნთების აქტივაციის ელექტრომექანიკური და ფარმაკომექანიკური გზები (Орлов, Азин, 1974). ითვლება, რომ გლუვკუნთოვანი უჯრედების ელექტროგენური მართვა გარეგანი სტიმულის მოქმედების დროს ხორციელდება მემბრანული პოტენციალის ნელი წანაცვლებით სპაიკური ელექტროგენეზის აღმოცენების ალბათობით (Игнатенко, 1975; Орлов и др., 1975). მაგრამ ზოგიერთი ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერების (სეროტონინი, ჰისტამინი, ნორადრენალინი და სხვ.) მოქმედება გლუვ კუნთებზე რეალიზდება უჯრედული მემბრანის ფუნქციური მდგომარეობისგან და მის ელექტრულ მუხტისგან დამოუკიდებლად. ასეთ მოქმედებას მიაწერენ ფარმაკომექანიკური შეუღლების მექანიზმს, რომლის გრადუალური გააქტივება გლუვ კუნთებში შეიძლება გამოვიწვიოთ კალიუმის კონცენტრაციის ზრდით (Азин и др., 1977).

გლუვ კუნთებში მიმდინარე, როგორც ელექტრომექანიკური, ისე ფარმაკომექანიკური შეუღლების ანალიზის ერთ-ერთ ყველაზე ობიექტურ მეთოდათ უნდა მივიჩნიოთ სისხლძარღვთა

აზოტის ოქსიდის და კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის როლი ყბა-სახის მიკროციკულაციის მარეგულირებელი მექანიზმების ფუნქციონირებაში

იზოლირებული პრეპარატების კუმშვადობის პარამეტრების გაზომვა მექანოტრონული გარდამქმნელების მეშვეობით (Берлин и др., 1976), რომელიც განხილული იქნება შემდეგ (მეთოდურ) თავში.

თავი მეორე

მასალა და მეთოდები

გამომდინარე ჩასატარებელი კვლევის მიზნისა და შესაბამისი კონკრეტული ამოცანების სპეციფიკიდან, ჩვენ აუცილებლად ჩავთვალეთ ჩაგვეტარებინა, როგორც in-vitro, ისე in-vivo ცდები.

2.1. In-vitro ცდების მეთოდური მიდგომა და დასაბუთება

როგორც უკვე აღინიშნა წინა თავში, სისხლძარღვთა გლუვი კუნთების ფუნქციის ანალიზის ერთ-ერთ ყველაზე ობიექტურ მეთოდად უნდა მივიჩნიოთ სისხლძარღვთა იზოლირებული პრეპარატების კუმშვადობის პარამეტრების გაზომვა მექანოტრონული გარდამქმნელების მეშვეობით (Берлин и др., 1976). მეთოდი იძლევა საშუალებას გავზომოთ სისხლძარღვთა ტონუსის მომატების ან დაქვეითების ხარისხი მასზე სხვადასხვა სახის ზემოქმედების პირობებში. ამგვარი მეთოდური მიდგომის შედეგად შესაძლებელი ხდება გლუვი კუნთების რეგულაციის ზოგიერთი მექანიზმის ანალიზი მასში ცენტროგენური ნეიროჰუმორული სიგნალების ჩარევის გარეშე. იგი აგრეთვე ამოუწურავ საშუალებას აძლევს ექსპერიმენტატორს შეისწავლოს ბიოლოგიურად აქტიური სხვადასხვა ნივთიერებების თანმიმდევრული ან კომბინირებული ზემოქმედების ეფექტი გლუვი კუნთების რეაქტიულობაზე. დღემდე ასეთ მიდგომას წარმატებით იყენებდნენ სხვადასხვა ორგანოების შედარებით მსხვილი სისხლძარღვების ფუნქციის შესასწავლად, ხოლო წვრილი არტერიების (<500მკმ) ქცევას აფასებდნენ არაპირდაპირი მეთოდებით, კერძოდ, ვაზოაქტიური ნივთიერების აპლიკაციისას მათი დიამეტრის ცვალებადობის ვიზუალური, ხარისხობრივი შეფასების (შევიწროვდა-გაფართოვდა) მეშვეობით (Linder M., Alksue J, 1978).

2.2. კვლევის ობიექტი

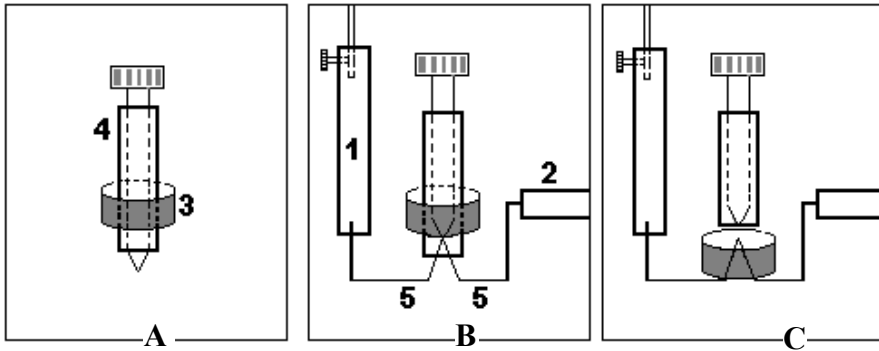
ცდები ჩატარდა 3,5-4კგ მასის მქონე შინშილას ჯიშის ბოცვერების ენის არტერიის იზოლირებულ პრეპარატებზე.

ნატრიუმის ეთამინალით (40 მგ/კგ) ცხოველების ანესთეზიის შემდეგ ხდებოდა მათი ევთანაზია სწრაფი სისხლგაშვების გამოყენებით.

ბინოკულური მიკროსკოპის ქვეშ გამოვყოფდით ენის არტერიას, რომელიც წარმოადგენს გარეთა საძილე არტერიის ყველაზე დიდ კოლატერალურ ტოტს. არტერიას ვყოფდით რამდენიმე რკალისებრ სეგმენტად (სიგრძით, დაახლოებით 1,5 მმ) ყველა სეგმენტი დაუყოვნებლივ თავსდებოდა რინგერ-კრებსის გაციებულ ხსნარში. საჭიროების შემთხვევაში მასალა შეიძლება შევინახოთ მაცივარში 24 საათის განმავლობაში $+5^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურაზე.

სპეციალური დამხმარე ინსტრუმენტის (სურ. 2.1) მეშვეობით რინგერ-კრებსის ხსნარგამდინარე კამერის პატარა აბაზანაში, პრეპარატი თავსდება პლატინისგან დამზადებულ ორ პატარა კავზე (სურ. 2.1) რომლებიც ამავე დროს ასრულებენ ელექტროგამდიზიანებელი ელექტროდების როლს. ერთი კავი ხისტადაა მიმაგრებული მექანოტრონის შტოკზე. წონასწორული მდგომარეობის მიღწევისათვის პრეპარატი 90 წუთის განმავლობაში იმყოფება მოსვენებულ მდგომარეობაში და განიცდის მხოლოდ წინასწარ, 15.3 მნ (1.5გ) ძალის პასიურ დაჭიმვას. დაჭიმვის სიდიდე შეირჩევა არტერიის გლუვი კუნთების კუმშვადობის ტესტირების შედეგების მიხედვით. ტესტირება ტარდება სტანდარტული ხსნარებით, რომლებიც შეიცავენ კალიუმს 80 მოლ-ის კონცენტრაციით და საშუალოდ შეადგენს აღნიშნულ სიდიდეს. რინგერ-კრებსის ხსნარის სრული განახლება ხსნარგამდინარე კამერაში ხდება ყოველი 10-15 წუთის განმავლობაში.

რბილი ხისგან (ცაცხვი) დამზადებული სპეციალური ინსტრუმენტით ვახდენდით პრეპარატებიდან ენდოთელური ფენის ჩამოცილებას, რის სრულფასოვნება მოწმდებოდა აცეტილქოლინზე (10^{-5}M) რეაქციის ტესტით.



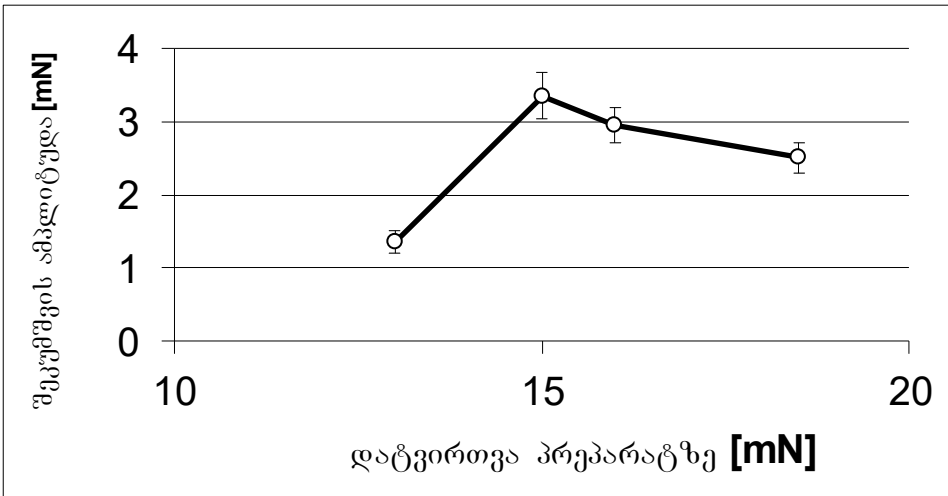
სურ. 2.1. ტენზომეტრული მექანოტრონის კავებზე სისხლძარღვის სეგმენტის წამოცმის ეტაპები. აღნიშვნები: 1 – მექანოტრონი, 2 – გამჭიმავი მოწყობილობა, 3 – სისხლძარღვის რკალისებრი სეგმენტი, 4 – დროებითი დამჭერი, 5 – კავები.

2.3. სისხლძარღვოვანი პრეპარატების გლუვი კუნთების მექანიკური აქტივობის რეგისტრაცია

იზოლირებული სისხლძარღვების კონტრაქტილური აქტივობის რეგისტრაცია შესაძლოა ტენზომეტრულ დანადგარზე იზომეტრულ რეჟიმში 6 MX1C ტიპის მექანოტრონებით.

მექანოტრონებიდან მიღებული ელექტრული სიგნალი გადაეცემა გამაძლიერებლებს, რომელთათვის შეიძლება გამოვიყენოთ ხიდური სქემის ანალოგი. მექანოტრონების კალიბრირება ტარდება მილინიუტონებში, ამისათვის ჰორიზონტალური შტოვი იტვირთება სტანდარტული, მცირე წონის გირებით და სარეგისტრაციო ქალაქის დიაგრამაზე რეგისტრატორის კალმით აღირიცხება გადახრა საწყისი დონიდან. ასეთი მეთოდი სავსებით მისაღებია დასმული ამოცანის გადაწყვეტის თვალთახედვით, ვინაიდან აღნიშნული ტიპის მექანოტრონები (მექანოელექტრული, ანუ ტენზომეტრული გადამწოდები) ტექნიკაში გამოიყენება წრფივი გადაადგილების და ძალების პრეციზიული აღრიცხვისათვის. თითოეული მექანოტრონის კალიბრირება უნდა ჩატარდეს ინდივიდუალურად. ცვალებადობის დიაპაზონი ჩვეულებრივ უნდა შეადგენდეს 0-10,2 მნ, რაც სავსებით აკმაყოფილებს ჩვენს მიერ შესასწავლი ობიექტის პოტენციურ მახასიათებლებს.

პრეპარატის დაჭიმვა ხორციელდება სპეციალური მოწყობილობით, რომლითაც პრეპარატს შეიძლება მოვდოთ დოზირებული მექანიკური დატვირთვა. დაჭიმვის სიდიდე ჩვეულებრივ ნორმირდება პრეპარატის მაქსიმალური კონტრაქტილური პასუხების მიხედვით ჰიპერკალიური (80 მმოლი/ლ) ხსნარის მოქმედებაზე. ჰიპერკალიურ ხსნარზე კონტრაქტილური პასუხის სიდიდის დამოკიდებულება პრეპარატის სხვადასხვა დაჭიმულობისას მოტანილია სურ. 2.2. ამ დიაგრამიდან ნათლად ჩანს, რომ ენის არტერიის გლუვი კუნთების ყველაზე გამოხატული კონტრაქტილური რეაქცია ვლინდება, როდესაც რკალის პირველადი დაჭიმვა უდრის 15,3 მნ-ს



სურ. 2.2. კონტრაქტილური პასუხი ჰიპერკალიურ (80 მმოლი/ლ) ხსნარზე (საწყის დაჭიმვაზე დამოკიდებულებით).

2.4. ხსნარების მომზადება, pH-სა და

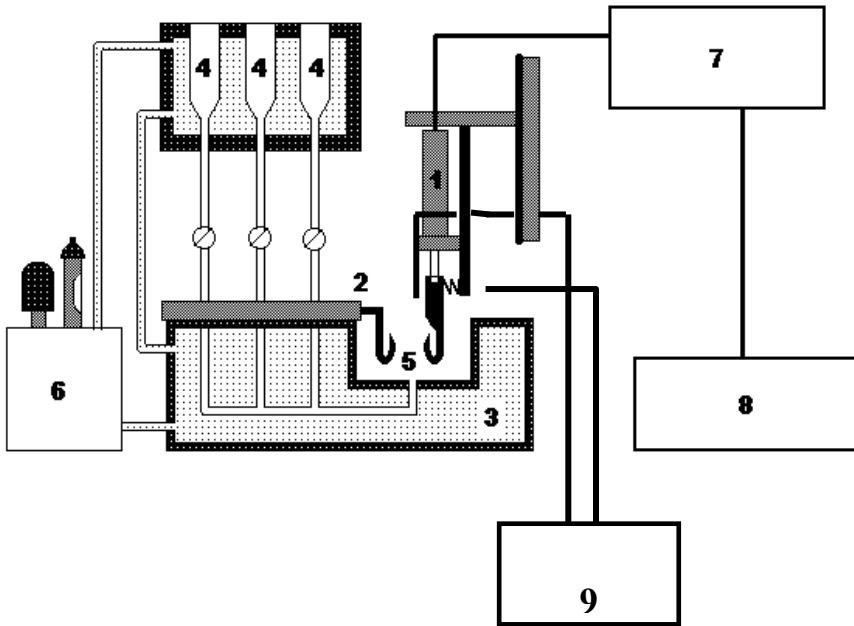
ტემპერატურის კონტროლი

მკვებავ ხსნარად ჩვენ ვიყენებდით რინგერ-კრებსის გამდინარე ხსნარს რომლის შემადგენლობა (მმოლ/ლ) იყო შემდეგი:

NaCl-118,0; KCl - 4,7; NaHCO₃ - 14,9; KH₂PO₄ - 1,18; MgSO₄·7H₂O - 1,17; CaCl₂·2H₂O - 2,5; გლუკოზა - 11,0. ცდები ტარდებოდა ხსნარის

pH-ს კონტროლის ქვეშ, რომლის გაზომვა მთელი ცდის განმავლობაში ხორციელდებოდა უშუალოდ ყოველი ზემოქმედების წინ pH-მეტრის (ან იონომეტრის) საშუალებით. ხსნარის pH-ს ცვლილება დასაშვებია 7.35-7.45 ფარგლებში.

ხსნარის ტემპერატურის მუდმივობა ცდის განმავლობაში ხორციელდება $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ დონეზე ულტრათერმოსატატის მეშვეობით, რომელიც შემთბარ წყალს გადატუმბავს წყლის პერანგთან სპეციალურ კოლბებში და თერმოსტატირებულ კამერაში, რომლებიც გაერთიანებულია საერთო, უწყვეტ, გამდინარე სისტემაში (სურ. 2.3)



სურ. 2.3. დანადგარის ბლოკ-სქემა: 1 - მექანოტრონი; 2 - გაჭიმვისა და კალიბრების მექანიზმი; 3 - თერმოსტატირებული კამერა; 4 - კრებსის ხსნარიანი კოლბები; 5 - სამუშაო კამერა; 6 - ულტრათერმოსტატი; 7 - გამამდიერებელთა ბლოკი; 8 - რეგისტრატორი; 9 - ელექტროსტიმულატორი.

2.5. გამოყენებული ზემოქმედებები

არტერიების სისხლძარღვოვანი პრეპარატის კუმშვადობის ანალიზისათვის საჭიროა გამოსაკვლევი ფარმაკოლოგიური ნივთიერებები და მეტაბოლიტები მომზადდეს ყოველი ცდის წინ და ჩავამატოთ რინგერ-კრებსის მკვებავ ხსნარში. ზემოქმედების ხანგრძლივობა და გამოყენებული ნივთიერების კონცენტრაციას საჭიროებისამებრ ვარჩევთ ექსპერიმენტირებისას. ნივთიერებები შეგვყავს აბაზანის სამუშაო კამერაში 15-30 წუთის ინტერვალით. ეს გვადლევს საშუალებას შევისწავლოთ მეტაბოლური რეგულაციის ფაქტორების მოქმედება იზოლირებულ სისხლძარღვოვან პრეპარატებზე და განვსაზღვროთ მათი მნიშვნელობა სხვა მარეგულირებელ ფაქტორებთან შედარებით.

კონკრეტულად ჩვენს ექსპერიმენტებში გამოყენებული იყო შემდეგი ნივთიერებები:

ნეიროგენური ვაზოკონსტრიქციის ჩახშობის მიზნით ყველა ცდებში აბაზანაში ვამატებდით ადრენერგული რეცეპტორების ბლოკატორს - გუანეთიდინს ($5 \times 10^{-6} M$), ხოლო სისხლძარღვის პრეპარატის საწყისი ტონუსის გაზრდის მიზნით ვიყენებდით ნორეპინეფრინს ($10^{-5} M$), რომლის შეყვანის შემდეგ დენდოთელიზაციის სრულფასოვნებას ვამოწმებდით აცეტიქოლინზე ($10^{-5} M$) რელაქსაციური რეაქციის არარსებობით.

პრეპარატის მაქსიმალური რელაქსაციის დონეს ვამოწმებდით პაპვერინის (2×10^{-4}) შეყვანით.

წინასწარმა გაზომვებმა აჩვენა, რომ ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეული იმ პრეპარატების რელაქსაცია, რომლებიც იმყოფებიან გუანეთიდინის მოქმედების ქვეშ და გააქტივებული აქვთ ტონუსი ნორეპინეფრინით, ხორციელდება სტაბილური ხასიათით და გრძელდება დაახლოებით 5 საათის განმავლობაში.

2.6. ჰიდროქსილ რადიკალების მაგენერირებელი სისტემა

ცნობილია, რომ ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალები H_2O_2 დისმუტაციის შემდეგ აფორმირებენ ჰიდროქსილ რადიკალებს

(HO⁻), რომლებიც წარმოადგენენ ძლიერ ოქსიდანტს და როგორც აჩვენებენ ექსპერიმენტული მონაცემები იწვევენ ხანგრძლივ ვაზოდilatაციას და სისხლძარღვთა ოქსიდაციურ დაზიანებას (Marshall, Kontos, 1990).

ჰიდროქსილ რადიკალების გენერირების მიზნით გამოყენებული იყო ე.წ. ფენტონის რეაქცია (H₂O₂-სა და რკინის მარილების ნარევი იძლევა HO⁻-ს, რაც პირველად აღწერილი იყო ფენტონის მიერ - იხ. Walling, 1982):



კონკრეტულად, გამოყენებული იყო 3x10⁻⁴M H₂O₂ და 2x10⁻⁴M FeSO₄. ცნობილია, რომ ხსნარში H₂O₂/FeSO₄ დამატებისთანავე იწყება ჰიდროქსილ რადიკალების გენერაცია მაქსიმალური ინტენსივობით, რაც გრძელდება დაახლოებით 40 წუთის განმავლობაში (Zweier, 1988).

2.7. In-vitro ექსპერიმენტების პროტოკოლი

ცდების პირველ სერიაში შესწავლილი იყო ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული ენის არტერიის პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ სტიმულაციაზე.

ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სეგმენტების პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ სტიმულაციაზე (ამპლიტუდა - 10ვ, სიხშირე - 4, 8 და 16ჰც, 2 მილისეკუნდიანი მართკუთხა იმპულსების თანმიმდევრობა 45 წამის ხანგრძლივობით) შესწავლილი იყო ნორეპინეფრინით (10⁻⁶M) გააქტივებული ტონუსის არსებობის და მის გარეშე პირობებში.

დენდოთელიზაციის ხარისხის კონტროლის თვალთახედვით, ელექტროსტიმულაციამდე ვახდენდით აცეტილქოლინით (10⁻⁵M) ზემოქმედებას.

ცდების ამ სერიაში ჩატარებული იყო სულ 12 ექსპერიმენტი, მათ შორის 6 ინტაქტური ენდოთელიუმის მქონე პრეპარატებზე და 6 ენდოთელიუმ ჩამოცილებულზე.

ცდების მეორე სერია ჩატარდა ატროპინის, პროპრანოლოლის და ნიტრო L-არგინინ მეთილ ეთერის (L-NAME) ეფექტის დადგენის მიზნით ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტრო-სტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე. იმ პრეპარატებზე, რომლებიც ნორეპინეფრინით ზემოქმედების შემდეგ იძლეოდა ტონუსის სტაბილურ მატებას, ელექტრულ სტიმულაციამდე 10^{-5} M კონცენტრაციის ატროპინის (6 ინტაქტური და 6 დეენდოთელიზებული პრეპარატი) ან 10^{-5} M კონცენტრაციის პროპრანოლოლის (აქაც 6+6 ექსპერიმენტი), ან 10^{-4} M L-NAME-ს (6 ინტაქტური და 6 დეენდოთელიზებული პრეპარატი) დამატება რინგერ-კრებსის ხსნარიან აბაზანაში.

ცდების მომდევნო, მე-3 სერიაში შევეცადეთ გაგვეჩვენა კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის (CGRP) და მისი რეცეპტორების ანტაგონისტის CGRP - (8-37) ეფექტი ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულაციით (6 ექსპერიმენტი) და თვით კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით (10^{-8} M) და იზოპროტერენოლით (10^{-6} M) გამოწვეულ პრეპარატების რელაქსაციაზე (შესაბამისად 6-6 ექსპერიმენტი). CGRP-(8-37) კონცენტრაციით 2×10^{-8} M ემატებოდა რინგერ-კრებსის ხსნარში ნორეპინეფრინის შეყვანამდე 30 წუთით ადრე.

ცდების მე-4 სერიაში შესწავლილი იყო ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტრო-სტიმულაციის დროს მიღებულ რელაქსაციაზე ამ პრეპარატების წინასწარი, 30-წუთიანი კაპსაიციინით (10^{-6} M), დამუშავების გავლენა. ამ შემთხვევაშიც ჩატარდა 6 ექსპერიმენტი.

ცდების მე-5 სერია მიემდგვნა ჰიდროქსილ რადიკალების როლის შესწავლას პრეპარატის რელაქსაციაზე მათი დამთრგუნველი ეფექტის ფორმირებაში. ჩვენ გამოვიყენეთ HO-ს ისეთი ძლიერი სკავენჯერი როგორცაა დიმეთილსულფოქსიდი (DMSO). ამ აგენტისა და ფენტონის რეაქციის (და მისი შემადგენელი კომპონენტების) გავლენა ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ ჩამოცლილი რკალისებრი სეგმენტის რელაქსაციურ რეაქციაზე

სხვადასხვა სიხშირით (თითოეულ შემთხვევაში 6-6 ექსპერიმენტი, სულ 60 ექსპერიმენტი, მათ შორის 30 – საკონტროლო).

ცდების მე-6, ბოლო სერია ჩატარდა კვლავ 6 პრეპარატზე, რომლებზეც შესწავლილი იყო ფენტონის რეაქციის, ანუ ჰიდროქსილ რადიკალების გავლენა ნიტროგლიცერინით ($10^{-5}M$) გამოწვეულ ბოცვერის ენის არტერიის რკალისებრი პრეპარატების რელაქსაციაზე.

In-vivo ექსპერიმენტების პროტოკოლი

ცდები ჩატარდა 350-400გ მასის მქონე ვირთაგვებზე ქლორალ ჰიდრატის (4მგ/კგ) ანესთეზიის პირობებში. შეუფერხებელი ბუნებრივი სუნთქვისათვის ცხოველების ტრაქეაში შეგვყავდა პოლიეთილენის მილი. ცხოველთა ტემპერატურა კონტროლირდებოდა რექტალურად და მისი დონე რეგულირდებოდა $37^{\circ}C$ დონეზე ელექტროგამათბობელი საბნის მეშვეობით. არტერიული წნევა იზომებოდა კუდის არტერიიდან. ადგილობრივი სისხლის ნაკადის დინამიკა პირის ღრუს ლორწოვანში, ქვედა ტუჩში და ყბისქვეშა ჯირკვალში უწყვეტად აღირიცხებოდა წყალბადის ელექტროქიმიური გენერაციის მეთოდით.

ცდები ვირთაგვების 15 ჯგუფზე სამ სერიად ჩატარდა. თითოეულ სერიაში ვიკვლევდით ცხოველთა 5 ჯგუფს (მათ შორის ერთ საკონტროლოს), თითოეული ჯგუფი 6 ცხოველისგან შედგებოდა (ცხრილი 1).

ცხოველთა ყველა სერიასა და ყველა ჯგუფში იზომებოდა სისტემური არტერიული წნევა და გულისცემის სიხშირე. ამასთან ერთად აღირიცხებოდა ადგილობრივი სისხლის ნაკადი პირის ღრუს ლორწოვანში (I სერია), ქვედა ტუჩის ქსოვილში (II სერია) და ყბისქვეშა ჯირკვალში (III სერია).

ყველა სერიის საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში ინტრავენურად შეგვყავდა 0,5მლ ფიზიოლოგიური ხსნარი და ვაწარმოებდით ყველა ჩამოთვლილი მაჩვენებლის რეგისტრაციას.

ყველა სერიის ცხოველების პირველ ჯგუფში ინტრავენურად შეგვყავდა 30მგ/კგ L-NAME, მეორე ჯგუფში L-NAME-ს შეყვანამდე 30წუთით ადრე ინტრავენურად შეგვყავდა 300მგ/კგ L-არგინინი; მე-3 ჯგუფში L-NAME-ს დოზა შემცირებული იყო 5მგ/კგ-მდე, ხოლო მე-4 ჯგუფში L-NAME-ს შემცირებული დოზის გაკეთებას 30 წუთით ადრე წინ უსწრებდა 300მგ/კგ L-არგინინის ინტრავენური ინექცია. როგორც L-NAME, ისე LL-არგინინი იხსნებოდა ფიზიოლოგიურ ხსნარში.

ცხრილი 2.1.

ექსპერიმენტულ სერიებში გამოყენებული ცხოველთა ჯგუფები, მათი რაოდენობა, ექსპერიმენტული ზემოქმედება და აღრიცხული მაჩვენებლები

| აღრიცხული მაჩვენებლები | ცხოველთა ჯგუფები | ექსპერიმენტული ზემოქმედება | რაოდენობა |
|---|------------------|---|-----------|
| 1.სისტემური არტერიული წნევა (საშუალო); 2.გულისცემის სიხშირე; 3.ადგილობრივი სისხლის ნაკადი | საკონტროლო | 0,5მლ 0.9% აჩლ ი/ვ ინექცია | 6 |
| | I | 30მგ/კგ --ს ი/ვ ინექცია | 6 |
| | II | 300მგ/კგ -არგინინის და შემდეგ 30მგ/კგ --ს ი/ვ ინექცია | 6 |
| | III | 5მგ/კგ --ს ი/ვ ინექცია | 6 |
| | IV | 300მგ/კგ -არგინინის და შემდეგ 5მგ/კგ --ს ი/ვ ინექცია | 6 |

ქლორალჰიდრატის ნარკოზის შემდეგ ვირთავას ვათავსებდით ზურგზე, თავს ვაფიქსირებდით ექსპერიმენტული მაგიდის სამაგრებით, ხოლო ყბების იმობილიზაცია კეთდებოდა უჟანგავი

ფოლადის 1,5-2 სმ სიგრძის ღეროთი, რომელიც აკრილის მეშეობით დროებით ფიქსირდებოდა ზედა და ქვედა ყბებს შორის. სისხლის ნაკადის გამზომი ელექტროდის ჩაყენებას სათანადო ქსოვილში ვახდენდით ელექტროდის ვერტიკალური მდგომარეობის შერჩევით, ქსოვილის მინიმალური დაზიანებით, დამატებითი ფიქსატორების გარეშე. ძალიან წვრილი (15 მკმ) გამოყვანი ოქროს მავთულები არ ზღუდავდა ელექტროდის მოძრაობას ქსოვილთან ერთად სუნთქვის რიტმში, რაც დიდად ამცირებდა მოძრაობასთან დაკავშირებული არტეფაქტების წარმოქმნას.

რეფერენტული ელექტროდები ფიქსირდებოდა კანქვეშ, კისრის მიდამოში.

ყველა მიღებული მონაცემი აღირიცხებოდა კომპიუტერულ დისკზე და მათი სტატისტიკური ანალიზი წარმოებდა პროგრამული პაკეტის PHARM-ის გამოყენებით.

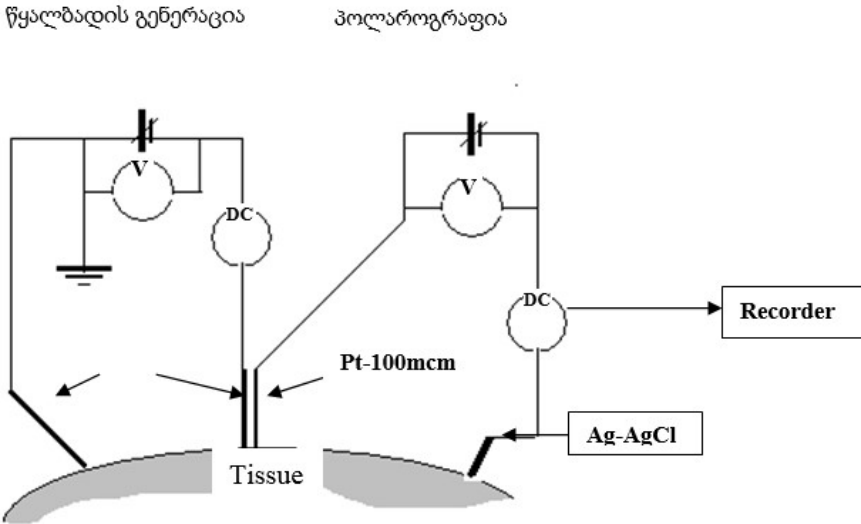
ადგილობრივი სისხლის ნაკადის ცვლილებებს საწყის დონესთან შედარებით ვითვლიდით პროცენტებში.

სისტემური არტერიული წნევა “უსისხლო” მეთოდით დისკრეტულად (ყოველ 5-6 წუთში) იზომებოდა პროფ. გ. აბულაძის მიერ დამუშავებული გამზომი ხელსაწყოს - “არტერია“-ს გამოყენებით. მცირე ზომის მანჟეტი თავსდებოდა ცხოველის კუდზე, რომელიც განუწყვეტლად თბებოდა 37°C-მდე. მონაცემები აღირიცხებოდა ოსცილოგრაფის მეშვეობით. იზომებოდა სისტოლური და დიასტოლური არტერიული წნევა და შემდეგ ითვლებოდა საშუალო სისტემური არტერიული წნევა. მეთოდი გულისცემის სიხშირის გათვლის საშუალებასაც იძლევა.

ადგილობრივი სისხლის ნაკადის რეგისტრაციის წყალბადის ელექტროქიმიური გენერაციის მეთოდი

ადგილობრივი სისხლის ნაკადის რეგისტრაციას ვაწარმოებდით წყალბადის ელექტროქიმიური გენერაციის მეთოდის [11] გამოყენებით, რომელიც ფაქტიურად წარმოადგენს წყალბადის კლირენსის მეთოდის [2] მოდიფიკაციას (სქემა იხ. სურ. 2.4-ზე). ამ

მეთოდის გამოყენებისას წყალბადის გენერაცია ქსოვილში ხდება ლოკალურად. ფარადეს კანონის თანახმად გენერირებული წყალბადის რაოდენობა პროპორციულია გენერაციის წრედში გამავალი დენის სიდიდისა და ხანგრძლივობისა [1].



სურ. 2.4. ქსოვილში ლოკალური სისხლის ნაკადის გაზომვის წყალბადის ელექტროქიმიური გენერაციის მეთოდის პრინციპული სქემა.

აღნიშვნები: V - მაზვის გამზომი, DC - მუდმივი დენის გამზომი, Pt-200მკმ და Pt-100მკმ - 200 და 100 მიკრომეტრი დიამეტრის მქონე პლატინის მავთული, Ag-AgCl - ქლორირებული ვერცხლის რეფერენტული ელექტროდი.

ცნობილია, რომ ელექტროლიტის ხსნარში წყალბადის იონები აღდგებიან მოლეკულურ წყალბადამდე პლატინის ელექტროდზე თუ მას მოვდებთ უარყოფით პოტენციალს. აქედან გამომდინარე, თუ ქსოვილში მოთავსებულ ორ ელექტროდს შორის გავატარებთ ელექტრულ დენს მაშინ პლატინის ელექტროდის გარშემო წარმოიქმნება ატომური წყალბადი, რომელიც სწრაფად გადადის მოლეკულურში. თუ ექსპერიმენტის დროს არ შევცვლით

დენის ძალას, წარმოქმნილი წყალბადის რაოდენობა ელექტროდის მომიჯნავე ქსოვილში, დამოკიდებული იქნება წყალბადის დიფუზიაზე გარემომცველ არეში და სისხლის ნაკადის ინტენსივობაზე, ეს უკანასკნელი უზრუნველყოფს წყალბადის მოლეკულების აქტიურ გამორეცხვას. ვინაიდან პირველი ფაქტორი (დიფუზია) მუდმივმოქმედია და მისი პარამეტრები ექსპერიმენტის დროს არ იცვლება, შეიძლება დავუშვათ, რომ წყალბადის მოლეკულების რაოდენობის ცვალებადობა გენერაციის ზონაში ფაქტიურად დამოკიდებულია მხოლოდ სისხლის ნაკადის ინტენსივობაზე. ამრიგად, გენერაციის ზონაში არსებული პლატინის მეორე ელექტროდის საშუალებით შეიძლება გაიზომოს წყალბადის პარციალური წნევის ცვლილება, რაც ფაქტიურად ქსოვილში სისხლის ნაკადის ცვლილების დინამიკის რეგისტრაციის ეკვივალენტურია.

ადგილობრივი სისხლის ნაკადის რეგისტრაციისათვის ჩვენს მიერ გამოყენებული იყო კომბინირებული ელექტროდი, რომელიც პლატინის 200 და 100მკმ დიამეტრის მქონე ორი მავთულისაგან, რომელთა შორის მანძილი 200-250მკმ-ია. 200 მკმ დიამეტრის მქონე პლატინის მავთული ასრულებს გენერატორის როლს და უზრუნველყოფს მოლეკულური წყალბადით ქსოვილის გაჯერებას 2 მმ³ მოცულობაში. გამზომი 100 მკმ დიამეტრის მქონე მავთულით შესაძლებელია წყალბადის ძაბვის პოლაროგრაფიული რეგისტრაცია.

ჩვენს მიერ ჩატარებულ ექსპერიმენტებში გენერაციის დენის სიდიდე შეადგენდა 1 მკა-ს, ხოლო პოლარიზაციის ძაბვის სიდიდე იყო 200 მვ. დამხმარე ელექტროდად (გამზომი წრედისათვის) გამოვიყენეთ 2 მმ დიამეტრის მქონე ქლორირებული ვერცხლის (Ag/AgCl) მავთული, რომელსაც ვამაგრებდით კანქვეშ კისრის არეში.

მონაცემების სტატისტიკური ანალიზი

ჩვენს ცდებში მიღებული შედეგების სტატისტიკური დამუშავება ტარდებოდა ცვლადთა ანალიზის (ANOVA) პროგრამული პაკეტით, რომლის რეალიზაცია ხორციელდებოდა კომპიუტერული პროგრამის Excell-ის მეშვეობით. სხვაობათა სტატისტიკური სარწმუნობა მოწმდებოდა სტიუდენტის t-კრიტერიუმით, როგორც ჯგუფური, ისე დაწყვილებული მონაცემებისათვის.

თავი მესამე

მიღებული შედეგები

3.1. ყბის ლორწოვან გარსში და ქვედა ტუჩის ქსოვილში აგილობრივი სისხლის ნაკადის ცვლილება ნორმის პირობებში

მსუბუქი ნარკოზის პირობებში (0,4გ/კგ ქლორალ ჰიდრატი ინტრაპერიტონეულად) თეთრი ვირთაგვების ყბის ლორწოვან გარსში ვაფიქსირებდით წყალბადის კლირენსის მეთოდის გამოყენებისათვის საჭირო პლატინის გამზომ ელექტროდს (ტეფლონირებული მავთული დიამეტრით, იზოლაციის გარეშე - 60 მკმ). ძალიან წვრილი (15 მკმ) ოქროს მავთულის გამომყვანი საშუალებას იძლევა ელექტროდი ლორწოვან გარსში ქსოვილის მინიმალური დაზიანებით გაჩერდეს მხოლოდ საკუთარი წონით, სხვა რაიმე დამატებითი ფიქსატორების გარეშე. როგორც უკვე აღინიშნა მეთოდურ ნაწილში, ასეთი ფიქსაციის დროს ელექტროდი თავისუფლად მოძრაობს ქსოვილთან ერთად სუნთქვის რიტმში, რაც მნიშვნელოვნად ამცირებს მოძრაობასთან დაკავშირებული არტეფაქტების რეგისტრაციას. მეორე, დამხმარე ელექტროდი - ქლორირებული ვერცხლის მრგვალი ფირფიტა (დიამეტრით 3 მმ) მაგრდებოდა ცხოველის ყურზე. ცდის მაქსიმალური ხანგრძლივობა არ აღემატება 60-70 წუთს, რომლის განმავლობაში ცხოველის პირის ღრუ გახსნილია და ყბების მოძრაობა გამორიცხულია 1,5-2 სმ სიგრძის უჯანგავი ფოლადის ღეროთი, რომელიც აკრილის მეშვეობით დროებით ფიქსირდება ზედა და ქვედა ყბებს შორის. ამგვარად ექსპერიმენტირებისას გვაქვს საშუალება საცდელი ცხოველის პირის ღრუში ჩავატაროთ ყველა საჭირო მანიპულაცია.

პირველ ცხრილში მოყვანილია ცხოველთა ორ ჯგუფზე ზემოთ აღწერილ პირობებში ყბის ლორწოვან გარსსა და ქვედა ტუჩის ქსოვილში მიღებული ადგილობრივი სისხლის ნაკადის გაზომვის შედეგების საშუალო სტატისტიკური მონაცემები. სისხლის ნაკადთან ერთად ყველა ცდასა და ყველა ცხოველში აღირიცხებოდა სისხლის სისტემური არტერიული წნევა

(ცხოველის კუდიდან უსისხლო მეთოდით). აღნიშნულ ცხრილში წარმოდგენილია ორი კვირის განმავლობაში მიღებული შედეგები (1, მე-7, მე-10 და მე-14 დღეები), რომლებიც აჩვენებენ, რომ რეგისტრირებული პარამეტრები ამ დროის განმავლობაში არ განიცდიან რაიმე მნიშვნელოვან ცვლილებებს და რომ ადგილობრივი სისხლის ნაკადის დონე ყბის ლორწოვან გარსში გაზომვის ყოველ დღეს აღემატება ნაკადის სიდიდეს ქვედა ტუჩში, თუმცა ეს სხვაობა სტატისტიკურად სარწმუნო არ არის.

ცხრილი 3.1

ვირთაგვას საშუალო არტერიული წნევის, ყბის ლორწოვანი გარსის და ტუჩის სისხლის ნაკადის სპონტანური ცვლილებები

| პარამეტრი | გ ა ზ ო მ ვ ე ს დ ღ ე | | | |
|--|-----------------------|---------|--------|--------|
| | 1 | 7 | 10 | 14 |
| საშუალო არტერიული წნევა [mm Hg] | 98±8.1 | 100±9.1 | 96±7.8 | 99±8.8 |
| სისხლის ნაკადი ყბის ლორწოვან გარსში [მლ/100გ/წთ] | 51±8.8 | 53±6.4 | 50±7.6 | 52±8.3 |
| სისხლის ნაკადი ტუჩის ქსოვილში [მლ/100გ/წთ] | 47±5.6 | 49±6.2 | 44±5.4 | 46±7.2 |

იგივე პარამეტრები აღირიცხა ცხოველების ვენაში 0,5 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარის შეყვანის შემდეგ (საკონტროლო ცხოველები). გაზომვებს ვაწარმოებდით ინექციიდან ყოველ 15 წუთში ერთი საათის განმავლობაში და შემდეგ ინექციიდან მე-10 და მე-14 დღეებში (ცხრილი 3.2). ეს მონაცემებიც მოწმობენ აღრიცხული პარამეტრების საკმარისად მაღალ სტაბილურობაზე, თუმცა ინექციიდან მე-15 წუთზე უმნიშვნელო მატება (სტატისტიკურად ისიც არასარწმუნო) აღინიშნება ყველა მაჩვენებელში.

3.2. ყბის ლორწოვან გარსში და ქვედა ტუჩის ქსოვილში აგილობრივი სისხლის ნაკადის ცვლილება L-ნიტრო-L-არგინინ მეთილ ეთერის (L-NAME) ინტრავენური შეყვანის შემდეგ

ინტაქტურ და ფიზიოლოგიური ხსნარით ინიცირებულ ცხოველებზე საკონტროლო მონაცემების მიღების შემდეგ ცდები ჩატარდა აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) არასელექციური ინჰიბიტორის L-ნიტრო-L-არგინინ მეთილ ეთერის (L-NAME) გამოყენებით. კერძოდ, აღნიშნული პრეპარატი ორი განსხვავებული დოზით (5 და 30 მგ/კგ-ზე) 0,5 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში.

ცხრილი 3.2.

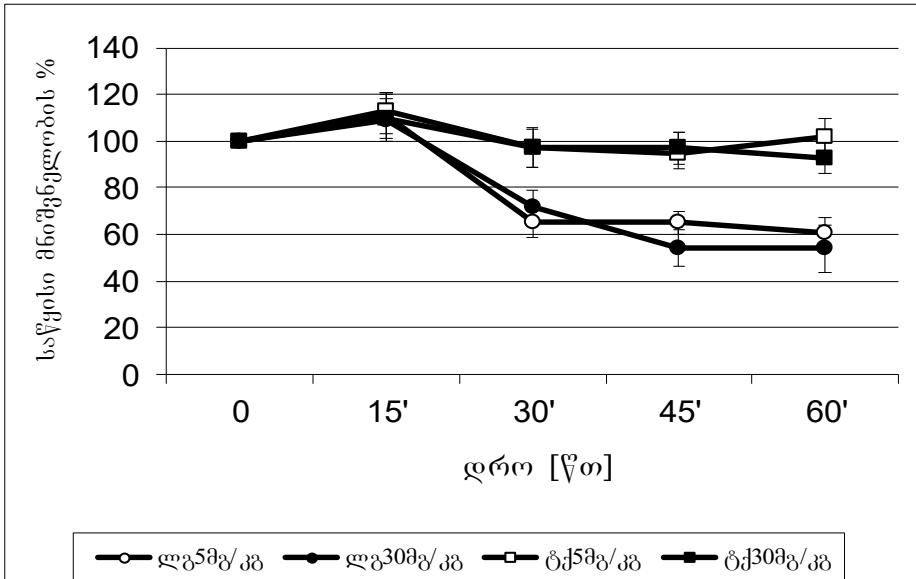
| პარამეტრი | საწყისი მნიშვნელობა | 0.5 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარის ი/ვ ინექციიდან გასული დრო | | | | | |
|--|---------------------|---|-------|-------|-------|--------|--------|
| | | 15' | 30' | 45' | 60' | 10 დღე | 14 დღე |
| საშუალო არტერიული წნევა [mm Hg] | 100±9 | 104±7 | 102±6 | 103±7 | 102±5 | 100±8 | 102±9 |
| სისხლის ნაკადი ყბის ლორწოვან გარსში [მლ/100გ/წთ] | 59±6 | 61±5 | 60±7 | 58±6 | 56±6 | 58±7 | 55±7 |
| სისხლის ნაკადი ტუჩის ქსოვილში [მლ/100გ/წთ] | 45±8 | 47±5 | 44±6 | 47±8 | 49±7 | 45±8 | 44±9 |

| L-NAME (mg/kg) | sawysi mniSvneloba [mm Hg] | 15' | 30' | 45' | 60' |
|-------------------|----------------------------------|---------|---------|--------|--------|
| 5 | 100±9 | 139±12 | 134±10 | 135±13 | 130±10 |
| 30 | 107±7 | 165±118 | 162±134 | 166±13 | 136±10 |

აღნიშნული ცვლილებები გამოხატული პროცენტებში საწყის მნიშვნელობასთან შედარებით მოყვანილია სურ. 3.1. საჭიროა ხაზგასმით აღინიშნოს, რომ L-NAME-ს შეყვანამ გამოიწვია სისტემური არტერიული წნევის საგრძნობი ზრდა (როგორც დაბალი, ისე, განსაკუთრებით, მაღალი დოზების გამოყენებისას) და ამის მიუხედავად, ლორწოვან გარსში ადგილობრივი სისხლის ნაკადის სტატისტიკურად სარწმუნო შემცირება დაწყებულია ინექციის 30-ე წუთიდან, ხოლო მანამდე კი ადგილი აქვს ამ მაჩვენებლის, ისე როგორც ქვედა ტუჩის ქსოვილში, ადგილობრივი სისხლის ნაკადის ნაწილობრივმა ტემპის ვირთავვას ყბის ლორწოვან გარსში და ტუჩის ქსოვილში ადგილობრივი სისხლის ნაკადის ინტენსივობის ცვლილებები, გამოწვეული L-NAME-ს შეყვანით ინექციიდან მე-15 წუთზე (სურ. 3.1). განსხვავებით ყბის ლორწოვანი გარსისგან ქვედა ტუჩის ქსოვილში ადგილობრივი სისხლის ნაკადი არ მცირდება L-NAME-ს ინექციის შემდეგ.

ცხრილი 3.4.

| ლოკალიზაცია | L-NAME [მგ/კგ] | ადგილობრივი სისხლის ნაკადი [მლ/100გ/წთ] L-NAME-ს შეყვანიდან ყოველ 15 წუთში | | | | |
|----------------------|----------------|--|-------|------|-------|------|
| | | საწყისი მნიშვნელობა | 15' | 30' | 45' | 60' |
| ყბის ლორწოვანი გარსი | 5 | 52±8 | 58±10 | 34±6 | 34±6 | 32±5 |
| | 30 | 55±6 | 60±9 | 40±6 | 30±5 | 30±5 |
| ტუჩის ქსოვილი | 5 | 44±6 | 50±8 | 43±8 | 42±8 | 45±7 |
| | 30 | 49±9 | 54±10 | 48±9 | 48±10 | 46±9 |



სურ. 3.1. ადგილობრივი სისხლის ნაკადის ცვლილება ყბის ლორწოვან გარსში (ლგ) და ტუჩის ქსოვილში (ტგ) 5 და 30 მგ/კგ L-NAME-ს ინტრავენური შეყვანიდან 15, 30, 45 და 60 წუთის შემდეგ.

3.3. ყბის ლორწოვან გარსში და ქვედა ტუჩის ქსოვილში აგილობრივი სისხლის ნაკადის ცვლილება წინასწარ შეყვანილი L-არგინინის ფონზე L-NAME-ს ინტრავენური ინექციის შემდეგ

ლორწოვან გარსში ადგილობრივი სისხლის ნაკადის აღწერილი ცვლილებების სრული ბლოკირება ხდება, თუ საცდელ ცხოველს L-NAME-ს შეყვანამდე 30 წუთით ადრე, ასევე ინტრავენურად გავუკეთებთ L-არგინინს (ჩვენს მიერ გამოყენებული იყო 300 მგ/კგ-ზე, გახსნილი ისევ 0,5 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში. ასეთი ცდების შედეგები მოტანილია ცხრილებში 3.5 და 3.6 და სურათზე 3.2. როგორც აღნიშნული მონაცემები მოწმობენ L-NAME-ს დოზის მიუხედავად L-არგინინის შეყვანამ შეაფერხა როგორც სისტემური არტერიული წნევის მატება, ისე ადგილობრივი სისხლის ნაკადის შემცირება ყბის ლორწოვან გარსში, რომლებსაც ადგილი ჰქონდათ მხოლოდ L-NAME-ს ინექციის შემდეგ. ამ შემთხვევაშიც ქვედა ტუჩის ქსოვილში ადგილობრივი სისხლის ნაკადი რაიმე შესამჩნევ ცვლილებებს არ განიცდის.

ცხრილი 3.5

ვირთავას სისხლის საშუალო სისტემური არტერიული წნევის ცვლილებები, გამოწვეული L-არგინინის და შემდგომი L-NAME-ს შეყვანით

| | L-NAME [მგ/კგ] | საშუალო სისტემური არტერიული წნევა [mm Hg] L-NAME-ს შეყვანიდან ყოველ 15 წუთში | | | | |
|-----|----------------|--|--------|--------|--------|--------|
| | | საწყისი მნიშვნელობა | 15' | 30' | 45' | 60' |
| 300 | 5 | 115±12 | 117±11 | 114±10 | 115±13 | 114±11 |
| 300 | 30 | 104±10 | 108±12 | 113±11 | 109±12 | 105±9 |

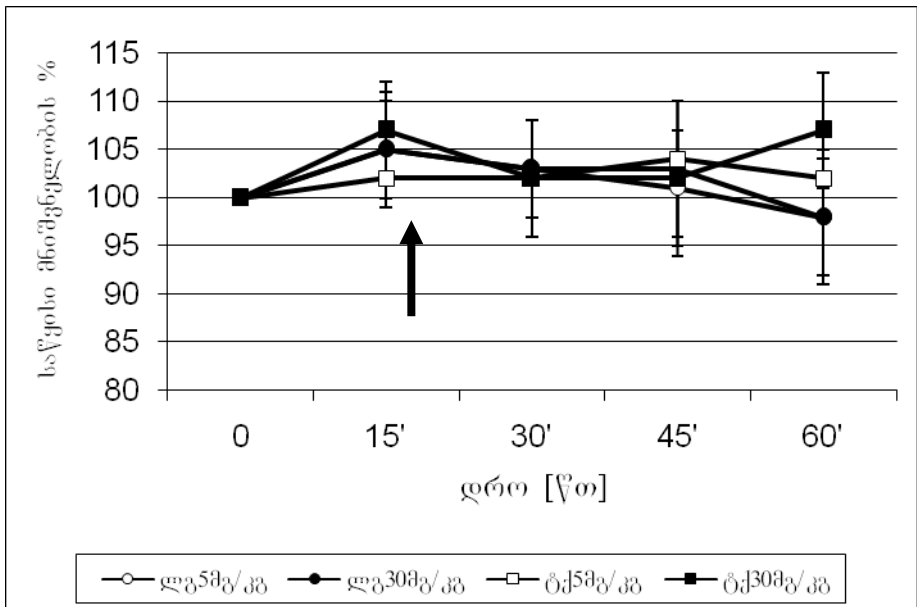
როგორც უკვე აღინიშნა L-NAME წარმოადგენს აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) არასელექციურ ინჰიბიტორს, ანუ იგი მოქმედებს

სამივე ტიპის სინთაზას (ენდოთელური, ნეირონული და ინდუცირებადი) აქტივობაზე.

ცხრილი 3.6

ვირთავგას ყბის ლორწოვან გარსში და ტუჩის ქსოვილში ადგილობრივი სისხლის ნაკადის ცვლილებები ყოველ 15 წუთში, გამოწვეული L-არგინინისა და L-NAME-ს თანმიმდევრული (0,5 საათიანი ინტერვალით) ინტრავენური შეყვანით

| ლოკალიზაცია | -არგინინი [მგ/კგ] | - [მგ/კგ] | ადგილობრივი სისხლის ნაკადი [მლ/100გ/წთ] | | | | |
|-------------------------|----------------------|--------------|--|---------|--------|--------|--------|
| | | | საწყისი მნიშვნელობა | 15' | 30' | 45' | 60' |
| ყბის ლორწოვანი გარსი | 300 | 5 | 59 | 62 10.0 | 61 9.4 | 60 7.7 | 60 7.2 |
| | 300 | 30 | 55 7.6 | 58 2.2 | 57 7.9 | 57 7.9 | 56 5.6 |
| ქვედა ტუჩის ქსოვილი | 300 | 5 | 44 8.2 | 46 7.7 | 45 8.2 | 45 8.2 | 46 6.2 |
| | 300 | 30 | 42 9.4 | 44 6.8 | 43 9.8 | 43 8.9 | 41 8.1 |



სურ. 3.2. ადგილობრივი სისხლის ნაკადის ცვლილება ყბის ლორწოვან გარსში (ლგ) და ტუჩის ქსოვილში (ტქ) 5 და 30 მგ/კგ L-NAME-ს ინტრავენური შეყვანიდან (აღნიშნულია ისრით) 15, 30, 45 და 60 წუთის შემდეგ იმ ცხოველებში, რომლებსაც წინასწარ 30 წუთით ადრე გაუკეთდათ LL-არგინინის (300 მგ/კგ) ინტრავენური ინექცია.

3.4. ყბის ლორწოვან გარსში და ქვედა ტუჩის ქსოვილში ავილობრივი სისხლის ნაკადის ცვლილება 7-ნიტროინდაზოლის (7NI) მოქმედების პირობებში

ცდების მომდევნო სერიაში ჩვენ გამოვიყენეთ ე.წ. ნეირონული აზოტის ოქსიდის სინთაზას სელექციური ინჰიბიტორი

7-ნიტროინდაზოლი (7-NI), რომელიც 30 მგ/კგ-ზე 1 მლ-ის მოცულობით შეგვყავდა ინტრაპერიტონეულად. 3.7 ცხრილში მოყვანილი მონაცემები მოწმობენ, რომ ამ პრეპარატის ინექციიდან ერთი საათის განმავლობაში ჩვენს მიერ აღრიცხული პარამეტრები არ განიცდიდნენ რაიმე სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილებებს.

ცხრილი 3.7

ვირთავას ყბის ლორწოვან გარსში და ტუჩის ქსოვილში ავილობრივი სისხლის ნაკადის და სისტემურ არტერიული წნევის ცვლილებები, გამოწვეული 7-ნიტროინდაზოლის (7NI) ინტრაპერიტონეული შეყვანით

| პარამეტრი | საწყისი მნიშვნელობა | 30 მგ/კგ-ზე 7 I. ი/პ | | | |
|--|---------------------|----------------------|-----|--------|--------|
| | | 15' | 30' | 45' | 60' |
| საშუალო სისტემური არტერიული წნევა [მმ გ] | 98 | 101 6.2 | 100 | 98 4.4 | 99 6.0 |
| სისხლის ნაკადი ყბის ლორწოვან გარსში | 53 | 56 | 54 | 55 | 52 |
| სისხლის ნაკადი ტუჩის ქსოვილში | 46 | 48 | 49 | 42 | 46 |

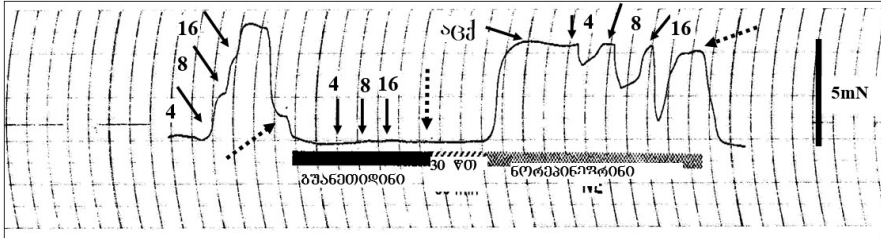
3.5. ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული ენის არტერიის პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ სტიმულაციაზე

ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სეგმენტების პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ სტიმულაციაზე (ამპლიტუდა - 10ვ, სიხშირე - 4, 8 და 16 ჰც, ხანგრძლივობა - 45 წამი) შესწავლილი იყო ნორეპინეფრინით (10^{-6} M) გააქტივებული ტონუსის არსებობის და მის გარეშე პირობებში. იმ პრეპარატებზე, რომლებშიც დადასტურდა ელექტრულ სტიმულაციაზე კონტრაქტურით რეაგირების თვისება, ჩატარებულ იქნა ზემოქმედება გუანეთიდინით (5×10^{-5} M) და ამის შემდეგ (20-წუთიანი დაყოვნებით) კვლავ იქნა გამოვლენილი ელექტრული სტიმულაცია. მომდევნო პროცედურა ითვალისწინებდა ხსნარიდან გუანეთიდინის გამორეცხვას და საწყისი პირობების აღდგენისათვის პრეპარატის 30-წუთიან ყოფნას რინგერ-კრებსის ნორმალურ (რაიმე დანამატების გარეშე) ხსნარში.

ელექტრული სტიმულაცია კვლავ იქნა გამოყენებული აღნიშნულ პრეპარატებზე ნორეპინეფრინით ინდუცირებული აქტიური ტონუსის (სურ. 3.3) და მის გარეშე (სურ. 3.4) პირობებში. დენდოთელიოზაციის ხარისხის კონტროლის თვალთახედვით, ელექტროსტიმულაციამდე ვახდენდით აცეტილქოლინით (10^{-5} M) ზემოქმედებას. სურ. 3.5-ზე წარმოდგენილია რეაქცია აცეტილქოლინზე და ადენოზინზე (2×10^{-6} M), როდესაც ენდოთელიუმი ინტაქტურია (A, B) და აღნიშნული აგენტები იწვევენ პრეპარატის ეფექტურ რელაქსაციას, ხოლო ენდოთელიუმის ჩამოცილების შემდეგ (C) - რეაქცია დათრგუნულია. საჭიროა ერთხელ კიდევ აღინიშნოს, რომ ყველა პრეპარატი წინასწარ გადიოდა გუანეთიდინის ეფექტის შემოწმებას ელექტრულ სტიმულაციაზე (რელაქსაცია ნორეპინეფრინით გააქტივებული ტონუსის პირობებში და რეაქციის არარსებობა ასეთი ტონუსის გარეშე)

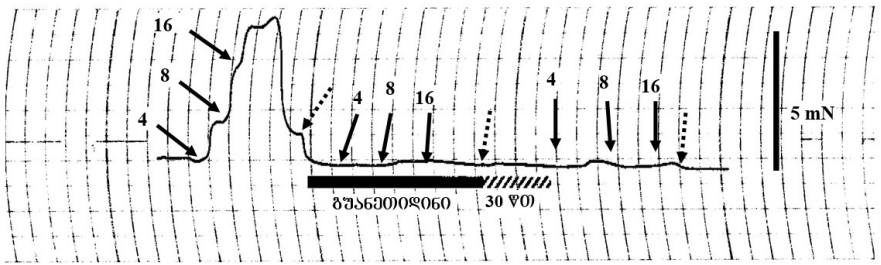
როგორც სურათები მოწმობენ გუანეთიდინით ზეოქმედებიდების შემდეგ პრეპარატების გამორეცხვის და ნორმალურ ხსნარში 30 წუთიანი ყოფნის მიუხედავად, ისინი არ

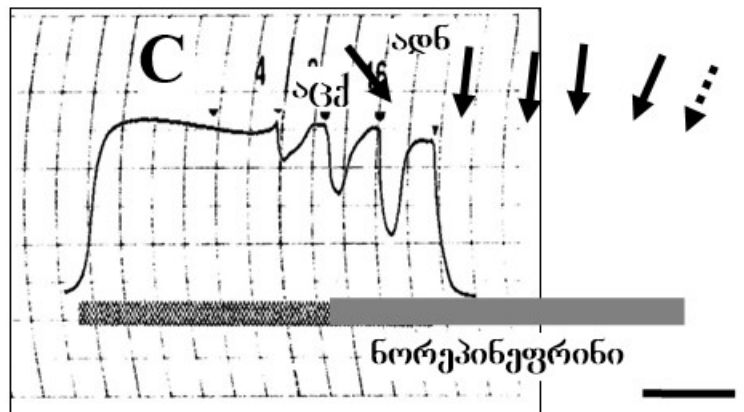
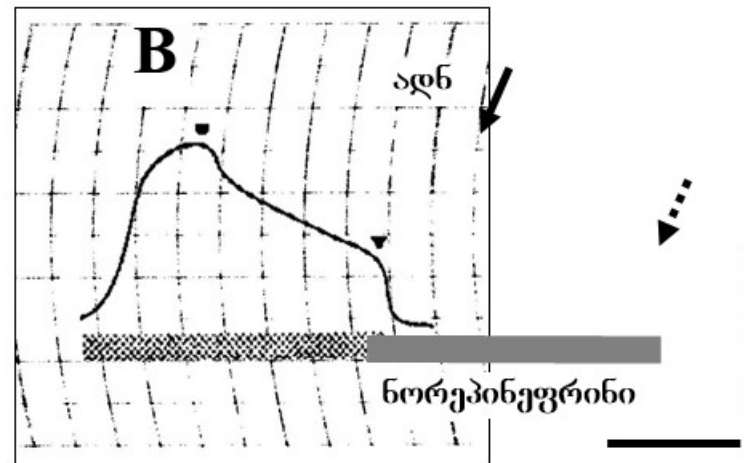
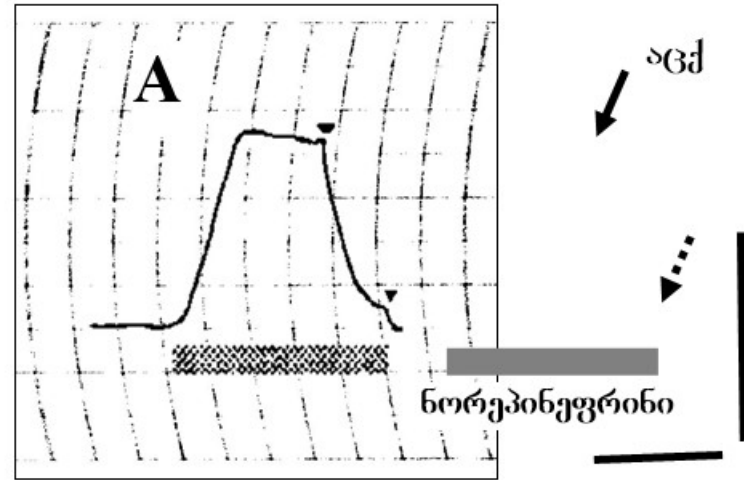
რეაგირებენ ელექტრულ სტიმულაციაზე თუ მათი ტონუსი არ არის წინასწარ გააქტივებული ნორეპინეფრინით, ხოლო ამ უკანასკნელ შემთხვევაში პრეპარატი რეაგირებს რელაქსაციით და რელაქსაციის ამპლიტუდა.



სურ. 3.3. ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული ბოცვერის ენის არტერიის რკალისებრი სემენტის პრეპარატის პასუხები ელექტრულ სტიმულაციაზე (10 ვ, 45 წამი, 4, 8, 16 ჰვ – მითითებულია შესაბამისი სიხშირეების მაჩვენებელი რიცხვებითა და ისრებით). აღნიშვნები: წვეტილი ისრებით მითითებულია პრეპარატის გამორეცხვა; აგქ – აცეტილქოლინი.

სურ. 3.4. ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული ბოცვერის ენის არტერიის რკალისებრი სემენტის პრეპარატის პასუხები ელექტრულ სტიმულაციაზე (10 ვ, 45 წამი, 4, 8, 16 ჰვ – მითითებულია შესაბამისი სიხშირეების მაჩვენებელი რიცხვებითა და ისრებით; წვეტილი ისრებით მითითებულია პრეპარატის გამორეცხვა. სტიმულაცია ხორციელდებოდა გუანეთიდინის შეყვანამდე, მის ფონზე და მისი გამორეცხვის შემდეგ.



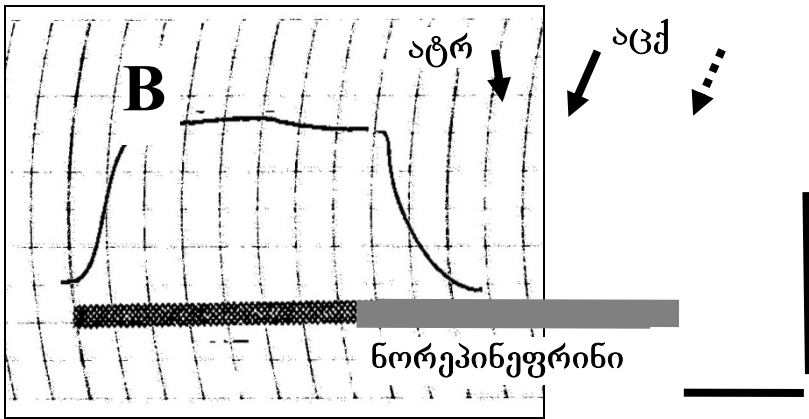
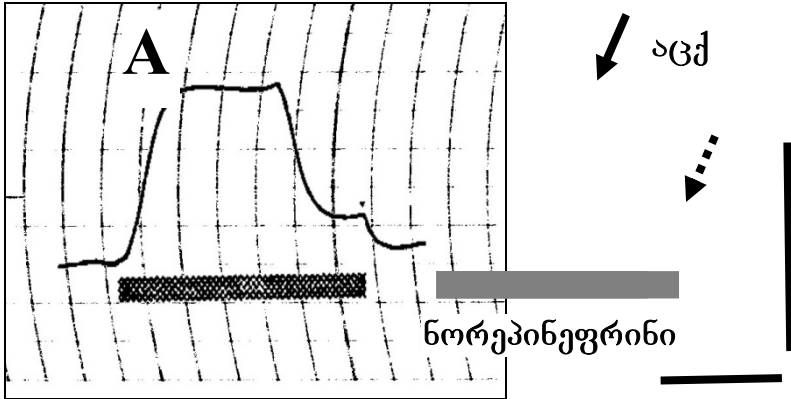


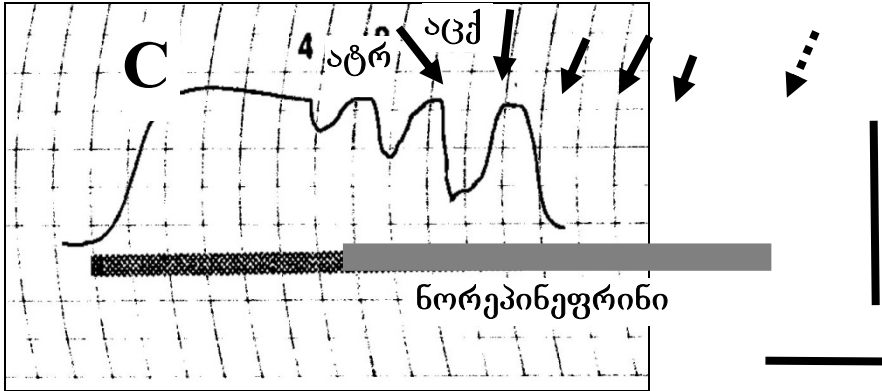
სურ. 3.5. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ინტაქტური (A, B) და ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული (C), ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია აცეტილქოლინზე (აცქ) და ადენოზინზე (ადნ). აღნიშვნები: 4, 8, 16 ჰგ – ელექტრული გაღიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური – 5 mN.

3.6. ატროპინის, პროპრანოლოლის და ნიტრო L-არგინინ მეთილის ეთერის (L-NAME) ეფექტი ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე

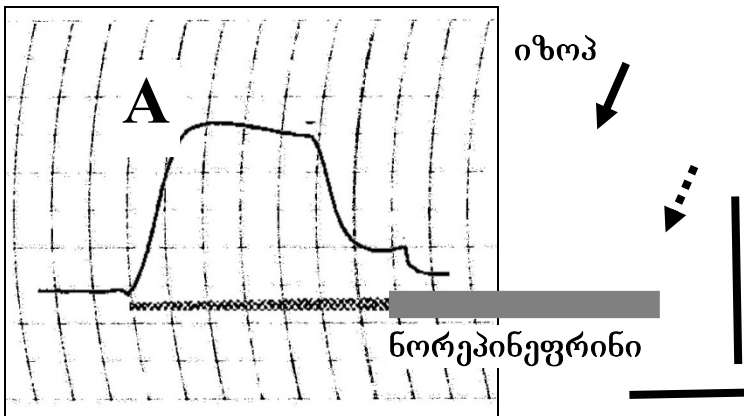
იმ პრეპარატებზე, რომლებიც ნორეპინეფრინით ზემოქმედების შემდეგ იძლეოდნენ ტონუსის სტაბილურ მატებას, ელექტრულ სტიმულაციამდე 10 წუთის განმავლობაში ხორციელდებოდა ატროპინით (10^{-5} M) ან პროპრანოლოლით (10^{-5} M) ზემოქმედება. 4-16 ჰერცის სიხშირით სტიმულაციამ გამოავლინა ატროპინ და პროპრანოლოლ რეზისტენტული რელაქსაცია, როგორც ენდოთელიუმ ინტაქტურ (სურ. 3.6) ისე ენდოთელიუმ ჩამოცილებულ (სურ. 3.7) პრეპარატებში. მიღებული რელაქსაციური ეფექტი, გამოხატული პაპავერინით (2×10^{-4} M) ინდუცირებული მაქსიმალური რელაქსაციის პროცენტებში, მოცემულია მომდევნო ცხრილში (3.8). ტესტურ ზემოქმედებას პაპავერინით ვახდენდით ექსპერიმენტის დასასრულს. როგორც

აზოტის ოქსიდის და კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის როლი ვზა-სახის მიკროცირკულაციის მარეგულირებელი მექანიზმების ფუნქციონირებაში

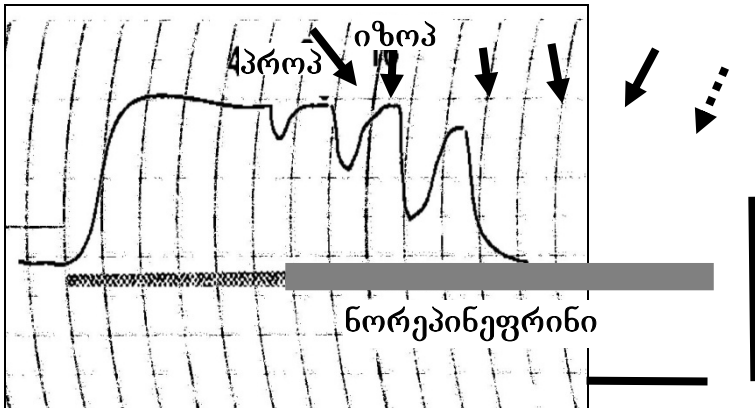
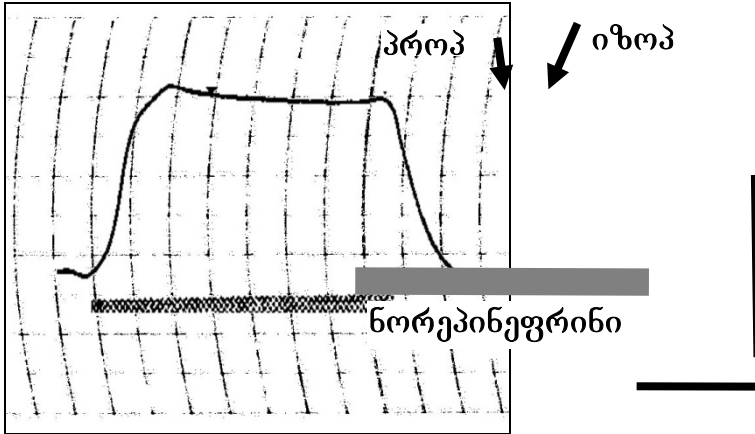




სურ. 3.6. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ინტაქტური, ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია აცეტილქოლინზე (აცქ) და ატროპინზე (ატრ). აღნიშვნები: 4, 8, 16 ჰც – ელექტრული გალიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური – 5 mN



B



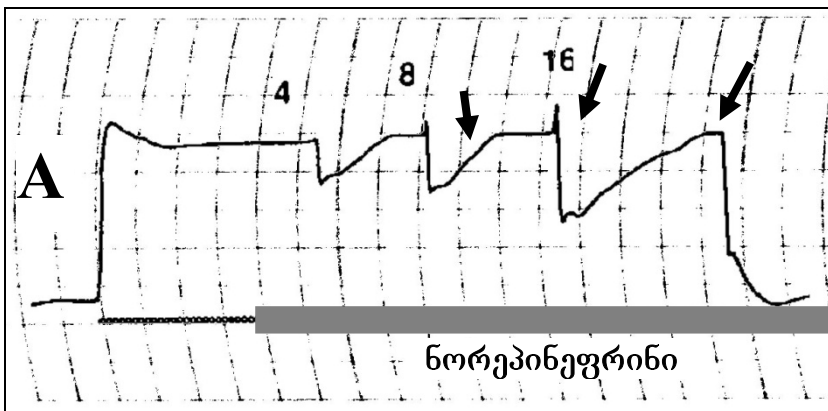
სურ. 3.7. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული, ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია იზოპროტერენოლზე (იზოპ) და პროპრანოლოლზე (პროპ). აღნიშვნები: 4, 8, 16 ჰც – ელექტრული გალიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური – 5 mN.

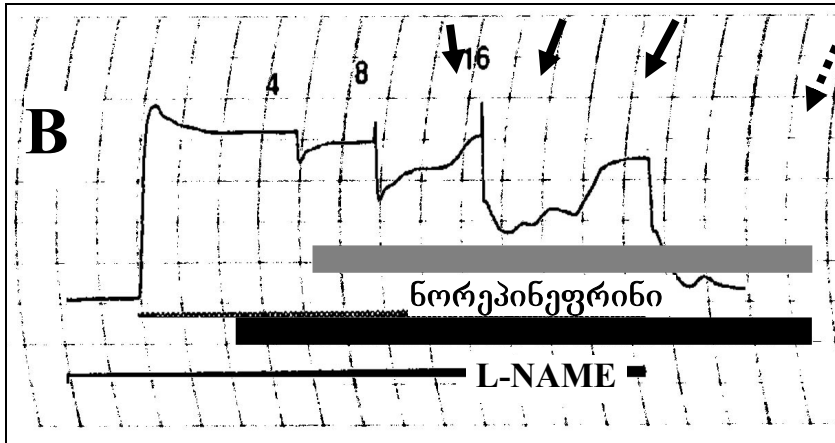
ცხრილი 3.8

ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ინტაქტური და ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სემენტების პრეპარატების რელაქსაციური რეაქცია (პაპავერინით გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაციის პროცენტებში) სხვადასხვა სიხშირით ელექტროსტიმულაციის დროს ატროპინის, კაპსაიცინის და პროპრანოლოლის ფონზე

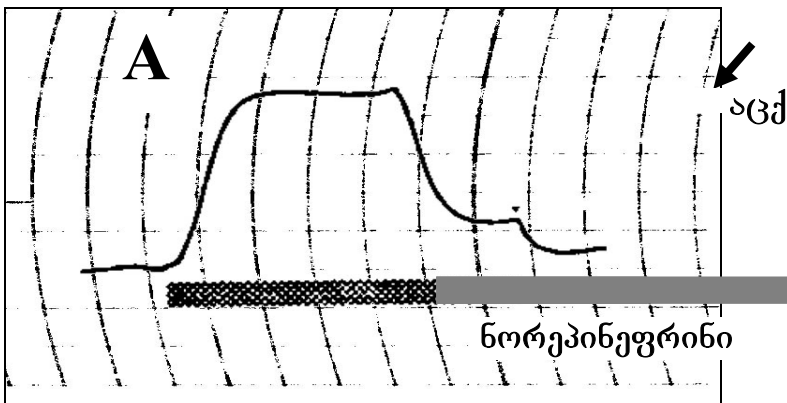
| ელექტრო-გალიზიანების სისშირე (ჰც) | ენდოთელიუმ-ინტაქტური პრეპარატი | | ენდოთელიუმ-ნამოცილებული პრეპარატი | | |
|-----------------------------------|--------------------------------|----------|-----------------------------------|-------------|--------------|
| | ზემოქმედება | | ზემოქმედება | | |
| | კონტროლი | ატროპინი | კონტროლი | კაპსაიციინი | პროპრანოლოლი |
| 4 | 45.4 6.2 | 45.5 8.5 | 46.6 7.2 | 9.5 3.3 | 44.2 6.2 |
| 8 | 53.5 8.2 | 57.6 4.2 | 57.7 6.6 | 17.5 6.6 | 56.6 5.6 |
| 16 | 70.1 4.3 | 70.6 6.6 | 71.3 7.2 | 17.3 9.5 | 71.2 4.4 |

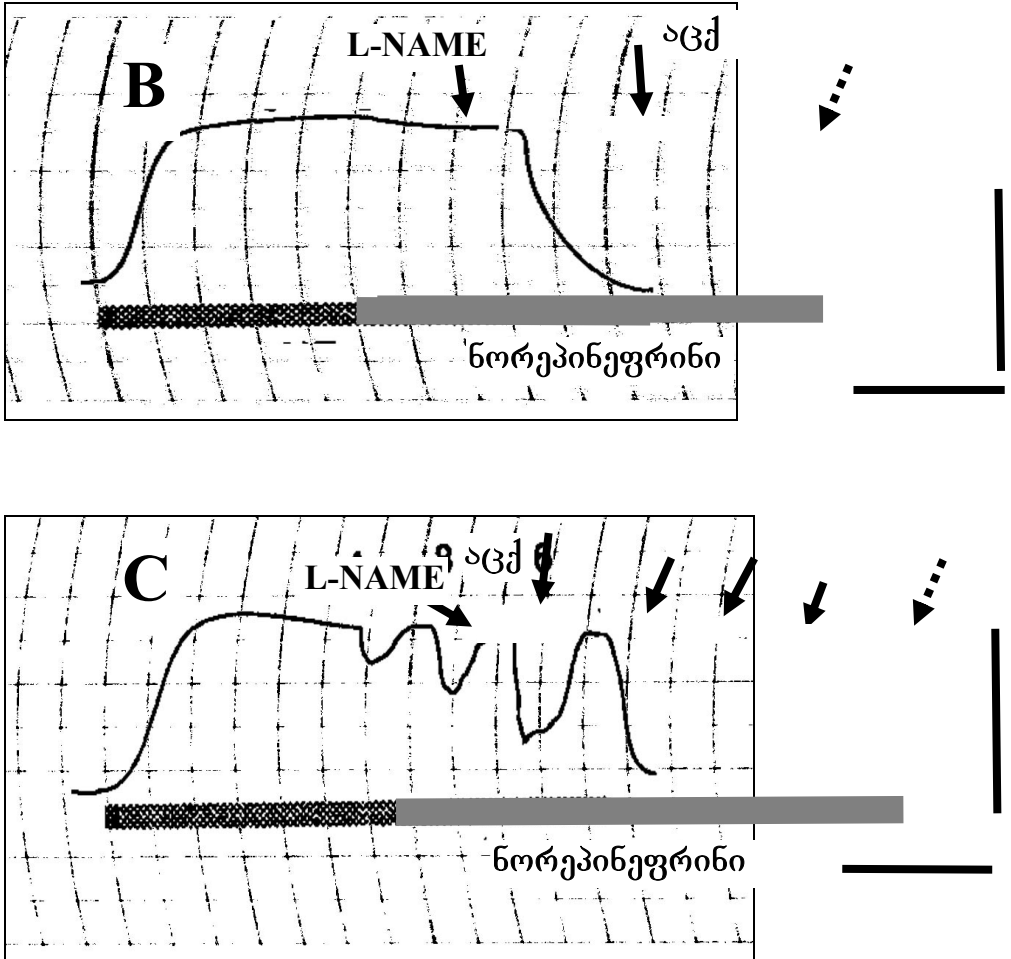
ეს მონაცემები მოწმობენ ელექტროსტიმულაციით გამოწვეული ენის არტერიის პრეპარატების რელაქსაციური რეაქცია არის ენდოთელიუმ დამოუკიდებელი. უფრო მეტიც, ასევე არ იქონია რაიმე გავლენა დენდოთელიზირებული პრეპარატების რელაქსაციურ რეაქციაზე ელექტრული სტიმულაციის საპასუხოდ L-NAME-ს (10^{-4} M) გამოყენებამ (სურ. 3.8). თუმცა ინტაქტური ენდოთელიუმის შემთხვევაში, პრეპარატებში, რომლებიც მნიშვნელოვანი რელაქსაციით რეაგირებენ აცეტილქოლინზე, L-NAME იგივე დოზებში იწვევს ამ რეაქციის ბლოკირებას (სურ. 3.9.).





სურ. 3.8. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული, ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ გალიზიანებაზე საკონტროლო (A) ცდებში და L-NAME-ს ფონზე (B). აღნიშვნები: 4, 8, 16 სკ – ელექტრული გალიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური – 5 mV.



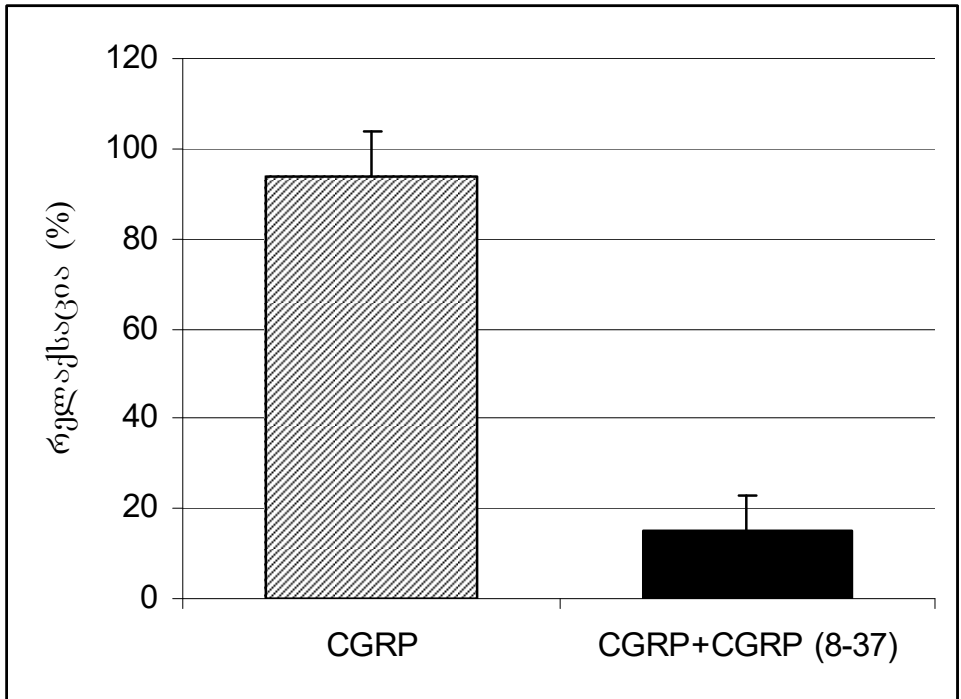


სურ. 3.9. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ინტაქტური, ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია (A) აცეტილქოლინზე (ა.ც.ქ); (B) - იგივე L-NAME-ს დამატების შემდეგ; (C) - რეაქცია ელექტრულ გალიზიანებაზე L-NAME-სა და აცეტილქოლინის შეყვანის შემდეგ. აღნიშვნები: 4, 8, 16 ჰც - ელექტრული გალიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით - პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი - 30 წუთი, ვერტიკალური - 5 mN.

3.7. კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის (CGRP) და მისი რეცეპტორების ანტაგონისტის (CGRP – 8-37) ეფექტი ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე.

ცდების მომდევნო სერიაში ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის დეენდოთელიზირებულ პრეპარატებზე გუანეთიდინის ეფექტის დადასტურების შემდეგ გამოვიყენეთ კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის (CGRP) რეცეპტორების ანტაგონისტის (CGRP – 8-37) ეფექტი ელექტროსტიმულაციით და თვით კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით გამოწვეულ პრეპარატების რელაქსაციაზე. CGRP – 8-37 კონცენტრაციით 2×10^{-8} M ნორეპინეფრინის შეყვანამდე 30 წუთით ადრე ემატებოდა რინგერ-კრებსის ხსნარში. სხვადასხვა სიხშირის ელექტროსტიმულაციით მიღებული შედეგები წარმოდგენილია სურ. 3.7. რელაქსაციური რეაქცია გამოხატულია პაპავერინით (2×10^{-4} M) გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაციის პროცენტის სახით.

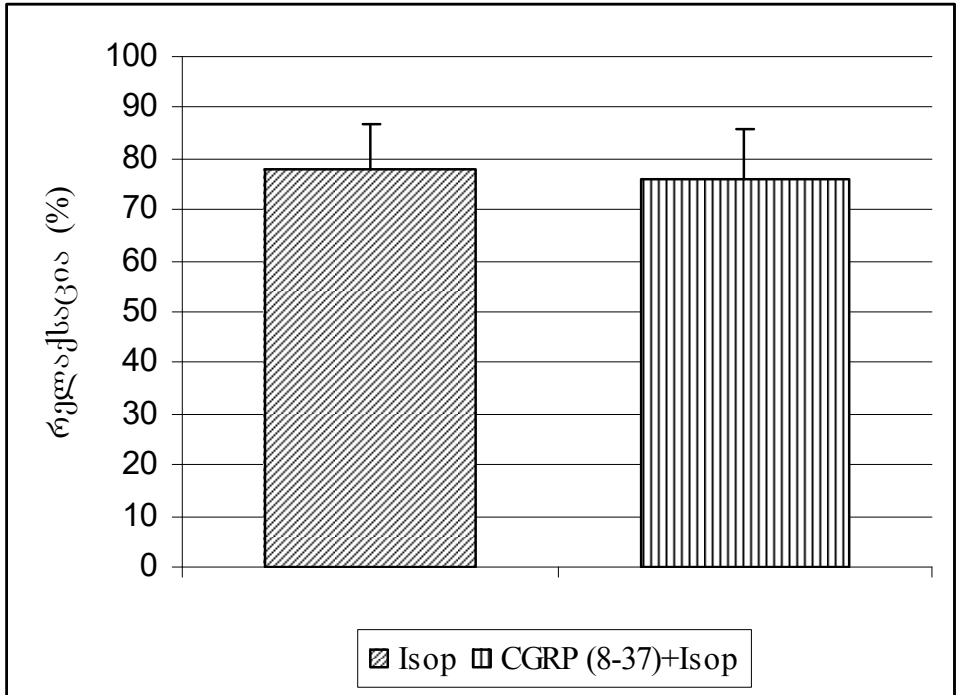
მიღებული შედეგები ნათლად მოწმობს, რომ ელექტროსტიმულაციით გამოწვეული ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაცია განპირობებული უნდა იყოს კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის მოქმედებით. ამ მოსაზრებას დამატებითი მტკიცებულება მიღებული იქნა შემდეგ ცდებში. სურ. 3.10-ზე წარმოდგენილი



სურ. 3.10. CGRP-რეცეპტორების ანტაგონისტის CGRP – (8-37) ეფექტი ბოცვერის ენის არტერიის ნორეპინეფრინით გაქტივებული პრეპარატის რელაქსაციაზე, რომელიც მიღებული იყო ეგზოგენური CGRP -ს შეყვანის საპასუხოდ (პროცენტებში, 100%-ად აღებულია პაპავერინით გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაცია)

მონაცემებიდან ჩანს, რომ CGRP -თ (10^{-8} M) ჯერ ერთი, მიღწევა 90%-ზე მაღალი რელაქსაცია და მეორეც ის, რომ იგი მკვეთრად ითრგუნება თუ ამ პეპტიდის რეცეპტორების ანტაგონისტს (აღნიშნული კონცენტრაციით) ნორეპინეფრინის შეყვანამდე დავამატებთ რინგერ-კრებსის ხსნარს. ამრიგად CGRP – 8-37 თრგუნავს არა მარტო ელექტრული სტიმულაციით ინდუცირებულ ნეიროგენურ რელაქსაციას, არამედ CGRP -ს ეგზოგენურ დამატებაზე აღმოცენებულ რელაქსაციასაც ენდოთელიუმ ჩამოცილებულ ბოცვერის ენის არტერიის რკალისებრ სეგმენტებში. ამავე დროს აღნიშნული პრეპარატი არ იწვევს რაიმე ცვლილებას

იზოპროტერენოლით (10^{-6} M) გამოწვეულ რელაქსაციურ პასუხებში (სურ. 3.11).



სურ. 3.11. CGRP-რეცეპტორების ანტაგონისტის (CGRP – (8-37) ეფექტი ბოცვერის ენის არტერიის ნორეპინეფრინით გაქტივებული პრეპარატის რელაქსაციაზე, რომელიც მიღებული იყო ეგზოგენური იზოპროტერენოლის (Isop) შეყვანის საპასუხოდ (პროცენტებში, 100%-ად აღებულია პაპავერინით გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაცია)

ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულაციის დროს მიღებული რელაქსაციის ბუნების შემდგომი დაზუსტების მიზნით გამოვიყენეთ ამ პრეპარატების წინასწარი, 30-წუთიანი დამუშავება კაპსაიციინით (10^{-6} M). როგორც ცხრილ 3.9-ში მოტანილი მონაცემები აჩვენებენ, აღნიშნულის შედეგად ელექტროსტიმულაციით გამოწვეული რელაქსაცია მნიშვნელოვნად შემცირდა. კაპსაიციინის მნიშვნელოვანი

დამთრგუნველი ეფექტი ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე და დათრგუნვის სრული მოხსნა CGRP-ის დამატების შემთხვევაში კარგად ჩანს სურ. 3.11. აქედანვე ნათელია, რომ ელექტროსტიმულაციაზე რეაქციის დათრგუნვა გამოიწვია კაპსაიცინის მიერ CGRP -ს გამოფიტვამ.

ცხრილი 3.9

ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ინტაქტური და ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სეგმენტების პრეპარატების რელაქსაციური რეაქცია (პაპავერინით გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაციის პროცენტებში) სხვადასხვა სიხშირით ელექტროსტიმულაციის დროს ატროპინის, კაპსაიცინის და პროპრანოლოლის ფონზე

| ელექტრო-გაღიზიანების სიხშირე (ჰც) | ენდოთელიუმ-ინტაქტური პრეპარატი | | ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული პრეპარატი | | |
|-----------------------------------|--------------------------------|----------|-----------------------------------|------------|--------------|
| | ზემოქმედება | | ზემოქმედება | | |
| | კონტროლი | ატროპინი | კონტროლი | კაპსაიცინი | პროპრანოლოლი |
| 4 | 45.4 6.2 | 45.5 8.5 | 46.6 7.2 | 9.5 3.3 | 44.2 6.2 |
| 8 | 53.5 8.2 | 57.6 4.2 | 57.7 6.6 | 17.5 6.6 | 56.6 5.6 |
| 16 | 70.1 4.3 | 70.6 6.6 | 71.3 7.2 | 17.3 9.5 | 71.2 4.4 |

3.9. თავისუფალი რადიკალების გავლენა ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე

ცნობილია, რომ ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების ძირითადი ეფექტი არის ვაზოდილატაცია, მაგრამ მათ შეუძლიათ აგრეთვე გამოიწვიონ ვაზოკონსტრიქციაც. ადრე ნაჩვენები იყო, რომ ჰიდროქსილ რადიკალებით გამოწვეული ენდოთელუმის დაზიანება თრგუნავს ენდოთელიუმ-დამოკიდებული

რელაქსაციური ფაქტორის როგორც პროდუცირებას, ისე მისი მოქმედების ეფექტურობას. გარკვეულია, რომ თავისუფალი რადიკალების ჭარბი პროდუცირება არღვევს ვაზოდილატაციურ ფუნქციას, რაც ხელსაყრელ პირობას ქმნის ვაზოკონსტრიქტორული სტიმულის ეფექტურობის მატებისთვის. სისხლძარღვის კედელში გენერირებულ თავისუფალ რადიკალებს შეუძლიათ მოახდინონ როგორც უშუალო ზემოქმედება გლუვკუნთოვან უჯრედებზე, ისე გავლენა იქონიონ ენდოთელურ უჯრედებში ფორმირებად ბიოლოგიურად აქტიურ ენდოგენურ ვაზოაქტიურ მედიატორებზე.

გამომდინარე ზემოთქმულიდან ჩვენ შევისწავლეთ თავისუფალი რადიკალების შესაძლო გავლენა ენის არტერიის კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით გამოწვეულ რელაქსაციურ რეაქციაზე, რისთვისაც გამოყენებული იყო კარგად ცნობილი ფენტონის რეაქცია.

გაირკვა, რომ ელექტროსტიმულაციით გამოწვეული ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტების რელაქსაცია ნორეპინეფრინით მიღებული სტაბილური ტონუსის პირობებში სრულად ითრგუნება თუ პრეპარატზე წინასწარ ვიმოქმედებთ $H_2O_2/FeSO_4$ -თ. აღნიშნული დამთრგუნველი ეფექტის ფორმირებაში ჰიდროქსილ რადიკალების როლის გარკვევის მიზნით ჩვენ გამოვიყენეთ HO--ს ისეთი ძლიერი სკავენჯერი როგორცაა დიმეთილსულფოქსიდი (DMSO). ამ აგენტისა და ფენტონის რეაქციის (და მისი შემადგენელი კომპონენტების) გავლენა ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ ჩამოცლილი რკალისებრი სეგმენტის რელაქსაციურ რეაქციაზე სხვადასხვა სიხშირით ელექტროსტიმულაციის პირობებში მოყვანილია ცხრილში 3.10. როგორც ამ ცხრილში აღრიცხული მონაცემებიდან ჩანს, DMSO ეფექტურად იცავს პრეპარატის რელაქსაციურ რეაქციას $H_2O_2/FeSO_4$ -ს დამთრგუნველი გავლენისგან, რაც მოწმობს იმაზე, რომ სისხლძარღვის პრეპარატის რეაქციის ინჰიბირებაში ფენტონის რეაქციის შედეგად გენერირებული ჰიდროქსილ რადიკალები არის ჩართული.

ჩვენ ზემოთ უკვე აღვნიშნეთ კაპსაიცინის ზემოქმედებით გამოწვეული ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტების რელაქსაციური რეაქციის დათრგუნვა ელექტროსტიმულაციის პირობებში. ცდების ამ სერიაშიც ჩვენ კვლავ გავიმეორეთ კაპსაიცინით ზემოქმედება, რომლითაც ამჯერად ჩავანაცვლეთ ფენტონის რეაქციის კომპონენტები. თუ შევადარებთ მიღებულ შედეგს დავინახავთ დიდ მსგავსებას კაპსაიცინისა და ჰიდროქსილ რადიკალების ეფექტებს შორის. ეს უკანასკნელი გვამღვებს საშუალებას ვიფიქროთ, რომ ჰიდროქსილ რადიკალები შესაძლოა აზიანებენ კაპსაიცინ-მგრძნობიარე ნერვებს და ამ გზით მოქმედებენ კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით განპირობებული ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაციურ რეაქციაზე.

3.9. თავისუფალი რადიკალების გავლენა ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით გამოწვეულ რელაქსაციაზე

ცდების შემდეგ სერიაში ჩვენ შევეცადეთ გავვერკვია თუ რა გავლენას ახდენს ჰიდროქსილ რადიკალები ეგზოგენური CGRP-თ ინდუცირებულ ბოცვერის ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის რელაქსაციურ რეაქციაზე. გაირკვა, რომ ნორეპინეფრინით გააქტივებული ტონუსის მქონე პრეპარატი განიცდის მნიშვნელოვან რელაქსაციას კალციტონინს გენთან დაკავშირებული პეპტიდის (CGRP) შეყვანის შემდეგ, ხოლო H₂O₂/FeSO₄-თ ზემოქმედების შემდეგ პრეპარატის პასუხი იგივე დოზით შეყვანილ CGRP-ზე მნიშვნელოვნად იქნა დათრგუნული. ასეთივე ტიპის და უფრო მკვეთრად გამოხატული რელაქსაციური პასუხის ინჰიბირება ჩვენ მივიღეთ CGRP რეცეპტორების ანტაგონისტის CGRP(8-37) ნორეპინეფრინის შეყვანამდე რინგერ-კრებსის ხსნარში 30წუთით ადრე დამატების შემთხვევაში.

ჰიდროქსილ რადიკალების მაინჰიბირებელი ეფექტი კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით გამოწვეულ რელაქსაციურ რეაქციაზე მნიშვნელოვანწილად ბლოკირდება

ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების სკავენჯერის დიმეთილსულფოქსიდის (DMSO) გამოყენების შემთხვევაში. ცდების ასეთი სერიის შედეგები წარმოდგენილია ცხრილში 3.10

ცდების მომდევნო სერიაში (6 ექსპერიმენტი) შემოწმებული იყო ჰიდროქსილ რადიკალების გავლენა ნორეპინეფრინით გააქტივებული ტონუსის მქონე ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სეგმენტების ნიტროგლიცერინით გამოწვეულ რელაქსაციაზე. ცნობილია, რომ ნიტროვაზოდიატატორები მოქმედებენ სენსორულ ბოჭკოებზე და ათავისუფლებენ CGRP-ს, რომელიც შემდგომ დიფუზიის გზით აღწევს სისხლძარღვის გლუვ კუნთს, ააქტიურებს ხსნად გუანილატ ციკლაზას და იწვევს სისხლძარღვის დილატაციას [Wei et al., 1992]. ასეთი ტიპის მექანიზმის არსებობა ჩვენს მიერ შემოწმებულ იქნა ბოცვერის ენის არტერიის პრეპარატზე. ნიტროგლიცერინით (10-5 M) გამოწვეული რელაქსაცია უცვლელი იყო მიუხედავად იმისა, რომ CGRP-ს მარაგი შემცირებულ იქნა ჰიდროქსილ რადიკალების წინასწარი ზემოქმედებით, რაც უნდა მიუთითებდეს იმაზე, რომ თავისუფალი რადიკალები არ უნდა არღვევდნენ გუანილატ ციკლაზაზე დამოკიდებულ ენის არტერიის დილატაციური მექანიზმის ფუნქციონირებას.

ცხრილი 3.10.

ფენტონის რეაქციის და ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების სკავენჯერის გავლენა ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სეგმენტების კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით გამოწვეულ რელაქსაციურ რეაქციაზე

| დანამატი რინგერ-კრეკსის ხსნარში | დოზა | ჩ დ -თ (10^{-8}) ინდუცირებული რელაქსაცია (პაპავერინით (2×10^{-4}) გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაციის პროცენტებში) | | | |
|---------------------------------|--------------------|--|-----|----------------------------|-----|
| | | კონტროლი | | ექსპერიმენტული ზემოქმედება | |
| - | - | 90.7 | 8.2 | 92.3 | 4.4 |
| 2 2 | 3×10^{-4} | 93.1 | 6.1 | 89.7 | 5.4 |

აზოტის ოქსიდის და კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის როლი ყბა-სახის მიკროცირკულაციის მარეგულირებელი მექანიზმების ფუნქციონირებაში

| | | | | | |
|-----------|--------------------|------|-----|------|-----|
| ეშ 4 | 2×10^{-4} | 82.3 | 5.2 | 93.2 | 6.1 |
| 2 2+ ეშ 4 | | 80.1 | 7.8 | 19.4 | 3.9 |
| შ | 100მ | 84.2 | 9.9 | 81.8 | 9.5 |

თავი მეოთხე

შედეგების განხილვა

გასაგებია, თუ რა პრინციპული მნიშვნელობა აქვს გავარკვევით პირის ღრუს ქსოვილებში სისხლით მომარაგების რეგულაციის მექანიზმები როგორც ნორმის დროს (ბაზალურ პირობებში) ისე ლორწოვანი გარსის სტომატიტით დაზიანების პირობებში. სწორედ ამ თვალთახედვით ჩვენს მიერ შერჩეული იქნა ადგილობრივი სისხლის ნაკადის რეგისტრაციის წყალბადის კლირენსის მეთოდი, რომელიც იძლევა სისხლის ნაკადის რაოდენობრივი გაზომვის საშუალებას, გამოირჩევა თავის მაღალი სიზუსტით და დიდი წარმატებით გამოიყენება ადგილობრივი სისხლის ნაკადის გასაზომად თავის ტვინის ქსოვილში (Auckland, 1965; Демченко, 1983), პირის ღრუსა და ნაწლავების ლორწოვან გარსში (Hirose et al, 1992; Atasever et al, 1991; Kaan, Cho, 1996) ღვიძლსა და თირკმელებში და ა.შ.

დადგენილია გარკვეული დამოკიდებულება სისხლის ნაკადსა და ეპითელიუმის სისქეს შორის. რადიომონიშნული მიკროსფერების მეთოდის გამოყენებით და ჰისტოლოგიური ანალიზით დადგენილია, რომ პირის ღრუს ქსოვილებში ბევრად უფრო მაღალი სისხლის ნაკადია ვიდრე კანში. ეპითელიუმის სისქის თვალთახედვით ეს ქსოვილები 4 ჯგუფად იყოფა: 1. ხახის; 2. ღრძილების და ენის დორსალური ნაწილი; 3 ყბა და ტუჩები; 4. კანის ყველა უბანი. დადგენილია დადებითი კორელაცია სისხლის ნაკადსა და ეპითელიუმის სისქეს შორის. სქელი ეპითელიუმი ასოცირებს სისხლის ნაკადის მაღალ დონესთან, ანუ გამოდის, რომ სქელ ეპითელიუმს უფრო მაღალი მეტაბოლური მოთხოვნა აქვს (Sciacovelli Marco and Christian Frezza, 2017). ნაჩვენებია ისიც რომ, ეპითელიური უჯრედების ნეკროზის გამომწვევ მიზეზს საწყის ეტაპზე ანთებით პროცესებთან ერთად წარმოადგენენ მიკროცირკულატორული დარღვევები ლორწოვან გარსში, ხოლო მოგვიანებით, პროცესში ერთვება აზოტის ოქსიდის დისრეგულაცია ეპითელიური აპოპტოზის დაჩქარებით (Crouser et

al, 2000). აზოტის ოქსიდის ჭარბ ექსპრესიას უკავშირებენ აგრეთვე ლორწოვანი გარსის ბარიერული ფუნქციის მოშლას და ჰიპერგამტარიანობის განვითარებას ქიმიოთერაპიის დროს.

აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) არსებობა სხვადასხვა სახეობათა პირის ღრუს ქსოვილებში კარგად არის დადგენილი ჰისტოქიმიური და იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდების გამოყენებით. ასე მაგალითად, თავგებისა და ვირთავგების პირის ღრუს ლორწოვან გარსში და ღრძილების ქსოვილში (Handa et al., 1996), ენაში (Funk et al., 1994). ენის არტერიის განტოტებებიც აღმოჩნდა ინერვირებული NO შემცველი ბოჭკოებით (Lohinai et al., 1997). ამავე ნაშრომში ნაჩვენებია, რომ სისხლძარღვოვანი ენდოთელური და ეპითელიური ეჯრედებიც შეიცავენ NOS-ს (Meyrelles et al., 2003).

1980 წელს Furchgott და Zawadzki-მ აჩვენეს ენდოთელიუმის არსებობის აუცილებლობა აცეტილქოლინით ინდუცირებული ვაზოდილატაციის რეალიზაციისათვის. აქედან მოყოლებული, გამოვლენილი იქნა რიგი ვაზოაქტიური სუბსტანციებისა, რომლებიც ახორციელებენ თავის ვაზოდილატატორულ ეფექტს ე.წ. ენდოთელიუმ-დამოკიდებული ფაქტორის გამონთავისუფლების გზით სისხლძარღვოვანი ენდოთელიუმიდან. დაახლოებით იგივე პერიოდში დადგინდა, რომ აზოტის ოქსიდი (NO), სინთეზირებული L-არგინინისგან არის პასუხისმგებელი ენდოთელიუმ-დამოკიდებული ფაქტორის მოქმედებაზე (Palmer et al, 1987). უფრო მეტიც, NO-ს ძლიერი ინჰიბიტორები თურმე აინჰიბირებენ ვასკულურ რელაქსაციას ინდუცირებულს ენდოთელიუმ-დამოკიდებული ფაქტორის მოქმედებით სხვადასხვა ქსოვილებსა და სხვადასხვა დიამეტრის სისხლძარღვებში (Moncada et al, 1991).

დაგროვილი მონაცემები მოწმობენ, რომ გარდა ვაზოდილატატორული ფუნქციისა NO-ს აქვს უნარი განახორციელოს მნიშვნელოვანი ფუნქცია უჯრედებს შორის კომუნიკაციის საქმეში. ასე მაგალითად, ითვლება, რომ ოდორანტიტ ინდუცირებული NO-ს პროდუქცია შეიძლება

მნიშვნელოვან როლს ასრულებდეს ოლფაქტორულ ადაპტაციაში (Antunes et al., 2014).

ამასთან ერთად უნდა ხაზგასმით აღინიშნოს, რომ ცოტა რამ არის ცნობილია L-არგინინ/NO-ს კომპლექსის მოქმედების შესახებ სისხლძარღვოვანი ტონუსის რეგულაციაში პირის ღრუს ქსოვილებში, როგორც ნორმის, ისე სხვადასხვა პათოლოგიების პირობებში. სწორედ ამან განაპირობა წინამდებარე ნაშრომის კვლევის საგანი და მეთოდოლოგია.

მესამე თავში აღწერილი სისტემური არტერიული წნევის დოზადამოკიდებული ცვლილებით L-NAME-ს სისტემური შეყვანის შემდეგ ერთხელ კიდევ ადასტურებს აზოტის ოქსიდის მნიშვნელობას სისხლის სისტემური ცირკულაციის რეგულაციაში. სისხლის არტერიული წნევის მატება პირველ რიგში გამოწვეული უნდა იყოს სისტემური ვაზოკონსტრიქციით, რომელიც თავის მხრივ ალბათ შედეგია აზოტის ოქსიდის დაქვეითებული პროდუქციის. ასეთი ვარაუდი გამოთქმულია სხვა ნაშრომებშიც (Campbell et al., 2011). ამასთან უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ სისხლის ნაკადი ლორწოვან გარსში დაქვეითდა იმის მიუხედავად, რომ პარალელურად განვითარდა ჰიპერტენზია. ეს კი მოწმობს იმაზე, რომ პირის ღრუს ლორწოვან გარსში სისხლის ნაკადის დეპრესიის მიზეზი ლოკალური ვაზოკონსტრიქცია არის, ხოლო ამ ეფექტის ლოკალურობას ადასტურებს ის, რომ ამავე დროს ტუჩის ქსოვილში სისხლის ნაკადი პრაქტიკულად არ შეცვლილა, თუ არ ჩავთვლით თავდაპირველ ნაწილობრივ ზრდას, რომელიც უდაოდ გამოწვეული უნდა იყოს სისხლის სისტემური არტერიული წნევის მატებით.

გამომდინარე წინა თავში აღწერილი შედეგებიდან ალბათ ეჭვს არ უნდა იწვევდეს, რომ ვაზოკონსტრიქცია პირის ღრუს ლორწოვან გარსში სწორედ L-NAME-ს მიერ იქნა ინდუცირებული რომლის მოქმედების მექანიზმი განისაზღვრება აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) ინჰიბიციით. ამის დამატებითი მტკიცებაა ის, რომ L-არგინინის წინასწარმა შეყვანამ, როგორც ვნახეთ, გაანეიტრალა L-NAME-ს ეფექტი და ცდების მესამე სერიაში სისხლის ნაკადის

შემცირება ყბის ლორწოვან გარსში აღარ იყო ისე მკვეთრად გამოხატული, როგორც ცდების წინა სერიაში. აღწერილი შედეგი ადასტურებს, რომ აზოტის ოქსიდის სინთაზას ინჰიბიცია არის ვაზოკონსტრიქციის მექანიზმი და ამცირებს სხვა არასპეციფიკური მექანიზმის მონაწილეობის ალბათობას ამ რეაქციაში.

ცდების სპეციალური სერია ჩატარდა, რათა გაგვეჩვენა ბაზალურ პირობებში, პირის ღრუს ლორწოვან გარსში სისხლის ნაკადის მარეგულირებელი აზოტის ოქსიდის წარმოშობის საკითხი. ამ მიზნით, ჩვენ გამოვიყენეთ 7-ნიტროინდაზოლის ინტრაპერიტონეული ინექცია, რომელიც, როგორც ცნობილია არის ნეირონული NOS-ის ინჰიბიტორი, თუმცა ასევე არ არის გამორიცხული მისი ინჰიბიტორული გავლენა ინდუცირებად აზოტის ოქსიდზეც (iNOS). კატეზზე ცდებში ნაჩვენებია, რომ 40 მგ/კგ 7-ნიტროინდაზოლი მნიშვნელოვნად ამცირებს ნეირონული NOS-ის აქტივობას თავის ტვინის მრავალ უბანში და ამავე დროს უცვლელი რჩება ენდოთელური NOS აქტივობა (Kovach et al., 1994). ჩვენს ცდებში 7-ნიტროინდაზოლმა არ შეცვალა სისხლის ნაკადის ინტენსივობა პირის ღრუს ქსოვილებში - არც ყბის ლორწოვან გარსში და არც ტუჩის ქსოვილში. 7-ნიტროინდაზოლით აზოტის ოქსიდის სინთეზის სელექციური ინჰიბირების მიუხედავად ბაზალური სისხლის მიმოქცევის ინტენსივობის უცვლელობა ადასტურებს იმას, რომ ადგილობრივი სისხლის ნაკადის რეგულაცია პირის ღრუს ლორწოვან გარსში განპირობებული უნდა იყოს ენდოთელური წარმოშობის აზოტის ოქსიდით. დაახლოებით ანალოგიური შედეგი ადრეც იყო აღწერილი ნილსონის მიერ (Nilson, 2000), რომელმაც კატეზზე ცდებში აჩვენა, რომ 7-ნიტროინდაზოლი (30 მგ/კგ-ზე) ასევე არ ახდენს რაიმე ეფექტს ნერვული გზით გამოწვეულ ვაზოდილატაციაზე თვალების სისხლძარღვოვან სისტემაში.

და ბოლოს, თუ შევაჯამებთ ბაზალურ პირობებში ჩატარებული ცდების შედეგებს შეიძლება დავასკვნათ, რომ ჩვენს მიერ გამოკვლეულ პირის ღრუს ორ უბანში: ყბის ლორწოვანი გარსსა და ტუჩის ქსოვილში ადგილობრივი სისხლის ნაკადის

დინამიკა მოსვენებით მდგომარეობაში განპირობებულია განსხვავებული მექანიზმებით. ამასთან ერთად ჩვენ შეგვიძლია დარწმუნებით ვამტკიცოდ მხოლოდ ის, რომ ლორწოვანი გარსის სისხლის ნაკადის ერთ-ერთი ძირითადი მარეგულირებელი ფაქტორი არის აზოტის ოქსიდი და რომ მისი პროდუქციის ინჰიბიცია, მიუხედავად სისტემური არტერიული წნევის მკვეთრი მატებისა იწვევს სისხლის ნაკადის შემცირებას აღნიშნულ ქსოვილში. ამასთან ერთად, წამყვანი როლი ამ მექანიზმის მოქმედებაში ენიჭება ენდოთელური და არა ნეირონული, ან ინდუცირებადი აზოტის ოქსიდის სინთაზას. აქვე უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ L-არგინინის უუნარობა გაზარდოს ადგილობრივი სისხლის ნაკადი ბაზალურ პირობებში, მოწმობს იმაზე, რომ პირის ღრუს ლორწოვან გარსში არის საკმარისი რაოდენობა აღნიშნული სუბსტრატისა, რაც საკვებით აკმაყოფილებს NO-ს მაფორმირებელი ფერმენტის ფუნქციონირებას. ის რომ L-NAME-ს შეყვანამ არ გამოიწვია სისხლის ნაკადის ცვლილება ტუჩის ქსოვილში შეიძლება აიხსნას ორი გზით:

1. L-NAME-ს დოზა იყო დაბალი და 2. ვაზოდილატაცია შესაძლოა არ არის გამოწვეული NO-ს უშუალო მოქმედებით, არამედ გაშუალედებულია სხვა რაიმე ფაქტორით, მაგალითად, ენდოთელიუმ-წარმოებული ჰიპერპოლარიზაციული ფაქტორით (Ozkor and Quyyumi, 2011).

არის მონაცემები, რომ პულპისა და ტუჩის სისხლძარღვების სტიმულაციით ინდუცირებული ვაზოდილატაცია ძლიერდება L-NAME-ს შეყვანის შემდეგ. უფრო მეტიც, L-არგინინის წინასწარმა შეყვანამ შეაფერხა L-NAME-ს გამაძლიერებელი ეფექტი. არ არის გამორიცხული, რომ აღნიშნული შედეგი, ანუ სტიმულაციის ფონზე L-NAME-ს ასეთი ეფექტი განპირობებული იყოს მისი მოქმედებით სისტემურ არტერიულ წნევაზე, რომლის ზრდა სტიმულაციის დროს ხელს უნდა უწყობდეს კაპილარული სისტემის სისხლსავსეობას.

ამასთან ერთად, მიღებული შედეგების ანალიზი გვიჩვენებს, რომ კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდი (CGRP) იწვევს ბოცვერის ენის არტერიის მნიშვნელოვან რელაქსაციას და რომ იგი განპირობებული უნდა იყოს CGRP რეცეპტორების აქტივაციით. ამასთან ერთად უნდა აღინიშნოს, რომ თუმცა აღიარებულია, რომ აზოტის ოქსიდი და მასთან დაკავშირებული კომპონენტები თამაშობენ მნიშვნელოვან როლს ინფორმაციის გადაცემაში ნერვული სისტემიდან სისხლძარღვოვან გლუვ კუნთებზე, როგორც პირველადი მესენჯერები, ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები ბოცვერის ენის არტერიის შემთხვევაში არ ადასტურებენ ამ მოსაზრებას და, როგორც უკვე ითქვა, რელაქსაციის მთავარ მექანიზმად აღნიშნული სისხლძარღვის შემთხვევაში უნდა განვიხილოთ CGRP -რეცეპტორების აქტივაცია მის გლუვ კუნთებში. გარდა ამისა სავსებით დასაშვებია, რომ CGRP -თ ინდუცირებული ენის არტერიის რელაქსაციის მექანიზმის ფუნქციონირება ნაწილობრივ მაინც უნდა იყოს განპირობებული ATP-მგრძნობიარე K^+ არხების აქტივაციით. ასეთი დასკვნის გაკეთების საშუალებას იძლევა შემდეგი:

1. ნორეპინეფრინით ინდუცირებული ტონუსის პირობებში ელექტრული სტიმულაცია (გუანეთიდინის ფონზე, რომელიც თრგუნავს გლუვი კუნთის კონტრაქტურას) იწვევს დეენდოთელიზირებული პრეპარატის რელაქსაციას.
2. ეს რელაქსაცია არის ენდოთელიუმ დამოუკიდებელი და არ იცვლება არც პროპრანოლოლის (β -ადრენო-რეცეპტორების ანტაგონისტი), არც ატროპინის (მუსკარინული ქოლინერგული ანტაგონისტი) მოქმედებით იმ კონცენტრაციებში, რომელიც თრგუნავდა აცეტილქოლინის რელაქსაციურ მოქმედებას, მაგრამ არ აფერხებდა ენდოთელიუმ-ინტაქტური პრეპარატის რელაქსაციურ რეაქციას ელექტრულ გაღიზიანებაზე.
3. L-NAME, აზოტის ოქსიდის სინთეზის არასელექციური ინჰიბიტორი იმ კონცენტრაციებში, რომელიც თრგუნავს დეენდოთელიზირებული პრეპარატის რელაქსაციურ რეაქციას

აცეტილქოლინზე, ვერ ახდენს რაიმე გავლენას იგივე პრეპარატების ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე.

4. CGRP -რეცეპტორების ანტაგონისტი CGRP (8-37) იმ კონცენტრაციით, რომელიც თითქმის სრულად ახშობს ეგზოგენურად შეყვანილი CGRP-ს მოქმედებას, აინჰიბირებს ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული პრეპარატების ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციას და ბოლოს

5. ენდოგენური CGRP -ს კაპსაიციინით პერივასკულური ნერვებიდან გამოფიტვამ სელექციურად დათრგუნა ნეიროგენური რელაქსაცია

CGRP -(8-37) წარდგენილი იყო თავდაპირველად, როგორც CGRP-რეცეპტორების შესაძლო ანტაგონისტი (Chiba et al., 1989). იგი დათრგუნავდა ზღვის გოჭებში CGRP -თ ინდუცირებული ატრიუმის კონტრაქტილურ რეაქციებს (Dennis et al., 1990) და ჯორჯლის არტერიის რელაქსაციას (Han et al., 1990). ამ უკანასკნელ ნაშრომში ნაჩვენებია იყო აგრეთვე, რომ შესაძლოა არსებობდეს ორი ტიპის CGRP -რეცეპტორები: CGRP1 და CGRP2. აქედან CGRP 1 სენსიტიურია CGRP (8-37) მიმართ, ხოლო CGRP 2- არა.

ჩვენს მიერ ჩატარებულ ცდებში CGRP (8-37) თითქმის სრულად დათრგუნა ენის არტერიის რელაქსაცია როგორც მისი ელექტრული სტიმულაციის პირობებში, ისე ეგზოგენური CGRP -ს დამატების შემთხვევაში. ამდენად, ბოცვერის ენის არტერიის პასუხები მისი ნერვული ელემენტების ელექტრული სტიმულაციის პირობებში განპირობებული უნდა იყოს CGRP 1-რეცეპტორებით. რაც შეეხება იმ ნარჩენ რეაქციას, რომელიც მივიღეთ CGRP (8-37)-თ ინჰიბიციის შედეგად იგი ალბათ უნდა იყოს გამოწვეული ან ინჰიბიტორის შედარებით დაბალი კონცენტრაციით (2×10^{-8} M), რაც არ იძლევა 100% ინჰიბირების გარანტიას, ან შესაძლოა ასახავდეს CGRP 2-რეცეპტორების მცირე რაოდენობის აქტივობას (რაც არ ითრგუნება ჩვენს მიერ გამოყენებული ინჰიბიტორით).

არსებობს საკმაოდ დიდი რაოდენობა მტკიცებებისა, რომ ATP-სენსიტიური K^+ არხები ვაზორელაქსაციაში მნიშვნელოვან როლს უნდა ასრულებდნენ (Reis et al., 2013). რომ K^+ არხების

გამხსნელების რელაქსაციური ეფექტი (მაგალითად, კრომაკალინი და პინაციდილი) გაწონასწორებულია კალიუმის უჯრედგარეთა კონცენტრაციის ზრდით. ნაჩვენებია, რომ CGRP ააქტივებს ადენილატ ციკლაზას და ზრდის ციკლური AMP-ს შემცველობას ვირთაგვას აორტალურ გლუვ კუნთებში (Kubota et al., 1985). ციკლური AMP-დამოკიდებული მექანიზმის შესაძლო ჩართვა გლუვ კუნთებში ATP-სენსიტიური K^+ არხების აქტივაციის პროცესში მტკიცდება იმიტაც, რომ გამოვლენილ იქნა მიოციტებში ATP-სენსიტიური K^+ არხების აქტივაცია ციკლური AMP-თი (Notsu et al., 1992). ამდენად სავსებით დასაშვებიათ მიგვაჩნია, რომ CGRP-თ ინდუცირებული ბოცვერის ენის არტერიის რელაქსაციაში ჩართული იყოს ATP-სენსიტიური K^+ არხების აქტივაცია.

Wei et al., (1992) აჩვენეს, რომ კატისებრთა ცერებრული არტერიოლების CGRP -ინდუცირებულ დილატაციაში მონაწილეობს ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატზე დამოკიდებული მექანიზმი. ჩვენი მონაცემების თანახმად ბოცვერის ენის არტერიის შემთხვევაში აღმოჩნდა, რომ ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეული რელაქსაცია ატარებს ენდოთელიუმ-დამოკიდებულ ხასიათს და ამასთან ერთად L-NAME-მ არ იქონია რაიმე გავლენა ენის არტერიის ნეიროგენურ რელაქსაციაზე. ამდენად, ნეიროგენური ვაზოდილატაცია ჩვენს შემთხვევაში არ არის დამოკიდებული აზოტის ოქსიდის გენერაციაზე, რომელიც თავის მხრივ უკავშირდება ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის გენერაციას.

ვინაიდან ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეული ენის არტერიის რელაქსაცია მნიშვნელოვნად ითრგუნება კაპსაიციინით, სენსორული ნეიროტოქსინით, რომელიც ფიტავს CGRP-ს შემცველობას ნერვებში უნდა ვიგულისხმოთ, რომ CGRP არის ენის არტერიის სენსორულ ნერვებში და რომ ელექტრული სტიმულაციის შედეგად სწორედ CGRP -ს გამოთავისუფლება იწვევს ვაზოდილატაციას. ცნობილია, რომ სენსორული ნერვის პერიფერიული ტერმინალის აქტივაცია იწვევს ანტიდრომულ ვაზოდილატაციას ლოკალური აქსონ-რეფლექსის მექანიზმის

გზით (Kuntzer et al., 2015). რადგან ენის სისხლით მომარაგება ხდება ენის არტერიის მეშვეობით, მისი ვასკულური რეაქტიულობა აქტიური სუბსტანციებისადმი სენსორული ნერვების პერიფერული ნეიროტრანსმიტერების ჩათვლით, ალბათ მნიშვნელოვანი უნდა იყოს ენის სისხლის მიმოქცევის რეგულაციის თვალთახედვით.

ფენტონის რეაქციით ჩატარებული ცდების სერიების ანალიზი გვაძლევს საშუალებას დავასკვნათ, რომ ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალები მოქმედებენ CGRP ნერვული ბოჭკოების როგორც პრე - ისე პოსტ-სინაფსურ დონეზე. ამის საფუძველს გვაძლევს შემდეგი:

1. ელექტროსტიმულაციის პასუხად CGRP-თ განპირობებული ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაცია თითქმის სრულად იყო ინჰიბირებული პრეპარატებზე $H_2O_2/FeSO_4$ ზემოქმედების შედეგად. რაც მიუთითებს იმაზე, რომ ჰიდროქსილ რადიკალებს გაჩნიათ ენდოგენური, პრესინაფსურად ლოკალიზებული CGRP -ის გამოფიტვის უნარი.

2. ფენტონის რეაქციით წინასწარი ზემოქმედების შედეგად მცირდება CGRP-რეცეპტორების ანტაგონისტით დათრგუნვადი CGRP -თ ინდუცირებული რელაქსაცია, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ ჰიდროქსილ რადიკალები აზიანებენ CGRP -თ გამოწვეულ რელაქსაციას, რაც თავის მხრივ დამოკიდებულია ATP-სენსიტიური K^+ არხების აქტივაციაზე პოსტსინაფსურ საიტზე.

3. თავისუფალი რადიკალების სკავენჯერის გამოყენების შედეგად მიღებულია ელექტროსტიმულაციით გამოწვეული რელაქსაციის ინჰიბირების (რასაც განაპირობებდა ფენტონის რეაქციით ზემოქმედება) შეჩერება და ასეთივე შედეგი იქნა მიღებული ეგზოგენური CGRP -თ გამოწვეული რელაქსაციის თავისუფალი რადიკალების დათრგუნვის შემთხვევაშიც – აქაც თავისუფალი რადიკალების სკავენჯერმა დიმეთილსულფოქსიდმა, თითქმის სრულად აღადგინა აღნიშნული რელაქსაციის რეაქცია.

დიმეთილსულფოქსიდის (DMSO) აღნიშნული ეფექტი მიუთითებს, რომ საქმე გვაქვს სწორედ ჰიდროქსილ რადიკალების აღაგებასთან, რადგანაც ზოგადად შესაძლო იყო აგრეთვე H_2O_2 -ს

ალაგებაც, რომელიც არის ჰიდროქსილ რადიკალების პრეკურსორი (საერთოდ არ არის გამორიცხული, რომ ფენტონის რეაქციით მიღებული შედეგი გამოწვეული ყოფილიყო წყალბადის ზეჟანგით (H_2O_2). DMSO, როგორც ცნობილია არის მხოლოდ ჰიდროქსილ რადიკალების სელექციური სკავენჯერი და მისი პროტექტორული ეფექტი ფენტონის რეაქციის გამოყენებისას ენის არტერიის რელაქსაციის ინჰიბირების მიზნით, ნათლად მიუთითებს, რომ $HO\cdot$ და არა H_2O_2 არის ჩვენს შემთხვევაში აქტიურად მომქმედი აგენტი. გამომდინარე ზემოთქმულიდან CGRP რეცეპტორების შესახებ, ალბათ ლოგიკური იქნება კიდევ ერთხელ დავასკვნათ, რომ ბოცვერის ენის არტერიის შემთხვევაში საქმე გვაქვს ძირითადად CGRP1 რეცეპტორებთან და ჰიდროქსილ რადიკალები უნდა იწვევდნენ სწორედ ამ რეცეპტორების დისფუნქციას. საჭიროა აქვე აღინიშნოს, რომ მექანიზმი, რომლითაც ჰიდროქსილ რადიკალები ერთდროულად ახორციელებენ CGRP -რეცეპტორების დისფუნქციას და ATP-სენსიტიური K^+ არხების ინაქტივაციას – ჯერ-ჯერობით გაურკვეველია. Arora და Hess-მა (1985) აჩვენეს, რომ ქსანტინ-ქსანტინ ოქსიდაზით გენერირებული ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალებით ძაღლის კარდიალური სარკოლემის ვეზიკულებზე ზემოქმედება იწვევს მუსკარინული რეცეპტორების ლიგანდის მნიშვნელოვან დეპრესიას და გამოთქვას მოსაზრება, რომ უფრო მეტად ადგილი უნდა ჰქონდეს რეცეპტორების რაოდენობის ცვლილებას, ან შესაძლოა რეცეპტორის ცილის სტრუქტურის ცვლილებას და ნაკლებად – ცვლილებას რეცეპტორების თანაობაში. ამ მოსაზრებას მივყავართ იმ დაშვებამდე, რომ ჰიდროქსილ რადიკალების სამიზნე შესაძლოა იყოს ცილების სტრუქტურული და ფუნქციური ერთიანობა. ჯერ კიდევ 1981 წელს კაცმა და მესინეომ (Katz, Messineo, 1981) აჩვენეს, რომ უჯრედის ფუნქციონირებაზე დიდ გავლენას ახდენს უჯრედული მემბრანის ლიპიდური მიკროგარემოს ცვლილება. უფრო მეტიც, მემბრანული ლიპიდის პოლიუჯერი ცხიმური მჟავების ნაწილი იოლად იჟანგება ჟანგბადის თავისუფალი

რადიკალებით. ამდენად შესაძლოა, რომ ჰიდროქსილ რადიკალები მოქმედებენ:

1. მემბრანულ ლიპიდებზე, რომელთა პეროქსიდაციამ შეიძლება მეორადად გამოიწვიოს მემბრანული ცილის მოდიფიცირება (Van der Paal et al., 2016);
2. მხოლოდ იმ ლიპიდებზე, რომლებიც ცვლიან ცილის მიკროგარემოს ან
3. როგორც ცილებზე, ისე მემბრანულ ლიპიდებზე ცალ-ცალკე და ერთდროულად.

CGRP-თ განპირობებული ვაზორელაქსაციის მეორადი მესენჯერული სისტემის ბუნება უცნობია. Wei et al (1992) ჩათვალეს, რომ CGRP-თ ინდუცირებული ცერებრული არტერიოლების დილატაციაშია ჩართულია ციკლურ გუანოზინ მონოფოსფატზე დამოკიდებული მექანიზმი. რა თქმა უნდა, დიდ ინტერესს წამოადგენს კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის მოქმედებაში სისხლძარღვოვან გლუვკუნთოვან უჯრედებზე გუანილატ ციკლაზას მედიატორული მნიშვნელობის განსაზღვრა. ნიტროდილატატორების მოქმედების ძირითადი არსი იმაშია, რომ ისინი უშუალოდ მოქმედებენ სისხლძარღვოვან გლუვ კუნთზე და გენერირებენ აზოტის ოქსიდს ან სპონტანურად, ან ქსოვილის კომპონენტებთან ურთიერთქმედების გზით (Ignarro 1990). ეს ნივთიერება შემდეგ ააქტივებს ხსნად გუანილატ ციკლაზას ან პირდაპირი მოქმედებით, ან შუალედური ნიტროზოთიოლის ფორმირების გზით. ამის შედეგია ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის და მასზე დამოკიდებული პროტეინკინაზის მატება გლუვი კუნთების მომდევნო მარეზულტირებელი რელაქსაციით. თუ გავიზიარებთ იმ აზრს, რომ კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით ინდუცირებული ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაციის მექანიზმის დარღვევა, განხორციელებული ჰიდროქსილ რადიკალების ზემოქმედებით, გულისხმობს ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის ფორმირების შემცირებას გუანილატ ციკლაზას ინჰიბირების გზით, მაშინ აგრეთვე შესაძლებელი უნდა იყოს იგივე

პრეპარატის ნიტროგლიცერინით ინდუცირებული რელაქსაციის დათრგუნვა ჰიდროქსილ რადიკალების ზემოქმედების შედეგად. მაგრამ, როგორც ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები მეტყველებენ, ჰიდროქსილ რადიკალების ასეთ მოქმედებას სინამდვილეში არა აქვს ადგილი. ეს ხაზს უსვამს იმ გარემოებას, რომ მისი მოქმედება არ განისაზღვრება რეცეპტორებისა და გლუვკუნთოვან უჯრედებში გუანოზინ მონო ფოსფატის გენერაციის არეთი. საქმე იმაშია, რომ ნიტროგლიცერინით განპირობებული გლუვ კუნთებში გუანოზინ მონოფოსფატის პროდუქციის პროცესის მგრძობელობა ჰიდროქსილ რადიკალებისადმი (ანუ ლიპიდურ პეროქსიდაციისადმი) შეიძლება დიდად განსხვავდებოდეს ბოცვერის ენის არტერიის იმ რელაქსაციისგან, რომელიც ინდუცირებულია CGRP1-რეცეპტორების აქტივაციით და ATP-სენსიტიური K^+ არხების გახსნით. სავსებით შესაძლებელია, რომ ჰიდროქსილ რადიკალები აზიანებენ CGRP ნერვულ ბოჭკოებში პოსტსინაფსურ მემბრანას და არა მეორად მესენჯერულ სისტემას, დაკავშირებულს ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის ფორმირებასთან გლუვკუნთოვან უჯრედებში. ნარჩენი ვაზოდილატაცია, რომელიც აღინიშნა ჩვენს შედეგებში, განპირობებული უნდა იყოს სხვა მექანიზმების მოქმედებით, შესაძლოა ციკლურ ადენოზინ მონოფოსფატთან დაკავშირებული მექანიზმებით. ამ მოსაზრებას აძლიერებს ისიც, რომ ციკლური ადენოზინ მონოფოსფატი (AMP) მიოციტებში ააქტივებს AMP-სენსიტიურ K^+ არხებს (Notsu et al., 1992). კუბოტამ და სხვ. აჩვენეს, რომ ვირთაგვას აორტის გლუვი კუნთების კულტურაში CGRP ასტიმულირებს ციკლური AMP-ს და არა GMP-ს (გუანოზინ მონოფოსფატი) ფორმირებას (Kubota et al., 1985). იმის მიუხედავად, რომ ეს შედეგები ხაზს უსვამს ციკლური AMP მნიშვნელოვან როლს სისხლძარღვთა გლუვი კუნთების პასუხებში კალციტონინს გენთან დაკავშირებული პეპტიდის მოქმედებაზე, მათ არა აქვთ პრეტენზია იმის მტკიცებისა, რომ სწორედ ციკლური AMP განაპირობებს CGRP-ს ვაზოდილატატორულ მოქმედებას.

ცნობილია მექანიზმების მთელი რიგი რომელთა მეშვეობით ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალები იწვევენ დისფუნქციას სისხლძარღვებში, ჩონჩხის კუნთებში და მიოკარდში (Trinity et al, 2016). თავისუფალ რადიკალებს ძალუძთ გავლენა მოახდინონ სისხლძარღვოვანი ტონუსის ნორმალურ კონტროლზე ენდოგენური ვაზოაქტიური აგენტების (კატექოლამინები, აზოტის ოქსიდი) ქიმიური დესტრუქციის გზით; ძლიერ რეაქტიული ჰიდროქსილ რადიკალი ქსოვილის დაზიანების თვალთახედვით არის განსაკუთრებული მნიშვნელობის მედიატორი, დაზიანება იწვევს უმიელინო C ბოჭკოების აქტივაციას ვაზოაქტიური აგენტების (შესაძლოა CGRP-ს) გამონთავისუფლებით.

ჰიდროქსილ რადიკალებით ხანგრძლივი ზემოქმედების პირობებში ენდოგენური CGRP, ლოკალიზებული ენის არტერიის CGRP ნერვული ბოჭკოს პრესინაფსურ საიტში, იშლება ან უწყვეტად თავისუფლდება საბოლოო გამოფიტვის შედეგით. მიუხედავად კონკრეტული მექანიზმისა ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები აჩვენებენ, რომ ჰიდროქსილ რადიკალები CGRP ნერვული ბოჭკოებისადმი წარმოადგენენ ისეთივე ძლიერ ტოქსიკურ აგენტს, როგორცაა კაპსაიცინი. ჩვენს გამოკვლევაში არ იყო შესწავლილი CGRP -ს პირდაპირი ინაქტივაცია ჰიდროქსილ რადიკალებით, რადგან როგორც ეგზოგენური CGRP, ისე ელექტრული სტიმულაცია, რომელიც განაპირობებს CGRP გამონთავისუფლებას ხდებოდა მხოლოდ მას ფენტონის რეაქციის შეჩერების და პრეპარატის გარემოს გამორეცხვის შემდეგ. ჩვენი შედეგები აჩვენებენ მხოლოდ იმას, რომ ჰიდროქსილ რადიკალებს შეუძლიათ გამოფიტონ ენდოგენური CGRP, ლოკალიზებული პრესინაფსურად და დააზიანონ აგრეთვე CGRP -თ ინდუცირებული ბოცვერის ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაცია, რომელიც ხორციელდება ATP-სენსიტიური K^+ არხების აქტივაციით პოსტსინაფსურ საიტზე და რომ რელაქსაციის მეორადი მესენჯერული სისტემა, განპირობებული თუნდაც ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატით, ნაკლებად არის მგრძობიარე

აზოტის ოქსიდის და კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის როლი ყბა-სახის
მიკროცირკულაციის მარეგულირებელი მექანიზმების ფუნქციონირებაში

ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების დესტრუქციული
მოქმედებისადმი.

დასკვნები

1. აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOs) არასელექციური ინჰიბირება L-ნიტო-L-არგინინ მეთილ ეთერით (L-NAME) სისტემური შეყვანით თეთრ ვირთაგვებში იწვევს: (ა) პირის ღრუს ქსოვილებში არაერთგვაროვან ეფექტს: ყბის ლორწოვან გარსში ბაზალური სისხლის ნაკადის დაქვეითებას და ამ მაჩვენებლის უცვლელობას ქვედა ტუჩის ქსოვილში; (ბ) სისხლის სისტემური არტერიული წნევის დოზადამოკიდებულმატებას.
2. ნეირონული აზოტის ოქსიდის სელექციური ინჰიბიტორის 7-ნიტროინდაზოლის (7-NI) გამოყენება ნორმის პირობებში არ ახდენს რაიმე გავლენას ადგილობრივი სისხლის ნაკადის რეგულაციაზე თეთრი ვირთაგვების პირის ღრუს ქსოვილებში;
3. ნორმის პირობებში ადგილობრივი სისხლის ნაკადის რეგულაცია თეთრი ვირთაგვების პირის ღრუს ლორწოვან გარსში განპირობებული უნდა იყოს ენდოთელიური წარმოშობის აზოტის ოქსიდით.
4. ბოცვერის ენის არტერიის რკალისებრი პრეპარატის ელექტრული სტიმულაცია ნორეპინეფრინით ინდუცირებული ტონუსის პირობებში ადრენერგული ბლოკატორის მოქმედების ფონზე, იწვევს დეენდოთელიზირებული პრეპარატის რელაქსაციას. ეს რელაქსაცია არის ენდოთელიუმ დამოუკიდებელი და არ იცვლება არც II-ადრენო-რეცეპტორების ანტაგონისტის და არც მუსკარინული ქოლინერგული ანტაგონისტის მოქმედებით იმ კონცენტრაციებში, რომელიც თრგუნავს აცეტილქოლინის რელაქსაციურ მოქმედებას.
5. L-NAME, აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორი იმ კონცენტრაციებში, რომელიც თრგუნავს დეენდოთელიზირებული პრეპარატის რელაქსაციურ რეაქციას აცეტილქოლინზე, ვერ ახდენს რაიმე გავლენას იგივე პრეპარატების ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე.
6. CGRP-რეცეპტორების ანტაგონისტი CGRP (8-37) იმ კონცენტრაციით, რომელიც თითქმის სრულად ახშობს

ეგზოგენურად შეყვანილი CGRP-ს მოქმედებას, აინჰიბირებს ენის არტერიის დეენდოთელიზირებული პრეპარატების ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციას.

7. პერივასკულური ნერვებიდან ენდოგენური CGRP -ს კაპსაიციინით გამოფიტვა, სელექციურად თრგუნავს ნეიროგენურ ვაზორელაქსაციას.

8. ბოცვერის ენის არტერიის რელაქსაციური პასუხები მისი ნერვული ელემენტების ელექტრული სტიმულაციის პირობებში განპირობებული უნდა იყოს CGRP -რეცეპტორებით.

9. ჰიდროქსილ რადიკალებს გააჩნიათ ენდოგენური, პრესინაფსურად ლოკალიზებული CGRP -ის გამოფიტვის უნარი რაც აზიანებს ბოცვერის ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაციის მექანიზმს.

გამოყენებული ლიტერატურა

- Al-Rubaiee M, Gangula PR, Millis RM, Walker RK, Umoh NA, Cousins VM, Jeffress MA, Haddad GE. Inotropic and lusitropic effects of calcitonin gene-related peptide in the heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 304: H1525–H1537, 2013
- Amadesi S, Nie J, Vergnolle N, Cottrell GS, Grady EF, Trevisani M, Manni C, Geppetti P, McRoberts JA, Ennes H, Davis JB, Mayer EA, Bunnett NW. Protease-activated receptor 2 sensitizes the capsaicin receptor transient receptor potential vanilloid receptor 1 to induce hyperalgesia. *J Neurosci* 24: 4300–4312, 2004
- Antunez C, Torres MJ, Lopez S, Rodriguez-Pena R, Blanca M, Mayorga C, Santamaria-Babi LF. Calcitonin gene-related peptide modulates interleukin-13 in circulating cutaneous lymphocyte-associated antigen-positive T cells in patients with atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 161: 547–553, 2009
- Antunes Gabriela, Ana Maria Sebastião, Fabio Marques Simoes de Souza Mechanisms of Regulation of Olfactory Transduction and Adaptation in the Olfactory Cilium, *PLOS*, 2014 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105531>
- Arora RC, Hess ML. Effect of reduced oxygen intermediates on sarcolemmal muscarinic receptors from canine heart. *Biochem Biophys Res Commun.* 1985 Jul 16;130(1):133–40.
- Asghar MS, Hansen AE, Kapijimpanga T, van der Geest RJ, van der Koning P, Larsson HB, Olesen J, Ashina M. Dilation by CGRP of middle meningeal artery and reversal by sumatriptan in normal volunteers. *Neurology* 75: 1520–1526, 2010
- Asghar MS, Hansen AE, Larsson HB, Olesen J, Ashina M. Effect of CGRP and sumatriptan on the BOLD response in visual cortex. *J Headache Pain* 13: 159–166, 2012
- Atasever N., Ercan M., Naldoken S., Ulutuncel N. Effect of wearing complete dentures on human palatal mucosal blood flow

measured by ¹³³Xe clearance. *J. Arch. Oral. Biol.*, 1991, 36, 9, 627-630;

Aukland K. Hydrogen polarography in measurement of local blood flow; Theoretical and empirical basis. *Acta neurol. Scand.*, 1965, 41, 14, Suppl., p.42-45.

Bowers MC, Katki KA, Rao A, Koehler M, Patel P, Spiekerman A, DiPette DJ, Supowit SC. Role of calcitonin gene-related peptide in hypertension-induced renal damage. *Hypertension* 46: 51–57, 2005

Brayden J. E., Large W. A., Electrophysiological analysis of neurogenic vasodilatation in the isolated lingual artery of the rabbit. *British Journal of Pharmacology*, 1999, 89, 163-171.

Brody M. J., Shaffer R. A. Distribution of vasodilator nerve in the canine hind limb. *Am. J. Physiol.*, 1970, 218, H470-H474.

Burnett A.L Nitric oxide in the penis: physiology and pathology. *J Urol* 1997, 157, 1, 320-4

Busse R., Mulsch A Induction of nitric oxide synthase by cytokines in vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett.*, 1990, 26, 275, 1-2, 87-90

Campbell R, J P Fisher, J E Sharman, B J McDonnell & M P Frenneaux. Contribution of nitric oxide to the blood pressure and arterial responses to exercise in humans *Journal of Human Hypertension*. 2011, volume25, pages262–270

Chan KY, Edvinsson L, Eftekhari S, Kimblad PO, Kane SA, Lynch J, Hargreaves RJ, de Vries R, Garrelds IM, van den Bogaardt AJ, Danser AH, Maassenvandenbrink A. Characterization of the calcitonin gene-related peptide receptor antagonist telcagepant (MK-0974) in human isolated coronary arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 334: 746–752, 2010

Chiba T., Yamaguchi A., Yamatani T., Nakamura A., Morishita T., Inui T., Fukuse M., Noda T., Fujita T. Calcitonin gene-related peptide acts as a novel vasodilator neurotransmitter in mesenteric resistance vessels of the rat. *Nature*, 1988, 335, 164-167

Chong S., Claire Dugast-Darzacq, Zhe Liu et al. Imaging dynamic and selective low-complexity domain interactions that control gene

- transcription. Science 27 Jul 2018:
Vol. 361, Issue 6400, eaar2555, DOI: 10.1126/science.aar2555
- Copp D.H., Cameron E.C., Cheney B.A., Davidson A.G.F., Henze K.G..
Evidence of calcitonin - a new hormone from the parathyroid that lowers
blood calcium. *Endocrinology*, 1961, 70, 638-649
- Crouser E.D., Julian M., Weinstein D., Fahy R., Bauer J.A.
Endotoxin-induced ileal mucosal injury and nitric oxide
dysregulation are temporally dissociated. *Am. J. Respir. Crit. Care
Med.*, 2000, 161, 1705-1712;
- Dacey R., Duling B., Mechanics and reactivity of rat intracerebral
arterioles. *Cerebral Blood Flow. Effect Nerves and neurotransmitters.*,
Jowa, 1981, 67-73.
- Day T J, T D Lagerlund Phillip Low. Analysis of H2 clearance curves used
to measure blood flow in rat sciatic nerve. *The Journal of
Physiology* 414(1):35-54 · August 1989
- Deng W, St Hilaire RC, Chattergoon NN, Jeter JR, Jr, Kadowitz PJ.
Inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation in vitro by
genetically engineered marrow stromal cells secreting calcitonin gene-
related peptide. *Life Sci* 78: 1830–1838, 2006
- Dennis T., Fournier A., Cadieux A., Pomerleau F., Jolicoeur F.B., Pierre
S.S., Quirion R. hCGRP8-37, a calcitonin gene-related peptide antagonist
revealing calcitonin gen-related peptide receptor heterogeneity in brain
and periphery. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1990, 123-128
- Depre M, Macleod C, Palcza J, Behm M, de Lepeleire I, Han T,
Panebianco D, Smith W, Blanchard R, Chodakewitz J, Murphy M, de
Hoon J. Lack of hemodynamic interaction between CGRP-receptor
antagonist telcagepant (MK-0974) and sumatriptan: results from a
randomized study in patients with migraine. *Cephalalgia* 33: 1292–1301,
2013
- DiPette D.J., Wimalawansa S. Cardiovascular actions of calcitonin gene-
related peptide. In: Crass J. Avioli L (eds) *Calcium Regulationg Hormones
and Cardiovascular Function*. CRC Press, Ann Arbor, MI, 1994, 239-252.

- Eccles R, Wilson H. The autonomic innervation of the nasal blood vessels of the cat. *J. Physiol. (Lond.)*, 1974, 28, 549-560.
- Eftekhari Sajedeh and Lars Edvinsson. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and its receptor components in human and rat spinal trigeminal nucleus and spinal cord at C1-level *BMC Neuroscience*, 2011, 12:112
- Elliot D., Crouser D., Julian M., Weinstein D., Fahy J., Bauer J. Endotoxin-induced ileal Mucosal Injury and Nitric Oxide dysregulation are temporally dissociated. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2000, 161, 1705-1712;
- Förstermann Ulrich and William C. Sessa Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012 Apr; 33(7): 829–837.
- Franco-Cereceda A. Calcitonin gene-related peptide and human epicardial coronary arteries: presence, release and vasodilatory effects. *Br. J. Pharmacol.*, 1991, 102, 506-510.
- Furchgott R., Zawadsky J. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 1980, 228, 373-376.
- Furhgott R.F., Vanhoutte P.M. Endothelium-derived relaxing and contracting factors, *FASEB*, 1989, 3, 2007
- Ghasemi A, Zahediasl S. Is nitric oxide a hormone? *Iran Biomed J*. 2011; 5 (3): 59-65.
- Grace G.C., Dusting G.J., Kemp B.E., Martin T. Endothelium and the vasodilator action of rat CGR. *Br. J. Pharmacol.*, 1987, 91, 729-733.
- Han M, Aroian RV, & Sternberg PW (1990). The let-60 locus controls the switch between vulval and nonvulval cell fates in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 126, 899-913
- Handa Y., Asamoto K., Nojyo Y., Tsuchida A., Kubota T. NOS-positive preganglionic neurons innervate a subpopulation of postganglionic neuron in superior cervical ganglion in rats. *J. Chem. Neuroanat.*, 1996, 10, 267-272.

- Hao H., Fiscus R.R., Wang X., Diana J. N-omega-Nitro-L-arginine inhibits GMP levels in rat aorta induced by CGRP. *Neuropeptides*, 1994, 26, 123-131.
- Hirose H., Takeuchi K., Okabe S. Effect of indometacin on gastric mucosal blood flow around acetic acid-induced gastric ulcers in rats. *Gastroenterology*, 1992, 102, 1, 373-374
- Holzer P., Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol. Rev.*, Jun 1991; 43: 143 - 201.
- Homma Y., Ichinohe T., Kaneko Y. Oral mucosal blood flow, plasmaepinephrine and haemodynamic responses after injection of lidocaine with epinephrine during midazolam sedation and isoflurane anesthesia. *Br. J. Anaesth.*, 1999, 82, 4, 570-574;
- Hummel SG, Fischer AJ, Martin SM, Schafer FQ, Buettner GR. Nitric oxide as a cellular antioxidant: a little goes a long way. *Free Radic Biol Med*. 2006 Feb 1;40(3):501-6.
- Ignarro LJ. Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1990; 30: 535-60.
- Ishimura N., Kitaguchi K., Tatsumi K., Furuya H. Nitric oxide involvement in hypoxic dilation of pial arteries in the cat. *Anesthesiology* 1996 Dec 85:6 1350-6
- Jancso G., Wollemann M. The effect of capsaicin on the adenylate cyclase activity of rat brain. *Brain Res*, Mar 1977; 123(2): 323-9.
- Kaan S.K., Cho C.H. A study of the antiulcer mechanisms of propranolol in rats. *Inflamm Res* 1996 Aug 45:8 370-5
- Katz AM, FC Messineo. Lipid-membrane interactions and the pathogenesis of ischemic damage in the myocardium.- *Circulation Research*, 1981. 48: 1-16
- Kemppainen P., Forster C., Koppert W., Handwerker H.O. Blood flow increase in the human lip after high-intensity tooth stimulation is not based on cholinergic mechanisms. *Society for Neuroscience*, 31th Annual Meeting, 2001, San Diego, Ca.

Kobari Role of nitric oxide in regulation of cerebral microvascular tone and autoregulation of cerebral blood flow in cats. *Brain Res* 1994 Dec 26 667:2 255-62

Kobayashi D., Todoki K,m Ozono S., Okabe E. Calcitonin gene-related peptide mediated neurogenic vasodilation in the isolated canine lingual artery. *Jpn. J. Pharmacol.*, 1995, 67, 329-339.

Kovach A., Lohinai Z., Marczis J., Balla I., Dawson T., Snyder S.H. The effect of hemorrhagic hypotension and retransfusopn and 7-nitroindazole on rCBF, NOS catalytic activity, and cortical NO content in the cat. *Ann. NY Acad sci*, 1994, 738, 348-368

Kubota M, Moseley JM, Butera L, Dusting GJ, MacDonald PS, Martin TJ. Calcitonin gene-related peptide stimulates cyclic AMP formation in rat aortic smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 132: 88-94, 1985

Kuntzer Thierry, Irène Calero-Romero,

Bernard Waeber andFrancois Feihl Axon reflex-mediated vasodilation is reduced in proportion to disease severity in familial amyloid polyneuropathy *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2015 10 (Suppl 1) :P57 Lancaster F.E. Nitric oxide and Ethanol-induced Brain damage. A Hypothesis, *research Nometgaph N22*, 1993, p, 373-387.

Leonarduzzi G., Gargiulo S., Gamba P., Perrelli M. Molecular signaling operated by a diet-compatible mixture of oxysterols in up-regulating CD36 receptor in CD68 positive cells. *Molecular Nutrition & Food Research* 54 Suppl 1(S1):S31-41, 2010 .

Levine A.B. Punihaole D. Levine T.B. Characterization of the Role of Nitric Oxide and Its Clinical Applications *Cardiology* 2012;122:55-68

Li D, Peng J, Xin HY, Luo D, Zhang YS, Zhou Z, Jiang DJ, Deng HW, Li YJ. Calcitonin gene-related peptide-mediated antihypertensive and anti-platelet effects by rutaecarpine in spontaneously hypertensive rats. *Peptides* 29: 1781-1788, 2008

Li J¹, Vause CV, Durham PL. Calcitonin gene-related peptide stimulation of nitric oxide synthesis and release from trigeminal ganglion glial cells.

Brain Res. 2008;1196:22-32. doi: 10.1016/j.brainres.2007.12.028. Epub 2008 Jan 25.

Lohinai Zs, Burghardt B, Zelles T, Varga G. The effect of L-arginine/nitric oxide pathway on salivary amylase secretion in conscious rats. *Journal of Physiology-Paris*, Volume 91, Issues 3–5, May–October 1997, Pages 217–221

Loscalzo Joseph . The Identification of Nitric Oxide as Endothelium-derived Relaxing Factor *Circ Res.* 2013 Jul 5; 113(2): 100–103. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.301577

Luckhoff A., Busse R. Increased free calcium in endothelial cells under stimulation with adenine nucleotides. *J. Cell. Physiol.*, 1986, 7, 4, 233–248;

Lundberg J.M. Evidence for the existance of vasozctive intestinal polypeptide (VIP) and acetylcholine neurones in cat exocrine glands. Morphological, anatomical and functional studies. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 1981, 496, 1–57.

Lundberg J.M., Anggard A., Fahrenkrug J. VIP as a mediator of hexamethonium-sensitive, atropine-resistant vasodilation in the cat tongue. *Acta Physiol. Scand.*, 1982, 116, 387–392.

Mares J., K. Nohejlova , P. Stopka , R. Rokuta. Direct Measurement of Free Radical Levels in the Brain After Cortical Ischemia Induced by Photothrombosis *Physiol. Res.* 2016, 65: 853–860,

McCormack D.C., Mak J., Coupe M.O., Barnes P. Calcitonin gene-related vasodilation of human pulmonary vessels. *J. Appl. Physiol.*, 1989, 67, 1265–1270.

McKenzie KE, Armstrong BA, Chen Y, Nagarajan M, Aldaz CM, Sukumar S Alterations in the Ha-ras-1 and the p53 pathway genes in the progression of N-methyl-N-nitrosourea-induced rat mammary tumors. *Mol Carcinog* 1997 Oct 20:2 194–203.

Meyrelles Silvana S., Ram V. Sharma, Hui Z. Mao, Francois M. Abboud, and Mark W. Chapleau. Modulation of baroreceptor activity by gene transfer of nitric oxide synthase to carotid sinus adventitia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003, 284: R1190–R1198

- Mitagvaria N., Bicher. Cerebral Blood flow regulation. Nova Science Publishers, NY, 2009
- Moncada S., Palmer R., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology. pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, 1991, 43, 109-114;
- Mulle C., Benoit P., Pinset C., Roa M., Changeux J.P. Calcitonin gene-related peptide enhances the rate of desensitization of the nicotinic acetylcholine receptor in cultured mouse muscle cells. *PNAS*, Aug 1988; 85(15): 5728-32.
- Narumiya Shuh. Physiology and pathophysiology of prostanoid receptors *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2007 Dec; 83(9-10): 296-319. doi: 10.2183/pjab/83.296
- Neher R, Riniker B., Maier R., Byfield P., Gudmundsson T.V., MacIntyre I. Human calcitonin. *Nature*, 1968, 220, 984-986.
- Nelson M.T., Hung Y., Beyden J., Hescheler J., Standen N.B. Arterial dilations in response to calcitonin gene-related peptide involve activation of K⁺ channels. *Nature*, 1990, 344, 770-773.
- Nilson S.F.E. The significance of nitric oxide for parasympathetic vasodilation in the eye and other orbital tissues in the cat. *Exp. Eye Res.*, 2000, 70, 61-72;
- Notsu T., Tanaka I., Mizota M., Yanagibashi K., Fukutake K. A cAMP-dependent protein kinase inhibitor modulates the blocking action of ATP and 5-hydroxydecanoate on the ATP-sensitive K⁺ channel. *Life Sci.*, 1992, 51, 1851-1856.
- Nuki C., Kawasaki H., Kitamura K., Takegana M., Kangawa K., Eto T., Wada A. Vasodilator effect of adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide receptors in rat mesenteric vascular beds. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993, 196, 245-251.
- Okabe E., Kato Y., Kohno H., Hess M., Ito H. Inhibition by free radical scavengers and by cyclooxygenase inhibitors of the effect of acidosis on calcium transport by masseter muscle sarcoplasmic reticulum. *Biochem. Pharmacol.*, 1985, 34, 961-968.

Ozkor Muhiddin A. and Arshed A. Quyyumi. Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor and Vascular Function. *Cardiol Res Pract.* Published online 2011. doi: 10.4061/2011/156146

Palmer R.M.J., Ashton D.S., Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; 333: 664-6.

Palmer R.M.J., Ferrige A., Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 1987, 327, 524-526.

Pernow J. Actions of constrictor (NPY and endothelium) and dilator (substance P, CGRP and VIP) peptides on pig splenic and human skeletal muscle arteries involvement of endothelium. *Br. J. Pharmacol*, 1989, 97, 983-989.

Persson K., Garcia-Pascual A., Anderson K. Differences in the actions of CGRP on pig detrusor and vesical arterial smooth muscle. *Acta Physiol. Scand.*, 1991, 143, 45-53.

Pohl U., Busse R. Hypoxia stimulates release of endothelium-derived relaxant factor. *Am J. Physiol.*, 1989, 256, 6, Pt2 H1595-600;

Popescu L.M., Panoiu C., Hinescu M., Nuto O. The mechanism of cyclic GMP induced relaxation in vascular smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.*, 1985, 107, 393-394.

Reis Milena Ramos, Abrahão Alves de Oliveira Filho, Lilia Simone Urzedo Rodrigues, Jaíse Paiva Araújo, Priscilla Maria Pereira Maciel, Jamile Moraes de Albuquerque, Valdir Cehinel Filho, Armando Cáceres, Josmara Bartolomei Fregoneze, Isac Almeida de Medeiros, and Darizy Flávia Silva Involvement of Potassium Channels in Vasorelaxant Effect Induced by Valeriana prionophylla Standl. in Rat Mesenteric Artery. *Evid Based Complement Alternat Med.* Published online 2013 Aug 14. doi: 10.1155/2013/147670

Rozenfeld M.G., Mermod J.J., Amara S.G., Swanson L., Sawchenko P., Rivier J., Vale W.W., Evans R.M. Production of a novel neuropeptide encoded by the calcitonin gene via tissue-specific RNA processing. *Nature*, 1983, 304, 129-135.

- Rubanyi G.M., Vanhoutte P.M. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am. J. Physiol.*, 1986, 250, Pt 2, H822-827;
- Russel F. A., R. King, S.-J. Smillie, X. Kodji, and S. D. Brain. Calcitonin Gene-Related Peptide: Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev.* 2014 Oct; 94(4): 1099–1142.
- Salsoso et al. Reduced L-carnitine transport in aortic endothelial cells from spontaneously hypertensive rats. (2014). *PLOS ONE* 9 (2) e90339. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090339>
- Sarchielli P, Alberti A, Codini M, Floridi A, Gallai V. Nitric oxide metabolites, prostaglandins and trigeminal vasoactive peptides in internal jugular vein blood during spontaneous migraine attacks. *Cephalalgia* 20: 907–918, 2000
- Sarchielli P, Alberti A, Codini M, Floridi A, Gallai V. Nitric oxide metabolites, prostaglandins and trigeminal vasoactive peptides in internal jugular vein blood during spontaneous migraine attacks. *Cephalalgia* 20: 907–918, 2008
- Schaeffer C, Vandroux D, Thomassin L, Athias P, Rochette L, Connat JL. Calcitonin gene-related peptide partly protects cultured smooth muscle cells from apoptosis induced by an oxidative stress via activation of ERK1/2 MAPK. *Biochim Biophys Acta* 1643: 65–73, 2003
- Schlereth T, Schukraft J, Krämer-Best HH, Geber C, Ackermann T, Birklein F. Interaction of calcitonin gene related peptide (CGRP) and substance P (SP) in human skin. *Neuropeptides*. 2016. doi: 10.1016/j.npep.2016.06.001. Epub 2016 Jun 18.
- Sciacovelli Marco and Christian Frezza Metabolic reprogramming and epithelial-to-mesenchymal transition in cancer. *FEBS J.* 2017 Oct; 284(19): 3132–3144.
- Sinclair SR, Kane SA, Van der Schueren BJ, Xiao A, Willson KJ, Boyle J, de Lepeleire I, Xu Y, Hickey L, Denney WS, Li CC, Palcza J, Vanmolkot FH, Depre M, Van Hecken A, Murphy MG, Ho TW, de Hoon JN. Inhibition of capsaicin-induced increase in dermal blood flow by the oral

CGRP receptor antagonist, telcagepant (MK-0974). *Br J Clin Pharmacol* 69: 15–22, 2010

Sinz E.H., Kohanek P.M., Dixon C.E., Clarck R.S., Carcillo J., Schiding J.K., Chen M., Wisniewski S.R., Carlos T.M., Williams D., DeKosky S.T., Watkins S.C., Marion D.W., Billiar T.R. Inducible nitric oxide synthase is an endogenous neuroprotectant after traumatic brain injury in rats and mice. *J. Clin. Invest.*, 1999, 104, 5, 647–656

Spinelli Valentina , Alessia Vona, Francesca Corti, Lorenzo Diolaiuti, Matteo Zanardelli, Laura Sartiani, and Paola Failli. Role of Nitric Oxide, Nitric Oxide Synthase, Soluble Guanylyl Cyclase, and cGMP-Dependent Protein Kinase I in Mouse Stem Cell Cardiac Development. *Stem Cells International* Volume 2016, Article ID 2868323, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/2868323>

Suzuki H., Ikezaki H., Hong D., Rubinstein I. PGH₂-TxA₂-receptor blockade restores vasoreactivity in a new rodent model of genetic hypertension. *J Appl Physiol*, Jun 2000; 88: 1983 – 1988.

Szabo C. Physiological and pathophysiological roles of nitric oxide in the central nervous system. *Brain Res. Bull.*, 1996, 41, 3, 131–141.

Trinity Joel D. , Ryan M. Broxterman, and Russell S. Richardson. Regulation of Exercise Blood Flow: Role of Free Radicals. *Free Radic. Biol. Med.* 2016 Sep; 98: 90–102.

Umar S, van der Laarse A Nitric oxide and nitric oxide synthase isoforms in the normal, hypertrophic, and failing heart. *Mol Cell Biochem.* 2010 Jan;333(1-2):191-201.

Ursell P.C., Ren C., Albala A., Danilo P. Nonadrenergic noncholinergic innervation; anatomc distribution of CGRP-immunoreactive tissue in the dogs heart. *Circ. Res.*, 1991, 68, 131-140.

Van der Paal, Jonas Erik C. Neyts, Christof C. W. Verlackt, and Annemie Bogaerts. Effect of lipid peroxidation on membrane permeability of cancer and normal cells subjected to oxidative stress. *Chem Sci.* 2016 Jan 1; 7(1): 489–498.

Wang Z, Martorell BC, Wälchli T, Vogel O, Fischer J, Born W, Vogel J. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) receptors are important to maintain cerebrovascular reactivity in chronic hypertension. PLoS One. 2015 Apr 10;10(4):e0123697. doi: 10.1371/journal.pone.0123697

Wei E.P., Moskowitz M.A., Boccalini P., Kontos H.A. Calcitonin gene-related peptide mediates nitroglycerin and sodium nitroprusside-induced vasodilatation in feline cerebral arterioles. Circ. Res., 1992, 70, 1313-1319.

Wimalawansa S. Calcitonin gene-related peptide and its receptors: molecular genetics, physiology, pathophysiology, and therapeutic potentials. Endocrine reviews, 1996, 17, 5, 533-585.

Zavorsky Gerald S., Connie C.W. Hsia, J. Michael B. Hughes, et al. Standardization and application of the single-breath determination of nitric oxide uptake in the lung. European Respiratory Journal 2017 49: 1600962; DOI: 10.1183/13993003.00962-2016

Zhai Q., Zheng H., Yu X., Sun L., Liu X. Copper induces apoptosis in BA/F3B cells: Bax, reactive oxygen species, and NF-kB are involved. J. Cell Physiol., 2000, 184, 161-170.

Zoccoli G., Grant D. A., Wild J., Walker A. M. Nitric oxide inhibition abolishes sleep-wake differences in cerebral circulation. Am. J Physiol Heart Circ Physiol, Jun 2001; 280: 2598 - 2606.

Азин А.Л. Роль кислорода и двуокиси углерода в регуляции базального тонуса артерий головного мозга. Дисс. доктора мед. наук, Свердловск, 1982

Азин А.Л., Игнатенко А.С., Орлов Р.С. Сократительная деятельность гладкомышечных клеток внутренней сонной и пиальных артерий. Диагностика и хирургическое лечение сосудистых заболеваний головного мозга. Л., 1974, 9-10.

Азин А.Л., Плеханов И.П., Орлов Р.С., Вишневский Г.А. Исследование механизмов активации сократительных клеток мозговых артерий и вен. Физиол. ж. СССР, 1977, 63, 11, 1567-1572.

Баикатова В.Г., Раевский К.С. Оксид азота в механизмах повреждения мозга, обусловленных токсическим действием глутамата. Биохими, 1998, 63-67, 1020-1028;

Гуревич М.И., Берштейн С.А. Гладкие мышцы сосудов. Физиология кровообращения. Физиология сосудистой системы. М., Наука, 1984.

Демченко И.Т. Кровоснабжение бодрствующего мозга, «Наука», Л., 1983

Игнатенко А.С. О спонтанной сократительной активности клеток гладкой мускулатуры внутренней сонной артерии. Докл. АН СССР, 1975, 225, 3, 733-735.

Меньшикова Е.Б., Венков Н.К., Реутов В.П. Оксид азота и NO-синтаза в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях. Биохимия, 2000, 65, 4, 485-503;

Митагвария Н. Устойчивость циркуляторного обеспечений функций головного мозга. 1983, Мецნიერება

Орлов Р.С., Азин А.Л. Исследование элетромеханической связи в гладкомышечных клетках мозговых артериальных сосудов. Физиол. ж. СССР, 1974, 60, 9, 1439-1445.

Орлов Р.С., Азин А.Л., Бразговский В.А., Ю Игнатенко А.С., Плеханов И.П. Механизмы активации сокращений гладкой мускулатуры мозговых сосудов. Физиол. ж. СССР., 1975, 61, 10, 1458-1465