გვილავა ი., ორმოცაძე გ., კიპაროიძე ს., გიორგობიანი მ., სანიკიძე თ.

ციტრუსების პოლიმეტოქსილირებული ფლავანოიდების ანტიოქსიდანტური აქტივობა

თსსუ, სამედიცინო ფიზიკისა და ბიოფიზიკის დეპარტამენტი

ბოლო 30 წლის განმავლობაში სამედიცინო მიზნებით (სადიაგნოსტიკო და სამკურნალო) მაიონიზებელი გამოსხივების გამოყენების დონე 6 ჯერ გაიზარდა; მაიონიზებელი რადიაცია ინტენსიურად გამოიყენება სხივურ თერაპიაში სიმსივნური და არასიმსივნური პროცესების მკურნალობის დროს (1, 2).

აღსანიშნავია, რომ რადიოთერაპია და რადიოდიაგნოსტიკა დაკავშირებულია ნორმალური ჯანმრთელი ქსოვილების დასხივებასთან და რადიოინდუცირებული გართულებების განვითარებასთან. ჯანმრთელი ქსოვილების რადიოინდუცირებული დაზიანების შემცირება რადიოთერაპიული დოზების შემცირებას მოითხოვს, რაც, თავის მხრივ, ზღუდავს დიაგნოსტიკისა და მკურნალობის ეფექტურობას (1, 2, 3).

რადიაციული დაზიანების მექანიზმებისა და მისი მკურნალობის და პრევენციის თაობაზე მრავალი კვლევის მიუხედავად, ამ პრობლემის ირგვლივ კვლავ ბევრი, ჯერ კიდევ გაურკვეველი საკითხი რჩება, რომელიც გადაუდებელ შესწავლას საჭიროებს.

კვლევის მიზანს შეადგენდა მცენარეული ნაერთების (ციტრუსების პოლიმეტოქსილირებული ფლავანოიდების ექსტრაქტი) რადიოპროტექტორული აქტივობის შესწავლა ცხოველურ მოდელურ სისტემაში.

მასალა და მეთოდები

ექსპერიმენტები ჩატარდა ზრდასრულ ვისტარის ჯიშის ვირთაგვებზე, წონით 180-200გ (15 ვირთაგვა). ექსპერიმენტული ცხოველები დაიყო 3 ჯგუფად:

ჯგუფი 1 - საკონტროლო ცხოველები (5 ვირთაგვა);

ჯგუფი 2 – X-დასხივებული ცხოველები (5 ვირთაგვა);

ჯგუფი 3 – X-დასხივებული ცხოველები + ციტრუსების ექსტრაქტი (5 ვირთაგვა).

ცხოველთა დასხივება განხორციელდა რადიოთერაპიულ დანადგარ РУМ-17 –ზე. დასხივების პირობები: ძაბვა - 150 კვ, დენის ძალა - 10 მა, დოზის სიმძლავრე 3,5 რენტგენი/წთ., ერთჯერადი დასხივების დოზა - 6 გრ; ფილტრები: Cu -1მმ, Al -0.5მ. დოზიმეტრული კონტროლი წარმოებდა რენტგენომეტრით VA-J-18 (RFT), მეტროლოგიური კონტროლი – სტანდარტული γ-ეტალონის გამოყენებით.

ექსპერიმენტულ ცხოველებს ჩაუტარდათ ერთჯერადი დასხივება 30 წუთის განმავლობაში. რადიოპროტექტორული კომპლექსი ცხოველებში შეგვყავდა კუნთებში დასხივებიდან 2 საათის შემდეგ და შემდგომი 7 დღის განმავლობაში (დოზით 7მგ/კგ-ზე). 7 დღის განმავლობაში ყოველდღიურად ცხოველებს კუდის ვენიდან ვუღებდით 0.5 მგ სისხლს ლიპოპეროქსიდების (LOO.) შემცველობის განსაზღვრის მიზნით. დასხივებიდან 7 დღის შემდეგ განხორციელდა ცხოველების დეკაპიტაცია ეთერის ნარკოზის ქვეშ. აღებულ იქნა სისხლი (2 მლ) ანტიოქსიდანტური ფერმენტების კატალაზას და სუპეროქსიდდისმუტაზას (სოდ-ის) აქტივობის განსაზღვრის მიზნით.

სისხლში LOO. შემცველობას ვსაზღვრავდით ელექტრონულ-პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ)მეთოდით, სპინხაფანგის α-ფენილ-ტერტ ბუტილნიტრონი (PBN, SIGMA) გამოყენებით, რომელიც ემატებოდა ვირთაგვების სისხლში (დოზით 1,5 mM/ მლ 25mM/ლ ტრის-ბუფერში (pH=7,4)) (4). სისხლში LOO.-ს ეპრ სიგნალებს ვსაზღვრავდით ოთახის ტემპერატურაზე, მიკროტალღოვან სიმძლავრეზე 20 მვტ რადიოსპექტრომეტრზე РЭ-1307 (რუსეთი).

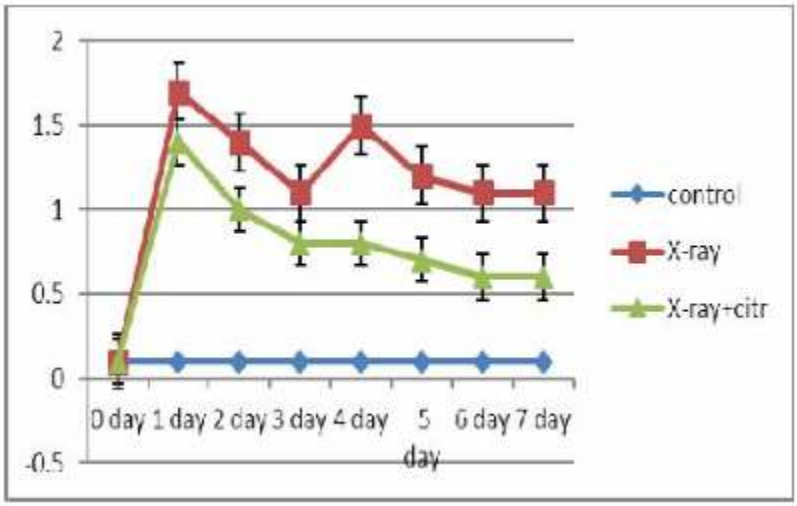
კატალაზას აქტივობას ვსაზღვრავდით Aebi-ს მეთოდით, რომელიც მოდიფიცირებულია М. А. Королюк-ის მიერ (1988). სუპეროქსიდდისმუტაზას (სოდ) აქტივობას ვსაზღვრავდით Fried-ის მეთოდით Е. В. Макаренко-ს მოდიფიკაციაში. ფერმენტების აქტივობას ვანგარიშობდით ცილის კონცენტრაციის ერთეულზე (Lowry-ს მეთოდით).

მიღებული შედეგების სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა SPSS (ვერსია 10.0) პროგრამული პაკეტით. სხვაობა ჯგუფებს შორის შეფასდა Student-ის t-კრიტერიუმით. ყველა შემთხვევაში სტატისტიკური სარწმუნოება განისაზღვრებოდა P<0,05-ით.

შედეგები და განხილვა

დიაგრამაზე მოყვანილია ვირთაგვების სისხლში ლიპოპეროქსიდების (LOO.) შემცველობის ცვლილებები X სხივებით დასხივებიდან 7 დღის განმავლობაში და ციტრუსების პოლიმეტოქსილირებული ფლავანოიდების ექსტრაქტით 7 დღიანი მკურნალობის ფონზე (დიაგრამა 1).

კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ Xდასხივებიდან 1 დღის შემდეგ ვირთაგვების სისხლში მკვეთრად იზრდებოდა LOO.-ის შემცველობა (ჯგუფი 2). შემდგომში (მე-2-4 დღეს) LOO-ის შემცველობა მცირდებოდა, თუმცა მე-5 დღეს შეინიშნებოდა ლიპოპეროქსიდების წარმოქმნის განმეორებითი ინტენსიფიკაცია. დაკვირვების მე-7 დღეს LOO-ის შემველობა შეადგენდა დაკვირვების 1 დღისთვის დამახასიათებელი მაჩვენებლის 65%-ს.



დიაგრამა 1

ვირთაგვების სისხლში LOO. შემცველობის ცვლილებები X-სხივებით ერთჯერადი დასხივებიდან 7 დღის განმავლობაში ციტრუსების პოლიმეტოქსილირებული ექსტრაქტით მკურნალობის ფონზე და მის გარეშე.

X-დასხივებული ვირთაგვების ციტრუსების პოლიმეტოქსილირებული ფლავონოიდების ექსტრაქტით მკურნალობის ფონზე (ჯგუფი 3) დასხივებიდან 1 დღის შემდეგ LOO.–ს შემცველობა შეადგენდა მე-2 ჯგუფისათვის დამახასიათებელი მაჩვენებლის 82%-ს, შემდეგ კი თანდათან მცირდებოდა და დაკვირვების მე-7 დღეს შეადგენდა დაკვირვების 1 დღისთვის დამახასიათებელი მაჩვენებლის 60%-ს (რაც შეადგენს მე-2 ჯგუფისათვის დამახასიათებელი მაჩვენებლის 54%-ს).

ცხრილში მოყვანილია ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის ცვლილება რადიოდასხივებულ (ჯგუფი 2) ვირთაგვების სისხლში. როგორც კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, დასხივებიდან 7 დღის შემდეგ ვირთაგვების სისხლში კატალაზას და სოდ-ის ა ქტივობა მცირდებოდა საკონტროლო. (ჯგუფი 1) მაჩვენებლებთან შედარებით 65%-ით და 70%-ით, შესაბამისად (ცხრილი 1). დასხივებული ვირთაგვების ციტრუსების ექსტრაქტით მკურნალობის ფონზე (ჯგუფი 3) კატალაზას აქტივობა 95%-ით, ხოლო სოდ-ის აქტივობა 194%-ით იზრდებოდა მე-2 ჯგუფისათვის დამახასიათებელ მაჩვენებლებთან შედარებით და შეადგენდა საკონტროლო მაჩვენებლების (ჯგუფი 1) 69% და 123%-ს, შესაბამისად.

ცხრილი №1.

ვირთაგვების სისხლში ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის ცვლილებები X-სხივებით ერთჯერადი დასხივებიდან 7 დღის შემდეგ ციტრუსების პოლიმეტოქსილირებული ექსტრაქტით მკურნალობის ფონზე და მის გარეშე

პოლიმეტოქსილირებული ექსტრაქტით მკურნალობის ფონზე და მის გარეშე		კატალაზა აქტ/მგ ცილა	სოდ აქტ/მგ ცილა
კონტროლი (1 ჯგუფი)		0,62	0.503
X-დასხივება (2 ჯგუფი)	5 ვირთაგვა	0,22*	0.157
ციტრუსების ექსტრაქტი (3 ჯგუფი)	5 ვირთაგვა	* 0,43**	0.619**

***-სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილებები საკონტროლო ჯგუფისათვის (ჯგუფი 1) დამახასიათებელ მაჩვენებლებთან შედარებით (p<0,005)**-სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილებები მე-2 ჯგოფისათვის დამახასიათებელ მაჩვენებლებთან შედარებით (p<0,005)**

ჩატარებული კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ X-დასხივების შემდეგ ვირთაგვების ორგანიზმში ვითარდება ოქსიდაციური სტრესი და ლიპიდური ზეჟანგური ჟანგვის ინტენსიფიკაცია, რაც ლიპოპეროქსიდების (LOO.) გაძლიერებული წარმოქმნით და ანტიოქსიდანტური ფერმენტების ინაქტივაციით ვლინდება. გამოვლინდა ლიპოპეროქსიდაციის ინტენსიფიკაციის პერიოდული ხასიათი (პირველ და მე-4 დღეს), რაც განპირობებული უნდა იყოს X-სხივების უშუალო ზემოქმედებით ინიცირებული ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციის შემდგომ ჟანგბადის და ლიპიდების მეორეული თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნით. დასხივებული ვირთაგვების ციტრუსების პოლიმეტოქსილირებული ფლავანოიდების ექსტრაქტით 7 დღიანი მკურნალობის ფონზე LOO.-ს წარმოქმნის ინტენსივობა თანდათან კლებულობს, ამავდროულად აღდგება ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობა.

მიღებული შედეგების ანალიზის საფუძველზე შეგვიძლია გავაკეთოდ დასკვნა ციტრუსების პოლიმეტოქსილირებული ფლავანოიდების ექსტრაქტის ანტიოქსიდანტური აქტივობის შესახებ.

ლიტერატურა:

1. Dörr W. Radiation effect in normal tissue - principles of damage and protection. Nuklearmedizin. 2010;49, 1:S53-8.

2. Mettler FA Jr, Brenner D, Coleman CN, Kaminski JM, Kennedy AR, Wagner LK.. Can radiation risks to patients be reduced without reducing radiation exposure? The status of chemical radioprotectants. AJR Am J Roentgenol. 2011, 196(3):616-8.

3. Schwartz DL, Hutcheson K, Barringer D, Tucker SL, Kies M, Holsinger FC, Ang KK, Morrison WH, Rosenthal DI, Garden AS, Dong L, Lewin JS. Candidate dosimetric predictors of long-term swallowing dysfunction after oropharyngeal intensity-modulated radiotherapyInt J Radiat Oncol Biol Phys. 2010, 1;78(5):1356-65.

4. Tabatabaie T, Kotake Y, Wallis G, Jacob JM, Floyd RA. Spin trapping agent phenyl N-tert-butylnitrone protects against the onset of drug-induced insulin-dependent diabetes mellitus. FEBS Lett. 1997 Apr 28;407(2):148-52

Gvilava I., Ormotsadze G., Kiparoidze S., Giorgobiani M., Sanikidze T.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CITRUS POLIMETOXILATED FLAVONOIDS EXTRACT

TSMU, DEPARTMENT OF MEDICAL PHYSICS AND BIOPHYSICS

The purpose of the study was an investigation of the radioprotective activity of citrus polimetoxilated flavonoids extract in an animal model system.

The intensification of oxidative stress and lipid peroxidation in the X- rays irradiated rats was detected, that was revealed by intensive LOO - production and inactivation of antioxidant enzymes (catalase and SOD) in the animal's blood. Intensification of lipoperoxidation shows periodic character (after 1 and 4 days), that is due to X- rays initiated

intensification of secondary oxygen and lipids free radical production after some days after irradiation.

7-day treatment of irradiated rats with the extract of citrus polimetoxilated flavonoids induced decrease of intensivity of lipoperoxides production and normalization of activity of antioxidant enzymes.

Based on the analysis of the investigation results we suggested that the citrus polimetoxilated extract revealed antioxidant activity.