ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

მედიცინის ფაკულტეტი

ნინო ჩიქობავა

აზოტის ოქსიდის როლი ჰიპერჰომოცისტეინემიით განპირობებული არტერიული ვაზომოტორული რეაქციების დარღვევაში

(ექსპერიმენტული კვლევა თეთრ ვირთაგვებზე)

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი

დისერტაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: **პროფესორი ნანა დორეული**

აკადემიკოსი ნოდარ მითაგვარია

თბილისი, 2019

სარჩევი

თავფურცელი	1
ქართული აბსტრაქტი	3
ინგლისური აბსტრაქტი	5
გრაფიკები	7
აბრევიატურა	9
1. შესავალი	10
2. ლიტერატურის მიმოხილვა	14
3. კვლევის მასალა და მეთოდები	37
4. მიღებული შედეგები	41
5. მიღებული შედეგების განხილვა	44
დასკვნები	52
დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებული შრომების სია	53
ციტირებული ლიტერატურა	54

აბსტრაქტი

ცნობილია, რომ ჰომოცისტეინის მეტაბოლიზმის მნიშვნელოვანი თანდაყოლილი დარღვევა პაციენტებში სისხლძარღვთა დაზიანებას იწვევს, მაგრამ ამ დაზიანების განვითარების მექანიზმი დღემდე კარგად არ არის დადგენილი.

ჰიპერჰომოცისტეინემია დღეს განიხილება, როგორც ათეროსკლეროზული ვასკულური დაავადების დამოუკიდებელი რისკ-ფაქტორი.

მექანიზმი, რომლის მეშვეობით ჰიპერჰომოცისტეინემია ხელს უწყობს ვასკულური დაზიანების განვითარებას, დღემდე უცნობია. ის რაც დადგენილია, შეიძლება მოკლედ შემდეგნაირად ჩამოყალიბდეს: ტოტალური ჰომოცისტეინის გაზრდილი კონცენტრაცია ენდოთელურ უჯრედებზე მოქმედებს. მათი დაზიანება, თრომბოციტების აქტივაცია, საზიანო მოქმედება თრომბომოდულინის ექსპრესიაზე, ქსოვილოვანი ფაქტორის გააქტიურება, დაბალი სიმკვრივის მქონე ლიპიდურ ცილებში გაძლიერებული ოქსიდაციულობა – აი ის ნუსხა, რომელთაგან ნებისმიერი შეიძლება ჩაითვალოს შესაძლო მექანიზმად, რომლის მეშვეობით ჰომოცისტეინი ათეროსკლეროზს და თრომბოზს იწვევს.

ენდოთელური უჯრედების დისფუნქცია, როგორც წესი, თან სდევს მრავალი სახის კარდიოვასკულურ დაავადებას. დადგენილი იყო, რომ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას ფუნქციის დარღვევა ან/და აზოტის ოქსიდის მოწოდების შემცირება შეიძლება გახდეს მრავალი კლინიკური მანიფესტაციის მიზეზი პაციენტებში, რომელთაც გააჩნიათ ენდოთელური დისფუნქცია. ეს მოსაზრება მიუთითებს, რომ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზა შესაძლოა განიცდიდეს ჰიპერჰომოცისტეინემიის გავლენას.

თუ გავითვალისწინებთ ლიტერატურაში არსებულ ხანგრძლივ დისკუსიას ჰომოცისტეინის შესაძლო როლის შესახებ ათეროსკლეროზის განვითარებაში, მაშინ ზემოაღნიშნული ფაქტები მიუთითებს, რომ აზოტის ოქსიდის ბიორესურსის შემცირებამ და eNOS-ის აქტიობის დაქვეითებამ უნდა გამოიწვიოს ენდოთელური

უჯრედების დისფუნქცია, რაც მნიშვნელოვნად გასაგებს ხდის კარდიოვასკულური გართულებების განვითარებას.

გამომდინარე ზემოთქმულიდან, მიზანშეწონილად ჩავთვალეთ ჩამოგვეყალიბებინა საკუთარი კვლევის შემდეგი ***მიზანი და ამოცანები:*** თეთრ ვირთაგვებზე *in vitro* და *in vivo* კვლევებში დაგვედგინა აზოტის ოქსიდის როლი ჰიპერჰომოცისტეინემიით განპირობებული არტერიული ვაზომოტორული რეაქციების დარღვევაში. კერძოდ:

როგორ იცვლება საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიანი ცხოველების არტერიოლების ნორმალური და დეენდოთელიზირებული სეგმენტების კონტრაქტილობა ნორადრენალინზე, აცეტილქოლინსა და ჰისტამინზე; როგორ იცვლება მაჩვენებლები, თუ მოვახდენთ აგრეთვე აზოტის ოქსიდის სინთაზების არასელექციურ ინჰიბიციას.

ჩვენ მიერ ჩატარებულ ექსპერიმენტებში მიღებული შედეგების და ლიტერატურაში არსებული მონაცემების ანალიზმა მოგვცა საშუალება გამოგვეტანა შემდეგი დასკვნები:

ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატება იწვევს აზოტის ოქსიდით განპირობებული არტერიული ვაზომოტორული რეაქციების მოშლას და წარმოადგენს მნიშვნელოვან ადრეულ ეტაპს ჰიპერჰომოცისტეინემიასთან დაკავშირებული ვასკულური დაავადებების განვითარებაში.

ენდოთელური დისფუნქცია უნდა განვიხილოთ, როგორც ერთ-ერთი ადრეული კომპონენტი სისხლძარღვთა დაავადებათა განვითარების კომპლექსურ მოვლენებში და მნიშვნელოვანი დამაკავშირებელი რგოლი ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და ათეროთრომბულ დაავადებებს შორის.

ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს ადგილი აქვს ენდოთელური აზოტის ოქსიდის ბიორესურსის მოშლას.

ABSTRACT

It hs been known that a significant congenital disorder of homocysteine metabolism evokes blood vessels disorder, but the mechanism of this damage development is still not well established.

Now, hyperhomocysteinemia is considered to be as an independent risk-factor of atherosclerotic vascular disease.

The mechanism, by which hyperhomocysteinemia contributes the development of vascular damage is still unknown. What is established can be shortly summarized in this way: an increased concentration of total homocysteinemia affects the endothelial cells. Their damage, the activation of platelets, a damaging effect on thrombomodulin expression, the activation of tissue factor, an enhanced oxidativeness in low density lipid proteins – it is the list, in which any of above-said may be considered as possible mechanisms, by means of which homocysteine leads to atherosclerosis and thrombosis.

As a rule, the dysfunction of endothelial cells accompanies many types of cardiovascular diseases. It has been established that a disorder of function of endothelial nitrogen oxide synthase or/and the reduction of nitrogen oxide delivery can become a reason for many clinical manifestations in patients with endothelial dysfunction. This consideration indicates that the synthase of endothelial nitrogen oxide may be influenced by hyperhomocysteinemia.

Taking into account a long-lasting discussion in the literature on a possible role of homocysteine in the development of atherosclerosis, the above-said facts indicate that the decrease in nitrogen oxide bioresource and reduction of eNOS activity should induce the dysfunction of endothelial cells, which makes the development of cardiovascular complications significantly understandable.

Based on the above-said, we considered it appropriate to formulate the ***goal*** and the following ***objectives*** of our study: to establish a role of nitric oxide in the disorder of arterial vasomotor reactions due to hyperhomocysteinemia *in vitro* and *in vivo* studies on white rats. Particularly, how a contractility of normal and deendothelized segments of the arterioles changes to norepinephrine, acetylcholine and histamine in control and hyperhomocysteinemia animals; how the indices change in case of nonselective inhibition of nitric oxide synthases.

The analysis of our experimental results and the data of literature gave us the opportunity to draw the following conclusions:

- An increase of homocysteine concentration evokes a disorder of arterial vasomotor reactions due to nitric oxide and appears to be a significant early stage in the development of vascular diseases related to hyperhomocysteinemia.
- Endothelial dysfunction should be considered as one of the early components in complex phenomena of the development of blood vessel diseases, as well as an important link between hyperhomocysteinemia and atherothrombotic diseases.
- During hyperhomocysteinemia, a disorder of endothelial nitric oxide bioresource takes place.

ცხრილები და გრაფიკები

ცხრილი 3.1. საკონტროლო და L-მეთიონინის დიეტაზე მყოფი ცხოველების მაჩვენებლები დიეტაზე ყოფნის მეოთხე კვირის დასასრულს (გვ. 41)

სურ. 2.1. ტენზომეტრული მექანოტრონის კავებზე სისხლძარღვის სეგმენტის წამოცმის ეტაპები (გვ. 72)

სურ. 2.2. დანადგარის ბლოკ-სქემა (გვ. 72)

სურ. 2.3. სისხლძარღვთა გლუვი კუნთების პრეპარატების კონტრაქტილური აქტიობის ტენზომეტრული მეთოდით რეგისტრაცის გამაძლიერებლის ხიდური სქემა (გვ. 73)

სურ. 3.1. ნორადრენალინის კუმულაციური დოზის ეფექტი საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემია-ინდუცირებული ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების კუმშვადობაზე (გვ. 74)

სურ. 3.2. ნორადრენალინის კუმულაციური დოზის ეფექტი საკონტროლო ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების (ინტაქტური და დეენდოთელიზებული) კუმშვადობაზე (გვ. 75)

სურ. 3.3. ნორადრენალინის კუმულაციური დოზის ეფექტი ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების (ინტაქტური და დეენდოთელიზებული) კუმშვადობაზე (გვ. 76)

სურ. 3.4. აცეტილქოლინის კუმულაციური დოზის ეფექტი საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემია-ინდუცირებული ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე (გვ. 77)

სურ.3.5. აცეტილქოლინის კუმულაციური დოზის ეფექტი საკონტროლო ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე აზოტის ოქსიდის სინთაზას (L-NAME) არასელექციური ინჰიბიტორის მოქმედების ფონზე და მის გარეშე (გვ. 78)

სურ. 3.6. აცეტილქოლინის კუმულაციური დოზის ეფექტი ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე აზოტის ოქსიდის სინთაზას (L-NAME) არასელექციური ინჰიბიტორის მოქმედების ფონზე და მის გარეშე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა (გვ. 79)

სურ. 3.7. ნატრიუმის ნიტროპრუსიდის ეფექტი საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე აზოტის ოქსიდის სინთაზას (L-NAME) არასელექციური ინჰიბიტორის მოქმედების ფონზე და მის გარეშე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა (გვ. 80)

სურ. 3.8. ჰისტამინის ეფექტი საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემია-ინდუცირებული ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა (გვ. 81)

სურ. 3.9. ჰისტამინის ეფექტი საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე აზოტის ოქსიდის სინთაზას (L-NAME) არასელექციური ინჰიბიტორის მოქმედების ფონზე და მის გარეშე, აგრეთვე დეენდოთელიზებულ პრეპარატებზე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა (გვ. 82)

სურ. 3.10. ჰისტამინის ეფექტი ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე აზოტის ოქსიდის სინთაზას (L-NAME) არასელექციური ინჰიბიტორის მოქმედების ფონზე და მის გარეშე, აგრეთვე დეენდოთელიზებულ პრეპარატებზე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა (გვ. 83)

აბრევიატურა

NO - აზოტის ოქსიდი

NOS - აზოტის ოქსიდის სინთაზა

eNOS - ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზა

nNOS - ნეირონული აზოტის ოქსიდის სინთაზა

iNOS - ინდუციბელური აზოტის ოქსიდის სინთაზა

LNAME - ნიტრო-L-არგინინ მეთილის ეთერი

1. შესავალი

წლების განმავლობაში გულის იშემიური დაავადების დიაგნოსტიკა ლიპიდური ცვლისა და ჰემოსტაზის მაჩვენებლების განსაზღვრას ემყარებოდა, მაგრამ ლიტერატურაში გაჩნდა მითითებები, რომ მიოკარდიუმში ათეროსკლეროზული და თრომბოზული პროცესების განვითარებას ხელს უწყობს "ახალი რისკ-ფაქტორი" - სისხლში ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მომატება - ჰიპერჰომოცისტეინემია, რომელიც მრავალ ფაქტორზე დამოკიდებულ პროცესს წარმოადგენს.

სისხლის შრატში ჰომოცისტეინის ნორმალურ დონედ მიიჩნევენ 5-12 მკმოლ/ლ. მსუბუქი ჰიპერჰომოცისტეინემიის პირობებში ეს მაჩვენებელი იზრდება 15-30 მკმოლ/ლ-მდე, საშუალო ხარისხის ჰიპერჰომოცისტეინემიად ითვლება - 31-100 მკმოლ/ლ, ხოლო მძიმე შემთხვევის სახით განიხილავენ 100 მკმლ/ლ-ზე მაღალ დონეს.

ჰომოცისტეინის, როგორც სისხლძარღვთა დაავადების ერთ-ერთი რისკ ფაქტორის იდენტიფიკაცია, დაიწყო 1964 წელს, როდესაც მუდიმ [Mudd, 1964] აჩვენა, რომ ჰომოცისტეინის აკუმულაცია სისხლში და შემდგომ შარდში, რასაც განაპირობებს ცისთატიონინ ბეტა-სინთაზა ფერმენტის დეფიციტი, იწვევს ჰომოცისტეინურიას. ამ აღმოჩენის შემდეგ, მაკკალიმ და ვილსონმა [McCully, Wilson, 1975] აღწერეს, რომ პაციენტებში აღნიშნული ფერმენტის დეფიციტის შედეგად ვითარდება არტერიული სისხლძარღვების დაზიანებანი, რის საფუძველზე მათ დაასკვნეს, რომ ჰომოცისტეინი თავისთავად ან მისი ერთ-ერთი დერივატი განაპირობებს არტერიულ დაზიანებას. ამან, თავის მხრივ, საფუძველი ჩაუყარა ჰიპოთეზას, რომლის მიხედვით ჰომოცისტეინის ზომიერი მატება სისხლში შესაძლოა გახდეს ათეროსკლეროზის განვითარების რისკ ფაქტორი.

დღეს უკვე ეჭვგარეშეა, რომ ჰომოცისტეინის მეტაბოლიზმის მნიშვნელოვანი თანდაყოლილი დარღვევა პაციენტებში იწვევს სისხლძარღვთა დაზიანებას, მაგრამ ამ დაზიანების განვითარების მექანიზმი დღემდე კარგად არ არის დადგენილი.

მნიშვნელოვანი კავშირი ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და კლინიკურ კარდიოვასკულურ შემთხვევებს შორის მრავალ ფუნდამენტურ ნაშრომშია აღწერილი, თუმცა გვხვდება ისეთი სტატიებიც, სადაც ასეთი კავშირი უარყოფილია [Ganguly, Alam, 2015]. ამის მიუხედავად, ჰიპერჰომოცისტეინემია დღეს განიხილება, როგორც ათეროსკლეროზული ვასკულური დაავადების დამოუკიდებელი რისკ-ფაქტორი [Boers, 2000].

2002 წელს ჩატარებულმა დიდი მასშტაბის რაოდენობრივმა გამოკვლევამ [Ford et al., 2002] აჩვენა, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატებასთან ასოცირებული კორონარულ სისხლძარღვთა დაავადების რისკის მატება ყოველი ზედმეტი 5 მიკრომოლისთვის შეადგენს 20%-ს. მაღალი რისკის მქონე პირთა ჯგუფის გამოკვლევის შედეგად დადგინდა, რომ სისხლში ტოტალური ჰომოცისტეინის მაღალი კონცენტრაცია კარდიოვასკულური დაავადების და მოსალოდნელი სიკვდილიანობის უაღრესად ძლიერი პრედიქტორია [Humphrey et al., 2008].

მექანიზმი, რომლის მეშვეობით ჰიპერჰომოცისტეინემია ხელს უწყობს ვასკულური დაზიანების განვითარებას, დღემდე უცნობია. ის რაც დადგენილია, შეიძლება მოკლედ ჩამოყალიბდეს შემდეგნაირად:

In vitro კვლევები აჩვენებს, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის გაზრდილი კონცენტრაცია მოქმედებს ენდოთელურ უჯრედებზე. მათი დაზიანება, თრომბოციტების აქტივაცია, საზიანო მოქმედება თრომბომოდულინის ექსპრესიაზე, ქსოვილოვანი ფაქტორის გააქტიურება, დაბალი სიმკვრივის მქონე ლიპიდურ ცილებში გაძლიერებული ოქსიდაციულობა – აი ის ნუსხა, რომელთაგან ნებისმიერი შეიძლება ჩაითვალოს შესაძლო მექანიზმად, რომლის მეშვეობით ჰომოცისტეინი ათეროსკლეროზს და თრომბოზს იწვევს [Fay, 2008].

ჰიპერჰომოცისტეინემიის მოქმედებით გამოწვეული მიკროსისხლძარღვთა ენდოთელიუმის ფუნქციის მოშლა კარგად არ არის შესწავლილი, თუმცა ცნობილია, რომ დარღვევები ძირითადად აღმოცენდება პერიფერიულ ცირკულაციაში.

ენდოთელური უჯრედების დისფუნქცია, როგორც წესი, თან სდევს მრავალი სახის კარდიოვასკულურ დაავადებას [Tousoulis et al., 2012]. დადგენილი იყო, რომ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას ფუნქციის დარღვევა ან/და აზოტის ოქსიდის მოწოდების შემცირება შეიძლება გახდეს მრავალი კლინიკური მანიფესტაციის მიზეზი პაციენტებში, რომელთაც ენდოთელური დისფუნქცია გააჩნიათ [Schulman et al., 2006; Tousoulis et al, 2012]. ეს მოსაზრება მიუთითებს, რომ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზა შესაძლოა ჰიპერჰომოცისტეინემიის გავლენას განიცდიდეს.

მართალია არაპირდაპირი გზით, მაგრამ დადასტურდა ჰომოცისტეინის ინჰიბიტორული ეფექტი ენდოთელური უჯრედებიდან აზოტის ოქსიდის გამოთავისუფლებაზე. თუ გავითვალისწინებთ ლიტერატურაში არსებულ ხანგრძლივ დისკუსიას ჰომოცისტეინის შესაძლო როლის შესახებ ათეროსკლეროზის განვითარებაში [Tehlivets, 2011], მაშინ ზემოაღნიშნული ფაქტები მიუთითებს, რომ აზოტის ოქსიდის ბიორესურსის შემცირებამ და eNOS-ის აქტიობის დაქვეითებამ უნდა გამოიწვიოს ენდოთელური უჯრედების დისფუნქცია, რაც მნიშვნელოვნად გასაგებს ხდის კარდიოვასკულური გართულებების განვითარებას.

აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) სამივე ძირითადი იზოფორმით (ენდოთელური - eNOS, ნეირონული - nNOS და ინდუციბელური - iNOS) წარმოებული აზოტის ოქსიდის (NO) უაღრესად მნიშვნელოვანი როლი აკისრია გულ-სისხლძარღვთა ფუნქციობაში. ამასთან ერთად, ის ავლენს სასარგებლო ეფექტებს ორგანიზმში, აქვს რა ანტიბაქტერიული, ანტიპარაზიტული, ანტივირუსული, თუმოროციდული, ორგანიზმის მთელ რიგ ფუნქციათა მარეგულირებელი მოქმედება, მაგრამ, მეორე მხრივ, მისი მაღალი დონე, თუ ის არაკონტროლირებადია, შესაძლოა დამღუპველი აღმოჩნდეს [Yen et al., 2002].

გამომდინარე ზემოქმულიდან, მიზანშეწონილად ჩავთვალეთ ჩამოგვეყალიბებინა საკუთარი კვლევის შემდეგი ***მიზანი*** **და** ***ამოცანები:*** თეთრ ვირთაგვებზე *in vitro* და *in*

vivo კვლევებში დაგვედგინა აზოტის ოქსიდის როლი ჰიპერჰომოცისტეინემიით განპირობებული არტერიული ვაზომოტორული რეაქციების დარღვევაში, კერძოდ:

- როგორ იცვლება საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიანი ცხოველების არტერიოლების ნორმალური და დეენდოთელიზებული სეგმენტების კონტრაქტილობა ნორადრენალინზე, აცეტილქოლინსა და ჰისტამინზე.
- როგორ იცვლება საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიანი ცხოველების არტერიოლების ნორმალური და დეენდოთელიზებული სეგმენტების კონტრაქტილობა ნორადრენალინზე, აცეტილქოლინსა და ჰისტამინზე აზოტის ოქსიდის სინთაზების არასელექციური ინჰიბიციის პირობებში.

ჩატარებული კვლევის შედეგად დადგინდება:

ვითარდება თუ არა ენდოთელური აზოტის ოქსიდის ბიორესურსის მოშლა ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს

უნდა განვიხილოთ თუ არა ენდოთელური დისფუნქცია, როგორც ერთ-ერთი ადრეული კომპონენტი იმ კომპლექსური მოვლენებისა, რომელთაც ადგილი აქვს სისხლძარღვთა დაავადებათა განვითარების პროცესში და წარმოადგენს თუ არა დამაკავშირებელ რგოლს ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და ათეროთრომბულ დაავადებებს შორის.

ასოცირებს თუ არა ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატება ნორადრენალინით გამოწვეული ვაზოკონსტრიქციის გაძლიერებასთან და აცეტილქოლინით გამოწვეული ვაზოდილატაციის შემცირებასთან, რაც უნდა უკავშირდებოდეს აზოტის ოქსიდით განპირობებული არტერიული ვაზომოტორული რეაქციების მოშლას.

გასაგებია, რომ აღნიშნული საკითხების დადგენას აქვს არა მარტო თეორიული, არამედ უაღრესად დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობაც.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა

გულ-სისხლძარღვთა სისტემის დაავადებები წარმოადგენს სიკვდილიანობის ერთ-ერთ ძირითად მიზეზს მთელს მსოფლიოში. ნახევარზე მეტს იმ ადამიანებიდან, რომლებიც მოულოდნელად კვდებიან მიოკარდიუმის მწვავე ინფარქტის გამო, ადრე არ აღენიშნებოდათ რაიმე სიმპტომები. ამიტომ, ამ დაავადების განვითარების პრევენციისთვის დიდი მნიშვნელობა უნდა მიენიჭოს ფარული მზაობის დროულ დიაგნოსტირებას.

წლების განმავლობაში გულის იშემიური დაავადების დიაგნოსტიკა ემყარებოდა ლიპიდური ცვლისა და ჰემოსტაზის მაჩვენებლების განსაზღვრას, მაგრამ ბოლო დროის ლიტერატურაში გაჩნდა მითითებები, რომ მიოკარდიუმში ათეროსკლეროზული და თრომბოზული პროცესების განვითარებას ხელს უწყობს “ახალი რისკ-ფაქტორი” - სისხლის შრატში ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მომატება, რაც ზოგიერთი ავტორის მიერ ლეტალური გამოსავლის პროგნოზულ მარკერადაც კი მიიჩნევა. თუმცა, ეს საკითხი ბოლომდე დაზუსტებული არ არის და შემდგომ შესწავლას მოითხოვს [Шевченко и др., 2002; Шевченко, 2004; Aviv al., 2002; Costa et al; 2003; Defesche et al., 2003; Osi, Leiv, 2002].

ჰომოცისტეინის, როგორც სისხლძარღვთა დაავადების ერთ-ერთი რისკ ფაქტორის იდენტიფიკაცია, დაიწყო 1964 წელს, როდესაც Mudd-იმ აჩვენა, რომ ჰომოცისტეინის აკუმულაცია სისხლში და შემდგომ შარდში, რასაც განაპირობებს ცისთატიონინ ბეტა-სინთაზა ფერმენტის დეფიციტი, იწვევს ჰომოცისტეინურიას [Mudd, 1964]. ამ აღმოჩენის შემდეგ McCally-მ [McCully, 1971] აღწერა პაციენტებში აღნიშნული ფერმენტის დეფიციტის შედეგად განვითარებული არტერიული სისხლძარღვების დაზიანებანი, რის საფუძველზეც მან დაასკვნა, რომ ჰომოცისტეინი თავისთავად ან მისი ერთ-ერთი დერივატი განაპირობებს არტერიულ დაზიანებას. ამან, თავის მხრივ, საფუძველი ჩაუყარა ჰიპოთეზას, რომლის მიხედვით ჰომოცისტეინის ზომიერი მატება სისხლში შესაძლოა გახდეს ათეროსკლეროზის განვითარების რისკ ფაქტორი [McCully, Wilson, 1975].

პირველად ეს ჰიპოთეზა შეამოწმეს Wilcken and Wilcken [1976], რომლებმაც აჩვენეს, რომ კორონარულ არტერიებთან დაკავშირებული პრობლემების მქონე პაციენტებს ჯანმრთელ პირებთან შედარებით გამოხატული აქვთ ჰომოცისტეინის მეტაბოლიზმის დარღვევა.

შემდეგში ჩატარებული მრავალი ეპიდემიოლოგიური გამოკვლევით დადასტურდა, რომ პლაზმაში ტოტალური ჰომოცისტეინის დონის მატება გავრცელებული მოვლენაა ინსულტიან და მიოკარდის ინფარქტგადატანილ პაციენტებში, აგრეთვე პერიფერიული სისხლძარღვების დაავადებებისა და ვენური თრომბოზების დროს [Eikelboom et al.,1999].

მნიშვნელოვანი კავშირი ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და კლინიკურ კარდიოვასკულურ შემთხვევებს შორის მრავალ ფუნდამენტურ ნაშრომშია აღწერილი, თუმცა გვხვდება ისეთი სტატიებიც, სადაც ასეთი კავშირი უარყოფილია [Eikelboom et al., 1999]. ამის მიუხედავად, ჰიპერჰომოცისტეინემია დღეს განიხილება, როგორც ათეროსკლეროზული ვასკულური დაავადების დამოუკიდებელი რისკ-ფაქტორი [Boers, 2000].

რა არის ჰომოცისტეინი და რა უდევს საფუძვლად მასთან ასოცირებულ კარდიოვასკულურ დარღვევებს?

ჰომოცისტეინი არის გოგირდშემცველი ამინომჟავა, რომელიც არ გამოიყენება ცილის სინთეზში. ჰომოცისტეინს საკვები შეიცავს მიკროელემენტების სახით. იგი წარმოიქმნება შეუცვლელი ამინომჟავას მეთიონინის ცისტეინამდე მეტაბოლიზირების დროს. მისი უჯრედშიდა კონცენტრაცია პრეციზიულად რეგულირდება, ხოლო ჭარბი რაოდენობა გადაიტანება პლაზმაში, სადაც თითქმის 99% დისულფიდამდე ოქსიდაციას განიცდის. ჰომოცისტეინის უდიდესი რაოდენობა (დაახლოებით 70%) დაკავშირებულია ცილებთან. არაცილოვანი ნაწილი შეიცავს ჰომოცისტინს (ჰომოცისტეინის დისულფიდი) და შერეულ დისულფიდებს. სისხლის პლაზმაში მხოლოდ 1%-ია ე.წ. “თავისუფალი” ჰომოცისტეინი. ცნება “ტოტალური ჰომოცისტეინი” გულისხმობს პლაზმაში ჰომოცისტეინის ყველა აღნიშნულ ფორმას ერთად აღებულს [Mudd, 1964; Mudd et al., 2000; Mudd et al., 1985]].

ჰიპერჰომოცისტეინემია განისაზღვრება, როდესაც პლაზმაში ჰომოცისტეინის დონე აღემატება 15 მკმოლ/ლ-ს. მას მრავალგვარი ეტიოლოგია გააჩნია: გენეტიკური, თირკმელების უკმარისობა, გარკვეული წამლების მიღება ან საკვებში ვიტამინების B6 და B12 დეფიციტი და სხვ. [Selhub, 1999]. პლაზმაში ჰომოცისტეინის ზომიერი მატებაც კი 10-15 მკმოლ/ლ-ის ფარგლებში (ანუ ნორმასა და მაღალ დონეს შორის) ზრდის კარდიოვასკულურ დარღვევათა აღმოცენების რისკს [Eikelboom, et al., 1999].

ხანდაზმული ასაკი და მამრობითი სქესი ასოცირებს ტოტალური ჰომოცისტეინის მაღალ დონეებთან (სქესობრივი თავისებურება განპირობებულია იმით, რომ მამაკაცებში კუნთების უფრო დიდი მასის ფორმირება კავშირშია ჰომოცისტეინის ფორმირებასთან) [Norlund et al., 1998]. რიგ ნაშრომებში ნაჩვენებია B ჯგუფის ვიტამინების მნიშვნელოვანი როლი ჰომოცისტეინის მეტაბოლიზმში.

ჩამოთვლილ ფაქტორებთან ერთად გარკვეული მნიშვნელობა ენიჭება აგრეთვე ცხოვრების წესს. ჭარბი კოფეინი, თამბაქო, ალკოჰოლი, ფიზიკური დატვირთვა ზრდის ჰომოცისტეინის შემცველობას სისხლში.

ზოგადად, შეიძლება ითქვას, რომ ქოლესტერინი, მაღალი სისტოლური და დიასტოლური წნევა, ცხიმის დაგროვება მაინცდამაინც ყოველთვის ძლიერად არ ასოცირებს ჰომოცისტეინის მაღალ კონცენტრაციებთან [de Bree et al., 2001, 2002]. მოსახლეობის გარკვეულ ჯგუფებში ტოტალური ჰომოცისტეინის მატება პლაზმაში ხშირად უკავშირდება ამა თუ იმ დაავადების გამო მიღებულ სამკურნალო ნივთიერებებს და თვით ამ დაავადების სპეციფიკას.

წამლებში პირველ რიგში იგულისხმება სტეროიდული ჰორმონები, ანტიეპილეფსიური პრეპარატები, მეტოტრექსატი, აზოტის ჟანგი და სხვ., ხოლო დაავადებებში – თირკმელების დისფუნქცია, პროლიფერაციული დაავადებანი, რევმატოიდული ართრიტი, ენდოკრინული და ნაწლავური დაავადებანი და სხვ. [Arnadottir and Hultberg, 2001; Refsum and Ueland, 1990, 1998; Schneede et al., 2000; van Ede et al., 2001.

პირველი და უტყუარი მტკიცებულება იმისა, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის მომატებული კონცენტრაცია წარმოადგენს კაუზალურ რისკ ფაქტორს ათეროთრომბული დაავადებისთვის, მიღებული იყო პაციენტებისგან, რომლებსაც გამოეკვეთათ თანდაყოლილად დარღვეული ჰომოცისტეინის მეტაბოლიზმი.

თუ გენეტიკურად განსაზღვრული ცისტათიონინ ბეტა-სინთაზას დეფიციტიან პაციენტებს არ ვუმკურნალებთ, მათგან დაახლოებით ნახევარს 30 წლის ასაკის მიღწევამდე გულ-სისხლძარღვთა სისტემაში დარღვევები უვითარდებათ [Mudd S.H., Levy, 1995; Mudd et al., 2000]. ჰომოცისტეინის მეტაბოლიზმის სხვა სახის მემკვიდრეობითი დეფექტის შემთხვევაშიც დაავადებანი გულ-სისხლძარღვთა სისტემაში ძალიან ადრეულ ასაკში იჩენს თავს [Rosenblatt, 1989]. ორივე შემთხვევაში დამახასიათებელი საერთო ნიშანია ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მნიშვნელოვანი მატება. თუ ასეთი ტიპის პაციენტებს დროულად ჩავუტარებთ ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის დამწევ თერაპიას (ფოლიუმის მჟავა, ვიტამინი B12, ვიტამინი B6), მოხდება აღნიშნულ დაავადებათა პრევენცია [Yap et al., 2000], მაგრამ მიუხედავად ამისა, 60 წლის ასაკამდე მაინც მაღალია შანსი მათ განუვითარდეთ დარღვევები კორონარულ სისხლძარღვთა სისტემაში.

2002 წელს ჩატარებულმა დიდი მასშტაბის რაოდენობრივმა გამოკვლევამ [Ford et al., 2002] აჩვენა, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატებასთან ასოცირებული კორონარულ სისხლძარღვთა დაავადების რისკის მატება ყოველი ზედმეტი 5 მიკრომოლისთვის შეადგენს 20%-ს.

მაღალი რისკის მქონე პირთა ჯგუფის გამოკვლევის შედეგად დადგინდა, რომ სისხლში ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია არის კარდიოვასკულური დაავადების და მოსალოდნელი სიკვდილიანობის უაღრესად ძლიერი პრედიქტორი [Nygård et al.,1997].

მნიშვნელოვან ინფორმაციას იძლევა აგრეთვე პაციენტებზე დაკვირვების ხანგრძლივობა. ორ განსხვავებულ კვლევაში ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციასა და კორონარულ სისხლძარღვთა დაავადების რისკის [Stehouwer et al.,1998] ან კარდიოვასკულურ სიკვდილიანობას შორის [Kark, SelhubJ, Adler, 1999]

ასოციაცია ბევრად უფრო ძლიერი გამოდგა დაავადების პირველი 5 წლის განმავლობაში. ეს შედეგი აჩვენებს, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის მაღალი კონცენტრაცია კორონარულ სისხლძარღვთა დაავადებისთვის უნდა განვიხილოთ, როგორც მოკლევადიანი რისკ ფაქტორი. ეს მოსაზრება სხვა კვლევებითაც დადასტურდა. 5-წლიანი დაკვირვების შემდეგ კორონარულ სისხლძარღვთა დაავადების მნიშვნელოვნად მაღალი რისკი გამოვლინდა ტოტალური ჰომოცისტეინის გაზრდილი კონცენტრაციის მქონე ადამიანებში [Stanger et al., 2006], მაგრამ თუ გავცდებით 5-წლიან ზღვარს, რისკის დონე მნიშვნელოვნად ქვეითდება [Chasan-Taber et al., 1996]. უფრო მეტიც, იგივე ტიპის კვლევაში 9 წლის დაკვირვების შემდეგ ჰომოცისტეინის კონცენტრაციასა და მიოკარდიუმის ინფარქტის განვითარების რისკს შორის ვერ იქნა ნანახი რაიმე ასოციაცია [Verhoef et al.,1995, 1996, 1997]. ამ ხანგრძლივი დაკვირვების მონაცემებიდან გამომდინარე, ლოგიკურია დავასკვნათ, რომ ეფექტი მიიღწევა ან ჩატარებული სამედიცინო მკურნალობით, ან/და დიეტის და ცხოვრების წესის შესაძლო შეცვლით.

ამდენად, თუ შევაჯამებთ კორონარულ სისხლძარღვთა დაავადების რისკის ასოციაციას ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციასთან, უნდა დავასკვნათ, რომ ეს რისკი პირველი 5 წლის განმავლობაში მაღალია ასაკოვან პაციენტებში და განსაკუთრებით მათთვის, ვისაც უკვე აქვს ასეთი დაავადება. შეიძლება ვიფიქროთ ისიც, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატება არის კორონარული დაზიანების ხარისხის თავისებური მარკერი [de Bree et al.,2002].

ვლინდება აგრეთვე ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატების კავშირი კოაგულაციური და ფიბრინოლიზური პროცესების დარღვევებთან. ეპიდემიოლოგიური მონაცემებით მიღებულია კორელაცია იგივე ფაქტორისა და ვენური თრომბოზების ჩამოყალიბების რისკის ზრდას შორის [den Heijer et al., 1998; Ray, 1998].

განსხვავებულ კონტინგენტზე ჩატარებულმა სამმა სხვადასხვა კვლევამ (ჯანმრთელი პირები [Ridker et al., 1997], სისტემური წითელი მგლურათი დაავადებულები [Petri et al., 1996] და ვენური თრომბოზებით დასნეულებული პირები [Eichinger, Stumpflen, Hirsch, 1998l]) აჩვენა დადებითი კორელაცია ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციასა და

ვენური თრომბოზების განვითარებას შორის. უფრო მეტიც, როგორც ირკვევა, სწორედ თრომბული დაავადებანი არის სისხლძარღვოვანი გართულებების ძირითადი გამოვლინება ცისტათიონინ ბეტა-სინთაზას დეფიციტიან პაციენტებში [Mudd, 1985]. ის რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია უფრო მეტად თრომბოგენური ფაქტორია, ვიდრე ათეროგენური, ეს კორონარულ სისხლძარღვთა პათოლოგიის თვალთახედვით არავითარ შეღავათს არ იძლევა, რადგან მას ორივე სახის ეტიოლოგია ახასიათებს.

ითვლება, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის პირველადი თრომბოგენური ეფექტით შეიძლება აიხსნას მისი მაღალი რისკიანობა კორონარულ გულ-სისხლძარღვთა დაავადების მქონე პაციენტებისთვის. ვინაიდან ამ კონტინგენტს უკვე გააჩნია გარკვეული ხარისხის ათეროსკლეროზი, ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციით ინდუცირებული თრომბოზი შეიძლება კატასტროფული აღმოჩნდეს სისხლძარღვთა ოკლუზიის თვალთახედვით [de Bree et al., 2002].

როგორც უკვე აღინიშნა, McCally-მ ჩამოაყალიბა ჰიპოთეზა, რომ ჰომოცისტეინემია თავისთავად არის არტერიული დაზიანებების ძირითადი მიზეზი [McCully, 1969]. მიუხედავად მრავალი *in vitro* და *in vivo* კვლევებისა, რომლებიც მიეძღვნა ამ ჰიპოთეზას, მექანიზმი, რომლის მეშვეობით ჰიპერჰომოცისტეინემია ხელს უწყობს ვასკულური დაზიანების განვითარებას, დღემდე უცნობია. ის რაც დადგენილია. შეიძლება მოკლედ ჩამოყალიბდეს შემდეგნაირად.

1. *In vitro* კვლევები აჩვენებს, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის გაზრდილი კონცენტრაცია მოქმედებს ენდოთელურ უჯრედებზე. მათი დაზიანება, თრომბოციტების აქტივაცია, საზიანო მოქმედება თრომბომოდულინის ექსპრესიაზე, C-ცილის აქტივაცია, ქსოვილოვანი ფაქტორის გააქტივება, დაბალი სიმკვრივის მქონე ლიპიდურ ცილებში გაძლიერებული ოქსიდაციულობა – აი ის ნუსხა, რომელთაგან ნებისმიერი შეიძლება ჩაითვალოს შესაძლო მექანიზმად, რომლის მეშვეობით ჰომოცისტეინი იწვევს ათეროსკლეროზს და თრომბოზს [Cobbaert et al., 1997;, Fryer et al.,1993; Lentz, Sadler, 1991; Rodgers and Conn, 1990; Starkebaum and Harlan, 1986; Vychytil

et al., 1998]. გარდა ამისა, არის მონაცემები, რომ ჰომოცისტეინი უარყოფითად მოქმედებს გლუვკუნთოვან უჯრედებზე და იწვევს მათი პროლიფერაციის მატებას [Lubec et al., 1996; Toyoda et al., 1997; Tsai et al., 1996].

2. ჰომოცისტეინურიის მქონე პაციენტების კვლევამ ნაწილობრივად გაარკვია შესაძლო მექანიზმის საკითხი. კერძოდ, შესწავლილი იყო 11 პაციენტი, რომლებსაც აღენიშნებოდათ ცისტათიონინ ბეტა-სინთაზას დეფიციტი. მათ აღმოაჩნდათ თრომბოციტული აქტივაციის ნიშნები, მაგრამ ეს აქტივაცია ატარებდა თუ არა ეტიოლოგიურ ხასიათს და იყო თუ არა მხოლოდ მეორადი ფენომენი – დარჩა გაურკვეველი. ერთ-ერთი პოტენციური მექანიზმი, რომელსაც მივყავართ თრომბოციტულ აქტივაციამდე, არის დაბალი სიმკვრივის ლიპიდური ცილების გაძლიერებული ოქსიდაცია. მაგრამ ჰომოცისტეინურიით დაავადებულებში არ იქნა გამოვლენილი ლიპიდური პეროქსიდაცია [Blom, et al., 1995]. ჰომოცისტეინურიას შესაძლოა ჰქონდეს მინიმუმ ოთხი სხვადასხვა მიზეზი: კლინიკურად პაციენტებს ახასიათებს ჰომოცისტეინის გაზრდილი დონე შარდსა და შრატში; ნევროლოგიური აშლილობანი (გონებრივი ჩამორჩენა, ეპილეფსია, ფსიქიკური მოვლენები); თრომბოემბოლური დაავადებანი; თრომბოციტების გაზრდილი აგრეგაცია [Atkinson, 1997].

3. უკანასკნელ პერიოდამდე კარდიოვასკულურ სისტემაზე ჰიპერჰომოცისტეინემიის უარყოფით გავლენის ანალიზი ორიენტირებული იყო უფრო მეტად ვასკულურ ფუნქციაზე, ვიდრე ათეროსკლეროზზე. მაკკალიმ თავის ძირითად პუბლიკაციაში, განსხვავებით ტიპური ათეროსკლეროზული დაზიანებისგან, აღწერა სისხლძარღვოვანი დაზიანება, როგორც “ფიბროზული” ან “ფიბროკალცინოზური” [McCully, 1969; 1971]. უფრო მეტიც, ჰიპერჰომოცისტეინემიის ექსპერიმენტული მოდელების უმეტესობა არ ითვალისწინებს ათეროსკლეროზულ დაზიანებებს [Watanabe et al., 1995]. რა თქმა უნდა, საკმარისი რაოდენობითაა ნაშრომები, სადაც იხილავენ სისხლძარღვთა სწორედ ფუნქციურ დარღვევებს. ასეთებია ენდოთელიუმ-დამოკიდებული ვაზომოტორული პასუხების მოშლა ექსპერიმენტული ჰომოცისტეინემიის დროს სხვადასხვა სახის ცხოველებში, მათ შორის პრიმატებში [Lentz et al., 1996; 2000], ვირთაგვებში [Ungvari,

1999] და თაგვებში [Eberhardt et al., 2000; Lentz et al., 2000]. მწვავე ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს ადამიანებშიც ვხვდებით დარღვეულ ენდოთელიუმ-დამოკიდებულ ვაზორელაქსაციას [Kanani et al., 1999]. ასეთი მონაცემები ნათლად მოწმობს, რომ ჰიპერჰომოცისტეინემია უშუალოდ კი არ იწვევს ათეროსკლეროზის განვითარებას, არამედ იგი ისე არღვევს სისხლძარღვთა ფუნქციობას, რომ იზრდება ათეროსკლეროზული გართულებების რისკი.

ორი, შედარებით ახალი ნაშრომი [Hofmann et al., 2001; Zhou et al., 2001] კითხვის ქვეშ აყენებს ამ მოსაზრებას, რადგან ავტორები აჩვენებენ, რომ პლაზმაში ტოტალური ჰომოცისტეინის ზომიერი მატება აჩქარებს ათეროსკლეროზული დაზიანების განვითარებას თაგვების ისეთ გენეტიკურ ხაზში, რომელთაც ხუთჯერ აქვთ გაზრდილი პლაზმური ქოლესტერინის შემცველობა და რომელთაც სპონტანურად უვითარდებათ ათეროსკლეროზული დაზიანებები. ჰოფმანმა და მისმა კოლეგებმა ნახეს, რომ ამ ხაზის თაგვების 8 კვირის განმავლობაში გადაყვანამ ჰიპერჰომოცისტეინემიის დიეტაზე გამოიწვია აორტის ათროსკლეროზული დაზიანება, რომელიც თავისი სიმძიმით და მასშტაბით ბევრად აჭარბებდა ასეთივე დაზიანებას ნორმალური დიეტის დროს [Hofmann et al., 2001]. იმავე წელს ეს მონაცამები დადასტურდა და გაღრმავდა სხვა ავტორების მიერაც [Zhou et al., 2001]. თაგვების გარკვეული ნაწილი მათ გადაიყვანეს მაღალცხიმოვან დიეტაზე, ხოლო დანარჩენებს ზომიერი ჰიპერჰომოცისტეინემიის გამოსაწვევად დამატებით აძლევდნენ მეთიონინს ან ჰომოცისტეინს. 3 თვის შემდეგ თაგვებს, რომლებიც ჰიპერჰომოცისტეინემიის დიეტაზე იყვნენ, სხვებთან შედარებით აორტაზე ჩამოუყალიბდათ მნიშვნელოვნად უფრო დიდი ათეროსკლეროზული დაზიანება. ამ ორ ნაშრომში მიღებული შედეგების მსგავსება ფრიად მნიშვნელოვანია იმ მხრივაც, რომ ავტორებმა გამოიყენეს განსხვავებული მიდგომა დიეტის შედგენისას, მაგრამ ორივე შემთხვევაში პლაზმაში ტოტალური ჰომოცისტეინის შემცველობა დაახლოებით ერთნაირი იყო (36-47 მკმლ/ლ).

ითვლება, რომ ორივე კვლევა [Hofmann et al., 2001; Zhou et al., 2001] წარმოადგენს ჰიპერჰომოცისტეინემიის პათოფიზიოლოგიური მექანიზმების ახსნის ძირითად წყაროს,

ვინაიდან ავტორებმა აჩვენეს ჰიპერჰომოცისტეინემიის ათეროგენურობა, თუნდაც სხვა პოტენციური რისკ ფაქტორების არსებობის პირობებში.

4. როგორც უკვე აღინიშნა, რიგ კვლევებში აქცენტირებულია, რომ პლაზმაში ტოტალური ჰომოცისტეინის მატება ასოცირდება სისხლძარღვთა ფუნქციის ოკლუზიურ მოშლასთან (თრომბოზი, ინსულტი). შემოთავაზებულია რამდენიმე მექანიზმი, რომელთა მეშვეობით ჰიპერჰომოცისტეინემიას შეუძლია განავითაროს თრომბოგენური აქტივობა [D'Angelo, Selhub, 1997]. ერთ-ერთი ასეთი მექანიზმი უკავშირდება ჰომოცისტეინის ხსნადობას. კერძოდ, ნაჩვენებია, რომ ნეიტრალური pH-ის პირობებში დისულფიდური ჰომოცისტეინის ხსნადობა ძალიან დაბალია [Brenton et al, 1965 a, b] და უახლოვდება (ან უფრო დაბალიც არის) ცისტინის ხსნადობას. აქედან გამომდინარე ითვლება, რომ შესაძლოა სისხლძარღვთა ისეთი დაავადების ფორმირება, რომლის განვითარების პროცესი ემსგავსება ცისტინის პრეციპიტაციის პროცეს (რომლის შედეგად ადგილი აქვს კრისტალიზაციას და კენჭების ფორმირებას).

ვინაიდან ნორმალურად პლაზმაში ტოტალური ჰომოცისტეინის თითქმის სრული ოქსიდაცია ხდება [Hankey., Eikelboom, 1999;], ითვლება, რომ დისულფიდური ჰომოცისტეინი შეიძლება დაილექოს ჰომოცისტეინის სწრაფი ოქსიდაციის დროს იმ შემთხვევაში, თუ ამ დისულფიდის რაოდენობა აღემატება გაჯერების კონცენტრაციას. აქედან გამომდინარე, ჰომოცისტეინს სისხლძარღვთა სისტემაში არახსნადი კრისტალების ფორმირება შეუძლია. სავსებით დასაშვებია, რომ სისხლში მოცირკულირე მიკროკრისტალები მოქმედებს, როგორც სისხლძარღვთა კედლის მექანიკური დამზიანებლები [Ragone, 2002]. არ არის გამორიცხული, რომ ჰომოცისტეინით ინდუცირებულ ამ სპეციფიკურ დაზიანებაზე საპასუხოდ ენდოთელიუმში განვითარდეს ფენოტიპური და ფიზიოლოგიური ცვლილებები ანალოგიური იმისა, რასაც ადგილი აქვს სხვადასხვა აგენტების მოქმედებისას (თრომბინი, ციტოკინები, ოქსიდაციური ლიპიდები, ინფექციური აგენტები და სხვ.). სხვაგვარად რომ ვთქვათ, დაზიანებული ენდოთელური უჯრედები ხდება პროთრომბული. ამდენად, ჰომოცისტეინის

ხსნადობასთან დაკავშირებული ენდოთელიუმის თრომბოგენური დაზიანების ჰიპოთეზა უდავოდ დიდ ყურადღებას იმსახურებს.

ცალკე განხილვას საგანია ჰიპერჰომოცისტეინემიისა და რენალური ფუნქციის ურთიერთკავშირი.

შრატის კრეატინინი რენალური ფუნქციის მარკერად ითვლება, რომელიც ამავე დროს არის პლაზმაში ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის ძლიერი დეტერმინანტი [Bostom, Culleton, 1999; Bostom, Lathrop, 1997]. კრეატინინისა და ჰომოცისტეინის კონცენტრაციებს შორის ძალიან მაღალი დადებითი კორელაცია თითქმის ყველა გამოკვლევაში იყო ნაჩვენები. რენალური დაავადებებისას როგორც კრეატინინი, ისე ჰომოცისტეინი მატულობს. უკანასკნელის კონცენტრაციამ შეიძლება 3-5-ჯერ გადააჭარბოს ნორმას [Bostom, Culleton, 1999; Bostom, Lathrop, 1997].

როგორც კლინიკური, ისე ექსპერიმენტული გამოკვლევები აჩვენებს, რომ პლაზმიდან ჰომოცისტეინის თითქმის 70%-ის გამორეცხვა თირკმელებით ხორციელდება [Guttormsen et al, 1993]. რენალური ფუნქციის უაღრესად დიდი მნიშვნელობა პლაზმაში ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის ნორმის ფარგლებში შენარჩუნებისთვის არაერთხელ იქნა დემონსტრირებული [Norlund et al., 1998; Taniwaki et al., 1998**].** ჰომოცისტეინის საშუალო კონცენტრაცია პლაზმაში არის 4 მკმოლ/ლ, იგი 45%-ით მეტია იმ პირებში, რომელთა შრატში კრეატინინის ნორმალური დონეა, მაგრამ გლომერულური ფილტრაციის სიჩქარე დაბალ დიაპაზონშია. უფრო მეტიც, თურმე გლომერულური ფილტრაციის სიჩქარის მიხედვით, შრატში კრეატინინის დონესთან შედარებით, შეიძლება პლაზმაში ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია უფრო დიდი სიზუსტით ვიწინასწარმეტყველოთ **[**Taniwaki et al., 1998]. ამიტომ ითვლება, რომ ჰომოცისტეინისა და გულ-სისხლძარღვთა დაავადებასთან დაკავშირებული მრავალი კვლევის შედეგი პრინციპულად განსხვავებული და უფრო მნიშვნელოვანი იქნებოდა, თუ კრეატინინის ნაცვლად მათში შესწავლილი იქნებოდა გლომერულური ფილტრაციის სიჩქარე [Brattstrom and Wilcken, 2000; Brattstrom et al., 1998].

ჰიპერტენზიით და/ან ათეროსკლეროზით დარღვეული რენალური ფუნქცია პლაზმაში ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატების მნიშვნელოვანი მიზეზი შეიძლება იყოს [Brattstrom and Wilcken, 2000; Brattstrom et al., 1998]. ამის საფუძველს იძლევა ის გარემოება, რომ ათეროგენეზი და გაზრდილი არტერიული წნევა, როგორც წესი, უჩუმრად ვითარდება წლების განმავლობაში და მხოლოდ მოგვიანებით სტადიაზე ავლენს თავს, რაც ხდება განგაშის და კლინიკური ჩარევის მიზეზი. ამ პროცესს ასევე უჩუმრად მივყევართ ნეფროსკლეროზის და რენალური ფუნქციის დარღვევისკენ [Perneger et al., 1993], რაც, თავის მხრივ, მჭიდროდ უკავშირდება პლაზმიდან ჰომოცისტეინის გამორეცხვის საკითხს [*Kasiske, 1987].* ამის გამო, სისხლძარღვოვანი პათოლოგია თავისთავად შეიძლება გახდეს მნიშვნელოვანი ფაქტორი ცირკულირებადი ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატებისა და რენალური ფუნქციის დაქვეითებისთვის [Brattstrom et al., 1998]. ეს კი იმას ნიშნავს, რომ, ვინაიდან რენალური ფუნქცია დაქვეითებულია, პაციენტს ფარული ან კლინიკურად გამოკვეთილი კარდიოვასკულური დაავადების არსებობის და შრატში კრეატინინის ნორმალური კონცენტრაციის გამო, შეიძლება ჰქონდეს ცირკულირებადი ჰომოცისტეინის მომატებული კონცენტრაცია. ამით შეიძლება აგრეთვე აიხსნას გრადუირებული კავშირი პლაზმურ ჰომოცისტეინსა და ათეროსკლეროზის სიმძიმეს შორის.

ფუნდამენტური ეპიდემიოლოგიური, კლინიკური, სტატისტიკური და თანაც დიდ მასალაზე დაფუძნებული კვლევა იძლევა სურათს, რომ ჰომოცისტეინსა და კორონარულ დაავადებათა რისკს შორის არსებობს საკმაოდ მყარი ასოციაცია, მაგრამ მიიჩნევენ, რომ იგი ბევრად უფრო ძლიერად არის გამოხატული ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციასა და ცერებროვასკულურ დაავადებებს შორის [Ford et al., 2002]. თუმცა, გაზრდილი ჰომოცისტეინის დონე ეპიდემიოლოგიურად უკავშირდება ცერებროვასკულურ ინსულტებს, კავშირი ინდივიდუალური პაციენტის დონეზე ნაკლებად არის ნათელი.

ერთ-ერთი საფუძვლიანი, უახლესი ანალიზის ავტორები ცერებროვასკულურ პათოლოგიებში ჰომოცისტეინის როლის შესახებ, 2004 წელს გამოქვეყნებულ

მიმოხილვაში [Sepulveda-Sanches et al., 2004] ასკვნიან, რომ მონაცენები პლაზმური ჰომოცისტეინის დონესა და ცერებროვასკულურ დაავადებებს შორის კავშირზე სავსეა ურთიერთგამომრიცხავი ინფორმაციით. ავტორები იმედოვნებენ, რომ ვიტამინურ თერაპიასთან დაკავშირებული მომავალი შრომები ნათელს მოჰფენს ამ ფრიად მნიშვნელოვან პრობლემას. ბევრად უფრო კატეგორიულია ამ მხრივ საჩდევი [Sachdev, 2004]. მას მიაჩნია, რომ ჰომოცისტეინი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს თავის ტვინში ატროფიული პროცესების განვითარებაში, კოგნიტურ დარღვევებში და, შესაძლოა, ალცჰაიმერის დაავადების განვითარებაშიც. სიდნეიში ჩატარებულ გამოკვლევაში (131 ინსულტიანი პაციენტი და 81 ჯანმრთელი პირი) ავტორმა დაადგინა, რომ ჰომოცისტეინის მაღალი დონე უკავშირდება ინსულტების გაზრდილ სიხშირეს და კოგნიტური დარღვევების სიღრმეს. ავტორი ამტკიცებს, რომ ჰომოცისტეინი ზრდის მიკრო- და მაკროვასკულური დაზიანების ალბათობას. მას მიაჩნია, რომ ჰომოცისტეინის გაზრდილი კონცენტრაციის კორექცია რაც შეიძლება ადრეულ ასაკში უნდა იქნას დაწყებული.

კლინიკური მონაცემები მოწმობს, რომ ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია მცირდება მწვავე კარდიოვასკულური შეტევისას და მატულობს შეტევის შემდეგ [Hultberg et al., 1997; Lindgren et al., 1995; Loehrer et al., 1996]. თუმცა, როგორ იზომებოდა ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია მწვავე შეტევამდე და შეტევის შემდეგ, გაურკვეველია. არის აგრეთვე მონაცემები, რომელთა მიხედვით ათეროსკლეროზული პროცესებით დაზიანებული ენდოთელური უჯრედები ჰომოცისტეინს უშვებს ცირკულაციაში და ამის შედეგად იზრდება ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია [Woo et al., 1997].

ითვლება, რომ კარდიოვასკულური დაავადებისას პრინციპული მნიშვნელობა აქვს სისხლის სინჯების აღების დროს, რადგან შესაძლებელია აბსოლუტურად განსხვავებული შედეგის მიღება იმისდა მიხედვით, თუ დროის რომელ მონაკვეთში იქნა აღებული სისხლი [Ford et al., 2002].

ნანახია, რომ შენახულ სისხლის სინჯში ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია დროში არასტაბილურია, ამიტომ არ არის გასაკვირი, რომ ხანმოკლე კვლევები (რაც ზემოთ უკვე

იყო განხილული) უფრო მჭიდრო კავშირს ამყარებs ჰომოცისტეინის კონცენტრაციასა და დაavადებას შორის, ვიდრე ხანგრძლივი კვლევები [Verhoef et al., 1997]. გასათვალისწინებელია ისიც, რომ გაყინვა-გალღობის პროცესები არ ამახინჯებს ჰომოცისტეინის კონცენტრაციას. ლიტერატურაში მოწოდებული მონაცემების ობიექტურ შეფასებას აფერხებს ისიც, რომ ხშირად არ არის საკმარისი ინფორმაცია გამოყენებული მეთოდური მიდგომის შესახებ. შესაძლოა, რომ ლაბორატორიული მეთოდი არაადეკვატური იყოს, გამომდინარე კვლევის ობიექტის სპეციფიკიდან. ასე, მაგალითად, ავტორები ხშირად არ აქცევენ საჭირო ყურადღებას სისხლის აღების და ანალიზის პროცედურას. საქმე ის არის, რომ სისხლის სინჯის აღების შემდეგ, მაგრამ მისი უჯრედების სეპარაციამდე ადგილი აქვს ტოტალური ჰომოცისტეინის დროსა და ტემპერატურაზე დამოკიდებულ მატებას, ვინაიდან იგი გამოიყოფა ერითროციტებიდან [Andersson et al., 1992]. ოთახის ტემპერატურაზე ტოტალური ჰომოცისტეინი საათში 1 მკმოლ/ლ სიჩქარით მატულობს, რაც არ არის დამოკიდებული მის საწყის კონცენტრაციაზე, ანუ ეს შეესატყვისება საათში კონცენტრაციის 10%-ით მატებას. გამომდინარე აქედან, საჭიროა სისხლის აღებული სინჯის დაუყოვნებელი ცენტრიფუგირება და ერითროციტების სეპარაცია ან სინჯის შენახვა დაბალ ტემპერატურაზე [Ueland, Refsum, 1989; Ueland et al., 1993].

ცნობილია აგრეთვე, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია არ იცვლება ვენური სტაზის ხანგრძლივობაზე დამოკიდებულებით [Rasmussen, Moller, 2000]. ზურგზე მწოლიარე ავადმყოფისგან აღებულ სისხლში ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია დაახლოებით 10%-ით უფრო ნაკლებია, ვიდრე იგივე პაციენტიდან მჯდომარე მდგომარეობაში აღებულ სისხლში, ალბათ იმიტომ, რომ პლაზმური ალბუმინი (რომელსაც უკავშირდება ჰომოცისტეინი) დაქვეითებულია ზურგზე წოლის პირობებში [Rasmussen, Moller, 2000]. არ არის გამორიცხული, რომ სწორედ ამ ფენომენს აქვს ადგილი, როდესაც მიოკარდიუმის ინფარქტის შემდეგ მწვავე ფაზაში ფიქსირდება ტოტალური ჰომოცისტეინის დაბალი დონე, ხოლო 2-3 თვის შემდეგ კი - უფრო მაღალი [Lindgren et al., 1995].

ამრიგად, თუ შევაჯამებთ ჰომოცისტეინის კონცენტრაციისა და კორონარულ სისხლძარღვთა მდგომარეობის ურთიერთკავშირს, ეჭვგარეშეა, რომ ჰომოცისტეინის მეტაბოლიზმის მნიშვნელოვანი თანდაყოლილი დარღვევა პაციენტებში იწვევს გულის კორონარულ სისხლძარღვთა დაავადებას. როდესაც ლაპარაკია ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის ზომიერ მატებაზე და მისგან შექმნილ საფრთხეზე, უნდა გავითვალისწინოთ, რომ ეს ეხება იმ პაციენტებს, რომლებიც განეკუთვნებიან მაღალი რისკის მქონე პირებს, მაგალითად თუ სიტუაცია დამძიმებულია დიაბეტით ან წარსულში კორონარულ სისხლძარღვებთან დაკავშირებული პრობლემებით და ა.შ. ამასთან ერთად, ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია შეიძლება განვიხილოთ, როგორც სისხლძარღვთა სისტემის დაავადების სიმძიმის თავისებური მარკერი. არსებული ეპიდემიოლოგიური მონაცემები არ მოწმობს, რომ ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის ზრდა საშიშია ჯანმრთელი პირებისთვის, მაგრამ მისი დაქვეითება ფოლიუმის მჟავით და ვიტამინ B6 გამოყენებით დადებით გავლენას მოახდენს ათეროსკლეროზის განვითარების პრევენციის საქმეში [Vermeulen, et al., 2000].

საკითხი იმის შესახებ, თუ ჰომოცისტეინის როგორი კონცენტრაციაა სასურველი – პრაქტიკულად ღიაა. დადგენილია გარკვეული დოზა-რეაქციის დამოკიდებულება ჰომოცისტეინის კონცენტრაციასა (დაბალი საზღვრებიდან 20 მკმოლ/ლ-მდე) და კარდიოვასკულური პათოლოგიების განვითარების რისკს შორის [Refsum et al., 1998]. ზოგი ექსპერტის აზრით, ტოტალური ჰომოცისტეინის დონე არ უნდა აღემატებოდეს 10 მიკრომოლ/ლ [Malinow et al.,1989; 1999; , Ubbink, 2001]. თუ ამ რიცხვებს ნორმად მივიღებთ, მაშინ მოსახლეობის 30-50% აღმოაჩნდება ”ჰიპერჰომოცისტეინემია”. ეს პროცენტი ბევრად გაიზრდება, თუ ცალკე ავიღებთ ასაკოვან და გულ-სისხლძარღვთა პრობლემების მქონე პოპულაციას.

უფრო რეალისტურად უნდა ჩაითვალოს 13-15 მკმოლ/ლ, რის ზემოთ მნიშვნელოვნად მატულობს კარდიოვასკულური გართულებების რისკი [Christen et al., 2000; Vollset et al., 2001]. შედარებით ზუსტი რეკომენდაციები ტოტალური ჰომოცისტეინის სასურველი კონცენტრაციის შესახებ დადგინდება შესაბამისი კლინიკური კვლევების შემდეგ.

ზოგადად კი, კიდევ ერთხელ უნდა აღინიშნოს, რომ განხილული პრობლემა ატარებს დიდად კონტროვერსიულ ხასიათს იმის თაობაზე, თუ როდის და რა ტესტი უნდა ჩაუტარდეს პაციენტს და რაც უფრო მნიშვნელოვანია – როგორ გამოვიყენოთ შემდეგ ამ ტესტით მიღებული მონაცემები.

ალბათ, საინტერესო იქნება იმ კლინიკური რეკომენდაციების მოტანა რომელზეც კონსენსუსის სახით შეთანხმდა მკვლევარების შედარებითი უმრავლესობა [Refsum and Ueland, 1990]:

- ტოტალური ჰომოცისტეინის გაზომვა ფარTო მოსახლეობაში კარდიოვასკულური გართულებების რისკის გამოვლენის მიზნით არ არის რეკომენდებული;
- კარდიოვასკულური გართულებების მქონე ახალგაზრდა პაციენტებში (40 წლის ასაკამდე) უნდა გაიზომოს ტოტaლური ჰომოცისტეინი, რათა გამოირიცხოს ჰომოცისტeინურია;
- კარდიოვასკულური გართულებების მაღალი რისკის მატარებელ პირებში ტოტალური ჰომოცისტეინის მაღალი კონცენტრაცია უნდა განიხილებოდეს, როგორც პროგნოსტიკური ფაქტორი მოსალოდნელი შეტევისა, შესაძლო ლეტალური გამოსავლის თვალთახედვით;
- კარდიოვასკულური გართულებების მქონე პაციენტები, რომელთა ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია აღემატება 15 მიკრომოლ/ლ-ს, შეადგენენ მაღალი რისკის მატარებელ ჯგუფს; მათთვის განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია მისდიონ ჯანმრთელი ცხოვრების წესს და გამომდინარე მათი კონკრეტული მდგომარეობიდან, მიიღონ ადეკვატური და ოპტიმალური მკურნალობა;
- ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის გაზრდილ დონეს, გართულებულს ვიტამინების თანდართული დაბალი კონცენტრაციით,

უნდა ვუმკურნალოთ, როგორც ვიტამინების დეფიციტით გამოწვეულ პათოლოგიას, თუმცა სხვა მიზეზებიც უნდა იქნას განხილული.

მრავალ ეპიდemიოლოგიურ კვლევაში ნაჩვენებია ასოციაცია პლაზმაში მომატებულ ჰომოცისტეინსა და სისხლძარღვთა ათეროსკლეროზულ დაავადებებს შორის [Clarke et al., 1991; Malinski et al., 1993; Ueland et al., 1993]. ათეროსკლეროზული და თრომბული გართულებები მემკვიდრეობითი ჰიპერჰომოცისტეინემიის ფორმის დროს (როდესაც მისი დონე აღემატება 10 მკმოლ/ლ-ს) პირველად აღწერილი იყო მეოცე საუკუნის სამოციანი წლების დასასრულს [McCully et al.,169; 1971]. დადგენილია, რომ ზომიერი ჰიპერჰომოცისტეინემია (16 მკმოლ/ლ-ის ფარგლებში) ვლინდება მიოკარდიუმის ინფარქტიან და პერიფერიულ სისხლძარღვთა დაავადების მქონე პაციენტების დაახლოებით 30%-ში [Stampfer et al.,1992; Stampfer MJ, Malinow, 1995]. მექანიზმი, რომელიც მონაწილეობს გაზრდილი ჰომოცისტეინით გამოწვეულ სისხლძარღვთა კედლების დაზიანებაში და, ალბათ, შესაძლოა ხელს უწყობს ათეროთრომბოზს, არ არის გარკვეული. ითვლება, რომ ჰომოცისტეინის მაღალი კონცენტრაცია მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სისხლძარღვთა ენდოთელიუმის დაზიანებაში. სინათლის და ელექტრონული მიკროსკოპიით ჩატარებულ გამოკვლევებში დადგინდა, რომ ჰიპერჰომოცოსტეინემია როგორც ადამიანებში, ისე ცხოველებში მორფოლოგიურ ცვლილებებს იწვევს ენდოთელიუმში [Harker et al., 19768].

ჰიპერჰომოცისტეინემიის მქონე პაციენტებში დარღვეულია რეაქტიულ ჰიპერემიასთან ასოცირებული ვაზოდილატაცია [Celemajer et al., 1993; Tawakol et al., 1997], თანაც ირღვევა ენდოთელიუმზე დამოკიდებული მექანიზმის ფუნქციობა [Lentz, 1997]. ჰომოცისტეინის უარყოფითი გავლენა ენდოთელიუმის უჯრედების კულტურაზე ნაჩვენები იყო *in vitro* ცდებშიც [Wall et al., 1980]. ჰიპერჰომოცისტეინემიის მოქმედებით გამოწვეული მიკროსისხლძარღვთა ენდოთელიუმის ფუნქციის მოშლა კარგად არ არის შესწავლილი. თუმცა ცნობილია, რომ დარღვევები ძირითადად აღმოცენდება პერიფერიულ ცირკულაციაში. ცნობილია, რომ პაციენტებში, რომელთა ჰომოცისტეინის დონე პლაზმაში 20 მკმოლზე მეტია, სიკვდილიანობის სიხშირე შვიდჯერ აღემატება

სიკვდილიანობას იმ ავადმყოფებში, რომელთა ჰომოცისტეინის დონე პლაზმაში 9 მკმოლ/ლ-ზე დაბალია [Zhang, Chopp, Tang, 1995]. ამდენად, ჰიპერჰომოცისტეინემიით გამოწვეული სისხლძარღვოვანი გართულებების მექანიზმის კვლევა და გაგება უაღრესად მაღალი პრიორიტეტის ამოცანას წარმოადგენს.

ენდოთელური უჯრედების დისფუნქცია, როგორც წესი, თან სდევს მრავალი სახის კარდიოვასკულურ დაავადებას [Bell et al., 1998; Dzau et al., 1997; Furchgott, Zawadzki, 1980; Leibovich et al., 1984; Quyiumi et al., 1995]. დადგენილი იყო, რომ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას ფუნქციის დარღვევა ან/და აზოტის ოქსიდის მოწოდების შემცირება შეიძლება გახდეს მრავალი კლინიკური მანიფესტაციის მიზეზი პაციენტებში, რომელთაც გააჩნიათ ენდოთელური დისფუნქცია [De Caterina et al., 1995; Dubey et al., 1995]. ეს მოსაზრება მიუთითებს, რომ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზა შესაძლოა ჰიპერჰომოცისტეინემიის გავლენას განიცდიდეს.

დადგენილია, რომ ორგანიზმში აზოტის ოქსიდი (NO) წარმოადგენს სასიგნალო მოლეკულას, რომელიც, გარდა სისხლძარღვთა ტონუსის რეგულაციისა, ჩართულია სხვადასხვა ბიოლოგიური ფუნქციebის განხორციელებაში, მათ შორისაა იმუნური სისტემის რეაქციები და ნეიროტრანსმისია [Bredt and Snyder, 1992; Knowles R.G. and Moncada, 1994; Miller, 2001; Moncada, 1992; Nathan, 1992; Sessa, 1994; Munoz, Garcia-Rodriges, 2003]. აზოტის ოქსიდი ლიპოფილურია, ტრანსცელულარული დიფუზიით იოლად აღწევს ინტრაცელულარულ სამიზნეებს, რითაც გარკვეულწილად ემსგავსება ჰორმონს [Mural, 1998]. NO ხასიათდება ხანმოკლე სიცოცხლისუნარიანობით. ჟანგბადი აზოტის ოქსიდს ჟანგავს წყალხsნარში 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 5 წამის ოდენობით განისაზღვრება, 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, რკინა-გოგირდოვან 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 ტოქსიkური შენაერთი, ვიდრე ცალ-ცალკე აღებული NO და O_2^-. გარკვეულ პირობებში, მაგალითად, ციტოკინების მოქმედებისას, როდესაც უჯრედებში აქტიურად მიდის თიოლების და რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების ჟანგვა, ჭარბობს აზოტის ოქსიდის ციტოტოქსიკური მოქმედება. მაგრამ, თუ შეიცვალა კონცენტრაციების ბალანსი, ანუ, თუ აზოტის ოქსიდის კონცენტრაცია მნიშვნელოვნად აჭარბებს O_2^--ის კონცენტრაციას, მაშინ ხდება პეროქსინიტრიტის აღდგენა NO_2-მდე და ამ პირობებში NO მოქმედებს უკვე, როგორც ანტიოქსიდანტი, რომელიც იცავს უჯრედებს ჟანგბადის აქტიური ფორმების ციტოტოქსიკური მოქმედებისგან [Beckman, 1997; **Brune,** Messmer, and Sandau, 1995; Wink et al., 1991].

გარდა მაღალი ქიმიური აქტიობისა, აზოტის ოქსიდის, როგორც სასიგნალო მოლეკულის მნიშვნელობა, განისაზღვრება მისი სწრაფი დიფუზიის უნარითაც. თანახმად არსებული მონაცემებისა [Malinski et al., 1993], 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 [Kuo, Abe, 1995]. წარმოქმნის ადგილიდან 160 მკმ დაცილებით (რაც დაახლოებით რვა უჯრედული დიამეტრის ტოლია), სინთეზის მუდმივი დონის შენარჩუნების პირობებში აზოტის ოქსიდის კონცენტრაცია 2-ჯერ კლებულობს [Lancaster, 1993].

ტრადიციული ნეიროტრანსმიტერებისგან 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].

ცნობილია NOS-ის სამი იზოფორმა: ორი კონსტიტუციური - Ca^{++}- დამოკიდებული ნეირონული (nNOS ანუ NOS 1, რომელიც პირველად აღმოჩენილ იქნა ნეირონებში) და ენდოთელური (eNOS ანუ NOS 111 - პირველად აღმოჩენილ იქნა ენდოთელიოციტებში) და ერთი ინდუციბელური – Ca^{++}- დამოუკიდებელი (iNOS ანუ NOS 11) იზოფორმა [Willenborga, et al., 1999].

უჯრედებს, რომლებიც შეიცავს ენზიმის კონსტიტუციურ იზოფორმებს, სწრაფად შეუძლიათ უზრუნველყონ NO-ს ფიზიოლოგიური დონე ისეთი აგონისტების საპასუხოდ, როგორიცაა აცეტილქოლინი სისხლძარღვების ენდოთელიუმში. NO-ს კონცენტრაცია შეიძლება სწრაფად და მკვეთრად გაიზარდოს ქსოვილის იშემია-რეპერფუზიული დაზიანების დროს [Colasanti, Suzuki, 2000].

iNOS (NOS 11) წარმოქმნის NO-ს მასიურ რაოდენობას პროლონგირებული დროით ძირითადად ანთებითი სტიმულაციის საპასუხოდ გარკვეული ტიპის უჯრედებში (მაკროფაგები, ქონდროციტები, მიკროგლია, ნეიტროფილები, ჰეპატოციტები, ფილტვისა და ნაწლავის ეპითელი, გლუვკუნთოვანი უჯერედები [Willenborga, et al., 1999].

NOS-ის სამივე ფორმა (nNOS, eNOS და iNOS) სხვადასხვა ქრომოსომაზე მოთავსებული გენებით კოდირდება [Licinio, et al., 1999; Martella et al., 1998].

NO-სინთაზას სამივე იზოფორმა აქტიური სახით ჰომოდიმერს წარმოადგენს, რომელიც შეიცავს: რედუქტაზულ, კალმოდულინთან დაკავშირებად, ოქსიგენაზურ დომეინებსა და N-ტერმინალურ იზოფორმა-სპეციფიკურ ამინომჟავათა თანამიმდევრობას [Leibovich et al., 1997].

იზოფორმების აქტიობისთვის საჭიროა კოფაქტორები: FAD, FMN, კალმოდულინი, BH4. NADPH მიერ ელექტრონის გამოთავისუფლების შედეგად, კოფაქტორების ურთიერთშეთანხმებული მუშაობის შედეგად სუბსტრატ L-არგინინისგან საბოლოოდ

წარმოიქმნება L-ციტრულინი და NO (როცა BH4-ის კონცენტრაცია >> 10-6 M), თუმცა BH4-ის დაბალ კონცენტრაციაზე (BH4 < 10^{-6} M) რეაქციის პროდუქტები შეიძლება იყოს O_2^- ან $ONOO^-$ [Leibovich et al., 1997].

აზოტის ოქსიდის წარმოქმნის რეაქცია ასე გამოიყურება:

$$2\ Arg + 3\ NADPH + 4\ O_2 + 3\ H^+ = 2\ Cit + 2\ NO + 3\ NADP^+ + 4\ H_2O.$$

არსებობს NOS ინჰიბიტორების რამდენიმე ჯგუფი: არგინინ- და BH4-კონკურენტები, ჰემური ლიგანდები, კალმოდულინ-დაკავშირებადი ანტაგონისტები, NADPH-ბლოკატორები.

NO-ს მოქმედება სხვა სასიგნალო მოლეკულების მოქმედებისაგან იმით განსხვავდება, რომ ის არ მოქმედებს უჯრედის ზედაპირულ რეცეპტორებზე, არამედ უბრალოდ ექვემდებარება დიფუზიას ბიომემბრანების გავლით [Dalton et al., 1997] და კოვალენტური კავშირებით უკავშირდება უჯრედშიდა სამიზნეებს. იგი ლიპოფილურია და შეუძლია პასიურად კონცენტრირდეს უჯრედულ მემბრანებში. თავის ტვინში აზოტის ოქსიდი იქცევა ნაწილობრივ, როგორც ნეიროტრასმიტერი და ნაწილობრივ, როგორც ჰორმონი [Dawson, 1994]. NO-ს არ გააჩნია ტრადიციული მგრძნობელობის რეცეპტორები, თუმცა, ჰემის შემცველი მაკრომოლეკულები მონაწილეობს მის ტრანსპორტში, რითიც აადვილებენ მის ვაზოდილატატორულ აქტიობას [Willenborga et al., 1999].

აზოტის ოქსიდის მიერ გამოწვეული ფიზიოლოგიური პროცესები უჯრედში გულისხმობს ხსნადი გუანილატციკლაზას აქტივაციასა და ციკლური 3, 5-გუანოზინმონოფოსფატის (ც-გმფ) აკუმულაციას, რომელიც წარმოიქმნება გუანოზინტრიფოსფატისგან. ც-გმფ-ის ჰიდროლიზური დაშლა კატალიზდება ფოსფოდიესთერაზებით [Wolin, Davidson, Kaminski, 1999].

NOS-ის სამივე იზოფორმით წარმოებულ NO-ს მნიშვნელოვანი როლი აკისრია გულ-სისხლძარღვთა ფუნქციობაში.

iNOS დროებით თავს იჩენს გვიან ემბრიონულ და ადრეულ პოსტნატალურ პერიოდში ყველა სისხლძარღვში, მაგრამ აღარ ვლინდება ნორმაში პოსტნატალურად (Galea E., 1995). იგი ვლინდება იშემიის, ინსულტის, ტრავმის, ინფექციის, აუტოიმუნური დაავადებების დროს, ხოლო სისტემური ანთებითი პროცესების შემთხვევაში ბაქტერიული პროდუქტებისა (მაგ. ლიპოპოლისაქარიდები) და ვირუსული წარმოშობის ნივთიერებების ზემოქმედებით ხდება სასიგნალო ციტოკინების წარმოშობა (ძირითადად იმუნური უჯრედების მიერ: მონოციტებისა და მაკროფაგების), რომლებიც ტრანსპორტირდება ქსოვილში და ააქტივებს iNOS [McCann, 1994; Wong, 1996]. iNOS აქტიობას დიდხანს ინარჩუნებს და წარმოქმნის NO-ს ნანომოლარული რაოდენობით, რაც 100-1000-ჯერ აღემატება nNOS პროდუცირებულ აზოტის ოქსიდს და ამდენად, მისი ეფექტი პოტენციურად უფრო მეტი მნიშვნელობისაა [Kuo, Abe, 1995; Moncada et al., 1991].

eNOS-ის ზემოქმედებით იცვლება სისხლძარღვის სანათური, რაც ორგანოში იწვევს სისხლის ნაკადის მოდულაციას. ზოგიერთი გამოკვლევა მიუთითებს, რომ NO მნიშვნელოვნად უწყობს ხელს ნარჩენი (მოსვენების) ვასკულური ტონუსის შენარჩუნებას და დიდ როლს თამაშობს არტერიული ნახშირორჟანგის მატებით გამოწვეული სისხლის ნაკადის გაზრდაში [Brett, Hwang, and Snyder, 1990]. თუმცა, არსებობს საწინააღმდეგო მონაცემებიც. ფიქრობენ, რომ NO ხელს უწყობს ვაზოდილატაციას სისტემური ჰიპოქსიისა [Pelligrino et al., 1993] და ჰიპოტენზიის დროს [Toyoda et al., 1997].

NO-ს მაღალი კონცენტრაცია ციტოტოქსიკურია, რომლის მექანიზმიც საბოლოოდ არ არის გარკვეული. ერთ-ერთი მექანიზმი შესაძლებელია იყოს მის მიერ მიტოქონდრიული სუნთქვის შექცევითი ინჰიბირება, რაც კონკურენციას უწევს ჟანგბადის მოლეკულას [Yen, Chia-Hung. Lau, Ying-Tung, 2002].

ამდენად, NO შეიძლება ჩაითვალოს ორმხრივ იარაღად. ერთი მხრივ, ის ავლენს სასარგებლო ეფექტებს ორგანიზმში, აქვს რა ანტიბაქტერიული, ანტიპარაზიტული, ანტივირუსული, თუმოროციდული, ორგანიზმის მთელ რიგ ფუნქციათა

მარეგულირებელი მოქმედება, მეორე მხრივ, მისი მაღალი დონე, თუ ის არაკონტროლირებადია, შესაძლოა იყოს დამღუპველი [Conner and Grisham, 1996; Yen, Chia-Hung. Lau, Ying-Tung, 2002].

ორგანიზმი ეგზო- და ენდოგენური მოლეკულების მეშვეობით აკონტროლებს iNOS ექსპრესიას. ეს მოლეკულები იწვევს მის ექსპრესიას (მაგ., ბაქტერიული წარმოშობის ლიპოპოლისაქარიდები და იმუნური ციტოკინები, როგორიცაა, ინტერფერონი γ, სიმსივნური ნეკროზის ფაქტორი და ინტერლეიკინი 1 β) ან თრგუნავს მას (დექსამეტაზონი, კორტიკოსტეროიდები, ესტროგენები, ზრდის ტრანსფორმირებადი ფაქტორი β, IL- 4, IL-8, IL-10 და სხვ.) [Moncada, 1992].

1993 წელს გამოვლინდა NO-ს მოდულაცია თვითონ NO-თი. აღმოჩნდა, რომ NO-ს საწყისი ფიზიოლოგიური დონე ზღუდავს იმუნური, ნერვული და კარდიოვასკულური სისტემების აგზნებას iNOS ექსპრესიის დათრგუნვით [Stefano, 1997, 1998, 2000]. პათოლოგიური პროცესების დროს (მაგ. ანთება ან იმუნური რეაქცია), iNOS ექსპრესიის ინდუქციის წინ, იმუნური ციტოკინები ან ლიპოპოლისაქარიდები ახდენს nNOS ან eNOS-ის აქტივობის დაქვეითებას, რაც ამცირებს NO-ს უჯრედშიგა კონცენტრაციას ზღვრული დონის ქვემოთ (NO-ს ძალიან დაბალი დონე), რასაც თან სდევს NO-ს ფიზიოლოგიური დონით განპირობებული iNOS–ის სუპრესიის მოხსნა და იგი აქტივდება.

NO-ს ზომიერი მატება მონაწილეობას იღებს iNOS ინჰიბირებაში [Lin J. et al., 1988; Lin S., et al, 1966]; დექსამეტაზონი, iNOS-ის ექსპრესიის პოტენციური ინჰიბიტორი, ზრდის nNOS-ის აქტიობას [Baltrons, 1995]; ესტროგენებს, რომლებიც აინჰიბირებs iNOS ექსპრესიის ლიპოპოლისაქარიდ-გამოწვეულ ინდუქციას მაკროფაგებში, აქვთ უნარი გაზარდონ nNOS და eNOS აქტიობა ენდოთელიურ უჯრედებში [Hayashi, 1997]; ტრანსფორმირებადი ზრდის ფაქტორი β (iNOS სუპრესორი) ზრდის eNOS ექსპრესიას ენდოთელიოციტებში [Pintavorn, Ballermann, 1997 Kostuk, 1995; Stefano, 2000].

ამრიგად, აზოტის ოქსიდის კონცენტრაცია განსაზღვრავს ფიზიოლოგიური პროცესების მიმართულებას მთელს ორგანიზმში.

მიკროსისხლძარღვოვანი ენდოთელური უჯრედების კულტურიდან გამოთავისუფლებული აზოტის ოქსიდის პირდაპირი გაზომვა NO-სელექციური ელექტროდული სისტემით აჩვენებს, რომ 50 მიკრომოლ ჰომოცისტეინს შეუძლია მნიშვნელოვნად დათრგუნოს აზოტის ოქსიდის გამოყოფა მიუხედავად იმისა, თუ რა გზით ხდებოდა ამ პროცესის (გამოთავისუფლების) სტიმულაცია [Zhang et al., 1993]. ამასთან გაირკვა, რომ სულფჰიდრული ჯგუფის ოქსიდაცია eNOS-ში იწვევს ამ ფერმენტის NO-გენერაციული აქტიობის დაქვეითებას. არაპირდაპირი გაზომვებით დადგინდა ისიც, რომ აღნიშნული დაქვეითება გამოწვეულია არა პროდუქციის დათრგუნვით, არამედ შესაბამისი ბიორესურსის შემცირებით, ანუ, მართალია არაპირდაპირი გზით, მაგრამ დადასტურდა ჰომოცისტეინის ინჰიბიტორული ეფექტი ენდოთელური უჯრედებიდან L-არგინინით სტიმულირებულ აზოტის ოქსიდის გამოთავისუფლებაზე. თუ გავითვალისწინებთ ლიტერატურაში არსებულ ხანგრძლივ დისკუსიას ჰომოცისტეინის შესაძლო როლის შესახებ ათეროსკლეროზის განვითარებაში [McCully, Wilson, 1975], მაშინ ზემოაღნიშნული ფაქტები მიუთითებs, რომ აზოტის ოქსიდის ბიორესურსის შემცირებამ და eNOS-ის აქტიობის დაქვეითებამ უნდა გამოიწვიოს ენდოთელური უჯრედების დისფუნქცია, რაც მნიშვნელოვნად გასაგებს ხდის კარდიოვასკულური გართულებების განვითარებას.

რა თქმა უნდა, ჰიპერჰომოცისტეინემიით გამოწვეული ენდოთელური უჯრედების დისფუნქცია იმსახურებს დეტალურ კვლევას და ანალიზს.

3. კვლევის მასალა და მეთოდები

მეთოდური მიდგომა

ზომიერი ჰიპერჰომოცისტეინემიის ინდუცირებას ვახდენდით მამრ ვირთაგვებში (მასით 120-160გ, n=12) L-მეთიონინის (დღეში 1გ/კგ-ზე) სასმელ წყალში დამატებით 4 კვირის განმავლობაში. თითოეული ცხოველის მიერ დღეში მიღებული სითხის მოცულობა ისაზღვრებოდა ნორმაში წყლის საშუალოდ მოხმარებული მოცულობით. საკონტროლო ცხოველები (n=12) ჩვეულებრივ წყალს შეუზღუდავად იღებდნენ. ოთხკვირიანი პერიოდის დაწყებისას და დასასრულს ისაზღვრებოდა ცხოველის მასა. ბარძაყის არტერიიდან ვიღებდით სისხლის სინჯს, რომელიც 20 წუთის განმავლობაში ცენტრიფუგირდებოდა 3000g-ზე 4^{0}C ტემპერატურაზე. გამოყოფილი შრატი ანალიზის ჩატარებამდე ინახებოდა -20^{0}C ტემპერატურაზე. ჰომოცისტეინის ტოტალური შემცველობა განისაზღვრებოდა ქრომატოგრაფიული მეთოდის გამოყენებით ფლუორიმეტრული განსაზღვრით.

სისხლძარღვთა გლუვი კუნთების ფუნქციის ანალიზის ერთ-ერთ ყველაზე ობიექტურ მეთოდად მიჩნეულია 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.

ცდები ჩატარდა ვირთაგვას ნაზი (გრაცილის) კუნთის იზოლირებულ პირველი რიგის არტერიოლებზე (დიამეტრით 130-180 მკმ). L-მეთიონინის მიღების დაწყებიდან მე-4 კვირის დასასრულს ნატრიუმის პენტობარბიტალის (50 მგ/კგ) ანესთეზიის ქვეშ ვზომავდით ვირთაგვას სისტემურ არტერიულ წნევას და ჰომოცისტეინის შემცველობის

გასაზომად ვიღებდით სისხლის სინჯს. შემდეგ ვახდენდით ნაზი კუნთის იზოლირებას გარემომცველი ქსოვილებისგან. აღნიშნული კუნთი ამოიკვეთებოდა და თავსდებოდა 0-40^0 C ტემპერატურის მქონე რინგერ-ჰეილიტის ხსნარში. ბინოკულური მიკროსკოპის ქვეშ კუნთიდან გამოვყოფდით 1.5-2 მმ სიგრძის პირველი რიგის კუნთშიდა არტერიოლის სეგმენტს, რომელიც სპეციალური დამხმარე ინსტრუმენტის მეშვეობით [Климин, 1989] თავსდებოდა რინგერ-ჰეილიტის ხსნარგამდინარე კამერის პატარა აბაზანაში, სადაც პრეპარატს აჯენენ ლითონის ორ პატარა კავზე (სურ. 2.1). ერთი კავი ხისტადაა მიმაგრებული მექანოტრონის შტოკზე. პრეპარატი იჭიმება, თანაც მუდმივი დაჭიმვის სიდიდე შეირჩევა არტერიის გლუვი კუნთების კუმშვადობის ტესტირების შედეგების მიხედვით. ტესტირება ტარდება სტანდარტული ხსნარებით, რომლებიც შეიცავს კალიუმს 80 მმოლ-ის კონცენტრაციით და საშუალოდ შეადგენს 5.1 მნ. გაზომვების დაწყებამდე წონასწორული მდგომარეობის მიღწევის მიზნით პრეპარატი რინგერის ხსნარში 37^{0}C ტემპერატურაზე იმყოფება 1.5 საათის განმავლობაში.

სისხლძარღვოვანი პრეპარატების გლუვი კუნთების მექანიკური აქტიობის რეგისტრაცია

იზოლირებული სისხლძარღვების კონტრაქტილური აქტიობის რეგისტრაცია შესაძლოა ტენზომეტრულ დანადგარზე იზომეტრულ რეჟიმში 6 MX1C ტიპის მექანოტრონებით (სურ. 2.2).

მექანოტრონებიდან მიღებული ელექტრული სიგნალი გადაეცემა გამაძლიერებლებს, რომელთათვის შეიძლება გამოვიყენოთ სურ. 2.3-ზე მოტანილი ხიდური სქემის ანალოგი. მექანოტრონების კალიბრება ტარდება მილინიუტონებში, რისთვისაც ჰორიზონტალური შტოკი იტვირთება სტანდარტული, მცირე წონის საწონებით და სარეგისტრაციო ქაღალდის დიაგრამაზე რეგისტრატორის კალმით აღირიცხება გადახრა საწყისი დონიდან.

(100%) კონტრაქტილური პასუხების მიხედვით ჰიპერკალიური (80 მმოლი/1ლ) ხსნარის მოქმედებაზე [Кулагина, Удельнов, 1978].

ხსნარების მომზადება, pH-სა და ტემპერატურის კონტროლი

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

$NaCl$ – 118.0; KCl – 4.7; $NaHCO_3$ – 14.9; KH_2PO_4 – 1.18; $MgSO_4.7H_2O$ – 1.17; $CaCl_2.2H_2O$ – 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 $37\pm0.5C^0$ დონეზე ულტრათერმოსატატის მეშვეობით, რომელიც შემთბარ წყალს გადატუმბავს წყლის პერანგიან სპეციალურ კოლბებში და თერმოსტატირებულ კამერაში, რომლებიც გაერთიანებულია საერთო, უწყვეტ, გამდინარე სისტემაში (სურ. 2.2)

ექსპერიმენტის პროტოკოლი

კონსტრიქტორული რეაქციები შეისწავლებოდა არტერიოლების ნორმალურ და დეენდოთელიზებულ სეგმენტებზე. რბილი ხისგან (ცაცხვი) დამზადებული სპეციალური ინსტრუმენტით ვახდენდით პრეპარატებიდან ენდოთელური ფენის ჩამოცილებას, რისი სრულფასოვნება მოწმდებოდა ენდოთელიუმ-დამოკიდებულ (აცეტილქოლინი, 10^{-6}M) და ენდოთელიუმ-დამოუკიდებელ (ნატრიუმის ნიტროპრუსიდი, 10^{-6}M) დილატატორულ აგენტებზე რეაქციის ტესტით.

საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლების კონსტრიქტორულ რეაქციას ვამოწმებდით სეგმენტების დეენდოთელიზაციამდე და მის შემდეგ.

ექსპერიმენტების მომდევნო სერიაში არტერიოლების პიკური რეაქცია შეისწავლებოდა აცეტილქოლინისა (10^{-10} - 10^{-5} მოლ/ლ) და ნატრიუმის ნიტროპრუსიდის (10^{-10} - 10^{-5} მოლ/ლ) კუმულაციურ დოზაზე სეგმენტების გარემომცველ ხსნარში. ამის შემდეგ, 30 წუთის განმავლობაში სეგმენტები ინკუბირდებოდა L-NAME-ს (10^{-4} მოლ/ლ) ხსნარით (აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორი) და კვლავ ვზომავდით სეგმენტის რეაქციას აცეტილქოლინისა და ნატრიუმის ნიტროპრუსიდის ხსენებული დოზებით შეყვანაზე.

ანალოგიური თანმიმდევრობით ჩატარდა ექსპერიმენტების სერია ჰისტამინზე (10^{-4} მოლ/ლ) რეაქციის შესწავლის მიზნით L-NAME-ს შეყვანამდე და მის შემდეგ. გაზომვები წარმოებდა ენდოთელიუმ-ინტაქტურ და დეენდოთელიზებულ სეგმენტებზე.

ყველა ზემოჩამოთვლილი ნივთიერება შეგვყავდა ხსნარგამდინარე კამერაში, სადაც მოთავსებული იყო შესასწავლი არტერიოლის სეგმენტი. აღრიცხული რეაქციის შემდეგ სისტემაში შეგვყავდა რინგერ-ჰეილიტის სუფთა ხსნარი.

არტერიოლების სეგმენტების კონსტრიქტორული და დილატატორული რეაქციები აღირიცხებოდა პროცენტებში ჰიპერკალიური (80 მმოლი/1ლ) ხსნარის მოქმედებასთან (100%) შეფარდებით.

მიღებული მონაცემების სტატისტიკური ანალიზი

მიღებული მონაცემები აისახებოდა მათი საშუალო სიდიდეებით და სტანდარტული შეცდომით. სტატისტიკური ანალიზი ტარდებოდა ANOVA-ს პაკეტის გამოყენებით, სხვაობათა სტატისტიკური სარწმუნობა მოწმდებოდა სტიუდენტის t-კრიტერიუმით. $P<0.05$ განიხილებოდა სტატისტიკურად სარწმუნოდ.

4. მიღებული შედეგები

მეთიონინის დიეტამ ცხოველებში ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მნიშვნელოვანი (3-ჯერადი) მატება გამოიწვია (იხ. ცხრილი 3.1), ხოლო სისტემური არტერიული წნევის და ცხოველთა მასის სიდიდეებში სხვაობა საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფებს შორის პრაქტიკულად არ აღირიცხა.

არტერიოლების რეაქცია ნორადრენალინზე

ცდების შედეგად გამოვლინდა, რომ ნორადრენალინი (10^{-9} –10^{-5} მოლ/ლ) იწვევს დოზა-დამოკიდებულ რეაქციას როგორც საკონტროლო, ისე ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლებში, მაგრამ ამ უკანასკნელებში რეაქცია მნიშვნელოვნად უფრო მეტადაა გამოხატული (სურ. 3.1). ენდოთელიუმის ჩამოცილებამ საგრძნობლად გაზარდა საკონტროლო ცხოველებიდან იზოლირებული არტერიოლების რეაქცია ნორადრენალინზე (სურ. 3.2), მაშინ როდესაც ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლების დეენდოთელიზაციამ არ იქონია რაიმე მნიშვნელოვანი გავლენა ნორადრენალინით გამოწვეულ რეაქციაზე (სურ. 3.3).

ცხრილი 3.1

საკონტროლო და L-მეთიონინის დიეტაზე მყოფი ცხოველების მაჩვენებლები დიეტაზე ყოფნის მეოთხე კვირის დასასრულს

	საკონტროლო ცხოველები (n=12)	მეთიონინის დიეტაზე მყოფი ცხოველები (n=12)
ჰომოცისტეინი (მკმოლ/ლ)	7.3±0.5	22.2±2.6*
სხეულის მასა (გ)	341±12	349±14
სისტემური არტერიული წნევა (მმ Hg)	95±4	99±6

არტერიოლების რეაქცია აცეტილქოლინზე

აცეტილქოლინმა (10^{-9} – 10^{-6} მოლ/ლ) გამოიწვია არტერიოლის დოზა-დამოკიდებული დილატაცია, რომელიც მნიშვნელოვნად უფრო მეტად იყო გამოხატული საკონტროლო ცხოველების სისხლძარღვში, ვიდრე ჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველთა არტერიოლაში (სურ. 3.4.). რინგერ-ჰეილიტის ხსნარით სისხლძარღვის 30-წუთიანი გამორეცხვის შემდეგ აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორის L-NAME-ს (10^{-4} მოლ/ლ) შეყვანის ფონზე, იგივე ტესტის ჩატარებამ გამოიწვია საკონტროლო ცხოველის არტერიოლის დილატაციის ხარისხის მნიშვნელოვანი შემცირება (სურ. 3.5), მაგრამ ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლებში აცეტილქოლინური დილატაცია თითქმის უცვლელი დარჩა (სურ. 3.6).

არტერიოლების რეაქცია ნატრიუმის ნიტროპრუსიდზე

ნატრიუმის ნიტროპრუსიდმაც გამოიწვია როგორც საკონტროლო, ისე ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლების ურთიერთმსგავსი დოზა-დამოკიდებული დილატაცია. აზოტის ოქსიდის სინთაზას ინჰიბიტორმა პრაქტიკულად არ შეცვალა არტერიოლების დილატაციის არც ხარისხი და არც ხასიათი (სურ. 3.7) როგორც საკონტროლო, ისე ჰიპერჰომოცისტეინემიის მქონე ცხოველების შემთხვევაში.

არტერიოლების რეაქცია ჰისტამინზე

ჰისტამინმა (10^{-6} – 10^{-4} მოლ/ლ) გამოიიწვია საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლების დოზა-დამოკიდებული დილატაცია (სურ. 3.8). როგორც მოტანილი სურათი მოწმობს საკონტროლო ცხოველების არტერიოლების დილატაციის ხარისხი მნიშვნელოვნად მეტია, ვიდრე იგივე, მიღებული ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველთა არტერიოლების შემთხვევაში.

სისხლძარღვთა პრეპარატების გამორეცხვის შემდეგ აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორის ფონზე კვლავ ჩატარებულმა ჰისტამინის ტესტმა გამოავლინა საკონტროლო ცხოველების არტერიოლების დილატაციის ხარისხის

მნიშვნელოვანი დაქვეითება ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველთა არტერიოლებთან შედარებით (სურ. 3.9).

არტერიოლების რეაქცია ჰისტამინზე

ჰისტამინმა (10^{-6} – 10^{-4} მოლ/ლ) გამოიიწვია საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლების დოზა-დამოკიდებული დილატაცია (სურ. 3.8). როგორც მოტანილი სურათი მოწმობს საკონტროლო ცხოველების არტერიოლების დილატაციის ხარისხი მნიშვნელოვნად მეტია, ვიდრე იგივე, მიღებული ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველთა არტერიოლების შემთხვევაში.

სისხლძარღვთა პრეპარატების გამორეცხვის შემდეგ აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორის ფონზე კვლავ ჩატარებულმა ჰისტამინის ტესტმა გამოავლინა საკონტროლო ცხოველების არტერიოლების დილატაციის ხარისხის მნიშვნელოვანი დაქვეითება ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველთა არტერიოლებთან შედარებით (სურ. 3.9).

დეენდოთელიზებული არტერიოლების შემთხვევაში მათი დილატაციური რეაქცია ჰისტამინზე საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების შემთხვევაში საგრძნობლად შემცირებული იყო, ხოლო ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველთა შემთხვევაში – რეაქცია თითქმის უცვლელი დარჩა (სურ. 3.10).

5. მიღებული შედეგების განხილვა

ექსპერიმენტული კვლევის ძირითადი შედეგი (მათი ანალიზის გარეშე) შეიძლება შევაჯამოთ ასე: ჰომოცისტეინის მატება სისხლის პლაზმაში (ინდუცირებული სასმელ წყალში გაზრდილი მეთიონინის შემცველობით) ასოცირებს ნორადრენალინით გამოწვეულ სისხლძარღვთა კონსტრიქციასთან და შემცირებულ ენდოთელიუმ-დამოკიდებულ დილატაციასთან კუნთის არტერიოლებში. რა უნდა იყოს ამ რეაქციის გამომწვევი მექანიზმი და რას უნდა უკავშირდებოდეს მისი ფორმირება?

როგორც ლიტერატურის მიმოხილვიდან გამომდინარეობს, პლაზმაში ჰომოცისტეინის მატება წარმოადგენს ათეროთრომბული დაავადების დამოუკიდებელ რისკ ფაქტორს. ზოგადად, მოსახლეობაში ზომიერი ჰიპერჰომოცისტეინემია საკმაოდ არის გავრცელებული და ახასიათებს იმ მოსახლეობის დაახლოებით 30%-ს, რომელსაც აწუხებს გვირგვინოვანი, ცერებროვასკულური და ათეროთრომბული დაავადება [Malinow et al., 1984; 1999; Nygård et al., 1997]. როგორც წესი, პლაზმაში მაღალი კონცენტრაციის ჰომოცისტეინის შემცველობის მიზეზი არის ჰომოცისტეინის მეტაბოლიზმისთვის საჭირო ვიტამინების უკმარისობა [Robinson et al., 1995]. ამასთან ერთად, უნდა გავითვალისწინოთ, რომ ხანდაზმულებში, ფეხმძიმე ქალებში, ნიკოტინის მომხმარებლებში, ალკოჰოლიკებსა და ჰორმონალური კონტრაცეპტივების მომხმარებლებში გაზრდილია მოთხოვნილება ფოლიუმის მჟავას მიმართ.

არსებობს რამდენიმე მოსაზრება იმის შესახებ, თუ როგორ შეიძლება ის, რომ ჰომოცისტეინის გაზრდილმა კონცენტრაციამ სისხლის პლაზმაში გამოიწვიოს გულ-სისხლძარღვთა სისტემაში ათეროთრომბული დაავადებანი. კერძოდ, ითვლება, რომ ჰიპერჰომოცისტეინემიის დამაზიანებელი გავლენა შეიძლება გამოიხატოს სისხლძარღვთა კედლის მორფოლოგიის ცვლილებაში, თრომბოციტების გაზრდილ აქტიობაში [Durand et al., 1996, 1997], გლუვკუნთოვანი უჯრედების პროლიფერაციის სტიმულაციაში [Egashira et al., 1993]. ჰისტოლოგიის მეთოდებით ჩატარებულ რიგ კვლევაში გამოვლენილი იყო ჰიპერჰომოცისტეინემიით გამოწვეული ადამიანისა და ცხოველთა სისხლძარღვების ენდოთელიუმის მორფოლოგიური ცვლილებანი [Mathias

et al., 1996]. არის აგრეთვე ნაშრომები, რომლებშიც დიეტით ინდუცირებული ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს აღნიშნულია ენდოთელიუმის ფუნქციური ცვლილებები, მაგალითად, საერთო საძილე არტერიების ენდოთელიუმ-დამოკიდებული რელაქსაციის ან აცეტილქოლინით გამოწვეული კიდურის ცირკულაციის გაძლიერების შემცირება [Lentz et al., 1996, 1997, 2000]. ამ გამოკვლევების თანახმად, ერთ-ერთი მიზეზი, რის გამოც ხდება აღნიშნული ცვლილებები არის ის, რომ მაღალი კონცენტრაციის ჰომოცისტეინი იწვევს ვასკულური ენდოთელიუმის ფუნქციის მოშლას, თუმცა ჰომოცისტეინის გაზრდილი კონცენტრაციის გავლენა ზოგადად მიკროსისხლძარღვთა ფუნქციაზე დადგენილი არ არის.

რიგი ექსპერიმენტული მოდელი იქნა შემუშავებული ჰიპერჰომოცისტეინემიის კარდიოვასკულურ სისტემაზე საზიანო გავლენის ინტიმური მექანიზმების შესწავლის მიზნით [Durand et al., 1996, 1997; Huang et al., 1998; ; Lin, Murphy, 1997].

ჩვენ მიერ ჩატარებულ კვლევაში ცხოველთა სასმელ წყალში დამატებული იყო მეთიონინი (ჰომოცისტეინის პრეკურსორი). ამის შედეგად, პლაზმაში ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია თითქმის სამჯერ გაიზარდა და მიაღწია იმ დონეს, რომელიც ადამიანებში დაკავშირებულია სისხლძარღვთა დაავადების მაღალ რისკთან.

ზოგადად, პლაზმაში მეთიონინის (ან სხვა რომელიმე ამინომჟავას) კონცენტრაციის მატება არ ასოცირებს სისხლძარღვებზე საზიანო გავლენასთან, მაგრამ არის საკმარისად ბევრი მტკიცებულება, რომ ჰომოცისტეინის გაზრდილი კონცენტრაცია არის სისხლძარღვთა ენდოთელიუმის დაზიანების მნიშვნელოვანი მიზეზი.

რიგ კვლევებში ნაჩვენებია, რომ გარკვეული რისკ-ფაქტორები, რომლებიც იწვევს ენდოთელურ დისფუნქციას, არ შეიძლება განვიხილოთ, როგორც ათეროსკლეროზის განვითარების უტყუარი მიზეზი [Egashira et al., 1993; Kuo et al., 1972; Surtess et al., 1991].

ვინაიდან ჩონჩხის კუნთის სისხლის მიმოქცევა წარმოადგენს პერიფერიული სისხლის მიმოქცევაში ჰემოდინამიკური წინაღობის ძირითად შემადგენელს, მისი მოშლა ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს შესაძლოა განვიხილოთ, როგორც მნიშვნელოვანი

კომპონენტი პერიფერიული ვასკულური დაავადების განვითარებაში. სწორედ ამ მიზნით შევისწავლეთ ენდოთელიუმის ვაზორეგულატორული ფუნქციის ცვლილებანი ნორმალურ და მეთიონინის დიეტით ინდუცირებული ჰიპერჰომოცისტეინემიის მქონე ცხოველთა სისხლძარღვებში.

პირველ რიგში, ჩვენ ერთმანეთს შევადარეთ საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების კონტრაქტილური რეაქციები ნორადრენალინზე და დავადგინეთ, რომ ჰიპერჰომოცისტეინემიამ გამოიწვია ნორადრენალინით ინდუცირებული ვაზოკონსტრიქციის გაძლიერება.

ადრე ნაჩვენები იყო, რომ ჩონჩხის კუნთების არტერიოლებში ნორადრენალინის შეყვანას თან სდევს ენდოთელიუმიდან აზოტის ოქსიდის გამოთავისუფლება, რომელიც მოდულირებას უწევს ნორადრენალინით ინდუცირებული კონსტრიქციის ხარისხს [Kaley et al., 1992]. ჩვენი ვარაუდით, ნორადრენალინზე სისხლძარღვის გაზრდილი რეაქტიულობის მიზეზი ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველებში უნდა ყოფილიყო ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთეზის დარღვევა. მართლაც, საკონტროლო ცხოველების არტერიოლებში დეენდოთელიზაციამ გამოიწვია ნორადრენალინზე რეაქციის მატება, მაშინ როდესაც ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველებში იგივე არტერიოლების რეაქცია ნორადრენალინზე უცვლელი იყო, რაც ადასტურებს ჩვენს ვარაუდს. აღნიშნულის შემდგომი გადამოწმების მიზნით, ჩვენ გამოვიყენეთ აცეტილქოლინისა და ჰისტამინზე არტერიოლების რეაქციის ტესტები. აღნიშნული აგენტები, როგორც ცნობილია, ინდუცირებს აზოტის ოქსიდის გენერაციას. როგორც ვნახეთ, როგორც აცეტილქოლინით, ისე ჰისტამინით გამოწვეული საკონტროლო ჯგუფის ცხოველთა ჩონჩხის კუნთის სისხლძარღვთა ვაზოდილატაცია შემცირებული იყო ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველებისგან აღებული არტერიოლების რეაქციასთან შედარებით. უფრო მეტიც, აზოტის ოქსიდის პროდუცირების ინჰიბიციამ ნიტრო-L-არგინინ მეთილის ეთერით (L-NAME) შეამცირა იზოლირებული არტერიოლის აცეტილქოლინითა და ჰისტამინით გამოწვეული დილატაცია მხოლოდ საკონტროლო ცხოველებში, მაშინ როდესაც

ჰიპერჰომოცისტეინემიის მქონე ცხოველებში L-NAME-ს შეყვანამ არ მოგვცა რაიმე ხელმოსაკიდი ეფექტი. დამატებით ამასთან, დეენდოთელიზაციამ მოსპო ჰისტამინით გამოწვეული ვაზორელაქსაციის სხვაობა საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიის მქონე ცხოველთა არტერიოლებს შორის.

როგორც გაირკვა, ჰიპერჰომოცისტეინემიის პირობებში აზოტის ოქსიდის მიმართ სისხლძარღვთა გლუვი კუნთების მგძნობელობა არ შეცვლილა, რადგან არტერიოლის რეაქცია აზოტის ოქსიდზე მისი დონორის ნატრიუმის ნიტროპრუსიდის შეყვანაზე არ შეცვლილა. ეს შედეგი მოწმობს იმას, რომ ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს ადგილი აქვს მხოლოდ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის ბიორესურსის მოშლას.

ადრე ნაჩვენები იყო, რომ ენდოთელიუმ-დამოკიდებელი გლუვი კუნთების მარელაქსირებელი ფაქტორის (ანუ იგივე აზოტის ოქსიდის) გამოთავისუფლების პროცესი ირღვევა ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს [Celemajer et al., 1993; Taniwaki et al., 1998**].** ჩვენი შედეგები ეთანხმება ამ მონაცემებს და განავრცობს მათ არტერიოლების დონეზე.

აზოტის ოქსიდის სინთეზის მოშლა იწვევს ენდოთელიუმ-დამოკიდებელი დილატატორების მოქმედების ცვლილებას იმ მცირე კალიბრის გვირგვინოვან არტერიებსა და არტერიოლებზე, რომლებიც არ განიცდის ათეროსკლეროზულ დარღვევებს [Kuo et al., 1972]. ამასთან ერთად, ცნობილია, რომ ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატებას პლაზმაში თან სდევს ტრიგლიცერიდების მატება [Frauscher et al., 1995]. ყოველივე ამას უნდა დაემატოს ისიც, რომ ჰიპერტენზია, ათეროსკლეროზის განვითარების ცნობილი რისკ-ფაქტორი, აგრეთვე აუარესებს დარღვეული ენდოთელიური ფუნქციის მდგომარეობას არტერიოლებში [Koller, 1994].

ზემოთქმულის შეჯამება საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ მიკროსისხლძარღვთა ენდოთელური დისფუნქცია არის ერთ-ერთი ადრეული კომპონენტი იმ კომპლექსური მოვლენებისა, რომელთაც ადგილი აქვთ სისხლძარღვთა დაავადებათა განვითარების პროცესში.

ვინაიდან აზოტის ოქსიდს, გარდა ვაზოდილატატორული ფუნქციისა, მნიშვნელოვანი როლი ეკისრება ანტიკოაგულაციური და ანტითრომბოზული რეაქციების განხორციელებაში, ენდოთელური დისფუნქცია უნდა განვიხილოთ, როგორც მნიშვნელოვანი დამაკავშირებელი რგოლი ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და ათეროთრომბულ დაავადებებს შორის.

საჭიროა იმის გათვალისწინებაც, რომ ჰიპერჰომოცისტეინემიის პირობებში აზოტის ოქსიდის დეფიციტი შესაძლოა გახდეს გლუვი კუნთების პროლიფერაციის მიზეზიც, ხოლო ენდოთელური დისფუნქცია კი, თავის მხრივ, ხელს უწყობს ლეიკოციტებისა და თრომბოციტების ადგეზიას სისხლძარღვთა კედლებზე.

ლიტერატურაში არსებული მონაცემების ანალიზი საშუალებას გვაძლევს აზოტის ოქსიდის სინთეზის, გამოთავისუფლების ან მოქმედების მოშლის ერთ-ერთ მიზეზად განვიხილოთ ჟანგბადის რეაქციული მეტაბოლიტების ჭარბი რაოდენობით ფორმირება [Blondeay et al., 2000; Loscalzo, 1996; Stamler et al., 1993].

ნაჩვენებია, რომ ბიოლოგიური თიოლების სულფჰიდრული ჯგუფების აუტოოქსიდაციის დროს გენერირდება წყალბადის პეროქსიდი [Eaton et al., 2000; Matsushita et al., 2005; Salsman et al., 2005; Vivancos et al., 2005]. მეთიონინს, როგორც ცნობილია, არ გააჩნია თავისუფალი თიოლის ჯგუფები, რაც წინა პლანზე წევს ჰიპერჰომოცისტეინემიის პირველად როლს ხსენებული ენდოთელური დარღვევების განვითარებაში. ჭარბი რაოდენობით წარმოქმნილი ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალები აზოტის ოქსიდთან შედის რეაქციაში და, პეროქსინიტრიტის წარმოქმნის ხარჯზე, ამცირებენ მის რესურსს. ამას უნდა დავუმატოთ ისიც, რომ ჰომოცისტეინი ამცირებს უჯრედშიდა გლუთათიონის და გლუთათიონ-პეროქსიდაზას რაოდენობას, რომელზეც დამოკიდებულია ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების ელიმინაცია [Hempel, 1998; Upchurch et al., 1997].

ენდოთელური უჯრედების კულტურაზე თავისუფალი რადიკალებით განპირობებული ჰომოცისტეინის ტოქსიკური ეფექტი აღწერილია ***Wall*** და თანაავტოების მიერ ჯერ კიდევ 1980 წელს [Wall et al., 1980]. რაც მთავარია, აღმოჩნდა, რომ ჰიპერჰომოცისტეინემიით

გამოწვეული ენდოთელური დაზიანება ატარებს შეუქცევად ხასიათს, რადგან ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების სკავენჯერების გამოყენების შედეგად ვერ მოხერხდა აზოტის ოქსიდით განპირობებული არტერიოლების რეაქციის აღდგენა [Ungvari et al., 1999].

ჰიპერჰომოცისტეინემით გამოწვეული ენდოთელური დაზიანების მექანიზმები, უდავოდ, საჭიროებს შემდგომ კვლევას, მაგრამ ჩვენ მიერ მოპოვებული ექსპერიმენტული მასალა საშუალებას იძლევა დავასკვნათ, რომ მიკროსისხლძარღვები განიცდის ჰიპერჰომოცისტეინემიის მნიშვნელოვან გავლენას (რაც შესაბამისად აისახება ქსოვილის სისხლით მომარაგებაზე).

ამრიგად, დიეტით განპირობებული ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატება, რაც მიღებულია ჩვენს ცდებში, ასოცირებს ნორადრენალინით გამოწვეული კონსტრიქციის გაძლიერებასთან და აცეტილქოლინით გამოწვეული დილატაციის შემცირებასთან. ეს ცვლილებები, სავარაუდოდ, უნდა უკავშირდებოდეს აზოტის ოქსიდით განპირობებული არტერიული ვაზომოტორული რეაქციების მოშლას და წარმოადგენს მნიშვნელოვან ადრეულ ეტაპს ჰიპერჰომოცისტეინემიასთან დაკავშირებული ვასკულური დაავადებების განვითარებაში.

რა სახის ინტერპრეტაცია შეიძლება მიეცეს ლიტერატურის მონაცემებს, რომლებიც მოწმობს, რომ სტენოკარდიის და მიოკარდიუმის მწვავე ინფარქტის დროს მძიმე ავადმყოფებში, თრომბოზული პროცესების გაძლიერების ფონზე, ჰიპერჰომოცისტეინემიასთან შედარებით, ჰომოცისტეინის ნორმის ფარგლებში არსებობისას უფრო ძლიერ არის გამოხატული გულის დისფუნქცია და კორონაროსტენოზი, რაც მდგომარეობის დამძიმების და გართულების მნიშვნელოვანი რისკ-ფაქტორებია.

იშემიური პრეკონდიცირების კარდიოპროტექტორული ეფექტი უკვე კარგად ცნობილი ფენომენია და ამჟამად მიმდინარეობს მისი შესაძლო მექანიზმების ინტენსიური შესწავლა. ამ ფენომენის ძირითადი არსი გამოიხატება იმაში, რომ ორგანიზმი, რომელმაც განიცადა წინასწარი იშემიური “შემზადება” (პრეკონდიცირება) შემდგომში მძიმე

იშემიურ შეტევას იტანს ბევრად უფრო იოლი ფორმით იმ ორგანიზმთან შედარებით, რომელსაც ასეთი წინასწარი პრეკონდიცირება არ გაუვლია [Bernaudin et al., 2002; Chen, Symon,1997; Miller, 2001; Nishio et al., 2000; Zimmermann et al., 2001]. უკანასკნელ ათწლეულში მიღებული მონაცემები მოწმობს, რომ მიოკარდიუმის პრეკონდიცირება მძიმე შეტევის წინააღმდეგ ყალიბდება აზოტის ოქსიდის გენერაციის მეშვეობით წინა იშემიური შეტევების დროს. ამ პრეკონდიცირების უჯრედული მექანიზმი უცნობია [Samoilov , Mokrushin, 2003; Semenza, 2004] და მისი შესწავლა წარმოადგენს თანამედროვე კარდიოლოგიის ერთ-ერთ ყველაზე აქტუალურ ამოცანას. როგორც უკვე აღინიშნა, ერთ-ერთი ასეთი უჯრედული მექანიზმი უკავშირდება აზოტის ოქსიდს და მის მეორად მესენჯერს – ციკლურ გუანოზინ მონოფოსფატს, რომლებიც ახდენს რიგ ქმედებებს, რომლებიც შემამსუბუქებელ როლს ასრულებს მიოკარდიუმის მომდევნო მძიმე იშემიის პირობებში. ასეთებს მიაკუთვნებენ: ბეტა-ადრენერგული სტიმულაციის ეფექტისადმი ანტაგონიზმს; მიოკარდიუმის კონტრაქტილობის დაქვეითებას; მიოციტებში კალციუმის შესვლის ინჰიბირებას და, რაც მთავარია, მიოკარდიუმის მიერ ჟანგბადის მოხმარების დაქვეითებას. კალციუმის იონების შემცირებულმა ნაკადმა შესაძლოა შეასუსტოს ამ იონების სიჭარბე, რაც მუდამ ასოცირებს მიოკარდიუმის იშემიასთან. ანტიადრენერგულ ქმედებას და ჟანგბადის მოხმარების შემცირებას შეუძლია იშემიის დროს შეინარჩუნოს მაღალი ენერგიის ფოსფატები და ამით მინიმუმზე დაიყვანოს უჯრედული დაზიანება და ხელი შეუწყოს კონტრაქტილობის პოსტიშემიურ აღდგენას [Bernaudin et al., 2002; Blondeay et al., 2000; Munoz, Garcia-Rodriges, 2003; Schurr et al., 2001].

ითვლება, რომ მიოკარდიუმის პრეკონდიცირების ძირითადი განმაპირობებელი ფაქტორია იშემიით ინდუცირებული NOS-ის გენის ექსპრესია, რასაც მოსდევს აზოტის ოქსიდის გაზრდილი ფორმირება. გასაგებია, რომ აქ საუბარია ინდუციბელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას იზოფორმის აქტივაციაზე, რომლის შედეგად გამოყოფილ აზოტის ოქსიდს შეუძლია იქონიოს როგორც შემამსუბუქებელი, ისე უაღრესად დამამძიმებელი ეფექტი. ამდენად, პრეკონდიცირების ფენომენის აქ მოტანილი უჯრედული მექანიზმი საჭიროებს შემდგომ კვლევას და დაზუსტებას, მაგრამ ჩვენ საჭიროდ ჩავთვალეთ მისი განხილვა, რადგან ლიტერატურაში სხვა მექანიზმი ჯერ შემოთავაზებული არ არის.

ძირითადი, რაც ჩვენ უნდა გავითვალისწინოთ პრეკონდიცირების ფენომენის არსებობიდან, არის ის, რომ წინასწარ გადატანილი იშემია ჯერ კიდევ გაურკვეველი გზით ამსუბუქებს მომდევნო შესაძლო მძიმე იშემიურ შეტევას. თუ გავითვალისწინებთ, **რომ ჰიპერჰომოცისტეინემიის პირობებში განვითარებული ათეროსკლეროზის გამო ორგანიზმი გარკვეულწილად იმყოფება იშემიურ მდგომარეობაში,** შესაძლოა, რომ მძიმე იშემიური შეტევის დროს იგი უფრო ადაპტირებული შეხვდება სიტუაციას (მიოკარდიუმი მოიხმარს ნაკლებ ჟანგბადს), ვიდრე იგივე პირობებში ჩაყენებული ჯანმრთელი (“არაშემზადებული”) ორგანიზმი.

დასკვნები

ჩვენ მიერ ჩატარებულ ექსპერიმენტებში მიღებული შედეგების და ლიტერატურაში არსებული მონაცემების ანალიზი გვაძლევს საშუალებას გაკეთდეს შემდეგი დასკვნები:

1. გულის იშემიური დაავადების დროს ჰომოცისტეინის მატება გაძლიერებული ათეროგენეზისა და პოსტინფარქტულ პერიოდში განმეორებითი სტენოკარდიული შეტევების უფრო მნიშვნელოვანი მიმანიშნებელია, ვიდრე ლიპიდური ცვლის და ჰემოსტაზის მაჩვენებელთა მატება.

2. გულის იშემიური დაავადების შემთხვევაში ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს პაციენტთა სისხლძარღვებში პრევალირებს ათეროგენეზული პროცესები, ხოლო ჰომოცისტეინის ნორმაში არსებობისას – თრომბოზული პროცესები.

3. ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატება იწვევს აზოტის ოქსიდით განპირობებული არტერიული ვაზომოტორული რეაქციების მოშლას და წარმოადგენს მნიშვნელოვან ადრეულ ეტაპს ჰიპერჰომოცისტეინემიასთან დაკავშირებული ვასკულური დაავადებების განვითარებაში.

4. ენდოთელური დისფუნქცია უნდა განვიხილოთ, როგორც ერთ-ერთი ადრეული კომპონენტი სისხლძარღვთა დაავადებათა განვითარების კომპლექსურ მოვლენებში და მნიშვნელოვანი დამაკავშირებელი რგოლი ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და ათეროთრომბულ დაავადებებს შორის.

5. ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს ადგილი აქვს ენდოთელური აზოტის ოქსიდის ბიორესურსის მოშლას.

დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებული შრომების სია

1. ჰომოცისტეინი და მისი როლი ორგანიზმის ფუნქციობაში. საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის მაცნე, ბიომედიცინის სერია, 2016, 42, #5-6, 283-298 (თანაავტორები: ნ. დორეული, ნ. მითაგვარია)

2. Direct Measurement of Contractility of Isolated Small Arteries Preparations. Georgian National Academy of Sciences, Bull., 2017, 11, #3, 146-150 (co-authors: M. Dekanosidze, N. Mitagvaria)

3. აზოტის ოქსიდის როლი სისხლის ადგილობრივი ნაკადის რეგულაციაში ვირთაგვას პირის ღრუს ქსოვილებში. საქართველოს ეროვნული აკადემიის მაცნე, ბიომედიცინის სერია, 2017, 43, #5-6, 215-224 (თანაავტორები: მ. დეკანოსიძე, ხ. საგანელიძე, ნ. მითაგვარია)

4. The Role Of Nitric Oxide in the Changes of Blood Vessels Acetylcholine Induced Dilation in the Condition of Hyperhomocysteinemia. International Journal of Research (IJR), 2018, 05, ISSN: 2348-6848, #44396, 2035-2040 (co-authors: N. Doreulee, N. Mitagvaria)

5. Changes in Arteriole Reactivity to Noradrenaline Under Conditions Of Hyperhomocysteinemia – Georgian Medical News, 2019, #7-8 (292-293), 92-95 (co-authors: N Doreulee, M. Mitagvaria)

6. A Possible Mechanism of the Changes in Arteriole Contractility Under Conditions of Hyperhomocysteinemia. Proceedings of the Georgian National Academy of Sciences, Biomedical Series, International Congress of Geogian Ivane Beritashvili Society of Physiologists Proceedings, 2019, 45, #3-4, 453-455 (with N. Doreulee)

ციტირებული ლიტერატურა

1. ***Anderson L.R., Feinberg W.*** Primary platelet disorders. In: Primer on Cerebrovascular diseases (Eds.: Welch K., Caplan L., Reis D., Siesjo B., Weir B.), Academic Press, 1997, 401-405.
2. ***Andersson A., Brattstrom L., Israelsson B., Isaksson A., Hamfelt A., and Hultberg B.*** Plasma homocysteine before and after methionine loading with regard to age, gender and menopausal status. Eur. J. Clin. Investig., 1992, 22, 79–87.
3. ***Arnadottir M. and Hultberg B***. Homocysteine in renal disease, in Homocysteine in Health and Disease (Carmel R and Jacobsen DW eds) 2001, pp 321–330, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
4. ***Atkinson R.*** Pediatric Stroke. In: Primer on Cerebrovascular diseases (Eds.: Welch K., Caplan L., Reis D., Siesjo B., Weir B.), Academic Press, 1997, 362-363.
5. ***Avivi I., Lanir N., Hoffman R., Brenner B.*** Hyperhomocysteinemia is common in patients with antiphospholipid syndrome and may contribute to expression of major thrombotic events – Blood Coagulation & Fibrinolisis, 2002, 13(2): 169-172.
6. ***Baltrons M. A.*** Dexamethasone up-regulates a constitutive nitric oxide synthase in cerebellar astrocytes but not in granule cells in culture. J. Neurochem. 1995, 64, 447-450.
7. ***Beckman J.*** Nitric Oxide, Superoxide, and Peroxynitrate in CNS Injure. In: Cerebral Diseases.(Eds: Welch K., Caplan L., Reis D., Siesjo B., Weier B.). Academic Press, San Diego, 1997, 209-210.
8. ***Bell D.***, **Johns T., Lopez L.** Endothelial dysfunction: implications for therapy of cardiovascular diseases. Ann Pharmacother., 1998, 32, 459-470.
9. ***Bernaudin M., Tang Y., Reilly M., Petit E., Sharp F***. Brain genomic response following hypoxia and re-oxygenation in the neonatal rat. Identification of genes that might contribute to hypoxia-induced ischemic tolerance. J Biol Chem. 2002 Oct 18;277(42):39728-38. Epub 2002 Jul 26
10. ***Blom H.J., Kleinveld H.A., Boers G.H., Demacker P.N., Hak-Lemmers H.L., Te Poele-Pothoff M.T, and Trijbels J.M***. Lipid peroxidation and susceptibility of low density lipoprotein to in vitro oxidation in hyperhomocysteinaemia. Eur. J. Clin. Investig., 1995, 25, 149–154.

11. ***Blondeay N., Plamendon H., Richelme C., Heurteaux C., Lazdunski M.*** K(ATP) channel openers, adenosine agonists and epileptic preconditioning are stress signals inducing hippocampal neuroprotection. Neuroscience. 2000;100(3):465-74.
12. ***Blundell G., Jones B., Rose F., Tudball N.*** Homocysteine mediated endothelial cell toxicity and its amelioration. Atherosclerosis, 1996, 122, 163-172.
13. ***Boers G.H.*** Mild hyperhomocysteinemia is an independent risk factor of arterial vascular disease. Semin. Thromb. Hemost., 2000, 26, 291-295.
14. ***Bostom A.G., Culleton B.F.*** Hyperhomocysteinemia in chronic renal disease. J Am Soc Nephrol 1999, 10, 891–900.
15. ***Bostom A.G., Lathrop L.*** Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease (ESRD): prevalence, etiology, and potential relationship to arteriosclerotic outcomes. Kidney Int. 1997, 52, 10–20.
16. ***Brattstrom L. and Wilcken D.E.*** Homocysteine and cardiovascular disease: cause or effect? *Am J Clin Nutr.* 2000, **72,** 315–323.
17. ***Brattstrom L., Wilcken D.E., Ohrvik J., Brudin L.*** Common ethylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a metaanalysis. Circulation 1998, 98, 2520–2526.
18. ***Brattstrom B. Israelsson, and B Hultberg.*** Hyperhomocysteinemia--a new risk factor for vascular diseases**?** Lakartidningen, 1992, 89, 7, 467-469.
19. ***Bredt D.S. and Snyder S H.*** Nitric oxide, a novel neuronal messenger. Neuron, 8, 3, 1992.
20. ***Brenton D., Cusworth D.C., Gaull C.E.*** Homocystinuria. Biochemical studies of tissues including a compparison with cyststhioninuria**.** Pediatrics, 1965 (a), 35, 50-56.
21. ***Brenton D., Cusworth D.C., Gaull C.E.*** Homocystinuria: metabolic studies on 3 patients. J. Pediatr., 1965(b), 67, 58-68.
22. ***Brett D.S., Hwang P.M., and Snyder S.H***.: Location of nitric oxide synthase indicating a neurol role for nitric oxide. Nature 347 (6295), 768-770, 1990.
23. ***Brune B., Messmer U.K,, and Sandau K***. The role of nitric oxide in cell injury. Toxicol. Lett., Dec 1995; 82-83: 233-7.
24. ***Burnett A. L.*** Nitric oxide in the penis: physiology and pathology. J. Urol., 157, 320-324, 1997.

25. ***Burztyn Michael, Moto Michael, Grossman Ehud, Shemesh Joseph.*** Accelerated Conorary Artery Calcification in Mildy Reduced Renal Function of High-risk hypertensives: a 3-year prospective observation – Journal of Hypertension. 21(10):1953-1959
26. ***Celemajer D.***, Sorenson K., Ryalls M., Robinson J., Thomas O., Leonard J., Deanfield J. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not their heterozygous parents. J. Am. Coll. Cardiol., 1993, 22, 854-858.
27. ***Chasan-Taber L., Selhub J., Rosenberg I.H***. A prospective study of folate and vitamin B6 and risk of myocardial infarction in US physicians. J Am Coll Nutr 1996, 15, 136–143.
28. ***Chen J., Symon R***. Ischemic tolerance in the brain. Neurology, 1997, 48, 306-311.
29. ***Christen W.G., Ajani U.A., Glynn R.J., and Hennekens C.H.*** Blood levels of homocysteine and increased risks of cardiovascular disease: causal or casual? Arch Intern Med. 2000, 160**,** 422–434.
30. ***Cines D.***, ***Pollak E., Buck C., Loscalzo J***. Endothelial cell in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. Blood, 1998, 91, 3527-3561.
31. ***Ginis I., Iaiswal R., Klimanis D., Liu J., Greenspon P., Hallenbeck J***. TNF-alpha-induced tolerance to ischemic injury involves differential control of NF-kappaB transactivation: the role of NF-kappaB association with p300 adaptor. J Cereb Blood Flow Metab. 2002 Feb;22(2):142-52. 2002;
32. ***Clarke R***., ***Daly L., Robinson K., Naughten E., Cahalene S., Flower B.*** Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascul disease. N. Engl. J. Med., 1991, 313, 709-715.
33. ***Cobbaert C., Arentsen J.C., Mulder P., Hoogerbrugge N., and Lindemans J.*** Significance of various parameters derived from biological variability of lipoprotein(a), homocysteine, cysteine and total antioxidant status. Clin. Chem., 1997, 43**,**1958–1964.
34. ***Colasanti M., Suzuki H***. The dual personality of NO. Trends in Pharmacological Sciances. 2000. 21: 249-252.
35. ***Costa S.S.S., Naves., L.A., Abdall, L.F., Vaz J.A.R., Casulari L.A.*** Risk Factors for Atherosclerosis in Obese Patients, - European Journal of Clinical Investigation, Supplement. 33 Suplement 1:25, April 2003
36. ***Crea F., Pupita G., Galassi A.R.*** Role of adenosine in pathogenesis of anginal pain. Circulation 1990 Jan; 81(1):164-72 [Medline]

37. ***Conner E. M. and Grisham M. B***. Inflammation, free radicals, and antioxidants. Nutrition. 1996. 12 : 274-277.
38. ***D'Angelo, Selhub.*** Homocysteine and thrombotic disease. Blood, 1997, 90, 1-11.
39. ***Dalton M.L., Gadson P.F., Wrenn R.W., Rosenquist T.H.*** Homocysteine signal cascade: production of phospholipids, activation of PKC, and the induction of cpfos and c-myb in smooth muscle cells. FASEE J, 1997, 11:703-711
40. ***Dawson D.A., Kusumoto K., Graham D.I.*** Inhibition of nitric oxide synthesis does not reduce infarct volume in a rat model of focal cerebral ischemia. Neurosci Lett. 1992. 147 : 151-154.
41. ***Dawson T.M.*** Nitric oxide: cellular regulation and neuronal injury. Prog. Brain Res., 1994, 103 : 365-369.
42. ***Dawson T.M., Dawson V.L., Snyder S***. A novel neuronal messengermolecule in brain: the free radical nitric oxide. Ann. Neurol. 1992. 32 : 297-311.
43. ***Dawson V.L., Dawson T.M., London E.D***. Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical culture. Proc. Natl Acad. Sci. USA, 1991. 88, 6368-6371.
44. ***de Bree A., Verschuren W.M., and Blom H.J.*** Biological cardiovascular risk factors and plasma homocysteine levels in the general Dutch population. Atherosclerosis, 2001, 154, 513–514.
45. ***de Bree A., Verschuren M., Kromhout D., Kluijtmans L., Blom H.*** Homocysteine Determinants and the Evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. Pharmacological Reviews, 2002, 54, 4, 599-618.
46. ***De Caterina R.***, ***Libby P., Peng H., Thannical V.*** Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. J Clin Invest, 1995, 60-68.
47. ***Defesche J.C.I. Buirma R.J.A. Hutten B.A. Lansberg P.J. Kastelein J.J.J.P.I.*** Prevalence and significance of cardiovascular risk factors in large cohort of patients with familial hypercholesterolaemia – Journal of Internal Medicine, 2003, 253 (2): 161-168.
48. ***den Heijer M., Rosendaal F.R., Blom H.J., Gerrits W.B., Bos G.M.*** Hyperhomocysteinemia and venous thrombosis: a meta-analysis. Thromb. Haemost., 1998; 80:874–7.
49. ***Dubey R.***, ***Jackson E., Luscher T.*** Nitric oxide inhibits angiotensin II-induced migration of rat aortic smooth muscle cells. J. Clin. Invest., 1995, 96, 141-149.

50. ***Durand P.***, ***Fortin L., Lussier-Cacan S., Davignon J., Blache D.*** Hyperhomocysteinemia induced by folic acid deficiency and methionine load-application of a modified HPLC method. Clin. Chim. Acta, 1996, 252, 83-93.
51. ***Durand P.***, ***Lussier-Cacan S., Blache D.*** Acute methionine load-induced hyperhomocysteinemia enhances platelet aggregation, thromboxane biosynthesis and macrophage-derived tissue factor activity in rats. FASEB J., 1997, 11, 1157-1168.
52. ***Dzau V.***, ***Gibbson G., Mann M., Braun-Dullaeus R.*** Future horizons in cardiovascular molecular therapies. Am. J. Cardiol., 1997, 80, 33-39.
53. ***Eaton P., W.I. Awad J.I. A. Miller D.J. Hearse and M.J. Shattock***. Ischemic Preconditioning: a Potential Role for Constitutive Low Molecular Weight Stress Protein Translocation and Phosphorylation? Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 2000, 32, 6, 861-971
54. ***Eberhardt R.T., Forgione M.A., Cap A., Leopold J., Rudd M., Tolliet M., Heyrick S., Stark R., Klings E., Moldovan N., Yaghoubi M., Goldsmidth-Clermont P., Faver H., Cohen R., Loscalzo J.*** Endothelial dysfunction in a murine model of mild hyperhomocysteinemia. J. Clin. Invest., 2000, 106, 483-491.
55. ***Egashira K.***, ***Inou T., Irooka T., Yamada A., Maruoka Y., Kai H., Sugimachi M., Suzuki S., Takeshita A.*** Impaired coronary blood flow response to acetylcholine in patients with coronary risk facors and proximal atheroscleoic lesions. J.Clin.Invest., 1993, 91, 29-37.
56. ***Eichinger S., Stumpflen A., Hirschl l.*** Hyperhomocysteinemia is a risk factor of recurrent venous thromboembolism. Thromb Haemost 1998, 80, 566–569.
57. ***Eikelboom J.W., Lonn E., Genest J., Hankey G., Yusuf S***. Homocysteine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. Ann. Intern. Med., 1999, 131, 363-375.
58. ***Fay William P.*** Homocysteine and thrombosis: guilt by association? Blood**,** 2012, 119, 13, 2977 - 2978
59. ***Folsom A.R., Nieto F.J., McGovern P.G.*** Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. Circulation 1998, 98, 204–210.

60. ***Ford E***., ***Smith S.J., Stroup D., Steinberg K., Mueller P., Thacker S.*** Homocysteine and cardiovascular disease: a systematic review of the evidence with special emphasis on case-control studies and nested case-control studies. Int. J. Epidemiology, 2002, 31, 59-70.
61. ***Frauscher G., Karnaukhova E.*, Muehl E., Hoeger H., Lubec B**. Oral administration of homocysteine leads to increased plasma triglycerides and homocysteinic Acid: Additional mechanisms in homocysteine-induced endothelial damage? Life Sci., 1995; 57, 813-817.
62. ***Fryer R.H., Wilson B.D., Gubler D.B., Fitzgerald L.A., and Rodgers G.M.*** Homocysteine, a risk factor for premature vascular disease and thrombosis, induces tissue factor activity in endothelial cells. Arterioscler Thromb. 1993, 13**,**1327–1333.
63. ***Furchgott R.***, ***Zawadzki J.*** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature, 1980, 288, 373-376.
64. ***Ganguly P. and Alam Sreyoshi Fatima.*** Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease Nutr J. 2015; 14: 6. Published online 2015 Jan 10. doi: 10.1186/1475-2891-14-6 PMCID: PMC4326479.
65. ***Greenland S.*** Quantitative methods in the review of epidemiologic literature. Epidemiol Rev 1987,9, 1–30.
66. ***Guttormsen A., Mansoor A., Fiskerstrand T., Ueland P., Refsum H.*** Kinetics of plasma homocysteine in healthy subjects after peroral homocysteine loading. Clin. Chem., 1993, 39, 1390-1397.
67. ***Hankey G., Eikelboom J.*** Homocysteine and vascular disease. Lancet, 1999, 354, 407-413.
68. ***Harker L.***, ***Ross R., Slichter S., Scott R***. Homocysteine-induced arteriosclerosis: The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. J. Clin Invest., 1976, 58, 731-741.
69. ***Hayashi T***. Effect of astrogen on isoforms of nitric oxide synthase: possible mechanism of anti-atherosclerotic effect of estrogen. Gerontology. 1997. 43 : 24-34.
70. ***Hempel L.*** Homocysteine decreases endothelial cell gluthatione, increasing the semsitivity to oxidants. Circ., 1998, suppl. I, 386, Abstract.
71. ***Hofmann M., Lalla F., LuY., Gleason M., Wolf B., Tanji N., Ferran L., Kohl B., Rao V., Kisiel W., Stern D., Schmidt A.M.*** Hyperhomocysteinemia enhances vascular inflamation and accelerates atherosclerosis in a murine model. J. Clin Invest., 2001, 107, 675-683.
72. ***Huang A***., ***Sun D., Kaley G., Koller A.*** Superoxide released to high intraluminal pressure reduces nitric oxide-mediated shear stress and agonist-induced dilations. Circ. Res., 1998, 83, 960-965.

73. ***Hultberg B.***, ***Andersson A., Lindgren A.*** Marginal folate deficiency as a possible cause of hyperhomocysteinemia in stroke patients. Eur.J. Clin. Chem Clin. Biochem., 1997, 35, 25-28.
74. ***Humphrey L., Fu R., Rogers K., Freeman M., Helfand M.*** Homocysteine Level and Coronary Heart Disease Incidence: A Systematic Review and Meta-analysis. Mayo Clinic Proceedings, 2008, 83, 11, 1203–1212.
75. ***Jonsson T.***, ***Murray M., Johnson L., Poole L.B., Lowther W***. Structural basis for retroreduction of inactivated peroxiredoxins by human sulfiredoxin. Biochemistry, 2005, 44, 8634-8642.
76. ***Kaley G.***, **Koller A., Rodenburg J., Messina E., Wolin M.** Regulation of arteriolar tone and responses via L-arginine pathway in skeletal muscle. Am J Physiol. 1992, 262, H987-H992.
77. ***Kanani R., Sinkey C., Browning R., Allaman M., Knapp H.R., HaynesW.G***. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocysteinemia in humans. Circulation, 1999, 100, 1161-1168.
78. ***Kark J.D., Selhub J., Adler B***. Nonfasting plasma total homocysteine level and mortality in middle-aged and elderly men and women in Jerusalem. Ann Intern Med 1999,131,321–330.
79. ***Kasiske B.*** Relationship between vscular disease and age associated changes in the human kidney. Kidney Int., 1987, 31, 1153-1159.
80. ***Knowles R.G. and Moncada S.*** Nitric oxide syntheses in mammals. Biochem. J., 298: 249, 1994.
81. ***Koller A., Huang A***. Impaired nitric-oxide mediated flow-induced dilation in arterioles of SHR. Circ Res. 1994, 74, 416-421.
82. ***Kostuk S.K.*** Basic fibroblast growth factor increases nitric oxide synthase production in bovine endothelial cells. Am. J. Physiol. 1995. 269 : H 1583 – 1589.
83. ***Kuo L.***, ***Dacis M., Cannon M., Chilian W***. Pthophysiological consequences of athrosclerosis ectend into the coronary microcirculation: restoration of endothelium-dependent responses by L-arginine. Circ. Res., 1972, 70, 465-476.
84. ***Kuo P.C., Abe K.Y.*** Cytokine-mediated production of nitric oxide in isolated rat hepatocytes is dependent on cytochrome P-450III activity. FEBS Lett. 1995. 360 : 10-14.
85. ***Lancaster F.E***. Nitric oxide and Ethanol-induced Brain damage. A Hypothesis, research Nomegtaph, N22, 1993, p, 373-387.

86. ***Landgren F***., ***Israelsson B., Lindgren A., Hultberg B., Andersoson A., Brattstrom L.*** Plasma homocysteine in acute miocardial infarction: homocysteine-lowering effect of folic acid. J. Intern. Med., 1995, 237, 381-388.

87. ***Lee Y.K.. Kim S.Y.. Shin J.H,. Oh K.S., Cha D.R., Known Y.J., Cho W.Y., Pyo H.J. Kim H.K.*** Homocysteine and Atherosclerosis in Chronic Hemodialyzed Patients, - Kidney International. 54(5):1800, November 1998

88. ***Leibovich S***., ***Polverini P., Fong T., Harlow L., Koch A***. Production of angiogenic activity by human monocytes requires an L-arginine/nitric oxide-synthase-dependent effector mechanism. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91, 4190-4194.

89. ***Lentz S***. Consequences of hyperhomocysteinemia on vascular function in athersclerotic monkeys. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 1997, 17, 2930-2934.

90. ***Lentz S.R., Erger R.A., Dayal S., Maeda N., Malinow M.R., Heistad D., Faraci F. Folate*** dependence of hyperhomocysteinemia and endothelial disfunction in cystathionine beta-synthase-deficient mice. Am. J. Physiol., 2000, 278, H970-H975.

91. Lentz S.R., Sadler J. Inhibition of thromboduline surfice expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. J. Clin. Investig., 1991, 88, 1906-1914.

92. ***Lentz S.R., Sobey C.G., Piegors D.J., Bhopatkar M., Faraci F.M., Malinow M.R., Heistad D.*** Vascular disfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocysteinemia.J. Clin. Invest., 1996, 98, 24-29.

93. ***Licinio J., Prolo P., McCann S. M.***. Brain iNOS: Current understanding and clinical implications. Molecular Medicine Today. 1999. 5 : 225-232.

94. ***Lin H. L., Murphy S.*** Regulation of astrocyte nitric oxide synthase type 11 expression by ATP and glutamate involves loss of transcription factor binding to DNA. J. Neurochem. 1997. 69 : 612-616.

95. Lin J., Kang S., Zhou J., Wong P. Homocysteinemia in rats induced by folic acid deficiency. Life Scie. 1988, 44, 319-325.

96. ***Lin S. Zl., Chiou A.L.,Wang Y***. Ketamine antagonizes nitric oxide release from cerebral cortex after middle cerebral artery ligation in rats. Stroke. 1996. 27 (4) : 747-752.

97. ***Lindgren A***., ***Brattstrom I., Norrving B., Andersson A., Johansson B***. Plasma homocysteine in the acute and convalescent phases after stroke. Stroke, 1995, 6, 795-800.

98. ***Loehrer F.***, ***Angst C., Haefeli W., Jordan P., Ritz R., Powler B.*** Low whole-blood S-adenosylmethionine and correlation between 5-methyltetrahydrofolate and homocysteine in coronary artery disease. Arterioscler Thromb Vasc. Biol. 1996, 16, 727-733.

99. ***Loscalzo J.*** The oxidative stress of hyperhomocysteinemia. J.Clin Invest., 1996, 98, 308-318.

100. ***Lubec B., Labudova O., Hoeger H., Muehl A., Fang-Kircher S., Marx M., Mosgoeller W., and Gialamas J.*** Homocysteine increases cyclin-dependent kinas in aortic rat tissue. Circulation,1996, **94,** 2620–2625.

101. ***Ludmer P.***, ***Selwyn A., Shook L., Wayne R., Mudge G., Alexander R. Canz P***. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in athreosclerotic coronary arteries. N ngl Med, 1986, 315, 1046-1051.

102. ***Malinow M., Bostom A., Krauss R.*** Homocisteine diet and cardiovascular diseases: a statement for healthcare professionals from nutrition committee, American Heart Association, Circulation , 1999, 99, 178-192.

103. ***Malinow M.***, ***Kang S., Taylor L., Wong P., Inahura T., Mukerjee D., Serton G., Upson B.*** Prelevance of hyperhomocysteinemia in patients with peripheral arterial occlusive disease. Circulation, 1989, 79, 1180-1188.

104. ***Malinski T., Bailey F., Zhang Z., Chopp M***. Nitric Oxide measured by a porphyrinic microsensor in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion. J. Cereb. Blood Flow Metab. 1993, 13, 355-358.

105. ***Martella M. A., Hurshman A. R., Rusche K. M.*** Catalysis by nitric oxide synthase. Current Opinion in Chemical Biology. 1998. 2 : 656-663.

106. ***Mathias D., Becker C., Riezler R., Kindling P.*** Homocysteine induced arteriosclerosis-like alterations of the aorta in normotensive and hypertensive rats following application of high doses of methionine. Atherosclerosis, 1996, 122, 201-216.

107. ***Matsushita K.***, ***Morrell C., Mason R., Yamakuchi M., Khandav F., Irani K., Lowenstein C.*** Hydrogen peroxide regulation of endothelial exocytosis by inhibition of N-ethylmaleimide sensitive factor. J Cell Biol, 2005, 170, 73-79.

108. ***McCann S. M***. Induction by cytokines of the pattern of pituitary hormone secretion in infection**.** neuroimmunomodulation. 1994. 1 : 2-13.

109. ***McCully K***.S. Homocysteine metabolism in scurvy, growth and arteriosclerosis. Nature, 1971, 391-392.

110. ***McCully K.S***. Vascular pathology of homocysteimemia: implications for the pathogenesis of atherosclerosis. Am. J. Pathol., 1969, 56, 111-128.

111. ***McCully K.S., Wilson R.B***. Homocysteine theory of arteriosclerosis. Atherosclerosis. 1975, 22, 215-227.

112. ***Moncada S., Palmer R., Higgs E.*** Nitric oxide: physiology, pathpohysiology and pharmacology. Pharmacol. Rev., 1991, 43, 109-142.

113. ***Moncada S.*** Nitric oxide gas: mediator, modulator, and pathophysiologic entity. J. Lab. Clin. Med., 120: 187, 1992.

114. ***Mudd S.H.*** Homocystinuria: an enzymatic defect. Science (Wash D C), 1964, 143, 1443–1445.

115. ***Mudd S.H., Finkelstein J., Refsum H., Ueland P., Malinow M.R., Lentz S.R., Jacobsen D., Brattstrom I., Wilcken B., Wilcken DEL., Blom H., Stabler S.P.,Allen R., Selhub J., Rosenberg I.H.*** Homocysteine and its disulfide derivatives: a suggested consensus terminology. Ateroscler. Thromb. Vasc. Biol., 2000, 20, 1704-1706.

116. ***Mudd S.H., Levy H.*** Plasma homocysteine or homocysteine? N. Engl. J. Med., 1995, 333, 325.

117. ***Mudd S.H., Finkelstein J.D., Refsum H., Ueland P.M., Malinow M.R., Lentz S.R., Jacobsen D.W., Brattstrom L., Wilcken B., Wilcken D.E***. Homocysteine and its disulfide derivatives: a suggested consensus terminology. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2000, 20**,**1704–1706.

118. ***Mud S.H., Skovby F., Levy H.L., Pettigrew K.D., Wilcken B., Pyeritz R.E., Andria G., Boers G.H., Bromberg I.L, Cerone R***. The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. Am. J. Hum. Genet., 1985, 37**,** 1–31.

119. ***Munoz J., Garcia-Rodriges J.A.*** Detection of mechanisms of resistance. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2003 May;21 Suppl 2:72-4. Spanish. 2003;

120. ***Mural F***. Nitric oxide signaling: would you beleave that a simple free radical could be a messenger, autocoid, paracine substance, neurotransmitter and hormone? Recent Prog. Horm. Res., 1998, 53, 43-59.

121. ***Nathan C***. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. FASEB J., 6, 3051, 1992.

122. ***Nishio S., Yunoki M., Chen Z., Anzivino M., Lee K.S***. Ischemic tolerance in the rat neocortex following hypothermic preconditioning. J Neurosurg. 2000 Nov;93(5):845-51.

123. ***Norlund L., Grubb A., Fex G., Leksell H., Nilsson J.E., Schenck H,. and Hultberg.*** The increase of plasma homocysteine concentrations with age is partly due to the deterioration of renal function as determined by plasma cystatin C. Clin. Chem. Lab. Med., 1998, 36, 175–178.

124. ***Nygård O., Nordrehaug J.E., Refsum H., Ueland P.M., Farstad M., Vollset S.E.*** Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. N. Engl. J., Med., 1997, 337, 230–236.

125. ***Pelligrino D.A., Koenig H.M., Albrech R.F***. The role of nitric oxide (NO) in cerebral arteriolar relaxation during hypoxia in the rat [Abstract]. Anesthesiology, 1993, 79: A757.

126. ***Perneger T., Nieto F., Whelton P., Klag M., Comstock G., Szklo M.*** A prospective study of blood pressure and serum creatinine. Results from the "Clue" study and the ARIC study. JAMA, 1993, 269, 488-493.

127. ***Petri M., Roubenoff R., Dallal G.E., Nadeau M.R., Selhub J., Rosenberg .IR.*** Plasma homocysteine as a risk factor for atherothrombotic events in systemic lupus erythematosus. Lancet, 1996, 348, 1120–1124.

128. ***Pintavorn P., Ballermann B.J***. TGF and the endothelium during immune injury. Kidney Int., 1997, 51 : 1401-1412.

129. ***Ose I., Leiv B.*** Familial Hypercholesterolemia from Children to Adults – Cardiovascular Drugs & Therapy, 16(4):289-293, July 2002

130. ***Quyiumi A., Dakak N., Andrews N., Hussain A., Arora S., Gilligan D., Panza J.*** Nitric oxide activity in the human coronary circulation. Impact of risk factors for coronary atherosclerosis. J. Clin. Invest., 1995, 95, 1747-1753.

131. ***Ragone R.*** Homocystine solubility and vascular disease. FASEB J., 2002, 16, 401-404.

132. ***Rasmussen K., Moller J.*** Total homocisteine determination in clinical practice. Ann. Clin. Biochem., 2000, 37, 627-648.

133. ***Ray J.G.*** Meta-analysis of hyperhomocysteinemia as a risk factor for venous thromboembolic disease. Arch Intern Med., 1998, 158, 2101–2106.

134. ***Refsum H. and Ueland P.M***. Clinical significance of pharmacological modulation of homocysteine metabolism. Trends Pharmacol Sci. 1990, **11,** 411–416.

135. ***Refsum H., Ueland P.M., Nygård O., Vollset S.E***. Homocysteine and cardiovascular disease. Ann. Rev. Med., 1998, 49, 31–62.

136. ***Ridker P.M., Hennekens C.H., Selhub J., Miletich J.P., Malinow R.M., Stampfer M.J.*** Interrelation of hyperhomocyst(e)inemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. Circulation, 1997, 95, 1777–1782.

137. ***Robinson K.***, ***Mayer E., Miller D., Green R., van Lende F., Gupta A., Kottke-Marchant K., Savon S., Selhub J., Nissen S.*** Hyperhomocysteinemia and low pyridoxal phosphate: common and independent reversible risk ffactor for coronary artery disease. Circulation, 1995, 92, 7855-7830.

138. ***Rodgers G.M. and Conn M.T.*** Homocysteine, an atherogenic stimulus, reduces protein C activation by arterial and venous endothelial cells. Blood, 1990, **75:**895–901.

139. ***Rosenblatt D.S.*** Inherited disorders of folate transport and metabolism, in TheMetabolic Basis of Inherited Disease (Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS and Valle D eds)1989, 2049–2064, McGraw-Hill, New York.

140. ***Rothwell P.M., Howard S.C., Power D.A., Gutnikov S.A., Algra A., Van Gijn J., Clark T.G., Murphy M.F., Warlow C.P.*** Fibrinogen concentration and risk of ischemic stroke and acute coronary events in 5113 patients with transient ischemic attack and minor stroke. Stroke Prevention Research Unit, University of Oxford, UK

141. ***Sachdev.*** Homocysteine, cerebrovascular disease and brain atrophy. J. Neurol. Sci., 2004, 226, 25-29.

142. ***Salsman S.***, ***Hensley K., Floyd R.*** Sensitivity of protein tyrosine phosphatase activity ti the redox environment, cytochrome C, and microperoxidase. Antioxid Redox Signal, 2005, 7, 1078-1088.

143. ***Samoilov M.O., Mokrushin A.A.*** Modification of redox sites of N-methyl-D-aspartate receptors affects anoxia-induced changes in the bioelectrical activity of rat brain olfactory cortex slices. Neurosci Behav Physiol. 2003 Jul;33(6):601-5.

144. ***Schachinger V., Britten M.B., Elsner M., Walter D.H., Scharrer I., and Zeiher A.M.*** A positive family history of premature coronary artery disease is associated with impaired endothelium-dependent coronary blood flow regulation. *Circulation, 1999,* 100**,** 1502–1508.

145. ***Schulman I.H***., ***Zhou M.S***., ***Raij L.*** Interaction between nitric oxide and angiotensin II in the endothelium: role in atherosclerosis and hypertension. J. Hypertens. Suppl., 2006, Mar;24(1):S45-50

146. ***Schurr A., Payne R., Tseng M., Gozal E., Gozal D***. Excitotoxic preconditioning elicited by both glutamate and hypoxia and abolished by lactate transport inhibition in rat hippocampal slices. Neurosci Lett. 2001 Jul 20;307(3):151-4.

147. ***Schneede J., Refsum H., and Ueland P.M.*** Biological and environmental determinants of plasma homocysteine. Semin Thromb Hemost, 2000, 26**,** 263–279.

148. ***Selhub J.*** Homocisteine metabolism. Annu. Rev. Med., 1999. 19, 217-246.

149. ***Semenza G***. Expression of hypoxia-inducible factor 1: mechanisms and consequences. Biochem Pharmacol. 2000 Jan 1;59(1):47-53.

150. ***Sepulveda-Sanches J.M., Matia-Frances R., Martinez-Salio A., Gonzalez-de la Aleja-Tejera J., Marin M., Porta-Etessam J***. Homocysteine and cerebrovascular disease. Rev. Neurol., 2004, 38, 347-358;

151. ***Sessa W.C., Pritchard K., Seyedi N., Wang J., Hintze T.H*.** Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression**.** Circ. Res., Feb 1994; 74: 349 - 353.

152. ***Sessa W.C.*** The nitric oxide synthase family of proteins. J.Vasc. Res., 1994, 31: 131.

153. ***Stamler J***., ***Osborne J., Jaraki O., Rabbani L., Mollins M., Singel D., Loscalzo J.*** Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. J. Clin. Invest, 1993, 91, 308-318.

154. ***Stampfer M.J., Malinow M.R., Willett W.C.*** A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. JAMA 1992, 268, 877–881.

155. ***Stampfer M.J., Malinow M.R.*** Can lowering homocysteine levels reduce cardiovascular risk? N. Engl. J. Med., 1995, 332, 328-329.

156. ***Stanger O., Herrmann W., Peitzik K., Fowler B., Geisel J., Deirkes J., Weger M.*** DACH-LIGA Homocystein (German, Austrian and Swiss Homocysteine Society): Consensus Paper on the Rational Clinical Use of Homocysteine, Folic Acid and B- Vitamins in Cardiovascular and Thrombotic Diseases: Guidelines and Recommendations – Clinical Chemistry & Laboratory Medicine, 3rd conference on Hyperhomocysteinemia, 2006:

157. ***Starkebaum G. and Harlan J.M.*** Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. J. Clin. Investig., 1986, **77,** 1370–1376.

158. ***Stefano G.B.*** Autoimmunovascular regulation: morfhine and anandamine stimulated nitric oxide release. J. Neuroimmunol., 1998. 83 : 70-76.

159. ***Stefano G.B***. Basal nitric oxide limits immune, nervous and cardiovascular excitation: human endothelia express a mu opiate receptor. Prog. Neurobiol., 2000, 60 : 513-530.

160. ***Stefano G.B.*** Interleikin-10 stimulation of endogenous nitric oxide release from human saphenous veins diminishes immunocyte adherence. J. Cardiovasc. Pharmacol., 1997, 30 : 90 – 95.

161. ***Stehouwer C.D. ,Weijenberg M.P., van den Berg M., Jakobs C., Feskens E.J., Kromhout D.*** Serum homocysteine and risk of coronary heart disease and cerebrovascular disease in elderly men: a 10-year follow-up. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 1998, 18, 1895–901.

162. ***Surtess R.***, ***Leonard J., Austin S.*** Association of demyelination with deficiency of cerebrospinal fluid S-adenosylmethionine in inborn errors of methyl-transfer pathway. Lancet, 1991, 338, 1150-1554.

163. ***Sutter P., Marx A., Stierli P., Heberrer M., Gurke L.*** Preconditioning with short cycles improves ischemic tolerance in rat fast- and slow-twitch skeletal muscle. Eur. Surg. Res., 2000;32(5):297-304.

164. ***Taniwaki H.***, ***Nishizawa Y., Kawagishi T., Ishimura E., Emoto M., Okamura, Y. Okuno, H. Morii.*** Decrease in glomerular filtration rate in Japanese patients with type 2 diabetes is linked to atherosclerosis Diabetes Care, Nov 1998; 21: 1848 - 1855.

165. ***Tawakol A.***, ***Omland T., Gerhard M., Wu J., Creager M.*** Hyperhomocysteinemia is associated with impaired endothelial-dependent vasodilation in humans. Circulation, 1997, 95, 1119-1121.

166. ***Tehlivets O***. Homocysteine as a Risk Factor for Atherosclerosis: Is Its Conversion to S-Adenosyl-L-Homocysteine the Key to Deregulated Lipid Metabolism? Journal of Lipids, 2011 (2011),

167. ***Tousoulis D***., ***Kampoli A.M***., ***Tentolouris C***., **Papageorgiou N**., **Stefanadis C**.The role of nitric oxide on endothelial function. Curr. Vasc. Pharmacol., 2012 Jan; 10(1):4-18.

168. ***Toyoda K., Fujii K., Ibayashi S., Nagao T., Kitazono T., Fujishima M.*** Role of nitric oxide in regulation of brain stem circulation during hypotension. J. Cereb. Blood Flow Metab., 1997, 17, 1089-1096.

169. ***Tsai J.C., Perrella M.A., Yoshizumi M., Hsieh C.M., Haber E., Schlegel R., and Lee M.E***. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994, 91**:**6369–6373.

170. ***Tsai J.C., Wang H., Perrella M.A., Yoshizumi M., Sibinga N.E., Tan L.C, Haber E., Chang T.H., Schlegel R., and Lee M.E***. Induction of cyclin A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells. J. Clin. Investig., 1996, 97**,**146–153.

171. ***Ubbink J***. What is a desirable homocisteine level? In: Carmel R., Jacobsen D. Eds. Homocisteine in health and disease. Cambridge UK. Cambirdge University Press, 2001, 485-490.

172. ***Ueland P., Refsum H.*** Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease; plasma level in health, disease and drug therapy. J. Lab. Clin. Med., 1989, 114, 473-501.

173. ***Ueland P.***, ***Refsum H., Stabler S., Malinow M., Andersson A., Allen R.*** Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. Clin. Chem., 1993, 39, 1764-1779.

174. ***Ungvari Z., Pacher P., Rischak K., Szollar L., Koller A.*** Dysfunction of nitric oxide mediation in isolated rat arterioles with methionine diet-induced hyperhomocisteinemia. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 1999, 19, 1899-1904.

175. ***Upchurch G.***, ***Welch G., Fabian A., Freedman J., Johnson J., Keaney J., Loscalzo J.*** Homocysteine decreases bioavailability nitric oxide by a mechanism involving gluthatione peroxidase. J. Biol. Chem., 1997, 272, 17012-17017.

176. ***van Ede A.E., Laan R.F., Blom H.J., Huizinga T.W., Haagsma C.J., Giesendorf B.A., de Boo T.M. and van de Putte L.B.*** The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a genetic risk factor for methotrexate-related elevation of liver enzymes in rheumatoid arthritis patients. Arthritis Rheum., 2001, 44**,** 2525–2530.

177. ***Verhoef P., Stampfer M.J., Buring J.E***. Homocysteine metabolism and risk of myocardial infarction: relation with vitamins B-6, B-12, and folate. Am. J. Epidemiol., 1996, 143, 845–859.

178. ***Verhoef P.***, ***Kok F., Kruyssen D., Schouten E., Witteman J., Grobbee D., Ueland P., Refsum H.*** Plasma total homocysteine, B vitamins, of coronary atherosclerosis. Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol., 1997, 17, 989-995.

179. ***Verhoef P.***, ***Stampfer M.*** Prospective studies of homocysteine and cardiovascular disease. Nutr. Rev., 1995, 53, 283-288.

180. ***Vermeulen E.G., Stehouwer C.D., Twisk J.W***. Effect of homocysteine lowering treatment with folic acid plus vitamin B6 on progression of subclinical atherosclerosis: a randomised, placebocontrolled trial. Lancet, 2000, 355, 517–522.

181. ***Vivancos A***., ***Castillo E., Biteau B., Nicot C., Ayte J., Toledano M., Hidalgo E.*** A cysteine-sufinic acid in peroxiredoxin regulates H2O2-sensing by the antioxidant Pap1 pathway. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102, 8875-8880.

182. ***Vollset S.E., Refsum H., Tverdal A., Nygard O., Nordrehaug J.E., Tell G.S., and Ueland P.M***. Plasma total homocysteine and cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Hordalans Homocysteine Study. American Journal of Clinical Nutrition, 2001, 74**,** 130–136.

183. ***Vychytil A,, Fodinger M,, Wolfl G,, Enzenberger B,, Auinger M,, Prischl F., Buxbaum M., Wiesholzer M., Mannhalter C., Horl W.H***. Major determinants of hyperhomocysteinemia in peritoneal dialysis patients. Kidney Int., 1998, 53**:**1775–1782.

184. ***Wall R***., ***Harlan J., Harker L., Striker G.*** Homocysteine-induced endothelial cell injury in vitro: a model for the study of vscular injury. Thromb. Res., 1980, 18, 113-121.

185. ***Watanabe M., Osada C.G., Aratani Y., Klukman K., Reddick R., Malinow M.R., Maeda N.*** Mice deficient in cistathionine beta-synthase: animal models for mild and severe homociteinemia. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1995, 92, 1585-1589.

186. ***Wilcken D.E.L., Wilcken B.*** The pathogenesis of coronary artery disease.A possible role for methionine metabolism. J. Clin. Invest., 1976, 57, 1079–1082.

187. ***Willenborga D.O., Staykova M.A., Cowden W.B***. Our shifting understanding of the role of nitric oxide in autoimmune encephalomyelitis: a review. Journal of Neuroimmunology, 1999, 100 : 21-35.

188. ***Wink D.A., Kasprzak K.S., Maragos C.M***. DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors. Science, 1991, 254 : 1001-1003.

189. ***Wolin M.S., Davidson C.A., Kaminski P.M***. Oxidant-nitric oxide signalling mechanisms in vascular tissue, Biochemistry (Moscow), 1999, 66 : 657 – 664.

190. ***Wong M.L.*** IL-1 beta, IL-1 receptorantagonist, Il-10 and Il-13 expression in the central nervous system and anterior pituitary during systemic inflammation and pathophysiological implications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997, 94 : 227 – 232.

191. ***Wong M.L.*** IL-1 beta, IL-1 receptor type1 and iNOS gene expression in rat brain vasculature and perivascular areas**.** **N**euroReport, 1996, 7 : 2445 –2448.

192. ***Woo K.***, ***Chook P., Lolin Y.*** Hyperhomocysteinemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. Circulation, 1997, 96, 2542-2544.

193. ***Yap S., Naughten E.R., Wilcken B., Wilcken DE, and Boers G.H***. Vascular complications of severe hyperhomocysteinemia in patients with homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency: effects of homocysteine-lowering therapy. Semin. Thromb. Hemost., 2000, 26**,** 335–340.

194. ***Yen Chia-Hung, Lau Ying-Tung.***Vascular Responses in Male and Female Hypertensive Rates with Hyperhomocysteinemia. Hypertension, 2002, September, 40(3):322-328.

195. ***Zhang R.L., Chopp M., Tang W.X.*** Anti-ICAM-1 antibody (IA29) reduces ischemic tissue damage after transient but not permanent middle cerebral artery (MCA) occlusion in the rat. Stroke, 1995, 26:169.

196. ***Zhang Z.G., Chopp M., Zaloga C***. Cerebral endothelial nitric oxide synthase expression after focal cerebral ischemia in rats. Stroke, 1993, 24 (12) : 2016 – 21. discussion 2021-2.

197. ***Zhou J., Moller J., Danielson C., Bentzon J., Ravn H., Austin R., Falk E.*** Hyperhomocisteinemia promotes development of collagen-rich and stable plaques in apoE-deficient mice. Ateroscler. Thromb. Vasc. Biol., 2001, 21, 1470-1476.

198. ***Zimmermann C., Ginis I., Furua K., Klimaris D., Ruetzler C., Spatz M., Hallenbeck J.*** Lipopolysaccharide-induced ischemic tolerance is associated with increased levels of ceramide in brain and in plasma. Brain Res., 2001, Mar, 23:895(1-2):59-65.

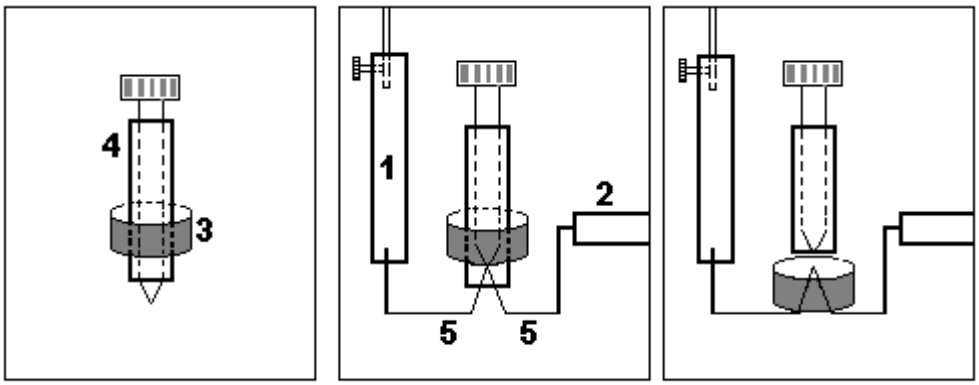
199. ***Берлин Г.С., Петров А.Г., Харкевич Д.А., Шорр В.А.*** О возможности применения механотронных преобразователей в экспериментальных биологических исследованиях. Бюлл. эксперим. биол. и медицины, 1979, 88, 11, 626-629.

200. ***Кулагина В.П., Удельнов М.Г***. Изменение реакции изолированных сосудистых сегментов на электростимуляцию под влиянием индерала. Кардиология, 1978, 18, 3, 97-101.

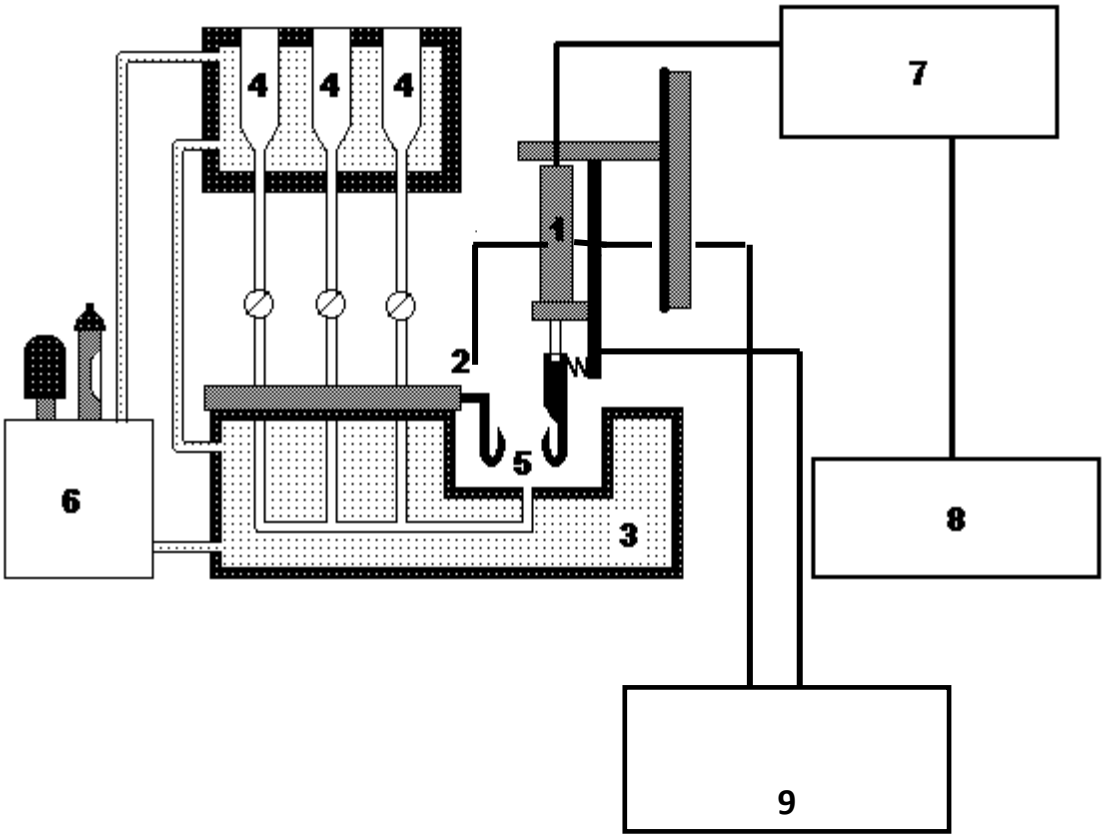
201. ***Шевченко О.П., Г.А. Олефирсенко, Н.В. Червякова.*** Патохимия крови для врачей, 2002, стр. 3-47.

202. ***Шевченко О.П.*** Гомоцистеин – новый фактор риска атеросклероза и тромбоза - Журнал Клиническая лабораторная диагностика, 2004, №10, стр. 25-31.

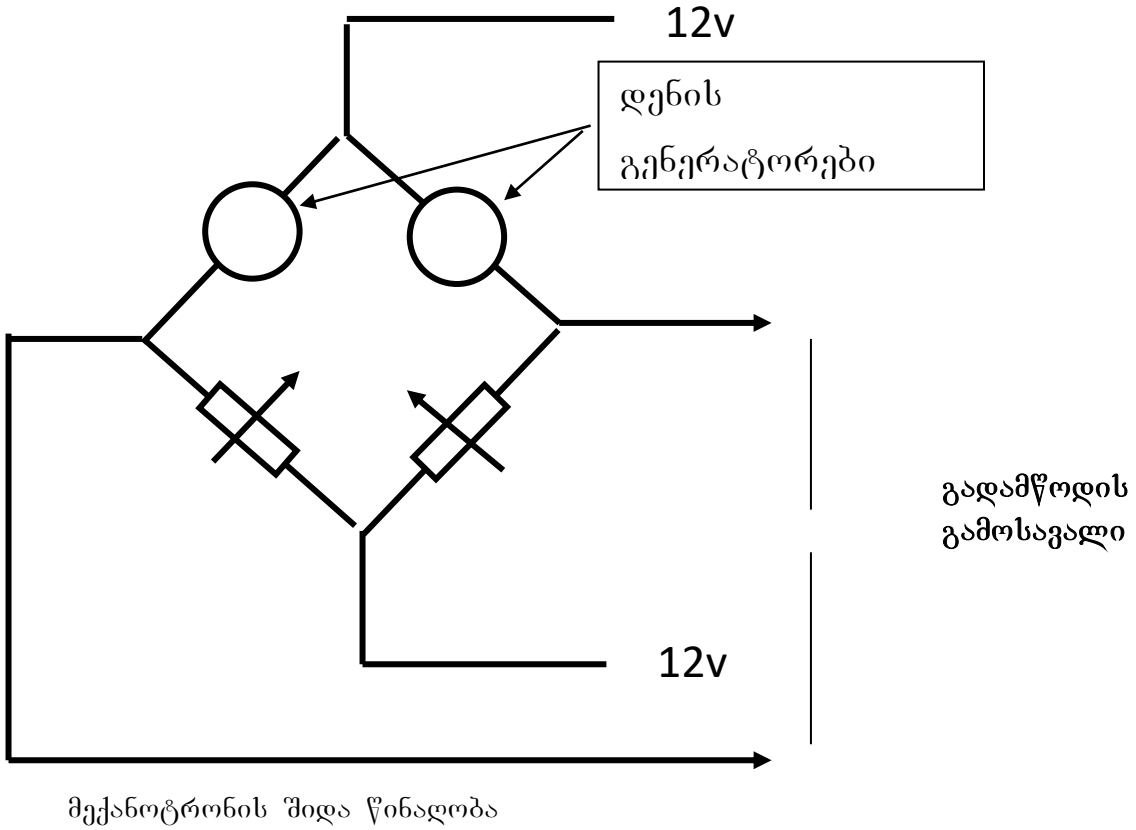
სურათები



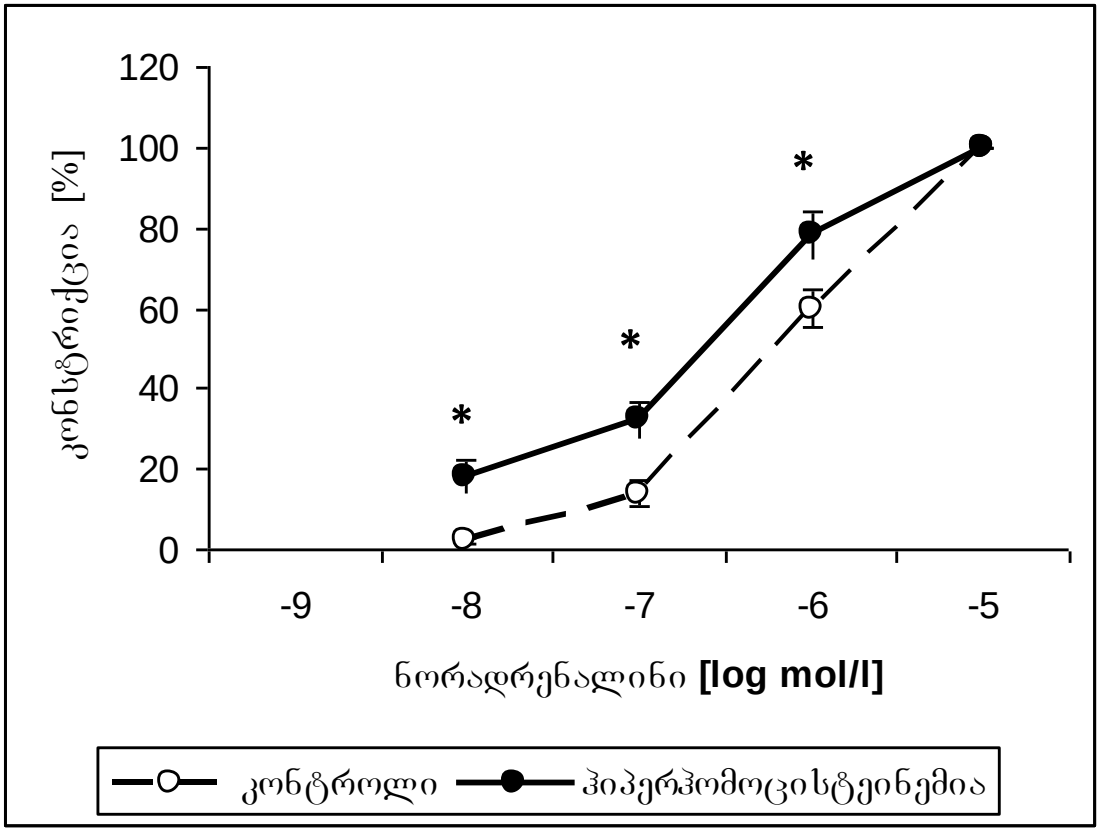
სურ. 2.1. ტენზომეტრული მექანოტრონის კავებზე სისხლძარღვის სეგმენტის წამოცმის ეტაპები. აღნიშვნები: 1 – მექანოტრონი, 2 – გამჭიმავი მოწყობილობა, 3 – სისხლძარღვის სეგმენტი, 4 – დროებითი დამჭერი, 5 – კავები



სურ. 2.2. დანადგარის ბლოკ-სქემა: 1 - მექანოტრონი; 2 - გაჭიმვისა და კალიბრების მექანიზმი; 3 - თერმოსტატირებული კამერა; 4 - კრებსის ხსნარიანი კოლბები; 5 - სამუშაო კამერა; 6 - ულტრათერმოსტატი; 7 - გამაძლიერებელთა ბლოკი; 8 – რეგისტრატორი; 9 – ელექტროსტიმულატორი

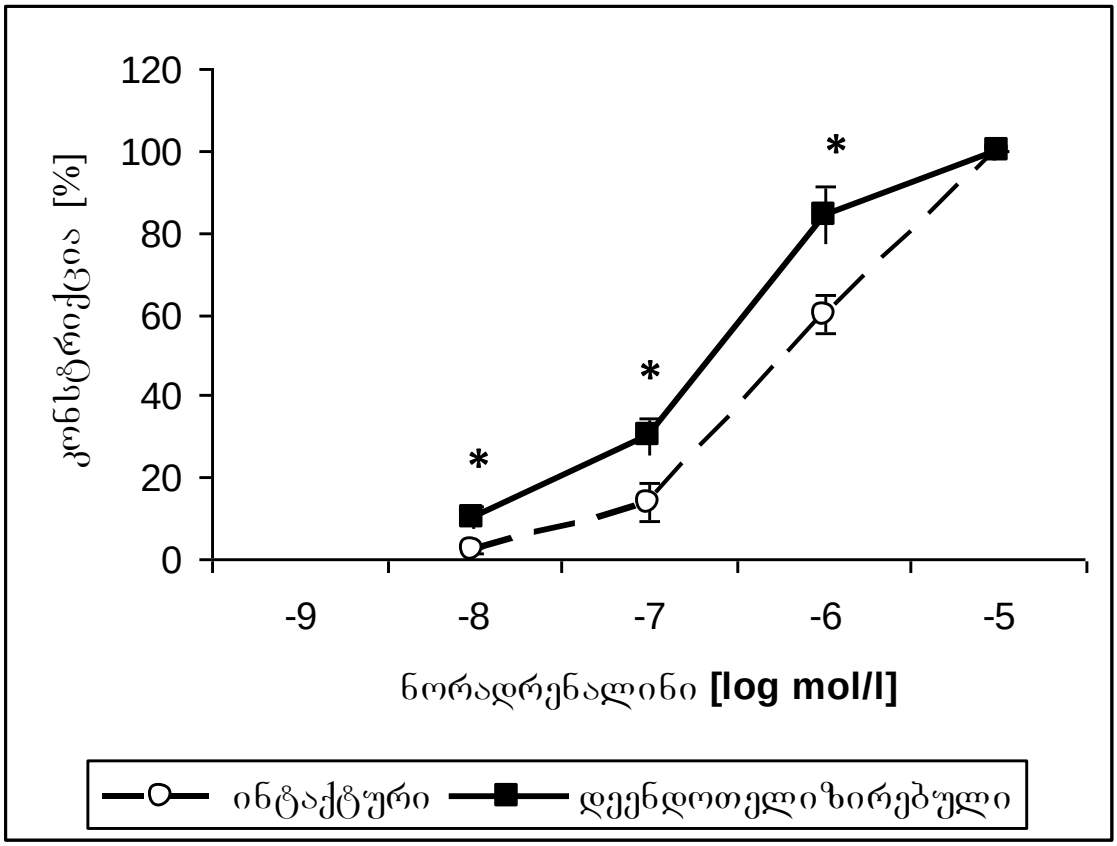


სურ. 2.3. სისხლძარღვთა გლუვი კუნთების პრეპარატების კონტრაქტილური აქტიობის ტენზომეტრული მეთოდით რეგისტრაცის გამაძლიერებლის ხიდური სქემა



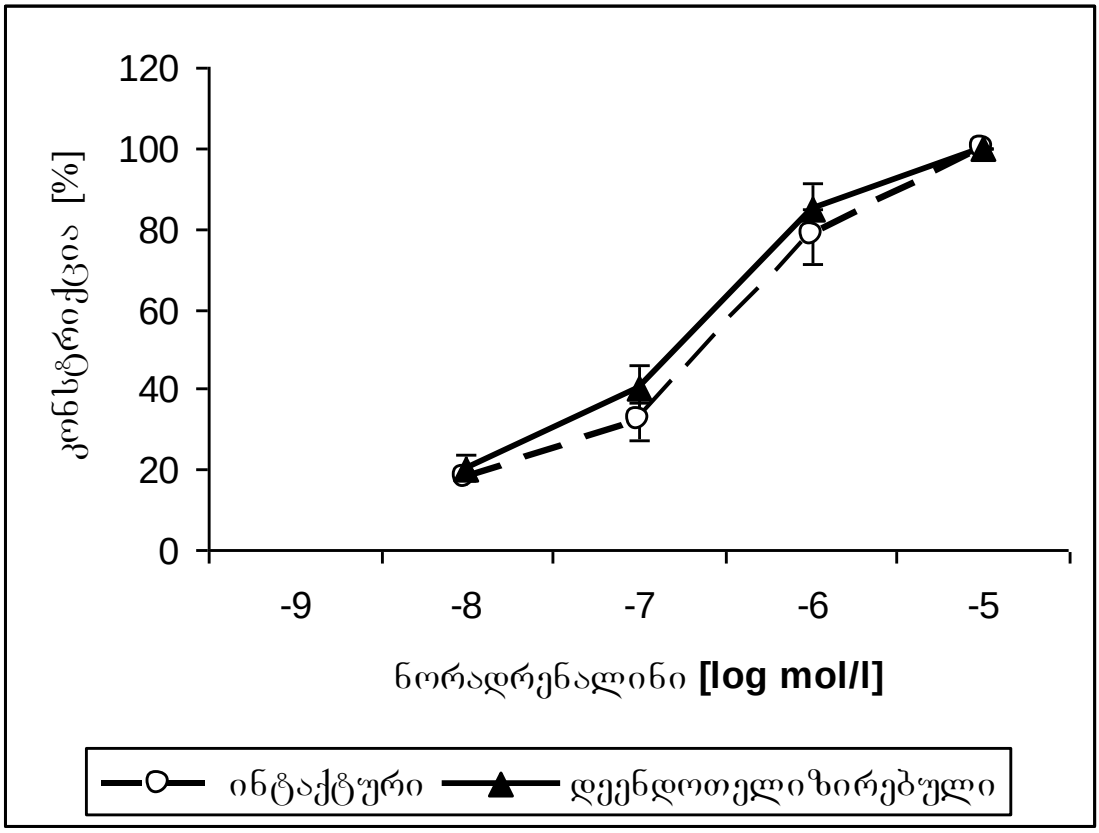
სურ. 3.1. ნორადრენალინის კუმულაციური დოზის ეფექტი საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემია-ინდუცირებული ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების კუმშვადობაზე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა.

- - სტატისტიკურად სარწმუნო სხვაობა საკონტროლო მონაცემებთან ($P<0.01$); $n=12$

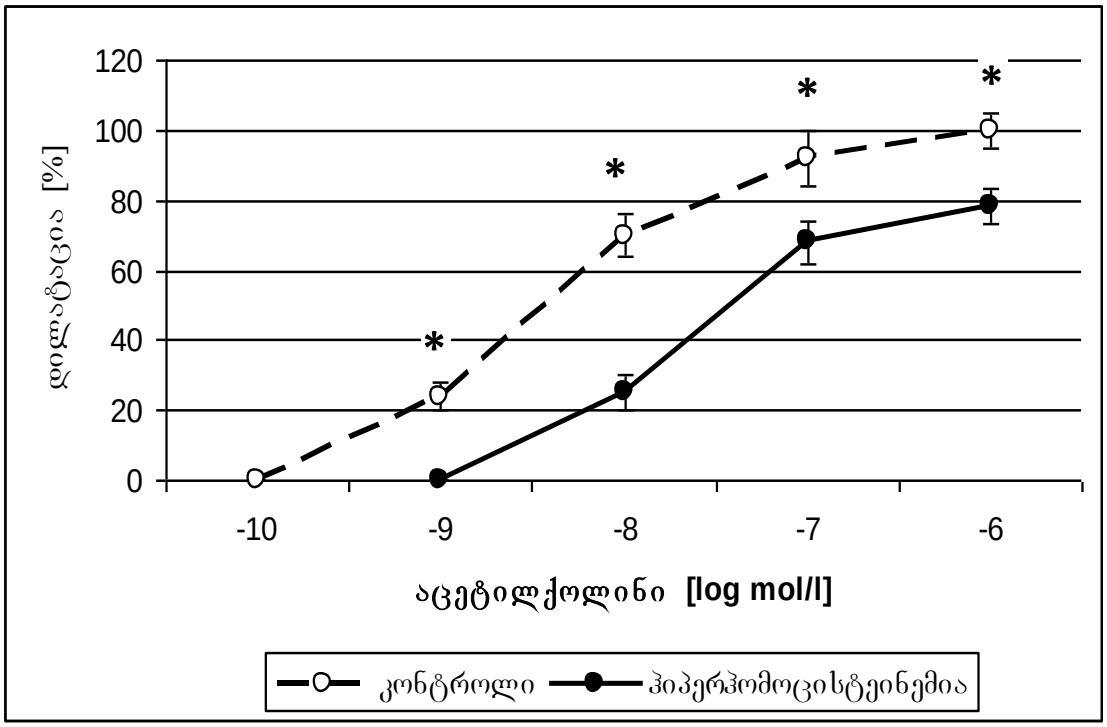


სურ. 3.2. ნორადრენალინის კუმულაციური დოზის ეფექტი საკონტროლო ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების (ინტაქტური და დეენდოთელიზებული) კუმშვადობაზე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა

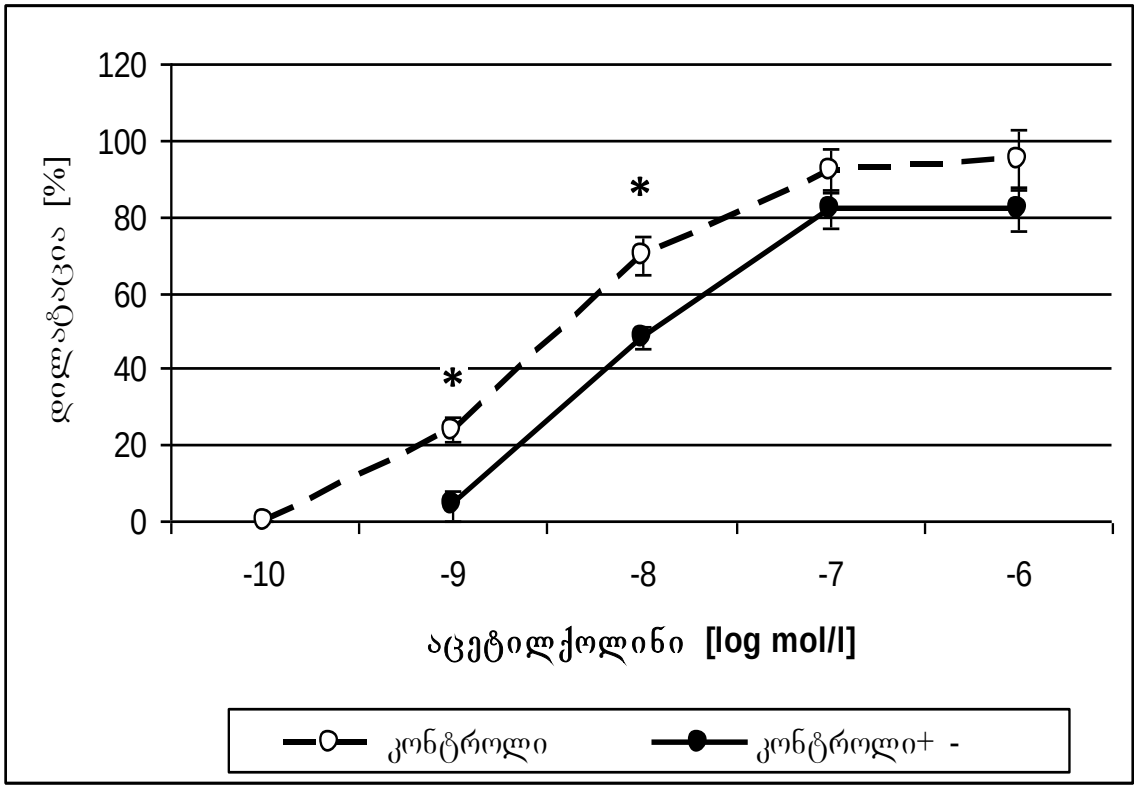
- - სტატისტიკურად სარწმუნო სხვაობა ინტაქტურთან შედარებით (P<0.01); n=10



სურ. 3.3. ნორადრენალინის კუმულაციური დოზის ეფექტი ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების იზოლირებულ არტერიოლების (ინტაქტური და დეენდოთელიზირებული) კუმშვადობაზე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - - სტანდარტული შეცდომა. სხვაობა ინტაქტური და დეენდოთელიზებული არტერიოლების რეაქციებს შორის სტატისტიკურად არასარწმუნოა

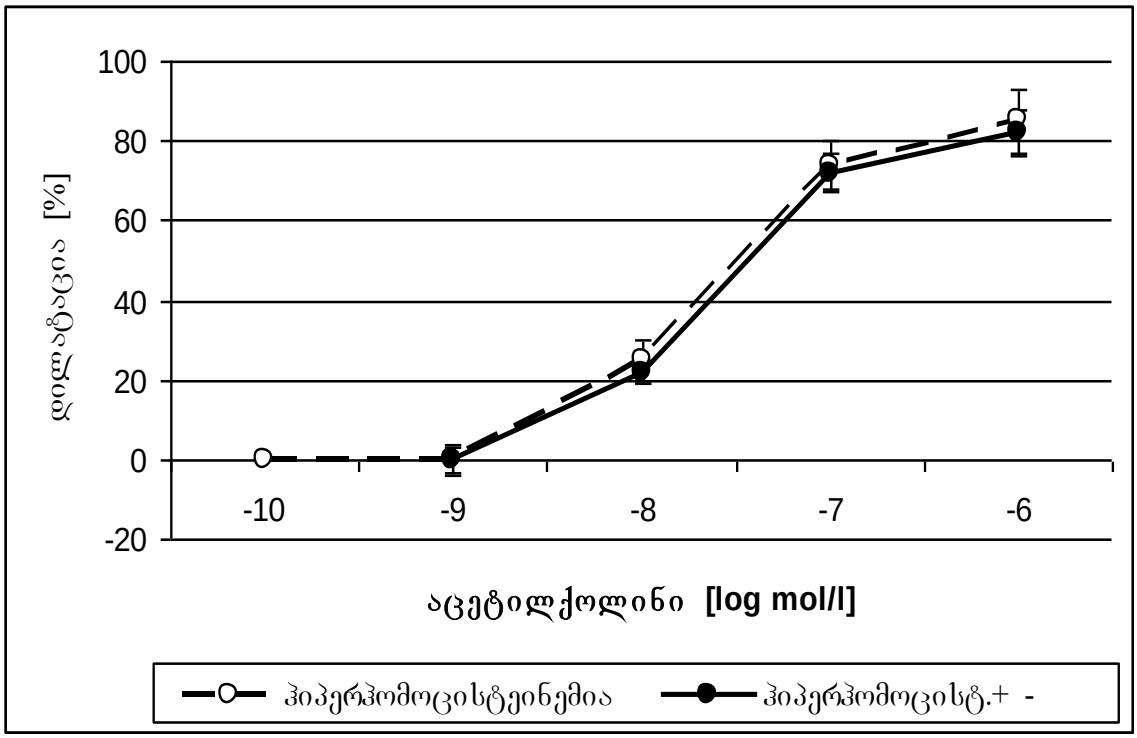


სურ. 3.4. აცეტილქოლინის კუმულაციური დოზის ეფექტი საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემია-ინდუცირებული ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა.
* - სტატისტიკურად სარწმუნო სხვაობა საკონტროლო მონაცემებთან ($P<0.05$); n=8

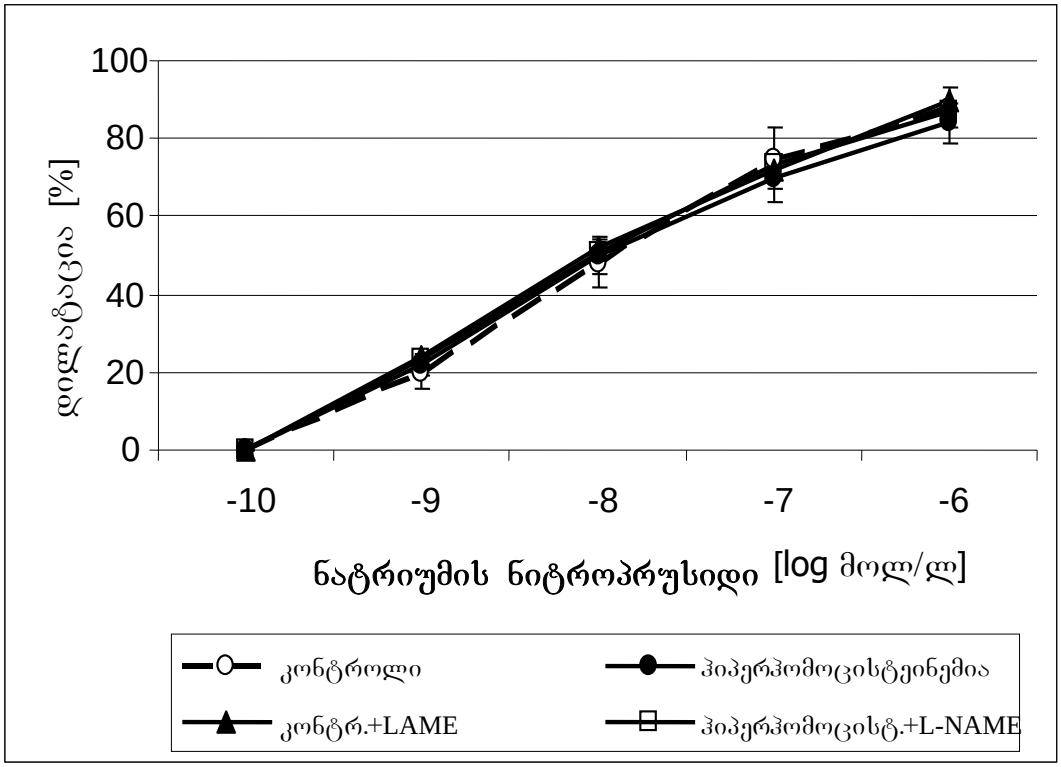


სურ. 3.5. აცეტილქოლინის კუმულაციური დოზის ეფექტი საკონტროლო ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე აზოტის ოქსიდის სინთაზას (L-NAME) არასელექციური ინჰიბიტორის მოქმედების ფონზე და მის გარეშე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა.

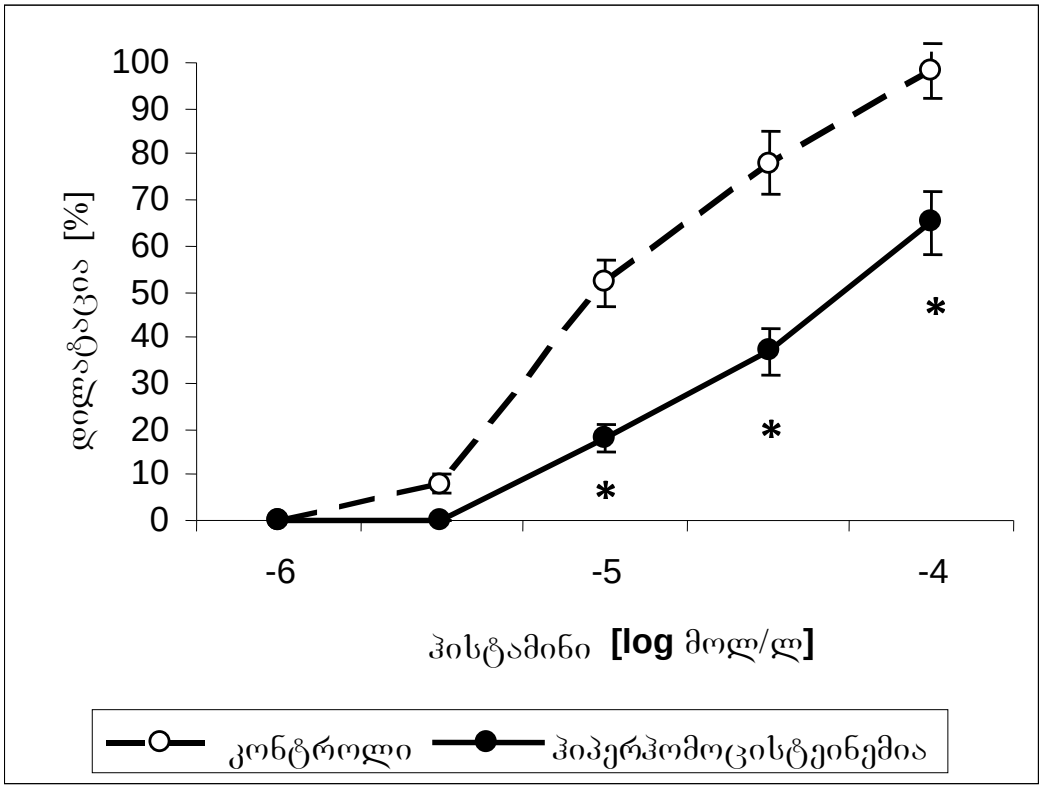
* - სტატისტიკურად სარწმუნო სხვაობა საკონტროლო მონაცემებთან ((P<0.05); n=6



სურ. 3.6. აცეტილქოლინის კუმულაციური დოზის ეფექტი ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე აზოტის ოქსიდის სინთაზას (L-NAME) არასელექციური ინჰიბიტორის მოქმედების ფონზე და მის გარეშე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა.
სხვაობა სტატისტიკურად არასარწმუნოა; n=6

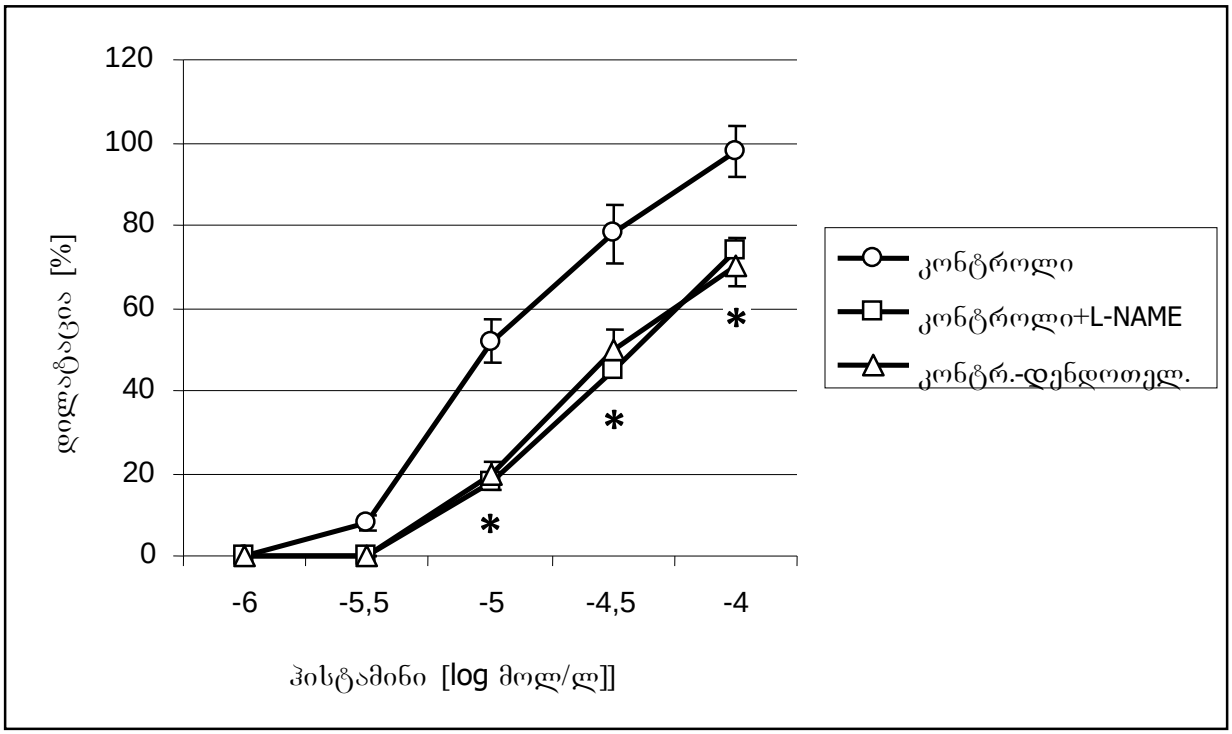


სურ. 3.7. ნატრიუმის ნიტროპრუსიდის ეფექტი საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე აზოტის ოქსიდის სინთაზას (L-NAME) არასელექციური ინჰიბიტორის მოქმედების ფონზე და მის გარეშე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა.
* სხვაობა სტატისტიკურად არასარწმუნოა; n=8

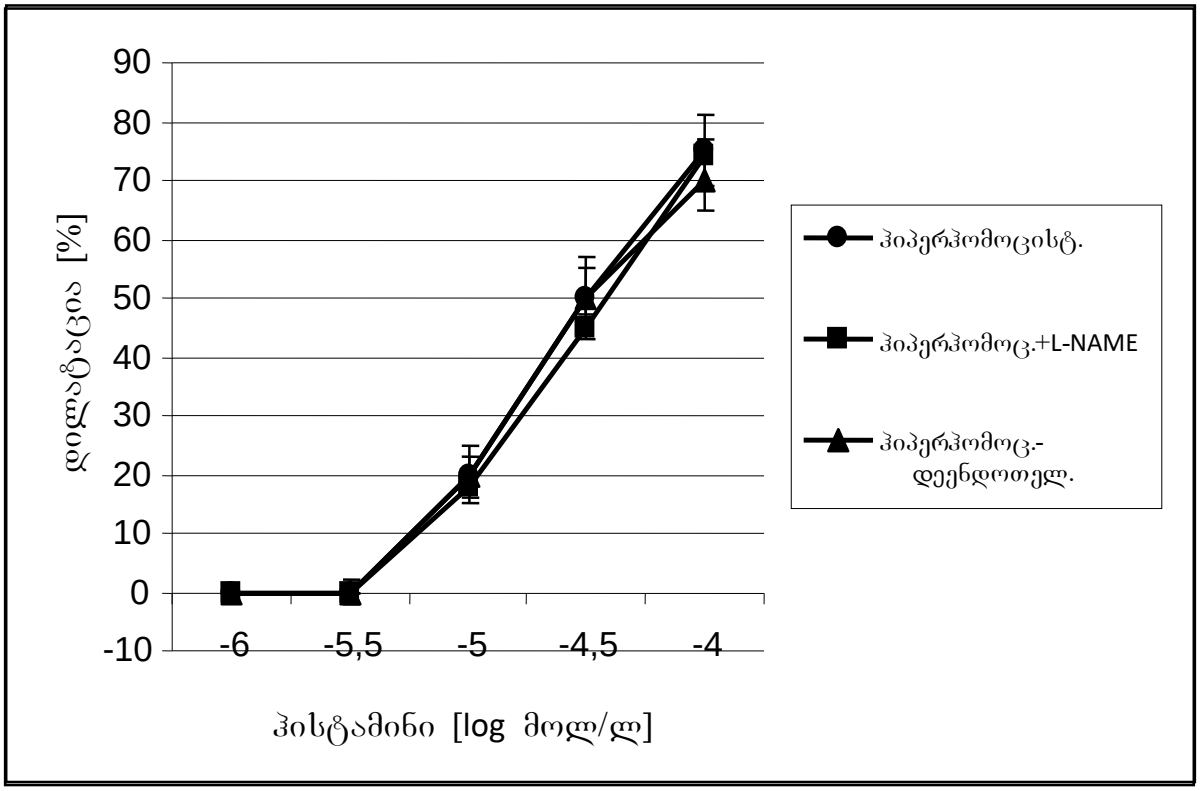


სურ. 3.8. ჰისტამინის ეფექტი საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემია-ინდუცირებული ცხოველების იზოლირებულ არტერიოლების დილატაციაზე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა.

- - სტატისტიკურად სარწმუნო სხვაობა საკონტროლო მონაცემებთან (P<0.01); n=10
-



სურ. 3.9. ჰისტამინის ეფექტი საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე აზოტის ოქსიდის სინთაზას (L-NAME) არასელექციური ინჰიბიტორის მოქმედების ფონზე და მის გარეშე, აგრეთვე დეენდოთელიზებულ პრეპარატებზე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა.
*სხვაობა სუფთა კონტროლთან სარწმუნოა, $P<0.01$; $n=10$



სურ. 3.10. ჰისტამინის ეფექტი ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების დილატაციაზე აზოტის ოქსიდის სინთაზას (L-NAME) არასელექციური ინჰიბიტორის მოქმედების ფონზე და მის გარეშე, აგრეთვე დეენდოთელიზირებულ პრეპარატებზე. მოტანილია საშუალო მნიშვნელობები. ± - სტანდარტული შეცდომა. სხვაობა არასარწმუნოა, n=10