თბილისის ივ. ჯავახიშვილის სახელობის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

მაია გიორგის ასული გაგუა

ეუკარიოტული უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების შესწავლა

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატის
სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:
ბიოლ. მეცნ. დოქტორი,
პროფესორი დ.ძიძიგური

თბილისი

1999

შესავალი

თემის აქტუალობა: გენების ექსპრესიის კორექტული რეგულაცია ორგანიზმის ფორმირებისა და ნორმალური ფუნქციონირების აუცილებელ პირობას წარმოადგენს. გენთა დიფერენციალური აქტიურობა ერთის მხრივ, საფუძვლად უდევს ისეთ მნიშვნელოვან სასიცოცხლო პროცესებს, როგორებიცაა პროლიფერაცია და დიფერენცირება; მეორეს მხრივ, იგი თავს იჩენს სტრესის, დაზიანების, ინფექციების, ჰორმონების, ზრდის ფაქტორების და მრავალი სხვა სიგნალის საპასუხოდ (Buratovski S., 1995). ეუკარიოტული უჯრედები გენების რთული მოლეკულური ორგანიზაციით, მათი ექსპრესიის რეგულაციის სხვადასხვა დონეების არსებობითა და ენდოგენური თუ ეგზოგენური სიგნალების მრავალფეროვნებით ხასიათდება. დღეისათვის დადგენილია, რომ გენების ექსპრესიის რეგულაცია უმთავრესად ტრანსკრიპციის დონეზე ხორციელდება (Duncan S.,1998). გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის პირველ საფეხურზე რნმ-ს სინთეზის წარმართვა და მოდულირება ტრანსკრიპციის ფაქტორების საშუალებით ხდება (Papavassiliou A. et al., 1995, Hamsley M., 1998). ამჟამად კარგად არის შესწავლილი ტრანსკრიპციის ფაქტორების არაერთი ოჯახი. მათ მიერ რნმ-ს სინთეზის რეგულაციას გენთა დიფერენციალური აქტიურობისათვის გადამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს. თავის მხრივ, ტრანსკრიპციის ფაქტორების რეგულაციის რამდენიმე გზა არსებობს, როგორიცაა მათი კონცენტრაციის ცვლილება, (დე)ფოსფორილირება, ლიგანდთან დაკავშირება, ჰეტეროდიმერიზაცია და სხვა (KowenzLeutz E., 1994, Brinkmann A., 1994, Voit R. et al., 1995). ნაჩვენებია მაგალითად, რომ ინტრაუჯრედული სიგანლებით ზოგიერთი ტრანსკრიპციის ფაქტორის აქტივაცია უჯრედების გამრავლების მაკონტროლებელი გენების ექსპრესიას ინდუცირებს (Bauman J. et al., 1995, Kelley L. et al., 1998). ტრანსკრიპციის ფაქტორების ინაქტივაცია კი ორგანიზმში სპეციფიკური დაავადებების განვითარებას იწვევს, როგორიცაა

მაგალითად, ჰორმონალური პასუხის დარღვევები და სიმსივნეები (Latchman D., 1996).

ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე, ტრანსკრიპციის რეგულაციის პროცესისა და მასში მონაწილე ფაქტორების შესწავლა თანამედროვე უჯრედული ბიოლოგიისა და ექსპერიმენტული მედიცინის ერთ-ერთ აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს. ამ მიმართულებით მიღწეული წარმატებები ბიოტექნოლოგიის მიღწევებთან ერთად გენების ექსპრესიის რეგულაციის მართვის ახალ შესაძლებლობებს ქმნის.

საქ. მეცნ. აკადემიის სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში შემუშავებულია ფარმაკოლოგიური პრეპარატი პლაფერონი ლბ, რომელიც ადამიანის პლაცენტის ამნიონური გარსის ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების ნარევს წარმოადგენს. დადგენილია პრეპარატის არაერთი მნიშვნელოვანი ფარმაკოლოგიური ეფექტი (Плаферон, "Мецниереба", 1995), რის საფუძველზეც ის წარმატებით გამოიყენება პრაქტიკულ მედიცინაში. ფარმაკოლოგიური პრეპარატის კლინიკური და ექსპერიმენტული გამოკვლევებით დადგინდა, რომ მას ახასიათებს იმუნომამოდულირებელი, ანტიიშემიური, ანტიტოქსიური, ანთებისსაწინაალმდეგო მოქმედება (Джавахишвили Н.А. и соавт., 1989; Имедидзе Э., 1989; Хвадагиани Г. Г., 1990; Бахуташвили А.В., 1991; ზ.ქაცარავა, 1995; თ.ჩიქოვანი, 1997). გარდა ამისა, პლაფერონ ლბ-ს უნარი აქვს შეამციროს დაზიანების ხარისხი პათოლოგიურ ქსოვილებში (Квитаишвили Г.И., 1993; რ.რუხაძე, 1999). მიუხედავად ამისა, დღემდე არ არის ცნობილი, პრეპარტის აქტიურ კომპონენტებს სხვადასხვა სამიზნე აქვთ, თუ არსებობს მათი მოქმედების ერთიანი მოლეკულური მექანიზმი. ამ თვალსაზრისით, ეუკარიოტულ უჯრედებში გენების ექსპრესიაზე პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების შესწავლის აქტუალობა ერთის მხრივ, პრეპარატის მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების გარკვევის, ხოლო მეორის მხრივ, გენთა დიფერენციალური აქტიურობის რეგულაციის ძირითადი კანონზომიერებების დადგენის აუცილებლობით განისაზღვრება.

სამუშაოს მიზანი და ამოცანები: სამუშაოს ძირითადი მიზანი იყო ეუკარიოტული უჯრედების ბირთვების სატრანსკრიპციო აპარატზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენის შესწავლა. ამ მიზნის მისაღწევად ჩვენს წინაშე დასმული იყო შემდეგი კონკრეტული ამოცანები:

1. თეთრი ვირთაგვას ინტაქტური ღვიძლის უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენის შესწავლა;
2. ინტაქტური ვირთაგვას სხვადასხვა ქსოვილების უჯრედებში ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების შედარებითი შესწავლა;
3. დესტრუქციული ღვიძლის ქსოვილში პლაფერონი ლბ-ს ჰეპატოპროტექტული ფუნქციის მოლეკულური საფუძვლების გამოკვლევა;
4. პოსტნატალური განვითარების ადრეულ სტადიაზე პროლიფერირებადი ჰეპატოციტების ბირთვების რნმ-მასინთეზირებელ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს ზემოქმედების დადგენა;
5. რეგენერირებადი ღვიძლის უჯრედებში აღდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე ადრეული პასუხის სხვადასხვა გენების ექსპრესიაზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენის გამოკვლევა;
6. ადამიანის ცნს-ისა და თირკმლის ქსოვილების სიმსივნური უჯრედების ბირთვების სატრანსკრიპციო აპარატზე პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების შესწავლა.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე: ჩატარებულია ადამიანის პლაცენტის ამნიონური გარსიდან მიღებული ფარმაკოლოგიური პრეპარატის, პლაფერონი ლბ-ს ეუკარიოტული უჯრედების სატრანსკრიპციო აპარატზე მოქმედების დეტალური ანალიზი.

ნაჩვენებია გენების ექსპრესიაზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა, რაც სხვადასხვა ქსოვილების უჯრედებში ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილებაში გამოიხატება. სამუშაოში პირველად არის მიღებული პლაფერონი ლბ-ს ჰეპატოპროტექტული მოქმედების მოლეკულური

საფუძვლების ექსპერიმენტული მტკიცებანი დესტრუქციული ღვიძლის უჯრედებში.

ჩატარებული გამოკვლევების საფუძველზე გამოვლენილია რეგენერირებადი ღვიძლის უჯრედებში ბირთვული კომპარტმენტის ფუნქციონირებაზე პლაფერონი ლბ-ს მარეგულირებელი ზემოქმედების უნარი. იზოლირებული ბირთვების ტესტ-სისტემაში პირველად არის ნაჩვენები ადრეული პასუხის დაუყოვნებელი და დაყოვნებული გენების (ზრდის მაკონტროლებელი გენების) ექსპრესიაზე პრეპარატის ურთიერთსაპირისპირო ზემოქმედება.

პირველად არის მიღებული ექსპერიმენტული მტკიცებანი ადამიანის სიმსივნური ქსოვილების უჯრედებში გენების ექსპრესიაზე პლაფერონი ლბ-ს დამთრგუნველი ზემოქმედების შესახებ.

ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა: სადისერტაციო ნაშრომში გადმოცემულია საინტერესო თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობის მონაცემები მრავალმხრივი ფარმაკოლოგიური მოქმედების მქონე ენდოგენური წარმოშობის პრეპარატის, პლაფერონი ლბ-ს გენების ექსპრესიის დონეზე მოქმედების შესახებ. ფარმაკოლოგიური პრეპარატების და კერძოდ კი, პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების ცოდნა გარკვეულ წილად მისი მრავალფეროვანი ეფექტების ახსნის შესაძლებლობას იძლევა.

ინტაქტური, რეგენერირებადი, დესტრუქციული და სიმსივნური ქსოვილების უჯრედების გენომის ექსპრესიაზე პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების შესახებ მიღებული ექსპერიმენტული გამოკვლევების შედეგები შეიძლება საფუძვლად დაედოს სამკურნალო პრეპარატის მიზანმიმართულ გამოყენებას.

თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1 ადამიანის ექსტრაემბრიონული ქსოვილების ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები

ექსტრაემბრიონული ქსოვილები – პლაცენტა და ნაყოფის გარსები ფეხმძიმობის ფიზიოლოგიურ მიმდინარეობასა და ნაყოფის სწორ განვითარებას უზრუნველყოფს. პლაცენტა წარმოადგენს პროვიზორულ ორგანოს, რომელიც ყალიბდება ემბრიოგენეზის, ნაყოფის ზრდისა და განვითარების პროცესში და წყვეტს არსებობას მშობიარობის ბოლოს.

ადამიანის პლაცენტა განეკუთვნება ჰემოქორიონულ ტიპს. მას ახასიათებს ქორიონისა და დედის სისხლის უშუალო კონტაქტი, რაც დედის ორგანიზმსა და ნაყოფს შორის რთული ურთიერთობის სრულფასოვან განხორციელებას უზრუნვლყოფს (Савельева Г., 1991).

პლაცენტის მრავალრიცხოვანი ფუნქციები მჭიდროდაა დაკავშირებული მის აგებულებასთან განვითარების სხვადასხვა ეტაპზე (იმპლანტაცია, პლაცენტაცია, ფატალიზაცია). მისი საშუალებით ხორციელდება ნაყოფის კვება, აირთა ცვლა, მეტაბოლიზმის პროდუქტების გამოყოფა, ჰორმონალური და იმუნური სტატუსის ფორმირება; პლაცენტა ასრულებს ჰემატოენცეფალური ბარიერის როლს, იცავს რა ნაყოფს ტოქსიური ფაქტორების მოქმედებისაგან. აღნიშნული ფუნქციების შესრულებაში მონაწილეობს ნაყოფის გარსები და წყლები, რომლებიც პლაცენტასთან ერთად მთლიან კომპლექსს ქმნიან (Фёдорова М., 1981).

დედის ორგანიზმსა და ნაყოფს შორის აირებისა და საკვები ნივთიერებების ცვლის განხორციელებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ფერმენტული სისტემები. ამნიონის ეპითელიუმში, ქორიონსა და ჭიპლარში ნაჩვენებია კარბონიკ-ანჰიდრაზას იზოფორმების მაღალი აქტიურობა (HCA1, HCA2), რაც ხაზს უსვამს ბიკარბონატის ფერმენტული გადატანის უპირატესობას მარტივ დიფუზიასთან შედარებით (Muhlhauser et al., 1994).

ცილების, ცხიმებისა და ნახშირწყლების ტრანსპორტი ფერმენტული დაშლისა და სინთეზის პროცესების შედეგად ხდება, რასაც ქორიონის ეპითელიუმში არსებული ფერმენტები ახორციელებს.

ლიპიდების ტრანსპორტი ლიპოლითური ფერმენტების (ლიპაზები, მონო- და ტრი-ბუტირაზები) მიერ მათი წინასწარი დაშლის შემდეგ ხორციელდება; დედისეული წინამორბედისაგან პლაცენტის მიერ სინთეზირებული ლიპიდები ძირითადად ქორიონის ხაოების სინციტიუმის ციტოპლაზმაში ლოკალიზდება და პლაცენტის საერთო მასის 5-12%-ს შეადგენს. მათი 2/3 წარმოდგენილია ფოსფოლიპიდებით, 1/3-სტეროიდებით, ხოლო მცირე ნაწილი - ნეიტრალური ცხიმებით. ექსტრაემბრიონულ ქსოვილებში ბიოლოგიურად აქტიური ფოსფოლიპიდური მეტაბოლიტების წარმოქმნაში მონაწილეობს ფოსფოლიპაზა A2-ის ორი იზოფორმა – სეკრეტორული და ციტოზოლური. ციტოზოლური იზოფორმა წამყვან როლს ასრულებს ამნიონის, ხოლო სეკრეტორული – მომწიფებული პლაცენტის ფოსფოლიპიდების მეტაბოლიზმში (Freed et al.,1998).

პლაცენტაში ნახშირწყლოვანი ცვლის ინტენსიურობაზე მსჯელობენ მასში ნახშირწყლების დამშლელი ფერმენტების არსებობით, როგორებიცაა დიასტაზა, ინვერტაზა, ლაქტაზა, კარბოქსილაზა, კოკარბოქსილაზა, გლუკოროზიდაზა და სხვა (Говорка Э., 1970).

უცხო ცილების ინაქტივაციას უზრუნველყოფს ტროფობლასტის პროტეოლიზური ფერმენტები. პროტეოლიტური აქტიურობის წყალობით პლაცენტა ბოჭავს და ანეიტრალებს დედის სისხლის ABO სისტემის იზოანტისხეულებს, ანტილეიკოციტალურ ანტისხეულებს და სხვა.

პლაცენტაში იდენტიფიცირებული ფერმენტების ჯგუფს მიეკუთვნება აგრეთვე ოქსიდაზები (მონოამინოქსიდაზა, ციტოქრომოქსიდაზების სისტემა), კატალაზა, NAD, NAD-p დიაფორაზა, დეჰიდროგენაზები (Фёдорова М. и соавт. 1986); მიტოქონდრიების ფუნქციური მდგომარეობის მაჩვენებელს წარმოადგენს სუქცინატდეჰიდროგენეზა, რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს წყალბადის გადატანაში ნახშირწყლების აერობული დაჟანგვის

დროს. ქორიონულ ეპითელიუმში მისი აქტიურობა აღინიშნება ფეხმძიმობის ადრეულ ეტაპზე და ბოლომდეა შენარჩუნებული.

ფეხმძიმობის ბოლოს ამნიონის გარსში იზრდება პროსტაგლანდინ-ენდოპეროქსიდ-H-სინთაზას (PGHS) ექსპრესია, რაც შესაძლოა ხელს უწყობდეს პროსტაგლანდინის გაძლიერებულ საშვილოსნოსშიგნითა სინთეზს მშობიარობის წინ და აგრეთვე ნაადრევი მშობიარობის დროს (Jane E. et al, 1999).

ბოლო წლებში მრავალი შრომა მიეძღვნა NO-ს როლს ადამიანის მშობიარობის პროცესში. სუპეროქსიდი, რომელიც ამცირებს NO-ს ნახევარდაშლის პერიოდს მეტაბოლიზირდება და სინთეზირდება სუპეროქსიდ-დისმუტაზას და ქსანტინ-ოქსიდაზას მიერ, შესაბამისად. ნაჩვენებია აღნიშნული ფერმენტების ექსპრესია მიომეტრიუმში, ნაყოფის გარსებსა და პლაცენტაში ადამიანის ნორმალური ორსულობის და მშობიარობის დროს. დადგენილია, რომ სუპეროქსიდ-დისმუტაზა და ქსანტინ-ოქსიდაზა მონაწილეობენ ორსულობის შენარჩუნებაში და არა მშობიარობის ინიციაციაში (Telfer et al, 1997).

ტროფობლასტის უჯრედული ცვლისათვის დიდი მნიშვნელობა აქვს მჟავე ფოსფატაზის თერმოსტაბილური იზოფორმის აქტიურობას. ეს იზოფორმა სპეციფიკურია პლაცენტისათვის.

Lapan, Boss და Graing მიერ ამნიონში აღმოჩენილია აგრათვე მალატ-, ლაქტატ-, იზოციტრატ-დეჰიდროგენაზები (Lapan et al, 1963).

პლაცენტაში ფართოდაა წარმოდგენილი სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებებიც, მაგ. სისტემები: ჰისტამინ-ჰისტამინაზა, აცეტილქოლინ-აცეტილქოლინესტერაზა, აგრეთვე სისხლის შედედებისა და ფიბრინოლიზის ფაქტორები.

პლაცენტის ერთ-ერთი ფუნქცია ვიტამინების დაგროვება და ნაყოფისათვის მათი მიწოდების რეგულირებაა. პლაცენტაში დიდი რაოდენობით დეპონირდება ვიტამინი A და კაროტინი; ვიტამინი B_1 დეპონირდება კოკარბოქსილაზას სახით, ვიტამინი B_2 - ფლავინადენინდინუკლეოტიდის ან

ფლავინმონონუკლეოტიდის სახით; ვიტამინი PP - NAD ან NADF-ს სახით; B_6 და ფოლეის მჟავას შემცველობა სეზონური ცვლილებებით ხასიათდება, ასკორბინის მჟავა კი პლაცენტაში მუდმივად დიდი რაოდენობითაა წარმოდგენილი (73,7-2126 მკ მოლ/ლ). ვიტამინები ხელს უწყობენ ქორიონში მიმდინარე ბიოლოგიური პროცესების აქტივაციას. ვიტამინი D არეგულირებს Ca^{2+}-ის ცვლას; ვიტამინი E (ტოკოფეროლი) აუცილებელია ფეხმძიმობის ნორმალური მიმდინარეობისათვის, ნერვული და კუნთოვანი სისტემების ფუნქციონირებისათვის (Говорка Э. 1970, Савельева Г. 1991).

პლაცენტა დიდი რაოდენობით შეიცავს მიკროელემენტებს: კალციუმს, რკინასა და ფოსფორს.

ასრულებს რა ენდოკრინული ჯირკვლის როლს, პლაცენტა ასინთეზირებს ცილოვან-პეპტიდური და სტეროიდული ბუნების ჰორმონებს: ქორიონულ გონადოტროპინს, პლაცენტურ ლაქტოგენს., პროლაქტინს, β-ენდორფინს, α-მელანოციტომასტიმულირებელ ჰორმონს, პროპიომელანოკორტინს (აკტჰ-ს წინამორბედი), ესტროგენებს, პროგესტერონს. პლაცენტური ჰორმონები სინთეზირდება სინციტიო - და ციტოტროფობლასტში, აგრეთვე დეციდუალურ ქსოვილში (Савельева Г., 1991).

პლაცენტური ლაქტოგენის ბიოლოგიური როლი ნახშირწყლებისა და ლიპიდების ცვლის რეგულაციაში, ნაყოფში ცილის სინთეზის გაძლიერებაში მდგომარეობს, რაზედაც დამოკიდებულია ნაყოფის მასა. სტრუქტურით იგი ზრდის ჰორმონის მსგავსია. პლაცენტისთვის სპეციფიური ზრდის ჰორმონი (როგორც ნორმალური, ასევე პათოლოგიური ფეხმძიმობის დროს) პლაცენტურ ლაქტოგენზე უკეთ ცვლის დათრგუნულ ჰიპოფიზის ზრდის ჰორმონს და ასტიმულირებს დედის IGF-1-ს. ფეტო-პლაცენტარული ნაწილის დარღვევებით მიმდინარე პათოლოგიური ფეხმძიმობის დროს პლაცენტის GH-ის დაბალი დონე იწვევს დედის IGF-1-ის დონის დაქვეითებას. ინსულინის მსგავსი ზრდის ფაქტორი კი, როგორც ცნობილია, განსაზღვრავს ნაყოფის

ზომას. ბავშვის წონა დაბადებისას პოზიტიურად კორელირებს დედის IGF-I-ის სიდიდესთან ნორმალური ფეხმძიმობის დროს (Caufriez A. et al, 1994).

პროლაქტინის ფუნქციები პლაცენტური ლაქტოგენის მსგავსია. მას გარკვეული მნიშვნელობა აქვს აგრეთვე ფეტო-პლაცენტარულ ოსმორეგულაციაში (Tyson J.E.,1980).

ქორიონული გონადოტროპინი (36-40000 მოლ.მასის გლიკოპროტეინი) ფეხმძიმობის ადრეულ ეტაპებზე სტეროიდოგენეზს, ხოლო მის მეორე ნახევარში - ესტროგენების სინთეზს აძლიერებს. ის მონაწილეობს აგრეთვე ნაყოფის სქესის დიფერენცირებაში. პროგესტერონი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ფეხმძიმობის წარმართვაში; ესტროგენები მოქმედებენ საშვილოსნოს ზრდაზე, მასში ნივთიერებათა ცვლის პროცესებზე, ხელს უწყობენ ნაყოფის ზრდას, მშობიარობის აქტის განვითარებას (Савельева Г., 1991).

პლაცენტა წარმოქმნის იმუნურ ბარიერს დედის ორგანიზმსა და ნაყოფს შორის, რაც ხელს უშლის ფეხმძიმობის შეწყვეტას. პლაცენტის მიერ სინთეზირებული ნივთიერებები მოქმედებენ დედის იმუნოკომპეტენტური სისტემის სხვადასხვა რგოლებზე. ისინი თრგუნავენ ლიმფოპოეზის აქტიურობას, ბლოკირებენ ეფექტორული უჯრედების რეცეპტორებს, ხელს უწყობენ ნაყოფის იმუნოკომპეტენტური სისტემის ჩამოყალიბებას.

ფეხმძიმობის დროს პლაცენტაში, კერძოდ კი სინციტიოტროფობლასტში აქტიურდება სეკრეტორული ცილების სინთეზი, რომელთა უმეტესობას იმუნოდეპრესანტული თვისებები აქვს. მათ მიეკუთვნება: β_1-გლობულინები (ტბგ), β_1-გლიკოპროტეიდი (SP_1), პროტეინი A (PAPP-A), გლიკოპროტეინები: PP-5, PP-10, PP-14, PP-15, α_2-მიკროგლობულინი და სხვანი (Marrow DM., 1994).

პლაცენტის ცილებიდან ყურადღებას იმსახურებს ტროფობლასტური β-გლიკოპროტეიდი (ტბგ), რომელიც ორი - α და β სუბერთეულებისაგან შედგება. მას არა აქვს ფერმენტული ან ჰორმონალური აქტიურობა, მაგრამ ავლენს ძლიერ იმუნოსუპრესორულ ეფექტს და უზრუნველყოფს ნაყოფის დაცვას.

პლაცენტა მატრანსფორმირებელი ზრდის ფაქტორის (TGF-β) ძირითადი წყაროა. ეს ფაქტორი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს იმუნოსუპრესორულ მექანიზმებში ძუძუმწოვრების ფეხმძიმობის დროს. TGF-β T და B ლიმფოციტების პროლიფერაციის, ციტოტოქსიური T ლიმფოციტების გენერაციის, ლიმფოციტგააქტივებული კილერული უჯრედების განვითარების და ნატურალური კილერების აქტიურობის ძლიერი სუპრესორია. ის შესაძლებელია ხელს უწყობდეს დარღვეულ იმუნურ კონტროლს სიმსივნის განვითარების დროს (Bleux C. et al, 1995).

ადამიანის პლაცენტის სუპერნატანტიდან მიღებულია ლიმფოციტთა პროლიფერაციის მაინჰიბირებელი ფაქტორი (LPIF), რომელიც დაბალი მოლეკულური მასითა და იმუნოსუპრესორული თვისებებით ხასიათდება. მას შეუძლია გამოიწვიოს ტოლერანტობა ან იმუნური პასუხის დაქვეითება in vivo. როგორც ჩანს, ეს ნივთიერება მხოლოდ წინასწარ გააქტივებულ ან სიმსივნურ T - უჯრედებზე მოქმედებს (De Smedt D. et al, 1997).

პლაცენტა დიდ როლს ასრულებს ნაყოფის იმუნურ დაცვაში და მისი იმუნიტეტის ფორმირებას უზრუნველყოფს. ნაყოფი იმუნოგლობულინების მარაგს დედის ორგანიზმიდან იღებს. იმუნოგლობულინების სხვადასხვა კლასები შეიცნობა ტროფობლასტური უჯრედების მიერ და სეკრეტირდება ნაყოფის სისხლის მიმოქცევის სიტემაში. J.McNabb და თანავტორების მიერ (1976) ნაჩვენებია პლაცენტაში სპეციალური ცილა-რეცეპტორის არსებობა, რომელიც ცნობს IgG-ს და განასხვავებს მას იმუნოგლობულინების სხვა კლასებისაგან. ტროფობლასტსა და ქორიონის ხაოებში აღმოჩენილია IgG, C3 და C4- იმუნოპროტეინები და აგრეთვე კომპლემენტი. ეს მონაცემები ადასტურებს პლაცენტის მონაწილეობას იმუნოგლობულინების ბალანსში (Савельева Г. 1991)

ადამიანის პლაცენტის ტროფობლასტური უჯრედების ზრდისა და დიფერენცირების რეგულაციაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ციტოკინები, როგორებიცაა ინტერფერონები, ინტერლეიკინები, სიმსივნური ნეკროზის ფაქტორი (Berkovitz R. et al, 1988; Athanassakis S. et al, 1987).

ტროფობლასტის მიერ პროდუცირებული ინტერფერონები ხასიათდებიან აუტოკრინული მოქმედებით და მონაწილეობენ ისეთ ფიზიოლოგიურ პროცესებში, როგორიცაა პროლიფერაცია და დიფერენცირება (Fisher P., 1985). გარდა ამისა, ტროფობლატური ინტერფერონები ავლენენ ანტივირუსულ მოქმედებას, რის საფუძველზეც ადამიანის პლაცენტის ტროფობლასტური შრე ასრულებს ვირუსული ინფექციებისაგან ნაყოფის დამცავი ბარიერის როლს. α-ინტერფერონის არსებობა ნაჩვენებია ამნიონის სითხეში, პლაცენტის ქსოვილებსა და ნაყოფის სისხლში (Lebon P. et al, 1982; DucGoiran et al, 1985; Chard T. et al. 1986).

სიმსივნური ნეკროზის ფაქტორ α-ს (TNF-α) იმუნოლოკალიზაცია ნაჩვენებია ლუზისებრი ხაოების პროლიფერირებად ბოლოებში, ინვაზიურ ინტერსტიციალურ ციტოტროფობლასტში და სპინალური არტერიების ამომფენ ენდოვასკულარულ ტროფობლასტში ადრეული ფეხმძიმობის დროს. ავტორის მიერ მითითებულია ამ ციტოკინის შესაძლო როლი ადრეულ ინვაზიაში (Pijnenborg R. et al, 1998).

ინტერლეიკინები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ალოტრანსპლანტანტის დაცვაში, ფეხმძიმობის შენარჩუნებასა და მშობიარობის პროცესში. მშობიარე ქალებში ინტერლეიკინ- 1-ბეტასა და ინტერლეიკინ-6-ის გამომუშავება მნიშვნელოვნად არის გაზრდილი. მათ გამოყოფენ პლაცენტის ენდოთელიალური უჯრედები (Steinborn A., 1998). ნაჩვენებია ინტერლეიკინ 4-ისა და მისი რეცეპტორის არსებობა პლაცენტასა და ნაყოფის გარსებში (კერძოდ, ამნიონში) (Carsten U., 1998). ადამიანის პლაცენტა გამოიმუშავებს აგრეთვე ილ-1-სა და TNF-ს, რომლებიც თავის მხრივ ასტიმულირებენ ილ-8-ის წარმოქმნას (ნეიტროფილების ქემოტაქსისისა და აქტივაციის ფაქტორი). ილ-8 ჭარბად წარმოიქმნება ქორიოამნიონიტის დროს. ამ შემთხვევაში ციტოკინების ეს კასკადი ძლიერდება პოლისაქარიდების წარმოქმნით, რაც ხელს უწყობს ფეტო-მატერნალურ დაცვით მექანიზმს (Koichiro Shimoya et al, 1999). ილ-10 ჩართულია აგრეთვე ალოტრანსპლატანტის პროტექციაში (Denison FC et al, 1994).

ტროფობლასტის ზრდისა და დიფერენცირებისათვის აუცილებელია მეზენქიმული ინდუქცია. ალანტოისის მეზენქიმის პარაკრინული სიგნალების ერთერთი მაგალითია ჰეპატოციტების ზრდის ფაქტორი – scatter ფაქტორი (HGF-SF). ეს ფაქტორი და მისი რეცეპტორი (met) მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ პლაცენტის განვითარებაში. HGF-SF ეპითელური დიფერენცირების მედიატორია ემბრიოგენეზის დროს (Stewart F., 1996).

ენდომეტრიუმის ფუნქციონირებისათვის, ემბრიო-ენდომეტრიუმის ურთიერთქმედებისათვის მნიშვნელოვანია ენდომეტრიუმში იდენტიფიცირებული ცილოვანი და პეპტიდური ბუნების ფაქტორები. ადგილობრივი ფაქტორების მაგალითია ინსულინის მაგვარი ზრდის ფაქტორების სისტემა (IGF) (Seppala M., 1994). აღნიშნული სისტემის გავლენა ნაყოფის ზომაზე შესწავლილია მცოხნელ ცხოველებში. დადგენილია, რომ IGF-ის მოქმედება ნაყოფსა და პლაცენტაზე IGF-თან ბმული ცილების კონტროლის ქვეშაა. ეს ცილები წარმოქმნიან ბარიერს ნაყოფისა და დედის ცირკულაციურ სისტემებს შორის IGF-ის გადატანაში (Wazers DC, 1998). ფეხმძიმე ცხვრებზე ჩატარებული ექსპერიმენტების საფუძველზე გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ბალანსი დედისა და ნაყოფის IGF I-ის კონცენტრაციებს შორის ხელს უწყობს დედის ორგანიზმს, ნაყოფსა და პლაცენტას შორის ნივთიერებების გადანაწილების რეგულირებას (Liu L., 1994).

პლაცენტისა და ნაყოფის ზრდის რეგულაციაში მნეშვნელოვან როლს ასრულებს ეპიდერმისის ზრდის ფაქტორი და მისი რეცეპტორი (EGFR). EGFR კოდირებულია ერთი გენით, რომელიც დასაბამს აძლევს 2 სრული სიგრძის და ერთ დამოკლებულ ტრანსკრიპტს პლაცენტაში. დამოკლებული ტრანსკრიპტის ექსპრესია მაღალია პრეეკლამპსიისა (PE) და საშვილოსნოსშიდა ზრდის რესტრიქციის (IUGR) დროს. პლაცენტის პათოლოგია ამ შემთხვევებში (PE, IUGR) დაკავშირებულია პლაცენტური EGFR-ის ცვლილებებთან (Faxen M., 1998). ეპიდერმისის ზრდის ფაქტორი იწვევს ადამიანის პლაცენტის სინციტიოტროფობლასტის პლაზმური მემბრანებიდან პლაცენტური ალკალინ-ფოსფატაზის ატფ-დამოკიდებულ

გამოთავისუფლებას (Kenton P., 1994). EGF-ის გავლენა ამინომჟავების ტრანსპორტზე შესწავლილია ვირთაგვას პლაცენტაში. ინსულინისა და ინსულინის მსგავსი ზრდის ფაქტორი - 1-ს მსგავსად EGF-ით დამუშავება ასტიმულირებს ამინომჟავების აქტიურ შთანთქმას პლაცენტური ექსპლატანტების მიერ. ამინომჟავების ტრანსპორტის სტიმულირების გზით EGF-ის ნაყოფის ზრდაზე ახდენს გავლენას (Masuama H., 1996).

ემბრიონის სხვადასხვა ქსოვილებში, ნაყოფის გარსებში ექსპრესირდება სისხლძარღვების ენდოთელური ზრდის ფაქტორი (VEGF), რომელიც ენდოთელური უჯრედების ცნობილი მიტოგენი და ანგიოგენეზის ერთ-ერთი რეგულატორია. მისი ექსპრესია იზრდება ფეხმძიმობასთან ერთად. უკუტრანსკრიპციისა და ჯაჭვური პოლიმერაზული რეაქციის (PCR) გამოყენებით განსაზღვრულია VEGF-ის m-რნმ-ები ადამიანის პლაცენტის ქსოვილსა და კულტივირებულ პლაცენტურ ფიბრობლასტებში. გამოვლინდა, რომ პლაცენტა VEGF-ის გავრცელებული, იოლად სეკრეტირებადი იზოფორმების გარდა (მაგ., VEGF121, VEGF165, VEGF183) კიდევ რამოდენიმე ტრანსკრიპტს (VEGF206, VEGF145) პროდუცირებს, რაც ამდიდრებს ექსტრაცელულარული მატრიქსის ზრდის ფაქტორების ფონდს (Anthony FW., 1994). VEGF-ის არსებობა პლაცენტის ქსოვილებში მიუთითებს აღნიშნული ფაქტორის როლზე პლაცენტის ვასკულარული ფუნქციის განვითარებასა და შენარჩუნებაში; VEGF-ის ლოკალიზაცია ნაყოფის გარსებში და პლაცენტის ნაყოფისეულ ნაწილში შესაძლებელს ხდის მის მონაწილეობას ამნიონური სითხის მოცულობისა და შედგენილობის რეგულაციაში. პრეეკლამფსიითა და საშვილოსნოსშიდა ზრდის რესტრიქციით გართულებული ორსულობის შემთხვევაში, როდესაც აღინიშნება სისხლძარღვების დაზიანებები, VEGF-ის იმუნური შეღებვის ინტენსიურობა სინციტიოტროფობლასტში მნიშვნელოვნად არის შემცირებული (Lyall F., 1997). სისხლძარღვების ენდოთელურ უჯრედებში და პლაცენტის ქსოვილებში იდენტიფიცირებულია აგრეთვე VEGF-ის ორი რეცეპტორი – KDR და Flt-1. ადამიანებში უპირატესად წარმოდგენილია Flt-1, ხოლო ძროხებსა და ცხვრებში – KDR (Cheung CY.,

1997). ავტორების მიერ გამოვლენილია Flt-1-ის ახალი, ორსულობასთან დაკავშირებული ხსნადი ფორმა, რომლის სუბერთეულის მოლეკულური წონაა 150 ·kD. ჩვეულიბრივ, ის წარმოდგენილია 400-550 kD წონის მულტიმერული სტრუქტურის სახით; VEGF-ის მოლეკულების მიერთების შემდეგ კი ყალიბდება 600-700 kD კომპლექსები (Banks RE., 1998). სავარაუდოა, რომ ხსნადი Flt-1 მნიშვნელოვან როლს ასრულებს VEGF-ის მოქმედების რეგულაციაში და შესაძლოა, თერაპიული გამოყენება ჰპოვოს არანორმალური ანგიოგენეზით მიმდინარე დაავადებების დროს (როგორიცაა პროლიფერაციული რეტინოპათიები და სიმსივნეები).

თრომბოციტების გააქტივების ფაქტორი (PAF) ასტიმულირებს თრომბოქსანი A2-სა და პროსტაგლანდინ 12-ის ბიოსინთეზს ადამიანის პლაცენტის ხაოებსა და ჭიპის არტერიებში. მათი ლოკალური დონის რეგულირების გზით PAF შესაძლოა მოქმედებდეს ფეტო-პლაცენტურ ცირკულაციაზე (Wang F., 1997).

პლაცენტა უზრუნველყოფს მზარდ ნაყოფს კიდევ ერთი ზრდის ფაქტორით - ლეპტინით (ცნობილი იყო, რომ ლეპტინი არის ob გენის ცილოვანი პროდუქტი, რომელიც პროდუცირდება ადიპოციტების მიერ). ლეპტინის m-რნმ-ის ექსპრესია ნაჩვენები იყო როგორც პლაცენტის ქსოვილებში, ასევე პლაცენტის ორ უჯრედულ ხაზში. ამ ცილას მნიშვნელობა აქვს როგორც ინტრანატალური, ასევე ნეონატალური განვითარებისათვის. მისი' რაოდენობა გაზრდილია პრეპუბერტატული პერიოდის ბავშვებში, რაც მიგვანიშნებს მის როლზე ზრდა - განვითარების პროცესში (Hassink SG et al., 1997).

პლაცენტის ქსოვილებსა და ენდომეტრიუმში ექსპრესირდება ღერო უჯრედების ფაქტორი (SCF) და მისი რეცეპტორი (KiT). პლაცენტის ქსოვილებში SCF- ის მ-რნმ-ის დონე 4-8-ჯერ მაღალია, ვიდრე დეციდუალურ გარსში. როგორც ჩანს, ენდომეტრიუმისა და ხაოების SCF პარაკრინულ გავლენას ახდენს ტროფობლასტზე KiT რეცეპტორის საშუალებით. KiT და SCF ასტიმულირებენ ადრეული ჰემოპოეზური უჯრედების ტიპების,

ჩანასახოვანი უჯრედებისა და მელანოციტების პროლიფერაციას. SCF აძლიერებს აგრეთვე რამოდენიმე ჰემოპოეზური ზრდის ფაქტორის მოქმედებას (Kauma S., 1996).

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ პლაცენტას გააჩნია ჰემოპოეზური ზრდის ფაქტორების პროდუცირების უნარი in vitro. ერთ-ერთი ასეთი ფაქტორის – გრანულოციტების კოლონიების სტიმულაციის ფაქტორის (G-CSF) წარმოქმნა in vivo სისტემაშიც არის შესწავლილი. დადგენილია, რომ ჯანმრთელი პლაცენტა G-CSF-ის მ-რნმ-ის მცირე რაოდენობას შეიცავს, ხოლო მშობიარობის წინ ამ ფაქტორის პროდუცირების უნარი მნიშვნელოვნად იზრდება. უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ პლაცენტის მიერ პროდუცირებული G-CSF-ის როლი ნაყოფის გრანულოციტოპოეზში გამოვლენილი არ არის (Li Y., 1996).

ორსულობის დროს დეციდუალური უჯრედები წარმოქმნიან და სეკრეტირებენ მაკროფაგების კოლონიების მასტიმულირებელი ფაქტორის (CSF-1) დიდ რაოდენობას. ეს ფაქტორი ასტიმულირებს ტროფობლასტების პროლიფერაციასა და დიფერენცირებას. გარდა ამისა, CSF-1 ასტიმულირებს ტროფობლასტების მიერ ჰორმონების (ქორიონული გონადოტროპინისა და პლაცენტური ლაქტოგენის) წარმოქმნას (Hayashi M., 1996).

CSF-1 მონოციტების პროლიფერაციისა და დიფერენცირების უშუალო რეგულატორია. მონონუკლეური ხაზის უჯრედები ფლობენ აღნიშნული ფაქტორის რეცეპტორს, რომელიც კოდირებულია c-fms პროტოონკოგენით. როგორც აღმოჩნდა, c-fms გენის ექსპრესიის დონე მაღალია პლაცენტის ტროფობლასტებში (Hume DA., 1997).

' შემდგომში ნაჩვენები იქნა, რომ CSF-1 და მისი რეცეპტორი ექსპრესირდებიან ქალის რეპროდუქციული ტრაქტის ეპითელიუმისა და მკერდის კარცინომის დროს. ლიგანდის მიერ რეცეპტორის აქტივაცია ასტიმულირებს სიმსივნური უჯრედების ინვაზიას უროკინაზაზე დამოკიდებული მექანიზმით. მკერდის კარცინომის შემთხვევაში ექსპრესირდება CSF-1-ის რეცეპტორის ველური ტიპი, ხოლო საკვერცხის კარცინომის დროს

ვლინდება უჩვეულო, ველური ტიპისაგან 5 -ექსტრაცელულარული დომენით განსხვავებული ფორმა. სიმსივნური უჯრედების მიერ CSFR-ის ექსპრესია სტეროიდული ჰორმონებისა (გლუკოკორტიკოიდები, პროგესტერინი) და ზოგიერთი bHLH ტრანსკრიპციის ფაქტორის კონტროლის ქვეშაა (Kasinski BM., 1997).

კორტიკოტროპინის -რილიზინგ ფაქტორი (CRF) გარდა ჰიპოთალამუსისა, პლაცენტაშიც ექსპრესირდება. უმაღლესი პრიმატების პლაცენტაში მისი ექსპრესია სახეობრივი სპეციფიურობით ხასიათდება. ადამიანის CRF - გენის პრომოტორში იდენტიფიცირებულია ელემენტები, რომლებსაც ტრანს-აქტიური ფაქტორები უკავშირდება. ეს ფაქტორები განსაზღვრავს ადამიანის CRF - გენის პლაცენტური ექსპრესიის სახეობრივ სპეციფიურობას (Scatena CD., 1996). CRF (პროსტაგლანდინებთან და ესტროგენებთან ერთად) გავლენას ახდენს საშვილოსნოს მიოციტებზე და აძლიერებს მის შეკუმშვას(dibbs KI., 1997). პროსტაგლანდინ – 2 და ესტრადიოლი აძლიერებს CRF -გენის ტრანსკრიფციას. CRF არეგულირებს იმუნორეაქტიული ოქსიტოცინის გამოყოფას ადამიანის პლაცენტის კულტივირებული უჯრედებიდან (ასეთივე ეფექტს ავლენს ნორადრენალინი, ვაზოპრესინი, პროსტაგლანდინ 2-ალფა და აქტივინი) (Florio P., 1996).

პლაცენტაში გენების ქსოვილსპეციფიური ექსპრესიის განმსაზღვრელი ფაქტორები არასრულადაა შესწავლილი. ეს ეხება ჰორმრნების გენებს, რომელთა პროდუქტები სასიცოცხლო მნიშვნელობისაა ემბრიონის განვითარებისათვის. ავტორების მიერ შესწავლილია თაგვის პლაცენტური ლაქტოგენის I გენის ტროფობლასტ-სპეციფიკური ექსპრესია. ნაჩვენებია, რომ პლაცენტის ტროფობლასტურ უჯრედებში ექსპრესირდება GATA-ოჯახის ტრანსკრიპციული ფაქტორები (GATA 2 და GATA3), რომლებიც ზემოთხსენებული გენის პრომოტორის აქტიურობას არეგულირებენ (Ng YK., 1994). ადამიანის პლაცენტა ექსპრესირებს ტრანსკრიპციის გამაძლიერებელ ფაქტორ 1-ს (TEF-1). hPL გენში ნაპოვნია TEF-1-თან ბმის ენჰანსერული

უბანი. თუმცა პლაცენტის მიერ TEF-1 და hPL-ს ექსპრესიას შორის კორელაცია არ აღინიშნება (Quinn G. et al., 1996).

დღეისათვის ჩვენს ხელთ არსებული ლიტერატურული მონაცემები უფლებას გვაძლევს დავასკვნათ, რომ ადამიანის ექსტრაემბრიონული ქსოვილები წარმოადგენს სხვადასხვაგვარი მოქმედების ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების მდიდარ წყაროს და ამდენად, პერსპექტიულია ფარმაკოლოგიური თვალსაზრისით.

1.2 ფარმაკოლოგიური პრეპარატის პლაფერონი ლბ-ს დახასიათება

80-ან წლებში საქ. მეცნ. აკადემიის სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში პროფ. ვლ.ბახუტაშვილის ხელმძღვანელობით შემუშავდა პლაცენტური ინტერფერონის - პლაფერონის მიღების მეთოდიკა (Бахуташвили В.И. и соавт., 1985. Мерабишвили Дж. и соавт., 1995).

წარმოების ტექნოლოგიურ პროცესში კორექტივების შეტანის შემდეგ პრეპარატს (რომელიც ინტერფერონებს აღარ შეიცავს) პლაფერონი ლბ ეწოდა.

პლაფერონი ლბ ადამიანის პლაცენტის ამნიონური გარსიდან მიღებული ცილა-პეპტიდური პრეპარატია. იგი შეიცავს ენდოგენური წარმოშობის ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებებს, რომლებიც განაპირობებს მის მრავალმხრივ ფარმაკოლოგიურ მოქმედებას. პლაფერონი ლბ არ შეიცავს პლაცენტისა და ნაყოფისათვის დამახასიათებელ ზოგიერთ ცილას: α-ფეტოპროტეინს, ქორიონულ გონადოტროპინს, ტროფობლასტურ β-გლობულინს. ცილებიდან მაჟორულია ალბუმინი (Д.Г Мерабишвили, 1988).

პრაპარატის ფარმაკოლოგიური თვისებებიდან, უპირველეს ყოვლისა ყურადღებას იმსახურებს მისი იმუნომამოდულირებელი მოქმედება.

პლაფერონი ლბ სხვადასხვა ეთიოლოგიის იმუნოდეპრესიის პირობებში ზრდის ადამიანის პერიფერიული სისხლის T -ლიმფოციტების საერთო

რაოდენობას და აღადგენს T -ჰელპერებისა და სუპრესორების დარღვეულ ბალანსს (თ.ჩიქოვანი, 1997).

ადამიანის მონონუკლეურ უჯრედებსა და თაგვის სპლენოციტებზე პლაფერონი ლბ ახდენს დოზადამოკიდებულ ანტიპროლიფერაციულ ეფექტს ბლასტრანსფორმაციის რეაქციებში. ანტიპროლიფერაციული აქტიურობა ყველაზე მეტად უჯრედის G_1 დან G_2 ფაზაში გადასვლის დროს ვლინდება. ამ ეფექტის მოლეკულური მექანიზმი პროტეინკინაზა C-ს ინჰიბირებაში მდგომარეობს (Bakhutashvili V., Chikovani T., 1995). პროტეინკინაზა C-ს აქტიურობის დათრგუნვის უნარი განაპირობებს პლაფერონი ლბ-ს ანთების საწინააღმდეგო მოქმედებას. პლაფერონი ლბ თრგუნავს მიტოგენით სტიმულირებული ადგეზიური უჯრედების მიერ ილ-1-ს სინთეზს, ამასთანავე, იგი არ მოქმედებს ლიმფოციტების მიერ ილ-2-ს პროდუქციაზე (Бахуташвили А. 1991; კუკულაძე ნ., 1993; ჭეიშვილი ნ. 1994; ვ. ბახუტაშვილი 1995).

ადამიანის პერიფერიული სისხლის მონონუკლეურ უჯრედებში პლაფერონი ლბ არეგულირებს ც-ამფ-ის მეტაბოლიზმს. ციკლური ნუკლეოტიდების დარღვეული მეტაბოლიზმის აღდგენა პრეპარატის ზეგავლენით პირველად მწვავე ვირუსული ჰეპატიტის დროს იქნა შენიშნული (Квитаишвили Г., 1991; ნანავა ვ., 1994).

. იმუნომამოდულირებელი მოქმედების გარდა პლაფერონ ლბ-ს ანტიჰიპოქსიური, დეზინტოქსიკაციური, ანტიოქსიდანტური თვისებებიც აღმოაჩნდა (Бахуташвили В.И. и соавт. 1985; Гогиташвили Р.В 1986; Корсантия Б. 1986; Джавахишвили Н и соавт. 1989; Бахуташвили А. 1991; რ.გულორდავა 1994; Имедидзе Е.А. 1995; Bakhutashvili V. et al., 1997 რ.რუხაძე 1999).

მიოკარდიუმის ინფარქტის ლეტალური მოდელის გამოყენებით თავდაპირველად დადგენილი იქნა წინამორბედი პრეპარატის - პლაფერონის ანტიჰიპოქსიური მოქმედება. გავრცობილი ტრანსმიერული ეფექტის მიუხედავად, პრეპარატის ერთჯერადი შეყვანის შემდგომ 27 ძაღლიდან 26

გადარჩა. გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ პლაფერონი უზრუნველყოფს კარდიოგენური შოკის, ფატალური არითმიებისა და დისემინირებული მიკროინფარქტების განვითარების თავიდან აცილებას, რაც, ძირითადად, "დაუზიანებელი პატარა არტერიების" რეფლექსური სპაზმითაა გამოწვეული (Джавахишвили Н. с соавт., 1989).

მოგვიანებით, ვირთაგვებში გულის ადრენალური დაზიანების შემთხვევაში პლაფერონ ლბ-ს გამოყენებამ უზრუნველყო ჰიპოქსიისაგან ენდოთელიოციტებისა და კარდიომიოციტების დაცვა (Гибрадзе Т.А. с соавт., 1994).

ლ. დადიანის (1993) მიერ პრეპარატის ანტიჰიპოქსიური მოქმედება დადგენილი იქნა ღვიძლის უკმარისობის ექსპერიმენტულ მოდელზე. აღნიშნული ეფექტი გამოვლინდა აგრეთვე ობსტრუქციული ნეფროპათიისა (Чавчанидзе Д., 1990) და თირკმლის სითბური იშემიის პირობებშიც (Хвадагиани Г., 1990).

ექსპერიმენტში შესწავლილი იქნა პლაფერონ ლბ-ს მოქმედება თავის ტვინში ცირკულაციური ჰიპოქსიით გამოწვეულ მიკროცირკულაციურ, მეტაბოლურ და ულტრასტრუქტურულ ძვრებზე (Квривишвили Г.С и соавт., 1994; Небиеридзе М.И. и соавт., 1993). აღმოჩნდა, რომ პრეპარატის წინასწარი შეყვანა აძლიერებს ნერვული და გლიური უჯრედების, ასევე კაპილარების ფუნქციურ აქტიურობას, აფერხებს იშემიისათვის დამახასიათებელი დესტრუქციული ცვლილებების განვითარებას.

თავის ტვინის ფოკალური იშემიის არაინვაზიური მოდელის პირობებში (ტვინის სისხლძარღვთა ფოტოქიმიური თრომბოზი) პლაფერონი ლბ-ს წინასწარი შეყვანა ინფარქტით დაზიანებული ზონის დაახლოვებით 85%-ით შემცირებას უზრუნველყოფს, ნარჩენი დაზიანების ზონაში კი თრომბირებულ სისხლძარღვთა სიმკვრივე კონტროლთან შედარებით 20%-თაა შემცირებული (ქაცარავა ზ., 1995).

მწვავე ვირუსული B ჰეპატიტის დროს პრეპარატის მოქმედების გამოკვლევამ მისი ჰეპატოპროტექტური, ანტიტოქსიური და იმუნომამოდულირებელი მოქმედება დაადასტურა.

მწვავე ვირუსული B ჰეპატიტის დროს ავადმყოფთა სისხლის შრატში β-მიკროგლობულინის შემცველობა (რაც ღვიძლის პარენქიმის დაზიანების მაჩვენებელია) პროგრესულად კლებულობდა ავადმყოფთა იმ ჯგუფში, სადაც ტრადიციული მეთოდებით მკურნალობის ფონზე გამოიყენებოდა პლაფერონი ლბ. 'ამრიგად, პრეპარატის გამოყენება უზრუნველყოფდა ღვიძლის პარენქიმის დაზიანებული ფართობის შემცირებას (Квитаишвили Г., 1991).

პლაფერონი ლბ-ს პოზიტიური კლინიკური ეფექტი გამოვლინდა აგრეთვე ღვიძლის ქრონიკული დაავადებების დროს. აღინიშნებოდა სასქესო ჰორმონების დისბალანსის ნორმალიზება, ელექტროლიტური დარღვევების თავიდან აცილება, ღვიძლის ფუნქციური მდგომარეობის ბიოქიმიური მაჩვენებლების გაუმჯობესება (Е.Г. Адамия, 1995).

პლაფერონი ლბ-ს ჰეპატოპროტექტური ეფექტი შესწავლილია აგრეთვე მწვავე ექსპერიმენტული ჰიპო - და ჰიპერთირეოზის დროს. პრეპარატი უზრუნველყოფს უჯრედების ანტიოქსიდაციური უნარის შენარჩუნებას, თავისუფალი რადიკალების გენერატორების წარმოების შეფერხებას და ლიპიდების ზეჟანგვითი ჟანგვის ნორმალიზებას. ეს ეფექტი გამოხატულებას ჰპოვებს მემბრანების სტაბილიზაციის, უჯრედებში დესტრუქციული ცვლილებების შემცირების, ქსოვილის ნორმალური სტრუქტურის შენარჩუნების სახით. აღდგენით პერიოდში კი პრეპარატი აჩქარებს ეპრ-სიგნალების მაჩვენებლების ნორმაში დაბრუნებას (რ.რუხაძე, 1999), სტრუქტურული ცვლილებების უკუგანვითარებას და ხელს უწყობს რეგენერაციის პროცესის მიმდინარეობას.

• პრეპარატის ანტიტოქსიური მოქმედების შესწავლისას დადგინდა, რომ ორგანული შხამით CCL_4-ით მოწამლულ ვირთაგვებში პრეპარატი აბრკოლებს ჰეპატოციტების მიტოქონდრიების მემბრანებიდან CCL_4-ის გავლენით ციტოქრომ C-ს ერთ-ერთი გადამტანის გამორეცხვას. CCL_4-ის 4-დღიანი

ინექციების შედეგად ვირთაგვის მიტოქონდრიათა სუნთქვითი კონტროლის კოეფიციენტი მინიმალურ დონემდე მცირდება, რაც ატფ-ს სინთეზის შეწყვეტის მაუწყებელია. პლაფერონ ლბ-ს გამოყენების შემთხვევაში კი სუნთქვის კონტროლის კოეფიციენტი საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით მხოლოდ 80%-მდე ქვეითდება; ე.ი. პრეპარატის გამოყენება ატფ-ს სინთეზის შენარჩუნებას უზრუნველყოფს (რ.გულორდავა, 1994).

ექსპერიმენტული ქოლესტაზის დროს პლაფერონ ლბ-ს გამოყენებით დადგინდა, რომ ჰეპატოციტების მიტოქონდრიების სუნთქვით ჯაჭვში პრეპარატი ასწორებს ელექტრონთა ტრანსპორტს NAD·H უბიქინონოქსირედუქტაზას უბანზე, სტაბილურს ხდის უჯრედში ენერგეტიკულ პროცესებს და აძლიერებს ანტიოქსიდანტური და დეტოქსიკაციური სისტემების ფუნქციურ აქტიობას (Кордзая Д., 1994).

პლაფერონ ლბ-ს ორგანიზმში ნახშირწყლოვანი ცვლის რეგულაციის უნარი აქვს. ძაღლებში ალოქსანური დიაბეტის დროს ადგილი ჰქონდა სრულ შესაბამისობას პრეპარატის შეყვანასა და სისხლში შაქრის შემცველობის დაქვეითებას შორის. ჰეპატოციტებსა და კარდიომიოციტებში პრეპარატის გავლენით გლიკოგენის შემცველობის ნორმალიზება აღნიშნული უჯრედების ფუნქციური აქტიურობის აღდგენაზე მეტყველებს (ვ.ნანავა, 1993).

in vitro ექსპერიმენტებით ნაჩვენები იქნა, რომ გლიკოლიზის გააქტივების გზით პლაფერონი ლბ აძლიერებს უჯრედში მიმდინარე ენერგეტიკულ პროცესებს. პრეპარატის თანაობისას უჯრედი ენერგიას იღებს ორი წყაროდან - ჟანგვითი და სუბსტრატული ფოსფორილირებით. ამის გარდა პრეპარატი გავლენას ახდენს გლუკოზის ტრანსპორტის სისტემაზეც. გამოუფიტავ უჯრედებში იგი იწვევს გლუკოზის სწრაფ შთანთქმას და ბლოკირებს მის გადასვლას არეში. პრეპარატის ეფექტი დამოკიდებულია უჯრედის ფუნქციურ მდგომარეობაზე (Ягужинский и соавт., 1995; Имедидзе Е.А. 1995).

როგორც აღმოჩნდა, პრეპარატი დოზადამოკიდებულად აინჰიბირებს Na, K-ატფ-აზას აქტიურობას, რაც შესაძლოა, მასში ენდოგენური დიგოქსინის მაგვარი ფაქტორის არსებობაზე მიუთითებდეს.

უჯრედთა რეცეპტორულ აპარატზე პლაფერონი ლბ-ს გავლენის შესწავლის შედეგად დაადგინდა, რომ ეს უკანასკნელი ნერვულ უჯრედებში აქვეითებს α-I-ადრენორეცეპტორების, ^{1}H-ჰისტამინისა და M-ქოლინორეცეპტორების რაოდენობას და ზრდის ალფა-2-და ბეტა ადრენორეცეპტორების აქტიურობას (Джанашия Н.Н. и соавт, 1990). პრეპარატი შეიცავს სინაფსური მემბრანის სიგმა რეცეპტორებზე მოქმედ ნივთიერებას. საინტერესოა, რომ პლაფერონი ლბ ზემოქმედებს ჰალოპერიდოლმგრძნობიარე სუბტიპზე ანუ NMDA-გლუტამატის რეცეპტორთან დაკავშირებულ ცილაზე (Микеладзе Д. и соавт., 1995).

ნერვული სისტემის ზოგიერთი სისხლძარღვოვანი, ინფექციური და აუტოგენური დაავადების დროს პლაფერონი ლბ-ს გამოყენებამ აჩვენა, რომ იგი დადებით გავლენს ახდენს ნევროლოგიურ სიმპტომატიკაზე (Ц.Чхиквишвили, 1995).

პლაფერონი ლბ-ს გამოყენებამ ნეიროქირურგიული პროფილის პაციენტებში გართულებით მიმდინარე პოსტოპერაციულ პერიოდში გამოავლინა შემდეგი:

1. პრეპარატი ავლენს მეტაბოლიტურ ეფექტს, რაც ტვინში ნივთიერებათა ცვლის პროცესების ოპტიმიზაციით გამოიხატება;

2. მიიღება ე.წ. "გამოღვიძების ეფექტი", რაც შეიძლება აიხსნას ოპიოიდური პეპტიდის - -ენდორფინის კონცენტრაციის შემცირებით; აგრეთვე, პრეპარატის გავლენით მეტაბოლურ პროცესებზე.

3. გამოვლენილია ბიოქიმიური ცვლილებები; აგრეთვე, ნეირო და პერიფერიული ჰორმონების კონცენტრაციების ცვლილებები, რაც პრეპარატის სისტემური და ნეიროტროპული მოქმედების მაჩვენებელია (Е.Б. Сиворский, В.Г. Амчеславский и др. 1995).

ამრიგად, დღემდე წარმოებული კლინიკურ-ექსპერიმენტული კვლევის საფუძველზე შეიძლება ითქვას, რომ პლაფერონი ლბ მრავალმხრივი მოქმედების პრეპარატია. მას ახასიათებს იმუნომარეგულირებელი, ანტიტოქსიური, ანტიჰიპოქსიური, ჰეპატოპროტექტული მოქმედება; იგი აუმჯობესებს ტვინის, გულის, თირკმელებისა და ღვიძლის მიკროცირკულაციას; აღადგენს იშემიისა და ინტოქსიკაციის შედეგად დარღვეულ უჯრედულ ენერგეტიკისა და ქსოვილის ფუნქციას.

მრავალმხრივი ფარმაკოლოგიური თვისებები საფუძვლად დაედო პლაფერონი ლბ-ს დანერგვას კლინიკურ პრაქტიკაში.

აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ დღემდე სათანადოდ არ არის გარკვეული პრეპარატის მრავალმხრივი ფარმაკოლოგიური მოქმედების მოლეკულური მექანიზმები.; არ არის შესწავლილი პრეპარატის მოქმედება გენეტიკური აპარატის ფუნქციონირებაზე. უჯრედში გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის პირველ საფეხურს წარმოადგენს დნმ-მატრიცაზე რნმ-ს სინთეზი (ტრანსკრიპცია). აღნიშნულ პროცესზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენის შესწავლა გახლავთ სწორედ წინამდებარე სამუშაოს მიზანი.

1.3. ეუკარიოტული უჯრედების სატრანსკრიპციო აპარატის დახასიათება

1.3.1 ეუკარიოტული რნმ-პოლიმერაზების ზოგადი დახასიათება

უჯრედში გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის პირველ საფეხურს წარმოადგენს დნმ-მატრიცაზე რნმ-ის სინთეზი ანუ ტრანსკრიპცია. ტრანსკრიპცია როგორც პრო-, ასევე ეუკარიოტულ ორგანიზმებში სამი თანმიმდევრული სტადიისაგან შედგება. ესენია: ინიციაცია ანუ რნმ-ს სინთეზის დაწყება (ა ან გ ფუძიდან), ელონგაცია-ჯაჭვის დაგრძელება და ტერმინაცია ანუ რნმ-ს მოლეკულის სინთეზის დასასრული. რნმ-ის სინთეზი

ხორციელდება დნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზას მეშვეობით. ეუკარიოტულ ორგანიზმებში (კერძოდ, თეთრი ვირთაგვას ღვიძლის უჯრედების ბირთვებში) რნმ-პოლიმერაზა პირველად 1959 წელს (Weiss et al, 1959) იყო აღმოჩენილი. 70-იან წლებში კი განხორციელდა უმაღლესი ორგანიზმების რნმ-პოლიმერაზების პრეპარატების ქრომატოგრაფიული შესწავლა, რის შედეგად საბოლოოდ დადგინდა აღნიშნულ ორგანიზმებში რნმ-პოლიმერაზას რამდენიმე ფორმის არსებობა. ვირთაგვასა და ზღვის გოჭში იდენტიფიცირებული იქნა რნმ-პოლიმერაზას კატალიზური თვისებებით განსხვავებული სამი ფორმა. ისინი ჩვეულებრივ აღინიშნება, როგორც I, II და III ფორმები (Roeder et al,1970, Roeder, 1976, Windell et al, 1964). რნმ-პოლიმერაზას სამი ფორმა შემდგომში აღმოჩენილი იყო სხვადასხვა ქსოვილებსა და ორგანიზმებში. მაგ: Xenopus leavis; ხბოს თიმუსში, სოკოებსა და საფუარებში (Schwarthz et al,1974, Young et al, 1975, Dequaid-Chammblat et al, 1991, Memet et al,1988, Ponta et al,1971). სულ მალე ფერმენტის თითოეული ფორმისათვის ნაჩვენები იქნა ქრომატოგრაფიულად განსხვავებული ორი ქვეფორმის არსებობა. ასე მაგალითად, რნმ პოლიმერაზა I თაგვიდან და აგრეთვე ამფიბიებიდან (Roeder, 1974) DEAE სეფადექსის სვეტზე ქრომატოგრაფიის გზით დაყოფილი იყო ორ ძირითად (ა და ბ) ფორმად (Seifart, 1973). რნმ-პოლიმერაზა II-ს ანალოგიური ქვეფორმები იდენტიფიცირებული იყო ხბოს თიმუსის უჯრედებში, ამფიბიებსა და დროზოფილაში (Philips et al,1973, Keller et al,1990). თაგვის ღვიძლის, ხბოს თიმუსისა და ვირთაგვას ღვიძლის რნმ-პოლიმერაზა ასევე დაყოფილი იყო ა და ბ ფორმებად (Champon et al,1971).

უკანასკნელი ოცი წლის მანძილზე გრძელდებოდა სხვადასხვა ორგანიზმებიდან გამოყოფილი რნმ-პოლიმერაზების სტრუქტურის, ფუნქციისა და თვისებების ინტენსიური კვლევა, დადგინდა, რომ ფერმენტის სხვადასხვა ფორმები ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან ბირთვული ლოკალიზაციით, კატალიზური თვისებებით, ორვალენტიანი იონების მიმართ მოთხოვნილებით;

განსხვავებულია მათი მგრძნობელობა შხამიანი სოკოს (*Ammanita phalloides*) ტოქსიკური ოქტაპეპტიდის - α-ამანიტინის მიმართ: ცხოველური უჯრედების რნმ-პოლიმერაზული აქტიურობა მაღალი იონური ძალის პირობებში Mg იონების თანაობისას, შერჩევითად ინჰიბირდება α-ამანიტინის სხვადასხვა დოზებით. სხვა ინჰიბიტორების (მაგ. აქტინომიცინი D) მოქმედებისაგან განსხვავებით, თეთრი შხამიანი სოკოს ოქტაპეპტიდი რნმ-ს სინთეზს ელონგაციის სტადიაზე ბლოკირებს (Jacob et al,1970, Mercol et al,1989). უახლესი გამოკვლევების შედეგად დადგინდა, რომ რნმ-პოლიმერაზა არის მრავალსუბერთეულოვანი ენზიმი. საფუარებში, მაგალითად, რნმ-პოლიმერაზას თითოეული ფორმისათვის აღწერილი იქნა დაახლოებით 12-დან 16-მდე სუბერთეული. კერძოდ, I ფორმისთვის - 3-14, II ფორმისთვის - 12 და III ფორმისთვის - 13-16 სუბერთეული (Treich et al,1992). სამივე ფორმის ორი დიდი სუბერთეული ერთმანეთის მსგავსია და პროკარიოტების β და β[1] სუბერთეულების დუბლიკატებს წარმოადგენს. გარდა ამისა, სამივე ფერმენტის ორ პატარა სუბერთეულს ერთი და იგივე ზომა და თანმიმდევრობა აქვს. რნმ-პოლიმერაზა II-ს RPBII სუბერთეული ენათესავება I და III ფორმის AC19-ს; საფუარის ABC23, ABC14.5 ABC27 და ABC10a სუბერთეულები სამვე ფორმაში იდენტურია. და ბოლოს, ABC10b, AC40 და AC19 სუბერთეულები იდენტური აქვს რნმ-პოლიმერაზა I-ს და II-ს. დანარჩენი სუბერთეულები სპეციფიკურია თითოეული კონკრეტული ფორმისათვის და მათი არსებობა არ არის აუცილებელი, რადგანაც ახდენენ შედარებით მოკლე ტრანსკრიპტების სინთეზს (Allison et al,1985, Mann et al,1987).

ეუკარიოტული რნმ-პოლიმერაზას ფორმები ვერ ახდენენ პრომოტორული თინმიმდევრობის შეცნობას და ამიტომ ტრანსკრიპციის ინიციაციისათვის მათ ესაჭიროებათ სპეციფიკური ცილები – ტრანსკრიპციის ფაქტორები. უკანასკნელი წლების გამოკვლევებმა გამოავლინა კიდევ ერთი განსხვავება რნმ-პოლიმერაზას სხვადასხვა ფორმებს შორის: თითოეულ ფორმას ტრანსკრიპციის ინიციაციისთვის ესაჭიროება განსხვავებული

პრეინიციაციის კომპლექსი. განსხვავება ელონგაციის ფაქტორებს შორისაც არის დადგენილი. საფუძველი ჩაეყარა მოსაზრებას, რომ შესაძლებელია გენების კლასიფიცირება სამ განსხვავებულ ჯგუფში იმის მიხედვით, თუ რა პრომოტორულ უბნებს შეიცავენ, რნმ-პოლიმერაზას რომელი ფორმის მიერ ტრანსკრიბირდებიან და რომელი ტრანსკრიპციული ფაქტორები მონაწილეობენ ამ პროცესში. აქედან გამომდინარე მართებული იქნება, დამოუკიდებლად განვიხილოთ სხვადასხვა კლასის გენების ტრანსკრიპციის პროცესი.

1.3.2 სხვადასხვა კლასის გენების ტრანსკრიპციის თავისებურებები

პირველი კლასის გენების ტრანსკრიპცია. ეუკარიოტულ უჯრედებში რიბოსომული გენები ორგანიზებული არიან ტანდემური განმეორებადი თანმიმდევრობების სახით. მათი ტრანსკრიპცია რნმ-პოლიმერაზა I-ის მეშვეობით მიმდინარეობს (Seither, 1998). რნმ-პოლმერაზა I ლოკალიზებულია ბირთვაკში, სადაც იგი აკატალიზებს რიბოსომული რნმ-ს სინთეზს პირველადი დიდი ტრანსკრიპტის სახით, რომელისგანაც შემდგომ სამ მოლეკულა (18S, 5,8S და 28S) წარმოიქმნება.

რ-გენების ტრანსკრიპციის შესწავლა ორი მიმართულებით მიმდინარეობს. ერთის მხრივ, იშიფრება პრომოტორული უბნის თანმიმდევრობა ანუ ცის-აქტივაციური ელემენტები და მეორეს მხრივ, ინტენსიური გამოკვლევები მიმდინარეობს ტრანს-აქტივაციური ფაქტორების შესასწავლად (Sollner-Webb, 1991, Smith, 1989, Jacob,1995).

· რიბოსომული გენი შეიცავს სამ მნიშვნელოვან რეგიონს: პრომოტორს, ენჰანსერს და ტერმინატორულ ელემენტს. პრომოტორულ უბანში თავის მხრივ, არჩევენ ორ ელემენტს: კორ-პრომოტორული ელემენტი (CPE- core promotor element), განლაგებული უპირატესად +10 და –40 პოზიციაში და

მეორე პრომოტორული ელემენტი - upstream-პრომოტორული ელემენტი (UPE- upstream promotor element) განლაგებული –107 და –167 მონაკვეთში (Jacob,1995).

რიბოსომული გენებისათვის დამახასიათებელი ენჰანსერული უბანი, 60 ან 80 ნუკლეოტიდიანი განმეორებადი თანმიმდევრობის სახით, პირველად ბაყაყებში იყო იდენტიფიცირებული. დღეისათვის სხვადასხვა ორგანიზმებში იდენტიფიცირებულია მრავალი ანალოგიური თვისებების მქონე ელემენტი, რომლებიც ერთმანეთისგან სიგრძით (მაგ. 120, 174 ნუკლეოტიდიანი თანმიმდევრობები) და ლოკალიზაციით განსხვავდებიან (Dxit, 1987, Ghosh, 1993). ამ უბნის ფუნქცია არ არის დამოკიდებული მის ორიენტაციასა და მდებარეობაზე. განმეორებადი ენჰანსერული ელემენტის მარცხნივ განლაგებულია კიდევ ერთი ენჰანსერული ბუნების მქონე ელემენტი - სპეისერული პრომოტორი.

ტერმინატორული ელემენტი არის დაახლოებით 18 ნუკლეოტიდური წყვილისგან შემდგარი თანმიმდევრობა, რომელსაც მღრღნელებში და ადამიანში Sal-ბოქსებს უწოდებენ. ამ მოკლე თანმიმდევრობებს შეიცნობენ TTF I (თაგვებში) ან Rib 2 (ბაყაყებში) ტერმინაციის ფაქტორები.

რიბოსომული გენების ტრანს-აქტივაციური ფაქტორები საკმაოდ კარგად შესწავლილი ტრანსკრიპციული ფაქტორების ჯგუფს განეკუთვნებიან. მათ შორის აღსანიშნავია პრეინიციაციის კომპლექსიის წარმოქმნაში მონაწილე ძირითადი (ბაზალური) ფაქტორები - UBF, SL1, დამხმარე ფაქტორები - E_1BF/Ku, CPBF, REB I და ა.შ.

UBF (upstream binding factor) 85-97 კდ წონის კონსერვატული ცილაა, რომელიც core-პრომოტორულ და upsream-პრომოტორულ უბნებთან დაკავშირების გზით მონაწილეობს მდგრადი პრეინიციაციის კომპლექსის ფორმირებაში. ამ ცილის უნიკალურობა 80 ამინომჟავური თანმიმდევრობით (დნმ-დამაკავშირებელი უბნები) არის განპირობებული. ეს თანმიმდევრობები HMG ცილების ჰომოლოგიური უბნებია და ამიტომ მათ HMG-ბოქსებს უწოდებენ. UBF-ის დაკავშირება პოლიმერაზა I-თან (Schnapp, 1994)

სწორედ HMG-ბოქსების საშუალებით ხდება. სხვა ანალოგიური ცილებისგან განსხვავებით, დნმ-თან დასაკავშირებლად UBF საჭიროებს ორზე მეტ HMG-ბოქსს.

SL1 სხვადასხვა ორგანიზმებიდან არის გამოყოფილი, რის გამოც ლიტერატურაში სხვადასხვა სახელწოდებებით (მაგ. ადამიანი და ვირთაგვა - SL1, თაგვი - TIF - IB, Factor D ან SL1 და Rib1 - ბაყაყებში) არის ცნობილი. ყველა ეს ცილა ფუნქციურად იდენტურია, მაგრამ პრომოტორთან დაკავშირების მიხედვით სპეციფიკურობას ავლენს. კერძოდ, SL1 ურთიერთქმედებს მხოლოდ ჰომოლოგიურ პრომოტორთან, რაც განაპირობებს რდნმ-ის ტრანსკრიპციის სახეობრივ სპეციფიკურობას. SL1 კორ-პრომოტორულ ელემენტთან UBF-ის გარეშე ურთიერთქმედებს, UBF მხოლოდ აძლიერებს ამ ურთიერთქმედებას, რაც დნმ-აზა I-ის ანაბეჭდების ანალიზის გამოყენებით იყო ნაჩვენები (Kwon,1994, Bell,1990). 1992 წლამდე ამ ფაქტორის ბუნება უცნობი იყო. დღეისათვის კი დადგენილია, რომ SL1 შედგება TATA ბოქს-შემაკავშირებელი ცილისა (TBP - TATA-binding protein) და მასთან ასოცირებული ცილებისაგან (TAFs) (Comai, 1992). TBP "უნაგირის" ფორმის მოლეკულაა, რომლის შიდა ზედაპირზე თავსდება დნმ-დამაკავშირებელი უბანი, ხოლო გარეთა ამობურცული ზედაპირით ის ურთიერთქმედებს ტრანსკრიპციის მარეგულირებელ ფაქტორებთან (Nikolov,1997).

მეორე კლასის გენების ტრანსკრიპცია. რნმ-პოლიმერაზა II იდენტიფიცირებულია ნუკლეოპლაზმაში და აკატალიზებს ინფორმაციული რნმ-ს პირველადი ტრანსკრიპტისა და მცირე რნმ-ს მოლეკულების სინთეზს. რნმ-პოლიმერაზა II-ით წარმართული ტრანსკრიპციის პროცესი, ბირთვაკული ფორმის ანალოგიურად, საჭიროებს ცის-აქტივაციური პრომოტორული ელემენტების და ტრანს-აქტივაციური ფაქტორების ურთიერთქმედებას (Das et al, 1995, Hampsey M., 1998).

კორ-პრომოტორული ელემენტი წარმოდგენილია ტრანსკრიპციის სასტარტო წერტილის upstream მიმართულებით განლაგებული TATA

ელემენტით (-25 წყვილი ნუკლეოტიდი) და სასტარტო საიტის ფარგლებში განთავსებული პირიმიდინით მდიდარი საინიციაციო ელემენტით (Struhl,1985). პოლიმერაზა II-თვის კორ-პრომოტორული ელემენტი მატრიცაზე არსებული ძირითადი სამიზნე უბანია, ხოლო ტრანსკრიპციის ზუსტი ინიციაცია დამოკიდებულია პოლიმერაზა II-სა და ტრანსკრიპციული ფაქტორების (TFIID, TFIIF, TFIIB, TFIIE, TFIIA, TFIIH და სხვა) ურთიერთქმედებაზე (Roeder,1991, Buratowski,1995).

მესენჯერული რნმ-ის პროდუცირება იწყება TFIID-ს მიერ TATA ელემენტის შეცნობით და მასთან კავშირის დამყარებით (Xiao et al,1995). TFIID, რომელიც აღმოჩენილია ადამიანის უჯრედებში, დროზოფილასა და საფუარებში, შეიცავს 10-ზე მეტ სხვადასხვა პოლიპეპტიდს, მოლეკულური წონებით 15-250 კდ-ის ფარგლებში. ამ პოლიპეპტიდების უმეტესობას ახასიათებს მაღალი კონსერვატულობა (Reese,1994).

დნმ-აზა I ანაბეჭდების ანალიზით დადგინდა, რომ TFIID ურთიერთქმედებს TATA ელემენტთან TBP-სუბერთეულის საშუალებით. ადამიანის TBP არის 38 კდ-იანი სუბერთეული. როგორც უკვე ითქვა, ის უჯრედში არსებობს TBP-ასოცირებული ფაქტორების TAFs (TBP-associated factors) ნაკრებთან ერთად (Henry, 1995). TAFs წარმოადგენს კოაქტივატორების ჯგუფს, რომელიც აუცილებელია ტრანსკრიპციის რეგულაციისთვის და აკავშირებს აქტივატორებს ბაზალურ ტრანსკრიპციულ კომპლექსთან (Josef C. Reese et al, 1994).

TFIIB ტრანსკრიპციის საინიციაციო უბანში კომპლექსის ქვედა ზედაპირის, აგრეთვე TBP-სა და პოლიმერაზა II-ს შორის ფიქსირებული ხიდის წარმოქმნაში მონაწილეობს (Jeffrey et al,1995).

TFIIB-TFIID-DNA კომპლექსის წარმოქმნის შემდეგ პრეინიციაციის კომპლექსის ფორმირების პროცესში ერთვება კიდევ სამი ბაზალური ფაქტორი: TFIIF,TFIIE,TFIIH. TFIIF არის ორი სუბერთეულისაგან (30 და 74კდ) შემდგარი ჰეტეროდიმერი, რომელიც დანარჩენი ფაქტორებისგან უნიკალური თვისებით გამოირჩევა. კერძოდ, მას აქვს პოლიმერაზა II-ის

აქტიურობის კონტროლის უნარი. როგორც ინიციაციის, ისე ელონგაციის სტადიაზე. TFIIE არის 34 და 56 კდ მოლ. წონის სუბერთეულისაგან შემდგარი $\alpha_2\beta_2$ ჰეტეროტეტრამერი, რომელიც TFIIF-ის მსგავსად, კორ-პრომოტორზეა მოთავსებული და პრეინიციაციური კომპლექსის ფორმირებაში ბოლო სტადიაზე ერთვება.

TFIIH მულტიპროტეინია, რომელიც 9 სუბერთეულისგან (მოლეკულური წონებით 39-89კდ-ის ფარგლებში) შედგება (Drapkin, 1994). სხვა ძირითადი ფაქტორებისგან განსხვავებით, TFIIH სხვადასხვა ფერმენტების (დნმ-დამოკიდებული ATP-აზა, ატფ-დამოკიდებული დნმ-პოლიმერაზა და ა.შ.) კატალიზურ აქტიურობას უწყობს ხელს.

TFIIA ასრულებს კოაქტივატორის როლს, ანუ ტრანსკრიპციულ აქტივატორებსა და პრეინიციაციის კომპლექსებს შორის ე.წ. "ხიდს" ქმნის. პრეინიციაციური კომპლექსის ფორმირების ადრეულ სტადიაზე, TFIIA უკავშირდება TFIID-DNA ან TFIIB-TFIID-DNA კომპლექსს და იწვევს მათ სტაბილიზირებას, რაც ინჰიბიტორული ნეგატიური ფაქტორების ზემოქმედების თავიდან აცილებისა და ტრანსკრიპციული აქტივატორების სტიმულატორული ეფექტის გაზრდის საშუალებას იძლევა (Bryant et al, 1996). დღეისათვის იდენტიფიცერებულია ელონგაციის საფეხურზე მომქმედი ფაქტორები (TFIIS, TFIIF, DSIF). ტრანსკრიპციის ტერმინაციაში მონაწილე ფაქტორები კი ჯერ-ჯერობით იდენტიფიცირებული არ არის.

მესამე კლასის გენების ტრანსკრიპცია. მესამე კლასის გენებს განეკუთვნებიან 5S რიბოსომული რნმ-ს, ს-რნმ-ების და სხვა მცირე რნმ-ების (მაგ. 7SL) გენები, რომლებიც ტრანსკრიბირდებიან რნმ-პოლიმერაზა III-ის მეშვეობით. ფერმენტი ლოკალიზებულია ნუკლეოპლაზმაში, შეიცავს 2 დიდ და 7-12 პატარა სუბერთეულს, ხოლო მისი მოლეკულური წონა სხვადასხვა ორგანიზმებში 600-700კდ-ის ფარგლებში ვარირებს (Allison,L,1985, Kock,1988). დღეისათვის დახასიათებულია პოლიმერაზა III-ის C34 სუბერთეული, რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს პრეინიციაციური კომპლექსის ფორმირებაში (Brun et al, 1997).

გენების ამ კლასისათვის დამახასიათებელია შემდეგი პრომოტორული ელემენტები: სატრანსპორტო რნმ-ის გენების - A და B ბოქსები (პრომოტორზე განლაგდებიან 1 - 75 ნუკლეოტიდის ფარგლებში), 5S რნმ-ს გენის A, IE და C (1-120 ფარგლებში) თანმიმდევრობები, VA1-A გენის A და B ბოქსები (1-160); U6 და 7SK გენების DSE, PSE (-60), TATA (-30) ელემენტები. სატრანსპორტო რნმ-ის გენების თითოეული პრომოტორული ელემენტი დაახლოებით 10 ნუკლეოტიდის სიგრძისაა (Palmer et al, 1990).

მე-III კლასის გენებზე ფორმირებული ტრანსკრიპციული კომპლექსი რეზისტენტულია მარილების მაღალი კონცენტრაციის, ჰეპარინის და სხვა აგენტების მიმართ. ქვემოთ განვიხილავთ ამ კომპლექსის ფორმირებაში მონაწილე ზოგიერთ ფაქტორს.

TFIIIA ტრანსკრიპციული ფაქტორი გასუფთავებულია Xenopus laevis ოოციტებიდან. ცილა შეიცავს ორ მსგავსი აგებულების მქონე სუბერთეულს მოლეკულური წონით 39 და 42კდ. (Baudin et al,1989). იგი ცინკის შემცველი (zinc finger) ფაქტორების ჯგუფს მიეკუთვნება TFIIIA სპეციფიკურად უკავშირდება 5S რნმ-ის გენების პრომოტორულ უბანს და ხელს უწყობს რნმ-პოლიმერაზა III-ით წარმართულ ტრანსკრიპციას (Huber et al,1990, Fiser-Littell et al,1987, Neely et al,1997). X.laevis მოუმწიფებელ ოოციტებში ნაჩვენებია TFIIIA ორი ფუნქცია: 1) პოზიტიურ ზეგავლენას ახდენს ოოგენეზის პროცესში 5S რნმ-ის გენის ტრანსკრიპციაზე; 2) ურთიერთქმედებს 5S რნმ-ის ახლადსინთეზირებულ ტრანსკრიპტებთან და ინახავს მათ 7S რნმ-რიბონუკლეოპროტეინული ნაწილაკების სახით (Romaniuk,1985, Romaniuk et al,1989, Baudin et al,1990, Romby et al,1990). დნმ-აფინური და იონცვლადი ქრომატოგრაფიის გამოყენებით იდენტიფიცირებულია ადამიანის TFIIIC სუბერთეულები: TFIIIC2 (250კდ) სუბერთეული მაღალი აფინურობით უკავშირდება B-ბლოკს; TFIIIC1 უკავშირდება A-ბლოკს (Yoshinaga et al,1987); გასუფთავებულია 140კდ წონის სუბერთეული, რომელიც უკავშირდება ადენოვირუსის VA1 გენებს.

TFIIIB ფაქტორი (გამოყოფილია Hela და საფუარების უჯრედებიდან) უკავშირდება ს-რნმ-ს და 5S რნმ-ს გენების პრომოტორს. ბოლო ხანებში ცნობილი გახდა, რომ TATA-შემაკავშირებელი ცილა, რომელიც თავდაპირველად ცნობილი იყო როგორც მეორე კლასის გენების ტრანსკრიპციის ფაქტორი, სამივე კლასის გენთა ტრანსკრიპციის სისტემებისათვის ძირითადი კომპონენტია (Lee et al,1998). დადგინდა, რომ TBP და მასთან ასოცირებული სპეციფიკური TAFs TFIIIB ფაქტორის შემადგენელი კომპონენტებია (Gottesfeld et al,1994). ამ ფაქტორის 70 კდ სუბერთეული ერთის მხრივ უკავშირდება TATA-შემაკავშირებელ ცილას (TBP), ხოლო მეორე მხრივ - TFIIIC-ს და ქმნის მესამე კლასის გენების ტრანსკრიპციისთვის აუცილებელ კომპლექსს (Chaussivert et al, 1995).

დღეისათვის იდენტიფიცირებულია ინიციაციის ახალი ბაზალური ფაქტორი TDF (translation dependent factor), რომელიც სპეციფიკურად ინაქტივირდება ცილის სინთეზის ციკლოჰექსამიდით დათრგუნვის დროს, რასაც შედეგად მოსდევს სატრანსპორტო რნმ-ის და VA რნმ-ის გენების ტრანსკრიპციის დათრგუნვა (Zhengxin et al, 1997).

1.3.3 ტრანსკრიპციის მარეგულირებელი ფაქტორების მოკლე მიმოხილვა

უკანასკნელი ათწლეულის გამოკვლევებით ნათელი გახდა, რომ გენების ექსპრესიის რეგულაცია ძირითადად ტრანსკრიპციის დონეზე ხორციელდება (Dunkan et al, 1998). სწორედ ამიტომ ტრანსკრიპციის მარეგულირებელი ფაქტორების შესწავლა სპეციალისტთა განსაკუთრებულ ინტერესს იმსახურებს. დღეისათვის მრავალი ტრანსკრიპციის ფაქტორია იდენტიფიცირებული და დახასიათებული. მათი კლასიფიკაციისათვის შემოთავაზებულია სხვადასხვა კრიტერიუმები.

ტრანსკრიპციის მარეგულირებელი ფაქტორები ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან რნმ-ის სინთეზზე მოქმედების ხასიათით: ზოგიერთი მათგანი ტრანსკრიპციის სტიმულატორია, ზოგი - ინჰიბიტორი (Langst et al, 1997, Vallejo et al, 1993). ფაქტორების დიდი ნაწილისთვის კი ორგვარი მოქმედებაა დამახასიათებელი. ტრანსკრიპციის ფაქტორები ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან აგრეთვე მოქმედების მექანიზმით - მოქმედებენ მატრიცაზე ან რნმ-პოლიმერაზას აქტიურობაზე (Schnapp et al, 1993; Bryant et al, 1996).

. აღსანიშნავია, რომ ტრანსკრიპციის აქტივაციის პროცესი დღეისათვის კარგად არის შესწავლილი, რეპრესიის მექანიზმის შესახებ კი შედარებით ცოტა რამ არის ცნობილი. ნეგატიური ტრანსკრიპციული ფაქტორების - სუპრესორების ჯგუფს მიეკუთვნება დნმ-დამოკიდებული პროტეინკინაზა (DNA-PK), რომელიც შეიცავს კატალიზურ სუბერთეულს (~350 კდ) და Ku აუტოანტიგენს (Kuhn,1995; Labhart,1995).

ლიტერატურაში აღწერილია რეპრესორი, რომელიც ბიოქიმიური მახასიათებლებით Ku-ანტიგენს ემსგავსება და ორ პოლიპეპტიდს (75 და 90კდ) შეიცავს. ეს ფაქტორი კონკურენციას უწევს TIF-IB-ს (SL1) რ-გენის პრომოტორთან კავშირის წარმოქმნაში (Kuhn,1993). უნდა აღინიშნოს, რომ თუ რდნმ-ის ტრანსკრიპციის დათრგუნვისათვის Ku-პროტეინის მაღალი კონცენტრაციაა საჭირო, E_1BFs რ-რნმ-ის სინთეზზე იგივე გავლენას დაბალი კონცენტრაციით ახდენს. E_1BFs -ს ტრანსკრიპციის პროცესის ინაქტივაცია მხოლოდ იმ შემთხვევაში შეუძლია, თუ ის serum-starved ვირთაგვას უჯრედებში სინთეზირდება (Niu,1994,). ეს ინჰიბირება არ არის სპეციფიკური და ძირითადად ინიციაციის საფეხურზე ვლინდება.

ანტიონკოგენები (მაგ. რეტინობლასტომა, p53 გენი) აკოდირებენ ფაქტორებს, რომლებიც ტრანსკრიპციის დათრგუნვის გზით უჯრედების ზრდას თრგუნავენ (Marx, 1993, Friend, 1994, Oliner,1993, Berns,1994). აღწერილია სიმსივნის სუპრესორი, რეტინობლასტომის გენის პროდუქტი - ცილა Rb, რომლის მაინჰიბირებელი ეფექტი ცილა-ცილასთან კავშირით არის განპირობებული (Voit, 1997, Cavanaugh, 1995, Weinberg, 1995). კერძოდ, ვოიტის მიერ ნაჩვენებია Rb-ს ტერმინალური ნაწილის და UBF-ის HMG-ბოქსების ურთიერთშეკავშირება, რაც შეუძლებელს ხდის UBF-ის დაკავშირებას დნმ-თან და შესაბამისად თრგუნავს ტრანსკრიპციას.

Hela-ს უჯრედებიდან გამოყოფილია Dr1-ასოცირებული პოლიპეპტიდი (DRAP1), რომელიც მოქმედებს როგორც ტრანსკრიპციის კორეპრესორი. აღსანიშნავია, რომ DRAP1 აქტიურდება დაბალი მიტოზური ინდექსის მქონე ქსოვილებში (Mermelstein et al,1996). უნდა აღინიშნოს, აგრეთვე ოსტეოკალცინის გენის ექსპრესიაზე TGFβ-ის მაინჰიბირებელი ზეგავლენა (Noda et al,1989).

პოზიტიური ტრანსკრიპციული ფაქტორების – აქტივატორების მაგალითია TFIIS, რომელიც ელონგაციის რეგულაციაში მონაწილეობს. TFIIS გასუფთავებულია თაგვის ასციტური სიმსივნის და ხბოს თიმუსის უჯრედებიდან. ცილის მოლეკულური წონა არის 38კდ, ის ურთიერთქმედებს რნმ პოლიმერაზა II-ის დიდ სუბერთეულთან და "პაუზური" საიტების გავლის დაჩქარებაში მონაწილეობს (Reines et al, 1993, Cipres-Palacin et al, 1995, Rappaport et al, 1987).

მეორე კლასის გენების პოზიტიურ რეგულაციაში მონაწილეობს ცინკის შემცველი ტრანსკრიპციული ფაქტორების ოჯახი GATA, რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს დიფერენცირებადი ერითროიდული უჯრედების და მეგაკარიოციტების გენების ექსპრესიის რეგულაციაში (Tsai, 1994).

სპეციფიკურ ფაქტორებს განეკუთვნება ასევე ადამიანის სითბური შოკის ფაქტორი - HTF (მოლეკულური წონით 83კდ), რომელიც საჭიროა სითბური შოკის გენის ტრანსკრიპციის აქტივაციისთვის (Goldenberg et al,1988).

ჯაკობის ლაბორატორიაში ადენოკარცინომის ასციდური უჯრედებიდან იდენტიფიცირებული იყო რდნმ-ის ტრანსკრიპციაში მონაწილე დამხმარე ფაქტორი E_1BF/Ku (enhancer binding factor) (Jacob,1990). ეს არის ორი სუბერთეულისაგან (85 და 72 კდ) შემდგარი ჰეტეროდიმერული ცილა, რომელიც ურთიერთქმედებს რიბოსომული დნმ-ის კორ-პრომოტორულ და ენჰანსერულ ელემენტებთან და in vitro სისტემაში რდნმ-ის ტრანსკრიპციის აქტივირებას ახდენს (Ghosh,1993). E_1BF -ის აქტიურობა არც უჯრედების წყაროზე (ვირთაგვას, თაგვის ან ადამიანის უჯრედები) და არც მატრიცის

ბუნებაზე (ხაზოვანი თუ რგოლისებური) არ არის დამოკიდებული, რაც იმაზე მეტყველებს, რომ E_1BF არასპეციფიკური ფაქტორია (Hoff,1994). E_1BF რდნმ-ის კორ-პრომოტორთან დაკავშირებულ CPBF ფაქტორთან ურთიერთქმედებს.

CPBF - კორ-პრომოტორის დამაკავშირებული ცილა (core-promotor-binding-factor) სპეციფიკურად ურთიერთქმედებს რიბოსომული გენის კორ-პრომოტორულ ელემენტთან. ის ორ პოლიპეპტიდს (44 და 39 კდ) შეიცავს (Liu,1994). CPBF-ის ძირითადი ფუნქცია E_1BF/Ku ფაქტორთან დაკავშირება და რდნმ-ის ტრანსკრიპციის ხელშეწყობაა.

სხვადასხვა ლაბორატორიებში მიღებულია რნმ-პოლიმერაზა I-თან მჭიდროდ ასოცირებული ფაქტორები - TIF- IA, TIF-IC, რომლებიც (CPBF-თან ერთად) რ-გენების ექსპრესიის ზრდაზე- დამოკიდებულ რეგულაციაში მონაწილეობენ. TIF-IC ფაქტორი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს რდნმ-ის ტრანსკრიპციის ინიციაციაში. ის უკავშირდება რნმ-პოლიმერაზას, თრგუნავს არასპეციფიკურ ინიციაციას, რითაც პოლიმერაზას და პრომოტორის სტაბილურ შეკავშირებასა და ფუნქციურად აქტიური პრეინიციაციური კომპლექსის წარმოქმნას უწყობს ხელს. ბოლო წლებში გამოკვლევებით დადგენილია მისი მონაწილეობა ელონგაციის პროცესშიც (Conaway,1990). გლუკოკორტიკოიდებით (ფაქტორის სპეციფიკური ინჰიბიტორი) მისი ინაქტივაციის შედეგად რ-გენების ტრანსკრიპციის დათრგუნვა ხდება.

TIF-IA (75კდ), რომელიც უჯრედებში ძალიან მცირე რაოდენობით (დაახლოებით 500 მოლეკულა უჯრედზე) არის წარმოდგენილი. ძუძუმწოვრებში რ-გენების ტრანსკრიპციის ზრდაზე-დამოკიდებული რეგულაციის პროცესს თან ახლავს ძირითადი ტრანსკრიპციის ფაქტორის TIF-IA რაოდენობის ან აქტიურობის ცვლილება. აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ პრეინიციაციის კომპლექსის ფორმირება ამ ფაქტორის გარეშეც არის შესაძლებელი, მაგრამ მხოლოდ მისი თანაობისას შეიძლება ახლადსინთეზირებად რრნმ-ის ჯაჭვში პირველი ფოსფოდიეთერული კავშირის წარმოქმნა (Schnapp,1993).

ლიტერატურაში აღწერილია Ets-ცილები, რომლებიც ტრანსკრიპციის აქტივატორებს წარმოადგენენ და ისეთ ბიოლოგიურ პროცესებში მონაწილეობენ, როგორებიცაა ზრდა, ტრანსფორმაცია, T-უჯრედული აქტივაცია, ორგანიზმის განვითარება, დიფერენცირება და ა.შ. (Wasylyk et al, 1993).

დღეისათვის იდენტიფიცირებულია რიბოსომული გენების ტრანსკრიპციის რეგულაციაში მონაწილე არაცილოვანი ბუნების მქონე ფაქტორებიც, როგორებიცაა: რაფამიცინი, NAD^+, ოლიგონუკლეოტიდები, აქტინომიცინი-D და ა.შ. (Mishima,1993, Elela,1994, Hadjiolova,1995). რაფამიცინი სპეციფიკურ ფაქტორზე ზემოქმედების გზით ახდენს რრნმ-ის გენების ტრანსკრიპციის მოდულირებას. NAD^+ პოლიმერაზა I-ის 130კდ წონის სუბერთეულის მონო-ადფ-რიბოზილირების გზით აძლიერებს საინიციაციო კომპლექსის ფორმირებას. აქტინომიცინ D-ს დაბალი კონცენტრაცია კი იწვევს დნმ-ის კონფორმაციულ ცვლილებებს პრომოტორულ უბნებში, რის შედეგადაც ხდება ტრანსკრიპციის სტიმულირება.

ღვიძლის უჯრედების სპეციფიკური გენებისათვის აუცილებელი რეგულატორული ბირთვული ფაქტორებია: HNF1, HNF4, HNF3. HNF1 - HTH თანმიმდევრობის შემცველი ცილების ოჯახის წევრია (Toniatti et al, 1993); HNF4 სტეროიდული ჰორმონის რეცეპტორების სუპეროჯახის წევრია, ხოლო HNF3 მიეკუთვნება ბირთვული ფაქტორების ოჯახს, რომელიც HNF3α, HNF3β, HNF3γ ცილებს შეიცავს. აღსანიშნავია, რომ ჰეპატოციტების სპეციფიკური გენების რეგულატორული უბნები HNF3 შემაკავშირებელ საიტებს შეიცავენ (Vallet et al,1995). თონიატის მიერ იდენტიფიცირებულია HNF1/LEB1 ტრანსკრიპციული ფაქტორი, რომელიც ღვიძლის რამდენიმე სპეციფიკური გენების ექსპრესიაში მონაწილეობს. ამ ფაქტორებს განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება ღვიძლის უჯრედების ნორმალურ ფუნქციონირებასა და მეტაბოლიზმში. დადგენილია, რომ HNF-1 და HNF-4 გენების მუტაცია ინსულინის სეკრეციის დარღვევას და მე-2 ტიპის დიაბეტის წარმოქმნას განაპირობებს.

ფაქტორების დიდ ჯგუფს გენების ექსპრესიაზე ურთიერთსაპირისპირო მოქმედება ახასიათებს. მაგალითად, ნაჩვენებია, რომ რიბოსომული გენების ექსპრესიაზე Drosophila kruppel-ის ცილოვანი ფაქტორის მასტიმულირებელი ან მაინჰიბირებელი ზემოქმედება აღნიშნული ფაქტორის კონცენტრაციაზე არის დამოკიდებული (Kuhn, et al, 1993).

კარგად არის შესწავლილი ძუძუმწოვრების ცინკის შემცველი ტრანსკრიპციული ფაქტორი - YY1 (ცნობილია აგრეთვე, როგორც NF-E1, UCRBP ან CF1). YY1 დადებით ან უარყოფით რეგულაციას ვირუსულ და უჯრედულ პრომოტორებში განთავსებულ სხვადასხვა ცის-აქტივაციურ ელემენტებთან ურთიერთქმედების გზით ანხორციელებს. YY1-თან დაკავშირებული ცილებია: Sp1 ტრანსკრიპციის ფაქტორი, c-myc ონკოპროტეინი, ბირთვაკული ფოსფოპროტეინი B-23 და ა.შ.. სწორედ ამ კავშირების წარმოქმნა უდევს საფუძვლად ამ ცილის მოქმედების მექანიზმს (Yang et al,1996).

ურთიერთსაპირისპიროდ მომქმედი ცილაა აგრეთვე ანტიონკოგენის პროდუქტი - p53. ის თავდაპირველად შესწავლილი იყო, როგორც ტრანსკრიპციის ტრანსაქტივატორი, ხოლო დღეისათვის გამოვლენილია მისი რეპრესიული თვისებები. კერძოდ კი, p53 ურთიერთქმედებს სხვა ფაქტორებთან, მაგალითად TAF-s-თან და ტრანსკრიპციის დათრგუნვას იწვევს (Farmer et al,1996; Liu et al,1993; Lu et al,1995).

ცინკის შემცველი უბნის მქონე ცილებს მიეკუთვნება Kr - ცილა, რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ემბრიონალური განვითარების გვიან სტადიებზე. საუერის მიერ ნაჩვენებია, რომ მონომერული Kr ურთიერთქმედებს TFIIB და ააქტიურებს ტრანსკრიპციას, ხოლო Kr-დიმერი უკავშირდება TFIIEβ, TFIIE სუბერთეულს და თრგუნავს რნმ-ს სინთეზის პროცესს (Sauer et al, 1995). CREB - ციკლური ამფ-ს საპასუხო ელემენტის შემაკავშირებელი ცილა სხვადასხვა ტრანსკრიპციულ აქტივატორებზე მოქმედების გზით ტრანსკრიპციაზე ურთიერთსაპირისპირო

ზეგავლენას (ნეგატიური ან პოზიტიური რეგულაცია) ახდენს (Krayewski et al, 1994).

ტრანსკრიპციის აქტივაცია და რეპრესია გენის ექსპრესიის რეგულაციის საფუძველს წარმოადგენს. გენების დიფერენციალური ექსპრესიისათვის განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ტრანსკრიპციის ფაქტორების რეგულაცია როგორც განვითარების დროს, აგრეთვე ტერმინალურად დიფერენცირებულ უჯრედებში. ტრანსკრიპციული ფაქტორები შეიძლება რეგულირდებოდეს ორ პრინციპულად განსხვავებულ დონეზე, როგორიცაა მათი კონცენტრაცია და აქტიურობა.

ფაქტორის, როგორც უჯრედშიდა ცილის კონცენტრაციის რეგულირება შესაძლებელია დნმ-დან ცილისაკენ მიმავალი გზის ნებისმიერ საფეხურზე (ტრანსკრიპციის, რნმ-ს პროცესინგის, მრნმ-ს დეგრადაციის და ტრანსლაციის ჩათვლით).

ტრანსკრიპციის ფაქტორის აქტიურობა რეგულირდება სხვადასხვა გარე- ან შიდაუჯრედული სიგნალების საპასუხოდ. უჯრედის ზედაპირული რეცეპტორებიდან მიღებული სიგნალი იწვევს ცილის ფოსფორილირებას. ასე მაგალითად, სპეციფიკური გარე სიგნალის საპასუხოდ კაზეინ-კინაზა II იწვევს პირველი კლასის გენების ბაზალურ ტრანსკრიპციულ ფაქტორის (UBF) C-ტერმინალური უბნის ფოსფორილირებას, შესაბამისად - ფაქტორის აქტივაციას და რრნმ-ის სინთეზის მოდულირებას (Voit, 1995).

ფოსფორილირებაააქტიურებს აგრეთვე C/EBPbeta ფაქტორს, რომელიც უჯრედების ზრდის და დიფერენცირების პროცესებში მონაწილე გენების ექსპრესიას ინდუცირებს (Kowenzleutz, 1994; Voit et al,1995).

ტრანსკრიპციული ფაქტორის გააქტივების სხვა ხერხია ლიგანდთან დაკავშირება, რაც დამახასიათებელია ჰორმონების ბირთვული რეცეპრორების დიდი ოჯახისათვის. სტეროიდული ჰორმონი შესაბამის რეცეპტორთან–ტრანსკრიპციულ ფაქტორთან ურთიერთქმედების გზით იწვევს მის ლიგანდ-დამოკიდებულ მოდულირებასა და გააქტიურებას. სხვადასხვა სტეროიდული ჰიორმონის რეცეპტორი მსგავსია თავისი აგებულებით და შედგება სამი

დომენისგან: COOH-ტერმინალური დომენი, რომელიც ჰორმონთან მიკავშირების უბანს შეიცავს (hormon binding site-HBS); NH2-ტერმინალური დომენი, რომელიც გენის ტრანსკრიპციის აქტივაციაში მონაწილეობს; და ცენტრალური დომენი, რომელიც დნმ-თან მიკავშირების უბანს შეიცავს (DNA binding site-DBS). ვარაუდობენ, რომ სტეროიდული ჰორმონის არააქტიური რეცეპტორი (8S-ფორმა) დნმ-თან მიკავშირების უბანში ინჰიბიტორ ცილას (hsp90 და p59) შეიცავს (Baulieu, 1990). სტეროიდული ჰორმონის COOH უბანთან მიერთების შემდეგ, რეცეპტორი განიცდის კონფორმაციულ ცვლილებებს, რაც ინჰიბიტორი ცილის დისოცირებას განაპირობებს (რეცეპტორის 4S ფორმა). ამის შემდეგ აქტივირებულ ჰორმონ-რეცეპტორულ კომპლექსს შეუძლია დნმ-ს აქცეპტორულ ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას დაუკავშირდეს. რეცეპტორები ახანგრძლივებენ ტრანსკრიპციას, რადგან ტარნსკრიპციული ფაქტორების სტაბილიზაციას იწვევენ (Brinkmann, A.O., 1994). სტეროიდული ჰორმონების რეცეპტორებისათვის დამახასიათებელია ჰიპერფოსფორილირება ლიგანდთან დაკავშირების შემდეგ. ითვლება, რომ სტეროიდული ჰორმონების რეცეპტორების სხვადასხვა უბნების ჰიპო- და ჰიპერფოსფორილირება შეიძლება განაპირობებდეს გენების ტრანსკრიპციის დიფერენციალურ რეგულაციას. ასეთი სახის მექანიზმები უჯრედში (სხვადასხვა სტიმულის საპასუხოდ) გენების ექსპრესიის რეგულაციის საფუძველს ქმნიან. მოცემულ გენზე მომქმედი სხვადასხვა სასიგნალო გზების ინტეგრაციულ ცენტრებს კი ტრანსკრიპციის ფაქტორები წარმოადგენენ. აღსანიშნავია, რომ ტრანსკრიპციული ფაქტორის ინაქტივირება (განსაკუთრებით მაშინ, თუ ის რამოდენიმე გენის ექსპრესიაზე მოქმედებს) ორგანიზმში სიცოცხლესთვის საშიშ ძვრებს და სპეციფიკური დაავადებების განვითარებას განაპირობებს. ინგლისელი მეცნიერების მიერ გამოყოფილია ტრანსკრიპციის ფაქტორების მაკოდირებელ გენებში წარმოქმნილი მუტაციებით გამოწვეული დაავადებების ოთხი ჯგუფი. ესენია: განვითარებისა და ჰორმონალური პასუხის დარღვევები,

ონკოგენებისა და ანტიონკოგენების მუტაციებით გამოწვეული სიმსივნეები (Latchman, 1996).

ამდენად, ტრანსკრიპციის რეგულაციის პროცესისა და მასში მონაწილე ფაქტორების შესწავლას როგორც ზოგადბიოლოგიური, ასევე სამედიცინო თვალსაზრისით დიდი მნიშვნელობა აქვს.

.1.4. გენების ექსპრესიის რეგულაციის თავისებურებები პროლიფერირებადი ქსოვილების უჯრედებში

რეგენერაცია, როგორც ბიოლოგიური მოვლენა, დიდი ხანია ინტენსიური შესწავლის საგანს წარმოადგენს და დღესაც ექსპერიმენტული ბიოლოგიისა და მედიცინის ერთ-ერთ აქტუალურ პრობლემად რჩება. ძუძუმწოვრების ორგანიზმში არჩევენ რეგენარაციის ორ სახეს: ფიზიოლოგიურსა და რეპარაციულს. ზრდასრულ ორგანიზმში მიმდინარე ფიზიოლოგიური რეგენერაცია ქსოვილების განახლების საფუძველს წარმოადგენს (Лиознер Л., 1975; Полежаев Л., 1976). დაზიანების შემთხვევაში კი ის არასაკმარისი ხდება და ამ დროს თავს იჩენს რეპარაციული ზრდა, რომელიც ორგანოს ნაწილობრივ ან სრულ აღდგენას უზრუნველყოფს. დაზიანებული ორგანოს აღდგენა მთელი რიგი ფუნდამენტური პროცესების საშუალებით ხდება (პროლიფერაცია, ჰიპერტროფია, პოლიპლოიდიზაცია), რომელთა წვლილი სხვადასხვა ორგანოს რეგენერაციაში განსხვავებულია (Саламатина Н., 1975; Карлсон Б., 1986). დღეისათვის საბოლოოდ ჩამოყალიბდა აზრი, რომ რეგენერაციის უნარი ძუძუმწოვრებისა და ადამიანის ყველა ორგანოს გააჩნია (Бродский В., 1981; Diaz-Cil., 1986; Алексеенко А., 1993). განსაკუთრებით დიდი რეგენერაციული უნარით კი ღვიძლის ქსოვილი ხასიათდება (Романова Л., 1984). ღვიძლის რეგენერაციის პროცესს ადგილი აქვს ვირუსული ჰეპატიტის, ტოქსიური რეაქციის, იშემიის, ქირურგიული ჩარევის ან ტრანსპლანტაციის შემდეგ.

. აღდგენითი პროცესების ზოგადი კანონზომიერებების დასადგენად ყველაზე ფართოდ მღრღნელების რეგენერირებადი ღვიძლის ქსოვილი შეისწავლება (Платонов О., 1980; Осипова Л., 1987; Можухина Г., 1994; Flodby P., 1993). აღნიშნული პროცესები აქ, სხვა ორგანოებთან შედარებით გაცილებით სწრაფად მიმდინარეობს: ორგანოს ნაწილობრივი რეზექციიდან დაახლოებით 10 დღის შემდეგ დაკარგული ქსოვილის მასა აღდგება. ღვიძლის ქსოვილის მასის აღდგენა მისი შემადგენელი ყველა ტიპის უჯრედის პროლიფერაციის შედეგად ხდება. ესენია: ჰეპატოციტები, ბილიალური ეპითელური უჯრედები, ენდოთელური უჯრედები, კუპერისა და იტოს უჯრედები. პირველად პროლიფერაციას ჰეპატოციტები იწყებენ. ორგანოს ნაწილობრივი რეზექციის შემდეგ ღვიძლის დარჩენილ ქსოვილში მკვეთრად იზრდება პროლიფერირებადი ჰეპატოციტების რიცხვი (Романова Л., 1984). ჰეპატოციტების პროლიფერაცია იწყება პორტალური ტრიადების ირგვლივ განლაგებულ წილებში და 36-48 სთ-ის შემდეგ პერიცენტრულ არეში ვრცელდება. დნმ-ს სინთეზის პირველი პიკი ჰეპატექტომიიდან 24 სთ-ს შემდეგ ვლინდება, ხოლო მეორე, უფრო მცირე პიკი – 36 და 48 სთ-ს შორის. დნმ-ს სინთეზის გაძლიერებასა და საკუთრივ მიტოზს წინ უძღვის ე. წ. ლატენტური პერიოდი, რომელიც 18 სთ-მდე გრძელდება; ის G_1 ფაზასა და S ფაზის საწყის ეტაპს მოიცავს. ლატენტურ პერიოდში რნმ-ს სინთეზის გაძლიერება (Burcher N., 1991), თავისუფალი ამინომჟავების რაოდენობის მომატება და გლიკოგენის რაოდენობის შემცირება აღინიშნება (Кудрявцева М., 1990).

რნმ-ს სინთეზის თავისებურებები ვირთაგვას ჰეპატოციტების ბირთვებში არაერთი მკვლევარის მიერ არის შესწავლილი (Платонов О., 1980; Tsanev R., 1983; Beyer S., 1989; Алексеенко А., 1993). გავრცელებურია აზრი, რომ რნმ-ს სინთეზის პოსტრეზექციული აქტივაცია მე-6 და მე-18-20 სთ-ზე S ფაზისა და საკუთრივ მიტოზისათვის აუცილებელი ცილების სინთეზისთვის არის განკუთვნილი. ლატენტურ პერიოდში გენების ექსპრესიის სწრაფი რეპროგრამირება ხდება. მოვლენების განვითარება ჰეპატექტომიის პირველივე

წუთებიდან არის შესწავლილი. ოპერაციიდან რამოდენიმე წუთში აქტიურდება ბირთვული ფაქტორი KAPPA B (P50-P53 კომპლექსი); ტრანსკრიპციის ფაქტორის STAT 3-ის აქტივაცია იწყება 30 წთ-ს განმავლობაში, პიკს აღწევს მე-3· საათზე და მე-5 საათამდე გრძელდება (Cressman D., 1995); 100-ჯერ იზრდება IGFBP 1 პლაზმური ცილის კონცენტრაცია, რომელიც IGF I-სა და IGF II-ს უკავშირდება. აქტივირებული KAPPA B და STAT 3 გადაადგილდება ბირთვში. ამ ფაქტორების მიმართ მგრძნობიარე უბნებს შეიცავს არაერთი „Immediate early" გენის პრომოტორული უბანი. გენების ამ ჯგუფის ინდუქცია ჰეპატექტომიიდან 30 წთ-ს შემდეგ ხდება. მათ მიეკუთვნება fos და jun პროტოონკოგენები, რომლებიც ტრანსკრიპციულ ფაქტორებს აკოდირებენ. ახლადსინთეზირებული c-fos და c-jun-ის ხარჯზე სწრაფად იზრდება AP1-ის (fos/jun პროტოონკოგენების პროდუქტების კომპლექსი) აქტიურობა (Beauchamp R., 1994). AP1-ის სხვადასხვა ფორმები უჯრედში რამოდენიმე საათის განმავლობაში რჩება. „Immediate early" გენები ინდუცირებს მომდევნო - „delayed early" გენების პასუხს. ამ ჯგუფს მიეკუთვნება P53, c-ras, r-გენები და სხვა (Groeninkg G.,1999). ამრიგად, KAPPA B, STAT 3-სა და AP1-ის აქტივაცია ინტრაცელულარული სასიგნალო გზის ძირითადი ნაწილია.

რეგენერაციის ძირითად ტრიგერს წარმოადგენს ჰეპატოციტების ზრდის ფაქტორი (HGF-scatter factor). ჰეპატექტომიიდან 1 საათის შემდეგ მისი კონცენტრაცია სისხლში 20-ჯერ იზრდება, რაც განპირობებულია შემდეგი მექანიზმით: ჰეპატექტომიიდან 5 წთ-ის შემდეგ იზრდება უროკინაზას აქტიურობა; უროკინაზა ახდენს პროტეოლიზური ფერმენტების აქტივაციას, რომელთაც პლაზმინოგენი პლაზმინში გადაჰყავს; ეს უკანასკნელი ააქტიურებს მატრიქსის დეგრადატორს – მეტალოპროტეინაზას. ჰეპატოციტების ბიომატრიქსი (ძირითადად პორტალური ტრიადის ირგვლივ არსებული ჰეპატოციტები) დიდი რაოდენობით შეიცავს HGF-ს; მატრიქსის დაშლის შედეგად გამოთავისუფლებული HGF სისხლის პლაზმაში გადადის. გარდა ამისა, უროკინაზას აღნიშნული ფაქტორის ერთჯაჭვიანი არააქტიური ფორმა აქტიურ, ორჯაჭვიან ფორმაში გადაჰყავს. HGF ინდუცირებს ზოგიერთი

"Immediate early" გენის ექსპრესიას და წარმოადგენს სტიმულს გენთა ექსპრესიის ცვლილებისათვის (Weiz E., 1994).

ჰეპატოციტების მიტოგენური ფაქტორია აგრეთვე ეპიდერმისის ზრდის ფაქტორი (EGF). მისი მიტოგენური როლი ადრეულ ვადებზე ვლინდება, მაშინ, როცა TGF- ალფა უფრო მოგვიანებით მოქმედებს: TGF- ალფას მ-რნმ ინდუცირდება ჰეპატექტომიიდან 2-3 სთ-ს შემდეგ ხდება და პიკს 12-24 საათებს შორის აღწევს. ჰეპატოციტების მიერ პროდუცირებული TGF- ალფა მოქმედებს აუტოკრინული მექანიზმით. გარდა ამისა, ის ღვიძლის ენდოთელური უჯრედების პროლიფერაციას ასტიმულირებს. ენდოთელური უჯრედების პროლიფერაციაზე პარაკრინული მექანიზმით მოქმედებს აგრეთვე რეგენერირებადი ჰეპატოციტების მიერ პროდუცირებული ზრდის ფაქტორები: ფიბრობლასტერის ზრდის ფაქტორი (FGF) და სისხლძარღვების ენდოთელური ზრდის ფაქტორი (VEGF) (Michalopoulos G. et al, 1997). ინტერლეიკინ-6 ბილიალური უჯრედების მიტოგენია; ნორეპინეფრინი აძლიერებს ზემოთხსენებული HGF და EGF-ის მიტოგენურ აქტიურობას. ინსულინი, ისევე როგორც ნორეპინეფრინი, თავისთავად მიტოგენს არ წარმოადგენს, თუმცა აუცილებელია რეგენერაციის პროცესისათვის. ამრიგად, ზემოთხსენებული ზრდის ფაქტორები ემსახურება უჯრედების გადასვლას G_0-დან G_1 ფაზაში.

არანაკლებ საინტერესოა საკითხი, თუ რა აჩერებს აღდგენით ზრდას. ეჭვს აღარ იწვევს, რომ ღვიძლის რეგენერაციის შეწყვეტაში მონაწილეობს TGF-Beta1, რომელიც სინთეზირდება იტოს უჯრედების მიერ (Michalopoulos G. et al, 1997). თუმცა უნდა არსებობდეს ამ პროცესში ჩართული სხვა ფაქტორებიც, რომლებიც დღეისათვის გამოვლენილი არ არის.

რეგენერაციის პროცესის შესწავლამ კიდევ ერთხელ ცხადჰყო პროტოონკოგენების მნიშვნელოვანი როლი უჯრედების ზრდის, პროლიფერაციისა და დიფერენცირების პროცესში (Moroianu J., 1994; Rana B., 1995).

პროტოონკოგენების მრავალრიცხოვნების მიუხედავად, მათ მიერ კოდირებული ცილები მოქმედების მექანიზმის მიხედვით 5 ძირითად ჯგუფად

შეიძლება დაიყოს: პროტეინკინაზები, GTF-თან დაკავშირებული ცილები, ზრდის ფაქტორები, რეცეპტორები, ბირთვული ცილები, (Watson, 1988).

პროტეინკინაზები ფერმენტების მრავალრიცხოვანი ჯგუფია, რომლებიც თრეონინისა და სერინის ფოსფორილირებას განაპირობებენ. მათგან განსხვავებით, პროტოონკოგენების მიერ კოდირებული პროტეინკინაზები თიროზინის ფოსფორილირებას ახდენენ. დღეისათვის შესწავლილი src, yes, fgr, abl, fps, erbB, fms, ros სწორედ თიროზინ-სპეციფიკური პროტეინკინაზებია. (გამონაკლისს წარმოადგენენ mos და raf ანუ mil პროტეინკინაზები, რომლებიც სერინის და თრეონინის ფოსფორილირებას ახდენენ) (Ransone L.G. et al. 1990).

ნორმალურ პირობებში ფოსფორილირებული თიროზინის რაოდენობა ძალიან მცირეა (0,02%), ტრანსფორმირებულ უჯრედებში კი – 10-ჯერ და მეტად მატულობს (Watson J., 1988). პროტეინკინაზური აქტიურობის მქონე პროტოონკოგენებიდან ყველაზე კარგად შესწავლილია c-src (RSV-რაუსის სარკომის ვირუსიდან გამოყოფილი გენი). src-გენის მიერ კოდირებული ცილის მოლეკულური წონა 60 კილოდალტონია (აღინიშნება როგორც $pp60^{src}$). როგორც ვირუსული ($pp60^{v\text{-}src}$), ასევე უჯრედული ($pp60^{c\text{-}src}$) ცილა პლაზმური მემბრანის შიგნითა ზედაპირზე არის ლოკალიზებული. ეს ცილები ერთმანეთისაგან რამდენიმე ამინომჟავით განსხვავდება (C-ბოლოზე). RSV-ტრანსფორმირებულ უჯრედებში მნიშვნელოვნად მატულობს პოლიფოსფოინოზიტების ფოსფორილირების ხარისხი. ფოსფატიდილინოზიტოლ 4,5-ბიფოსფატის დაშლისას გამოთავისუფლდება უჯრედული მესენჯერები - დიაცილგლიცეროლი და ინოზიტოლტრიფოსფატი. დიაცილგლიცეროლი პროტეინკინაზა C-ს აქტივაციას იწვევს (Levine X.J. et al. 1993), ხოლო ინოზიტოლტრიფოსფატი უჯრედში მეორადი მესენჯერის - Ca^{2+}-ის იონების რაოდენობის ზრდას განაპირობებს. პოლიფოსფოინოზიტების სინთეზი და დეგრადაცია უჯრედების პროლიფერაციულ აქტიურობასთან კორელირებს (Sheller F. et al. 1987).

GTF-აზური აქტიურობის მქონე ცილები. მათი მაკოდირებელი პროტოონკოგენებიდან ყველაზე კარგად ras-ჯგუფის პროტოონკოგენებია შესწავლილი. ეს ჯგუფი სამი პროტოონკოგენისაგან შედგება. ესენია: H-ras (ჰარვეის სარკომის ვირუსი), K-ras (მისი ვირუსული ანალოგი ნაჩვენებია კირსტენის სარკომის ვირუსში) და W-ras (მისი ანალოგი ვირუსებში ჯერ-ჯერობით ნაჩვენები არ არის). სამივე პროტოონკოგენი მსგავს ცილას აკოდირებს, რომლებიც ერთმანეთისადმი ჰომოლოგიის მაღალ ხარისხს ავლენენ. მათი მოლეკულური მასა 21 კილოდალტონია, რის გამოც ამ ცილებს $p21^{ras}$ უწოდებენ (Morishita T., 1995).

p21 ცილებს მაღალი გტფ-აზური აქტიურობა ახასიათებთ, ამიტომ ინტენსიურად შეისწავლება მათი კავშირი მემბრანულ ცილებთან, პირველ რიგში კი G-ცილასთან.

G-ცილასთან სასიგნალო მოლეკულების დაკავშირება მის აქტივაციას და მეორადი მესენჯერების წარმოქმნას იწვევს (ზოგიერთი ავტორის მიხედვით G-ცილის აქტივაცია შეიძლება დაკავშირებული იყოს მხოლოდ βγ სუბერთეულის აქტივაციასთან). მეორადი მესენჯერი შეიძლება იყოს როგორც cAMP, ასევე cGMP. მეორადი მესენჯერები ააქტიურებენ ras-ცილებს (შესაძლებელია პროტეინკინაზა c-ს საშუალებით), ras-ცილა კი იწვევს მიტოგენაქტივირებული ცილების (MAP) პროტეინკინაზას აქტივაციას; გააქტიურებული MAP-კინაზები აღწევენ ბირთვში, სადაც ისინი იწვევენ ტრანსკრიპციული ფაქტორების აქტივაციას მათი ფოსფორილირების საშუალებით (Bauman, JW; et al. 1995, Kelly L.A. et al. 1998). ამრიგად, გზა სასიგნალო მოლეკულებიდან სამიზნე გენების ექსპრესიამდე სქემატურად ასე შეიძლება გამოისახოს:

G-ცილა (ან βγ სუბერთეული)→cAMP (ან cGMP)→ ras ცილა → ras-დამოკიდებული MAP-კინაზები → ტრანსკრიპციული ფაქტორები.

შემოთავაზებულ მოდელს მრავალი ავტორი იზიარებს (DeFranco, AL; et al. 1994, Hou, XS; et al. 1995, Karnitz, LM; et al. 1995).

ბირთვული ცილები. ამ ჯგუფის პროტოონკოგენებიდან შედარებით კარგად c-myc, c-fos და c-jun არის შესწავლილი (Singh, IS; et al. 1994, Hallahan, DE; et al. 1995).

c-myc გენი უჯრედების გამრავლებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს და შესაბამისად ნორმალურ უჯრედებში მუდმივად ექსპრესირდება. იმ უჯრედებში, რომლებიც წყვეტენ დაყოფას, c-myc გენის ექსპრესია მკვეთრად კლებულობს. მიტოგენით (მაგ. PDGF-თრომბოციტული ზრდის ფაქტორი) ზემოქმედებისას myc -გენის ი-რნმ (სტიმულატორის მოქმედებიდან) 1-2 საათში კვლავ ჩნდება. c-myc პრომოტორი მგრძნობიარეა NFkB ზრდის ფაქტორისადმი; მისი აქტივაცია მრავალ მიტოგენს (PDGF, დიაცილგლიცეროლს, ლექტინებს, ინტერლეიკინებს და სხვ.) შეუძლია (McCormick, F. 1995). თითქმის ყველა პროტოონკოგენის აქტივატორებს MAP-კინაზები და პროტეინკინაზა - C წარმოადგენენ. myc -გენის პროდუქტი ძალზე არამდგრადია და მისი ნახევარ-სიცოცხლის ხანგრძლივობა დაახლოებით 20 წუთს უდრის.

ასევე არასტაბილურია fos პროტოონკოგენის პროდუქტი (მოლ. მასა 55 კდ).' მიტოგენებით სტიმულაციის დროს მისი გააქტიურება myc გენთან შედარებით კიდევ უფრო სწრაფად ხდება. c-fos გენის პრომოტორი განსაკუთრებით ძლიერად რეაგირებს იმ აგენტების ზემოქმედებაზე, რომლებიც პროტეინკინაზა-C-ს ან ადენილატციკლაზას აქტივაციას იწვევენ (Sanchez, A; et al. 1995). fos გენის პრომოტორში არის cAMP-თან დაკავშირების ორი უბანი, EGF, FGF, NGF, src და ras- დაკავშირების უბნები (Ransone L.G. et al. 1990).

c-fos გენის პროდუქტი დნმ-ს რაიმე სპეციფიკურ უბანს არ უკავშირდება, მაგრამ იგი c-jun პროტოონკოგენის პროდუქტთან ერთად აქტივატორულ ცილა 1-ს (AP-1) ქმნის, რომელიც თავის მხრივ სპეციფიკურად უკავშირდება დნმ-ს. c-jun უკავშირდება დნმ-ს იმავე თანმიმდევრობას, რომელსაც AP-1. T და B უჯრედებში გვხვდება ski და sho პროტოონკოგენები, რომლებიც ასევე ტრანსკრიპციულ ფაქტორებს ასინთეზირებენ (Pearson White, S; et al. 1995).

ზრდის ფაქტორები. თრომბოციტების ზრდის ფაქტორი (PDGF) შედგება ორი (A და B) ჯაჭვისაგან, რომლებიც ამინომჟავური თანმიმდევრობის მიხედვით საკმაოდ მსგავსია. ნაჩვენები იქნა, რომ sis- გენის მიერ კოდირებული ცილა PDGF- ზრდის ფაქტორის B ჯაჭვის იდენტურია (Sheller F. et al.), sis -გენი მხოლოდ იმ უჯრედების ტრანსფორმაციას იწვევს, რომლებიც PDGF-ის რეცეპტორებს შეიცავენ (Watson 1988).

რეცეპტორები. ეპიდერმისის ზრდის ფაქტორის (EGF) რეცეპტორის ამინომჟავური თანმიმდევრობის შესწავლით დადგინდა, რომ იგი erb პროტოონკოგენის პროდუქტს წარმოადგენს. erbB-ით კოდირებულ რეცეპტორს სამი ფუნქციური დომენი აქვს: უჯრედის გარეთ გამომავალი ნაწილი, რომელიც EGF-ს იკავშირებს, მცირე ზომის ტრანსმემბრანული უბანი და ციტოპლაზმური უბანი, რომელსაც პროტეინკინაზური აქტიურობა გააჩნია (Greenbaum, LE; et al. 1995). კინაზის გააქტიურება ხდება რეცეპტორი- EGF კომპლექსის წარმოქმნის დროს.

ჰეპატოციტების ზრდის ფაქტორის (HGF) რეცეპტორი C-MET პროტოონკოგენის პროდუქტია და თიროზინკინაზის შემცველ ტრანსმემბრანულ ცილას წარმოადგენს (Marie C., 1992; Pisters L., 1997).

ამრიგად, პროტოონკოგენები უჯრედის სასიგნალო გზების სხვადასხვა კომპონენტების კოდირებას ახდენენ. ამ გზის ნებისმიერ საფეხურზე გენის დაზიანებამ შეიძლება ხელსაყრელი პირობები შექმნას სიმსივნის განვითარებისათვის.

უკანასკნელი 20 წლის განმავლობაში ჩატარებული გამოკვლევებით ნათელი გახდა, რომ სიმსივნე გენეტიკური დაავადებაა და გამოწვეულია რიგი გენების დაზიანებით. მათ მიეკუთვნება ონკოგენები და სიმსივნის სუპრესორული გენები. ონკოგენის აქტივაცია და სუპრესორული გენის დაზიანება სტიმულს აძლევს კიბოს განვითარებას (Zhang W., 1995; Георгиев Г., 1998).

ონკოგენები პროტოონკოგენების მუტანტურ ფორმებს წარმოადგენენ. პროტოონკოგენის ონკოგენად გარდაქმნა შეიძლება გამოწვეული იყოს

რამოდენიმე მიზეზით, როგორიცაა წერტილოვანი მუტაცია, ქრომოსომების რეორგანიზაცია, გენის ამპლიფიკაცია, ვირუსის ინსერცია. პროტოონკოგენის ონკოგენად ტრანსფორმაციას შეიძლება შედეგად მოჰყვეს შემდეგი: ზრდის ფაქტორების ჭარბი წარმოქმნა; უჯრედზე ჭარბი რეპლიკაციური სიგნალების მოქმედება; ტრანსკრიპციული ფაქტორების დონის ზრდა, რაც საბოლოო ჯამში უჯრედის არაკონტროლირებადი გამრავლებით ბოლოვდება. მაგალითად, c-erb B_2 გენის ამპლიფიკაცია და გაძლიერებული ექსპრესია მკერდის კიბოს შემთხვევების 20-30%-ში აღინიშნება (Muthuswamy Sk., 1994). ადამიანის ERG- პროტოონკოგენის (ტრანსკრიპციის ფაქტორების ETS ოჯახის წევრი) ჭარბი ან შეუსაბამო ექსპრესია აგრეთვე ხელს უწყობს ონკოგენეზს. ERG გენის ტრანსლოკაციის შედეგად მიიღება ქიმერული ტრანსკრიპტი რაც შეინიშნება Ewing-is სარკომების 10%-ში. იგივე გენის რეციპროკული ტრანსლოკაცია დასაბამს აძლევს ორ აბერანტულ ტრანსკრიპტს, რაც მწვავე მიელოიდური ლეიკემიის დროს აღინიშნება (Hart A., 1995).

სიმსივნის პროგრესული ზრდა, როგორც ავღნიშნეთ, ხშირად სისხლში ან სიმსივნეში ზრდის ფაქტორების ან მათი მსგავსი ცილების მაღალი შემცველობის პარალელურად მიმდინარეობს. მაგალითად, ავტორების მიერ ნაჩვენებია რომ ადამიანის ჰემანგიოსარკომა გამოიმუშავებს IGF-1-თან ჯვარედინი რეაქციის მქონე ნივთიერებას, ხოლო ადამიანის მელანომა – EGF-ის მსგავს ნივთიერებას (Cabrijan T. et al, 1988). ეს ფაქტორები გარკვეულ როლს ასრულებენ სიმსივნური ზრდის აუტოკრინულ რეგულაციაში. სწორი ნაწლავის კარცინომის დროს ერთ ერთი აუტოკრინული ფაქტორია IGF-2. ჰეპატოციტების მიერ პროდუცირებული IGF-2 კი პარაკრინული მექანიზმით ასტიმულირებს სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაციას და მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სწორი ნაწლავის კარცინომის დროს ღვიძლის მეტასტაზების განვითარებაში (Kazuyuki K., 1985).

ონკოგენები ავლენენ დომინანტურ ფენოტიპს: აქტიური ონკოგენის ერთი ასლი საკმარისია ონკოგენური ეფექტის გამოსაწვევად. ონკოგენი შეიძლება გადაეცეს თაობიდან თაობას, თუკი პროტოონკოგენმა მუტაცია

განიცადა ჩანასახოვან ხაზში. აქედან გამომდინარე არსებობს დომინანტური მემკვიდრული სიმსივნური წინასწარგანწყობა. განვიხილოთ ონკოგენების რამოდენიმე მაგალითი:

erb-B - ეპიდერმისის ზრდის ფაქტორის რეცეპტორის მაკოდირებელი გენი; მონაწილეობს გლიობლასტომის, მკერდისა და ტვინის სიმსივნეების განვითარებაში.

Ki-ras - აკოდირებს სიგნალების გადამცემ ცილებს; მონაწილეობს ფილტვის, საკვერცხის, პანკრიასის სიმსივნეების განვითარებაში.

N-ras - მონაწილეობს ლეიკემიის განვითარებაში.

c-Myc, N-myc, L-myc - აკოდირებენ ტრანსკრიპციულ ფაქტორებს, რომლებიც აქტიურებენ ზრდის მასტიმულირებელ გენებს. ისინი მონაწილეობენ მკერდის, კუჭის, ფილტვის სიმსივნეების, ლეიკემიის, ნეირობლასტომის განვითარებაში.

Bcl-1 - აკოდირებს ციკლინ D1-ს, უჯრედული ციკლის კომპონენტს; მონაწილეობს მკერდის, თავისა და კისრის სიმსივნეების განვითარებაში (Wiethege T., 1994; Nakamura S., 1997; Ming L., 1999).

ონკოგენების მსგავსად, სუპრესორული გენების პროდუქტები ფუნქციონირებენ უჯრედის ყველა ნაწილში: უჯრედის ზედაპირზე, მის ციტოპლაზმასა და ბირთვში. ეს გენები დაკავშირებულია უჯრედის დაყოფის დათრგუნვასთან. სიმსივნის ჩამოყალიბებისთვის საჭიროა, რომ მუტაცია განიცადოს სუპრესორული გენის ორივე ალელმა. სუპრესორული გენები კოდირებენ:

1) ციტოპლაზმურ ცილებს, მაგ: NF-1 კოდირებს ras- ცილის ინჰიბიტორს, მონაწილეობს ნეიროფიბრომის, ლეიკემიის განვითარებაში;

2) ბირთვულ ცილებს, მაგ: P16 და PRB ცილებს, რომლებიც წყვეტენ უჯრედულ ციკლს; p53 ცილას, რომელიც თრგუნავს უჯრედის დაყოფას და ინდუცირებს აპოპტოზს. სიმსივნეების 50% დაკავშირებულია ამ გენის ინაქტივაციასთან.

3) ცილებს, რომელთა ლოკალიზაცია ცნობილი არ არის, მაგ: BRCA- მოქმედებს, როგორც უჯრედის გაყოფის ექსტრაცელულარული ინჰიბიტორი; მონაწილეობს მკერდისა და საკვერცხის კიბოს განვითარებაში; VHL- მონაწილეობს თირკმლის კიბოს განვითარებაში (Георгиев Г., 1998).

დღეისათვის გამოვლენილია 100-ზე მეტი სხვადასხვა გენი და ცილა, რომლებიც ნორმალური უჯრედის სიმსივნურ უჯრედად გარდაქმნაში მონაწილეობს. მათი შესწავლა საფუძველს ქმნის სიმსივნესთან ბრძოლის მოლეკულურ-გენეტიკური მეთოდების შემუშავებისათვის. ამდენად, აღნიშნული გენები პერსპექტიულია თერაპიული თვალსაზრისით.

თავი 2. მასალა და მეთოდები

2.1. კვლევის ობიექტები და მოდელები

ექსპერიმენტებში გამოყენებული იყო: ზრდასრული (100-120გ) და ერთთვიანი (20-25გრ) თეთრი არახაზოვანი ვირთაგვები. საკვლევ მასალად აღებული იყო ღვიძლის, თირკმლისა და თავის ტვინის ქსოვილები. გამოკვლევებს ვატარებდით შემდეგი ექსპერიმენტული მოდელების გამოყენებით: 1) ნაწილობრივი ჰეპატექტომია; 2) ცალმხრივი ნეფრექტომია; 3) ორმხრივი ადრენალექტომია. ყველა ჩამოთვლილი მოდელისათვის ოპერაციები ტარდებოდა ერთსა და იმავე დროს — დილის 10 სთ-ზე.

კვლევის პროცესში გამოყენებული იყო აგრეთვე ადამიანის თირკმლისა და თავის ტვინის ქსოვილები, რომლებიც მოწოდებული იყო ა.წულუკიძის სახ. უროლოგიისა და ნეფროლოგიის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტისა და პ.სარაჯიშვილის სახ. ნევროლოგიის ინსტიტუტის მიერ.

მიღებული მონაცემები დამუშავებული იყო სტანდარტული ვარიაციული სტატისტიკის მეთოდით. მონაცემების სარწმუნოების დასადგენად გამოყენებული იყო სტიუდენტის კრიტერიუმი. მონაცემების სარწმუნოება 95-99%-ს შეადგენს.

2.2. ბირთვების გამოყოფა და გასუფთავება

თეთრი ვირთაგვას სხვადასხვა ქსოვილებიდან (ღვიძლის, თირკმლის, თავის ტვინის) ბირთვების იზოლირებას ვახდენდით გეორგიევის და სხვათა მიერ (Георгиев Г.П., и др. 1960) მოდიფიცირებული შოვოს მეთოდით (Chauveau J., et al. 1956). ყველა პროცესი ტარდებოდა 4^0C-ზე. ქსოვილებს ვრეცხავდით TMS-ის ხსნარში (0,01 M ტრის-HCL, pH-8,3. 0,25M საქაროზა. 4mM $MgCL_2$), ვაქუცმაცებდით და ვახდენდით ჰომოგენიზაციას ტეფლონ-შუშის ჰომოგენიზატორში ფოსფატურ ბუფერზე (pH-7,4) დამზადებულ 2,2 M საქაროზას ხსნარში. ჰომოგენატს ვფილტრავდით და ვაცენტრიფუგირებდით 20 000g-ზე 45 წუთის განმავლობაში. ბირთვების

ნალექს ვასუსპენზირებდით 2,2 M საქაროზის ხსნარში ხელის ჰომოგენიზატორის მეშვეობით და კვლავ ვაცენტრიფუგირებდით 20 000 g-ზე 30 წუთის განმავლობაში. სუფთა ბირთვების ნალექს ვასუსპენზირებდით 3 მლ TMS-ის ხსნარში და ვაცენტრიფუგირებდით 600g-ზე 10 წუთი. ამ პროცედურას ვიმეორებდით კიდევ ერთხელ. ბირთვული ფრაქციის სისუფთავეს ვამოწმებდით სინათლის მიკროსკოპის საშუალებით. ამავე მეთოდს ვიყენებდით ადამიანის სხვადასხვა ქსოვილიდან ბირთვების გამოსაყოფად.

ზოგიერთ ცდაში იზოლირებულ ბირთვებს მემბრანის მოხსნის მიზნით ვამუშავებდით დეტერგენტ ტრიტონ X-100-ით, რისთვისაც ვიყენებდით ბარტონის და სხვათა მეთოდს (Barton et al.,1971).

2.3. ბირთვაკების გამოყოფა და გასუფთავება

ბირთვაკების იზოლირებას ვაწარმოებდით ბუშის და სმეტანას მეთოდის მიხედვით (Bush H., Smetana K. 1970). ცხოველების დეკაპიტაციის შემდეგ ღვიძლის ქსოვილის პერფუზიას ვაწარმოებდით 0,14 M NaCL-ის ცივი ხსნარით. პერფუზირებულ ღვიძლს ვაქუცმაცებდით და ვაჰომოგენიზირებდით 2,2 M საქაროზას ხსნარში, რომელიც შეიცავდა 0,0005 M $MgCL_2$. მიღებულ ჰომოგენატს ვაცენტრიფუგირებდით 18000g-ზე 40 წთ. სუპერნატანტს ვღვრიდით, ნალექს კი ვრეცხავდით 1 M საქაროზას ხსნარში (5გ ქსოვილზე 20მლ საქაროზა), რომელიც შეიცავდა 0,0005 M $CaCL_2$-ს. ბირთვების სუსპენზიას ვაცენტრიფუგირებდით (1100g-ზე 5 წთ). იგივე პრცედურას კიდევ ერთხელ ვიმეორებდით. მიღებულ ნალექს ვასუსპენზირებდით 0,8 M საქაროზას ხსნარში და ვამუშავებდით ულტრაბგერით (20 KNZ) 2 წთ-ის განმავლობაში, რისთვისაც ვიყენებდით ულტრაბგერით დეზინტეგრატორს YD-20 ("Techpon" პოლონეთი). სონიფიკატს ვფილტრავდით, ფილტრატს ვაშრევებდით 0,88 M საქაროზას ხსნარზე 1:1 შეფარდებით და ვაცენტრიფუგირებდით 1100g-ზე 20 წთ. ბირთვაკების ნალექს

ვასუსპენზირებდით TMS-ში. ბირთვაკული ნალექის სისუფთავეს ვამოწმებდით ელექტრონული მიკროსკოპის გამოყენებით.

2.4. იზოლირებული ბირთვების და ბირთვაკების ქიმიური ანალიზი

ბირთვებსა და ბირთვაკებში დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავის რაოდენობას ვსაზღვრავდით სადოვსკის, სტერნის (Sadovsky P.P., Stern J.W. 1968) და ბარტონის (Burton K. 1968) მეთოდის მიხედვით. ბირთვების ან ბირთვაკების სუსპენზიის 0,2 მლ ვუმატებდით 1მლ 1N KOH-ს და ვაყოვნებდით 2სთ-ის განმავლობაში 37^0 C-ზე. შემდეგ ვუმატებდით 0,7 მლ 8,4 N $HCLO_4$ ხსნარს და ვურევდით წკირით. მიღებულ სუსპენზიას ვაცენტრიფუგირებდით 600g-ზე 10 წთ-ის განმავლობაში. ნალექს ვასუსპენზირებდით 3მლ სპირტ-ქლოროფორმის (3:1) ნარევში, ვაყოვნებდით ოთახის ტემპერატურაზე 15-20 წთ და შემდეგ ვაცენტრიფუგირებდით 600g-ზე 10 წთ-ის განმავლობაში, მიღებულ ნალექს ვრეცხავდით 2მლ ეთერში და ვაცენტრიფუგირებდით 600g-ზე 10 წთ. სუპერნატანტს ვღვრიდით და ნალექს ეთერის მოცილების მიზნით ვაყოვნებდით თერმოსტატში 60^0 C-ზე (ეთერის სრულ აორთქლებამდე). გამშრალ ნალექს ვამატებდით 3მლ 0,5N $HCLO_4$-ს და წვეთშემაკავებლით დახურულ სინჯებს ვდგამდით წყლის აბაზანაში 80^0 C-ზე 30 წთ, რის შემდეგ სინჯებს ვაცივებდით და ვაცენტრიფუგირებდით 600g-ზე 10 წთ-ის განმავლობაში. სუპერნატანტში სპექტროფოტომეტრულად ვსაზღვრავდით თავისუფალი ნუკლეოტიდების რაოდენობას E_{268} და $E_{282.5}$ ტალღის სიგრძეზე.

2.5. იზოლირებული ბირთვების და ბირთვაკების რნმ მასინთეზირებელი ტესტ-სისტემები

საინკუბაციო ნარევი (საბოლოო მოცულობა - 0,5 მლ) შეიცავდა მიკრომოლებში: ტრის-HCL (pH-8,3)-50; $MgCL_2$-7,5; ცტფ, გტფ, ატფ-თითოეული 0,05mM ("Reanel" უნგრეთი); $[^{14}C]$-უტფ ("uvvv", ჩეხოსლოვაკია, ხვედრითი აქტიურობა 4,3cbq/მ.მოლზე) - 0,0013mM.

ბირთვებს ვიღებდით ისეთი რაოდენობით, რომელიც შეესაბამებოდა 100-120 მკგ დნმ-ს სინჯზე. ინკუბაციას ვახდენდით 37^0C -ზე, რეაქციას ვაჩერებდით გაცივებით და 10 მოცულობა 10%-იანი ცივი სამქლორიანი ძმარმჟავას (TXU) დამატებით, რომელიც შეიცავდა 0,02M ნატრიუმის პიროფოსფატს. ნალექის ფორმირების მიზნით სინჯებს ვაყოვნებდით 4^0C-ზე 30 წთ-ის განმავლობაში, რის შემდეგადაც ვფილტრავდით "Sikor" მარკის მემბრანულ ფილტრებზე (ფორების დიამეტრი 0,35მკმ). ფილტრზე მოთავსებული ნალექი ორჯერ ირეცხებოდა 10% TXU-ს ხსნარით. ფილტრები გადაგვქონდა სპეციალურ ჭურჭელში, ვუმატებდით 10მლ ტოლუოლზე დამზადებულ სინცილატორულ ხსნარს, რომელიც შეიცავდა: 2,3-დიფენილოქსაზოლი 4.0 გრ; 1,1-დი-2,5-ფენილოქსაზოლინ-1,3-ბენზოლი-0,2გრ 1 ლიტრზე. რადიაქტიურობას ვითვლიდით მედიკობიოლოგიურ მთვლელზე SBS-2. იზოლირებული ბირთვების სისტემაში რნმ-ის სინთეზის ინტენსიურობაზე ვმსჯელობდით მჟავაში უხსნად ნალექში $[^{14}C]$ უტფ-ის ჩართვის ინტენსიურობის მიხედვით.

იზოლირებული ბირთვაკების ტრანსკრიპციული აქტიურობის შესწავლის მიზნით ჩვენს მიერ გამოყენებული იყო in vitro ტესტ-სისტემა (Dzidziguri D.V. et al. 1994). ამ ტესტ-სისტემაში საინკუბაციო ნარევი (საბოლოო მოცულობით 0,2 მლ) შეიცავდა შემდეგ კომპონენტებს მიკრომოლებში: ტრის-HCL (pH-8,3)-50. $MgCL_2$-7,5. ატფ, გტფ, ცტფ თითოეული 0,05 და $[^{14}C]$ უტფ (ზემოთ აღნიშნული ფირმის) - 0,001. ბირთვაკებს ვიღებდით ისეთი რაოდენობით, რომელიც შეესაბამებოდა 50γ დნმ-ს სინჯზე.

2.6. ელექტრონულ-მიკროსკოპული შესწავლისათვის მასალის ფიქსაცია და პრეპარატების მომზადება

ელექტრონულ მიკროსკოპში გამოსაკვლევი ქსოვილის ნაჭრებს ვათავსებდით გლუტარალდეჰიდის ("Merck") 3%-იან ხსნარში, რომელიც განზავებული იყო 0,1M ზერენსენის და 0,1M Na-კაკოდილატის ბუფერებით.

ფიქსაცია მიმდინარეობდა 2-4სთ 4^0C-ზე. მასალა ირეცხებოდა სუფთა ბუფერში 30-120წთ 4^0C-ზე. ქსოვილის საბოლოო ფიქსაცია მიმდინარეობდა იგივე ბუფერებზე დამზადებულ OsO_4-ის 1% ხსნარში 2სთ 4^0C-ზე.

მასალის გაუწყლოება მიმდინარეობდა სხვადასხვა კონცენტრაციის სპირტების მზარდ რიგში და აცეტონში შემდეგი სქემის მიხედვით: 50-ეთანოლი 30წთ; 70-ეთანოლი 30-60 წთ; 80-(ორჯერ) 30წთ; 96-ეთანოლი 39 წთ; 100-ეთანოლი 15 წთ (სამჯერ); 100ეთანოლი და 100-აცეტონი 1:1 თანაფარდობით 30 წთ; 100-ეთანოლი 20წთ (სამჯერ).

ეპოქსიდური ფისებით მასალის გაჟღენთვას ვახდენდით აბსოლუტური აცეტონისა და 812 მარკის ეპონის სხვადასხვა თანაფარდობის ნარევში. კერძოდ კი, 3:1 (3 წილი აცეტონი და 1 წილი ეპონი) - 2სთ; 1:1-2სთ; 1:3-2სთ. შემდეგ ქსოვილის ნაჭრებს 2სთ-ით ვათავსებდით 812 მარკის ეპონის ოთხივე კომპონენტის სუფთა ნარევში. პოლიმერიზაცია მიმდინარეობდა ჟელატინის კაპსულებში 37^0C-ზე ერთი დღე-ღამის და 60^0C-ზე ორი დღე-ღამის განმავლობაში. ეპოქსიდურ ფისებში ჩაყალიბებული ქსოვილისგან ვამზადებდით 1მკნ სისქის ულტრათხელ ანათლებს. მასალას ვჭრიდით LKB-3, "Reichert OMU2" ტიპის ულტრატომის საშუალებით. ულტრათხელი ანათლები მონტაჟდებოდა ფორივარით დაფარულ სპილენძის ბადეზე. შემდეგი დაკვირვებანი და ფოტოგრაფირება მიმდინარეობდა "Hitachi HV-12" ტიპის მიკროსკოპით.

2.7. ელექტროფორეზი პოლიაკრილამიდის გელში

ელექტროფორეზი პოლიაკრილამიდის გელში ნატრიუმის დოდეცილსულფატის თანაობისას ტარდებოდა ლემლის მეთოდით (Laemmli, 1970). პლაფერონი ლბ-ს ცილოვანი ფრაქციების მოლეკულური მასების განსაზღვრისათვის გამოყენებული იყო გელები აკრილამიდის კონცენტრაციული გრადიენტით 5-15%, 16-30% და შესაბამისად – სტანდარტული ცილების ორი ნაკრები – 205, 116, 97, 66, 45, 29კდ და 20, .17, 14, 12კდ ("Serva"). გელზე დასატან ნიმუშებს ვლექავდით აცეტონის

10-ჯერადი ხსნარით, ვხსნიდით ბუფერში (0.5 M ტრის-HCl pH 6,8; 50% გლიცერინი; 0.1Mედტა; β-მერკაპტოეთანოლი; 10% Na-ის დოდეცილსულფატი; 0.05% ბრომფენოლის ლურჯი) და ვახდენდით მათ ელექტროფორეზულ დაყოფას (დენის ძალა - 20 mA, ძაბვა - 100V). ნატიური ელექტროფორეზი ტარდებოდა დევისის მეთოდით (Davis B., 1964). პროცესის დამთავრების შემდეგ ვახდენდით გელის ფიქსაციას (5% ქლორის მჟავა, 50% მეთანოლი) და შეღებვას (3.5% ქლორის, 0.04% Coomassie R-250) (Spector T.,1978). შეღებილი გელების სკანირება ხდებოდა LKB-2202 (შვედეთი) ფირმის დენსიტომეტრით.

2.8. თავისუფალი ამინომჟავების იდენტიფიკაცია

თავისუფალ ამინომჟავებს ვსაზღვრავდით მათი 1-დიმეთილამინონაფტალინ-5-სულფჰიდრილური (დანსილ-ქლორიდი) წარმოებულების სახით (W. Gray, B. Hartley, 1972), რისთვისაც ვატარებდით პლაფერონი ლბ-ს დანსილირების რეაქციას: პრეპარატის 300 მკლ-ს ვაშრობდით ვაკუუმში, ვხსნიდით 0.1 N $NaHCO_3$ 100 მკლ-ში, ვუმატებდით 100 მკლ დანსილქლორიდს (3 მგ/მლ) და ვაყოვნებდით სიბნელეში 45^oC–ზე 40 წთ-ის განმავლობაში; ვლექავდით აცეტონით და ვაცენტრიფუგებდით 10წთ 4000 ბრ/წთ სიჩქარეზე. სუპერნატანტის 5მკლ დაგვქონდა 6x6 სმ ზომის სილიკაგელის თხელფენოვან ანალიზურ ფირფიტაზე. ფირფიტებს ვათავსებდით გამხსნელების ორ სისტემაში და ქრომატოგრაფირებას ვახდენდით ორი მიმართულებით (Б. Г. Беленький, 1984).

პირველი მიმართულება: Iსისტემა-აცეტონი/იზოპროპანოლი/ამიაკი (25%) 9:7:05; II სისტემა-აცეტონი/იზოპროპანოლი/ამიაკი (25%) 9:7:2;

მეორე მიმართულება: Iსისტემა-ქლოროფორმი/ ბენზილის სპირტი/ ეთილაცეტატი/ყინულოვანი ძმარმჟავა 6:4:5:02; II სისტემა-ქლოროფორმი/ ბენზილის სპირტი/ ეთილაცეტატი/ყინულოვანი ძმარმჟავა 7.5:6:1.5:1.5

ქრომატოგრაფირების შემდეგ ფირფიტებს ვამჟღავნებდით ულტრაიისფერ შუქზე (ტალღის სიგრძე 365 ნმ). სპექტრის ამ უბანში ამინომჟავების დანსილწარმოებულები ფლუორესცირებენ ყვითელი ლაქების სახით, ხოლო დანსილ-OH წარმოქმნის ლაქას ცისფერი ლუმინესცენციით. ნიმუშების ქრომატოგრამებს ვადარებდით ამინომჟავების დანსილწარმოებულების სტანდარტული ნაკრების ("Serva, Feinbiochemica") ქრომატოგრამასთან.

2.9. შებრუნებულ-ფაზიანი მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფია

პლაფერონი ლბ-ს შემადგენლობაში გლუკოკორტიკოიდების განსაზღვრის მიზნით გამოვიყენეთ მიკროსვეტებიანი მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფი "მილიქრომი-4". ნიმუშები იხსნებოდა მოძრავ ფაზაში და 5-10 მკლ-ს რაოდენობით დაიტანებოდა ქრომატოგრაფიულ სვეტზე სეპარონი C_{18} (lahema, ბრნო, ჩეხეთი). ქრომატოგრაფიული სვეტიდან (62×2მმ) ელუციას ვახდენდით ეთილის სპირტისა და 0,05 M KH_2PO_4-ის ნარევით - 60:40, pH 3. ელუციის სიჩქარე იყო 50მკლ/წთ, დეტექტირების ტალღის სიგრძე - 254 ნმ. (Arx E., 1978; Andersson P., 1982) პლაფერონი ლბ-ს ქრომატოგრამას ვადარებდით ჰიდროკორტიზონის (ფარმაკოლოგიური პრეპარატი) ქრომატოგრამასთან.

თავი 3. კვლევის შედეგები და მათი განხილვა

3.1 თეთრი ვირთაგვას ინტაქტური უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენის შესწავლა

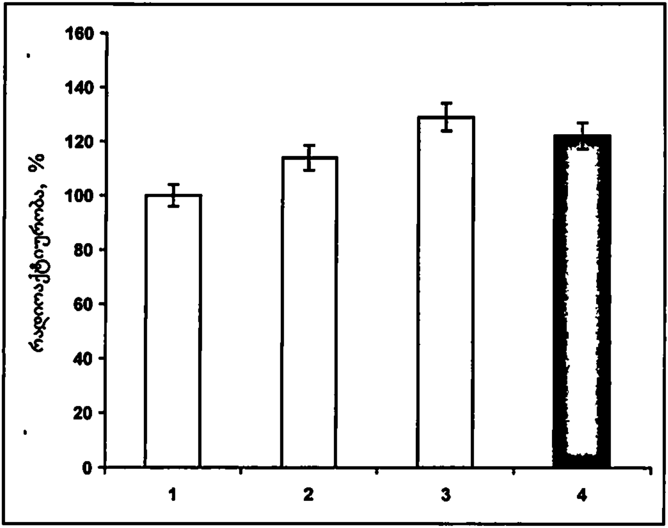
3.1.1. ინტაქტური ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენის შესწავლა

თანამედროვე უჯრედული ბიოლოგიისა და ექსპერიმენტული მედიცინის ერთ-ერთ აქტუალურ პრობლემას ენდოგენური წარმოშობის ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების შესწავლა წარმოადგენს. სამკურნალო პრეპარატების სახით მათი გამოყენება დაავადებათა მკურნალობის ფიზიოლოგიურ მეთოდად არის მიჩნეული და თანამედროვე ფარმაკოლოგიის პერსპექტიულ მიმართულებად ითვლება. ამ თვალსაზრისით განსაკუთრებულ ყურადღებას იმსახურებს სამამულო პრეპარატი – პლაფერონი ლბ, რომელიც შეიქმნა საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში პროფესორ ვლ. ბახუტაშვილის ხელმძღვანელობით (ვ. ბახუტაშვილი, 1990).

მრავალმხრივი ექსპერიმენტული გამოკვლევების შედეგად დადგინდა პრეპარატის იმუნომამოდულირებელი (Бахуташвили А.В., 1991, თ.ჩიქოვანი, 1997), ანტიიშემიური (Джавахишвили 1989; ზ.ქაცარავა, 1995), დეზინტოქსიკაციური (Имедидзе Э., 1989), ანტივირუსული (Shilakadze A., 1993, Metreveli D., 1998) მოქმედება, რაც საფუძვლად დაედო მის დანერგვას კლინიკურ პრაქტიკაში. პრეპარატის ფარმაკოლოგიური ეფექტები უჯრედების ფუნქციური აქტიურობის ცვლილებებში უნდა ჰპოვებდეს ასახვას. უჯრედის ფუნქციური აქტიურობის ცვლილება კი, როგორც ცნობილია, გენების

ექსპრესიის ცვლილების საფუძველზე ხდება. ამასთანავე დადგენილია, რომ გენების ექსპრესიის რეგულაცია ძირითადად ტრანსკრიპციის დონეზე ხორციელდება (Duncan et al., 1998). ტრანსკრიპცია ანუ რნმ-ის სინთეზი (გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის პირველი საფეხური) ბირთვის ერთ-ერთი უმთავრესი ფუნქციაა. ამდენად ბირთვი, რომელშიც თავმოყრილია უჯრედის ძირითადი გენეტიკური ინფორმაცია, ხელსაყრელ ობიექტად გვევლინება გენების პირველადი აქტიურობის სარეგულაციო მექანიზმების შესწავლისათვის. ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე, მიზნად დავისახეთ შეგვესწავლა ზრდასრული თეთრი ვირთაგვას სხვადასხვა ტიპის უჯრედების ბირთვების სატრანსკრიპციო აპარატზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა.

კვლევის პირველ ეტაპზე შევისწავლეთ ინტაქტური თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე აღნიშნული პრეპარატის ზემოქმედება *in vivo*. ამ მიზნით ცხოველებში ინტრაპერიოტონიალურად (i.p.) შეგვყავდა პლაფერონი ლბ. ინექცია კეთდებოდა დღეში ერთხელ (0,1 მგ/ცილა 1კგ წონაზე გადათვლით) 3, 5 და 7 დღის განმავლობაში. ღვიძლის ქსოვილიდან ბირთვების იზოლირების (Chauveau J., 1956) შემდეგ *in vitro* სისტემაში ვსწავლობდით ინტაქტური და პრეპარატით ინექცირებული ვირთაგვების ბირთვების რნმ-მასინთეზირებელი აქტიურობის ცვლილებას. ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე ვმსჯელობდით მჟავაში უხსნად ფრაქციაში მონიშნული წინამორბედის (^{14}C-უტფ) ჩართვის ინტენსიურობის მიხედვით. დადგინდა, რომ *in vivo* პლაფერონი ლბ მასტიმულირებელ ზემოქმედებას ახდენს ინტაქტური ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე. ექსპერიმენტების სამივე სერიაში (რომლებიც განსხვავდებოდნენ პლაფერონი ლბ-ს ინექციების რაოდენობით) გამოვლინდა, რომ ჰეპატოციტების ბირთვების ტოტალური რნმ-მასითეზირებელი აქტიურობა საკვლევი პრეპარატის ზემოქმედების შედეგად შესაბამისად 14%, 29% და 22%-ით იზრდება (სურ.1.).



სურ. 1 ინტაქტური ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება პლაფერონი ლბ-ს ზემოქმედებით

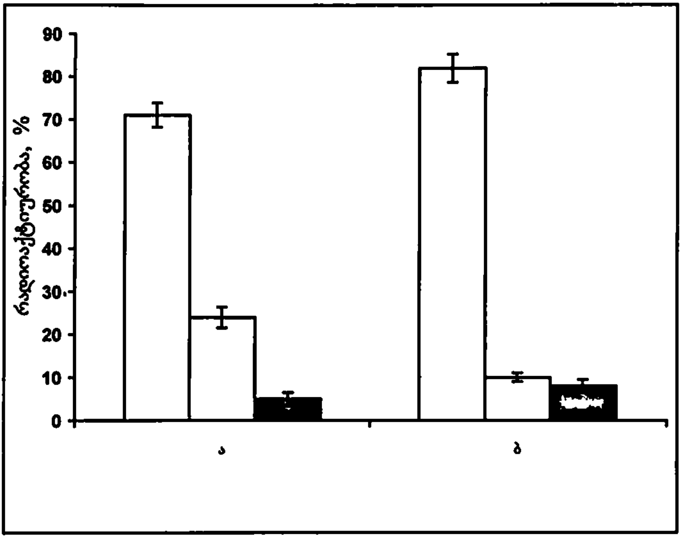
1. კონტროლი
2. 3-დღიანი ინექცია
3. 5-დღიანი ინექცია
4. 7-დღიანი ინექცია

ეუკარიოტული უჯრედების სატრანსკრიპციო აპარატი, როგორც ცნობილია, რთულ მრავალკომპონენტიან სისტემას წარმოადგენს. ამ სისტემის ერთერთი უმნიშვნელოვანესი კომპონენტი დნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზა ეუკარიოტულ უჯრედებში კატალიზური თვისებებით განსხვავებული სამი ფორმით (მრავალსუბერთეულოვანი) არის წარმოდგენილი (Treich L., 1992). აქედან გამომდინარე, ჩვენს წინაშე დაისვა საკითხი, რნმ-პოლიმერაზას რომელი ფორმით წარმართული ტრანსკრიპციის გაძლიერების ხარჯზე მიიღწევა პლაფერონი ლბ-ს აღნიშნული ეფექტი.

ამ საკითხის გასარკვევად გამოვიყენეთ შხამიანი სოკოდან (Ammanita phalloides) მიღებული ტოქსიური ოქტაპეპტიდი α-ამანიტინი, რომელიც შერჩევითად ინჰიბირებს რნმ-პოლიმერაზას სხვადასხვა ფორმას (Jacob S. et al., 1970, Mercol L. et al., 1989). თავდაპირველად განვსაზღვრეთ რნმ-პოლიმერაზას სამივე ფორმის აქტიურობა ინტაქტური ჰეპატოციტებიდან იზოლირებულ ბირთვებში. აღმოჩნდა, რომ ფერმენტის I, II და III ფორმის წილი შეადგენს ბირთვების ტოტალური რნმ-მასინთეზირებელი აქტიურობის 71%, 24%, 5%-ს შესაბამისად, რაც ჩვენს ხელთ არსებულ ლიტერატურ მონაცემებს შეესატყვისება (Льюин Б., 1987) (სურ.2,ა).

ხუთი დღის განმავლობაში პლაფერონი ლბ-ს i.p. ინექციის შემდეგ ჰეპატოციტების ბირთვებში რნმ-პოლიმერაზას ფორმების აქტიურობა იცვლება. კერძოდ, I ანუ ბირთვაკული ფორმის წილი გაიზარდა 11%, ხოლო III ფორმის წილი კი — მხოლოდ 3%-ით (სურ.2,ბ). ამრიგად, დადგინდა, რომ პლაფერონი ლბ-ს ზემოქმედებით ზრდასრული ვირთაგვას ინტაქტური ჰეპატოციტების სატრანსკრიპციო აპარატისათვის ფიზიოლოგიურ პირობებში დამახასიათებელი აქტიურობის ცვლილება ნაწილობრივ რიბოსომული გენების ტრანსკრიპციის ინტენსიფიკაციით არის განპირობებული.

In vivo პლაფერონი ლბ-ს მოქმედებით რნმ-ს სინთეზის სტიმულაცია შესაძლოა იყოს აღნიშნულ პროცესზე პრეპარატის მოქმედების როგორც უშუალო, ასევე მეორადი ეფექტი. ამ საკითხის გარკვევის მიზნით ექსპერიმენტების მომდევნო სერიაში შევისწავლეთ პლაფერონი ლბ-ს



სურ. 2 პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა რნმ-პოლიმერაზას სხვადასხვა ფორმების აქტიურობაზე თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტებში

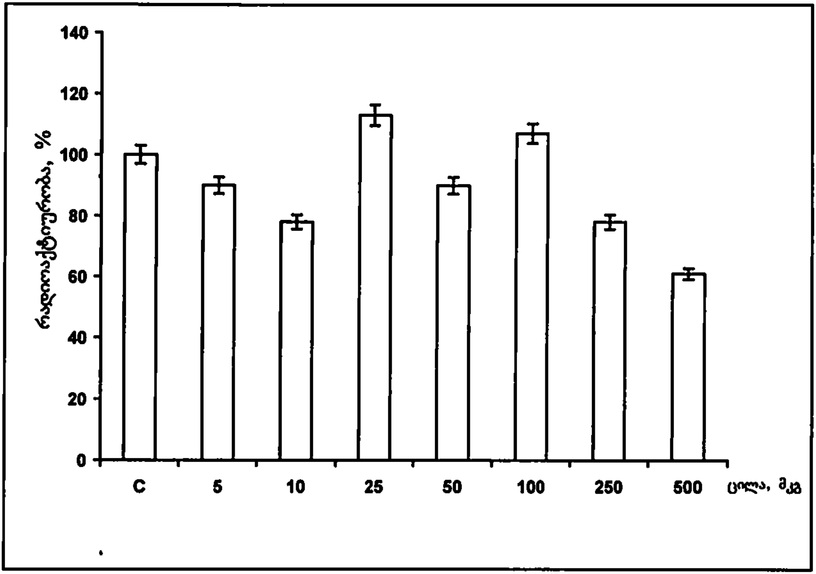
ა) ინტაქტური ცხოველები

ბ) პრეპარატით ინექცირებული ცხოველები

□ I ფორმა □ II ფორმა ▨ III ფორმა

ზეგავლენა ჰეპატოციტების იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე *in vitro*. აღნიშნულ სისტემაშიც გამოვლინდა ღვიძლის უჯრედების ბირთვების რნმ-მასინთეზირებელ აქტიურობაზე პრეპარატის მასტიმულირებელი მოქმედება. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ *in vitro* სისტემაში პრეპარატის სხვადასხვა დოზა იზოლირებული ბირთვების ტრნსკრიპციულ აქტიურობაზე განსხვავებულ ზეგავლენას ახდენს. კერძოდ, მასტიმულირებელ ზეგავლენასთან ერთად, რიგ შემთხვევაში ტრანსკრიპციის პროცესის ინჰიბირებაც აღინიშნება (სურ.3).

ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, ეუკარიოტული უჯრედების ზოგიერთი ტრანსკრიპციის ფაქტორი ორგვარი მოქმედების უნარით ხასიათდება. ნაჩვენებია მაგალითად, რომ რიბოსომული გენების ექსპრესიაზე Drosophila Kzuppel-ის ცილოვანი ფაქტორის მასტიმულირებელი ან მაინჰიბირებელი ზემოქმედება აღნიშნული ფაქტორის კონცენტრაციაზე არის დამოკიდებული (Kuhn A. et al., 1993). დოზადამოკიდებული მოქმედებით ხასიათდება აგრეთვე არაერთი ფარმაკოლოგიური პრეპარატი. ღვიძლი, როგორც ცნობილია, არის სამიზნე ქსოვილი თირკმელზედა ჯირკვლის ჰორმონის-კორტიზოლისათვის (Розэн В., 1984, Scudeletti M, 1990). *In vitro* სისტემაში კორტიზოლის განსაზღვრული კონცენტრაცია ჰეპატოციტების ბირთვებში ტრანსკრიპციული აქტიურობის სტიმულაციას იწვევს. ამავე დროს დადგენილია აღნიშნული ჰორმონის დოზაზე დამოკიდებული მოქმედება (Романова 1984, Cavanaugh A., et al., 1995). პლაფერონი ლბ, როგორც უკვე აღნიშნული იყო, ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების კრებულს წარმოადგენს. აქედან გამომდინარე, შეიძლება ვიფიქროთ: 1. პრეპარატი შეიცავს ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის მარეგულირებელ ფაქტორს, რომლის მოქმედება დოზა-დამოკიდებულ ხასიათს ატარებს; 2. პრეპარატი შეიცავს ტრანსკრიპციული აქტიურობის რეგულაციაში მონაწილე ორ, ურთიერთსაწინააღმდეგო მოქმედების კომპონენტს.



სურ. 3 თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტების იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება პლაფერონი ლბ-ს სხვადასხვა დოზის ზემოქმედებით in vitro

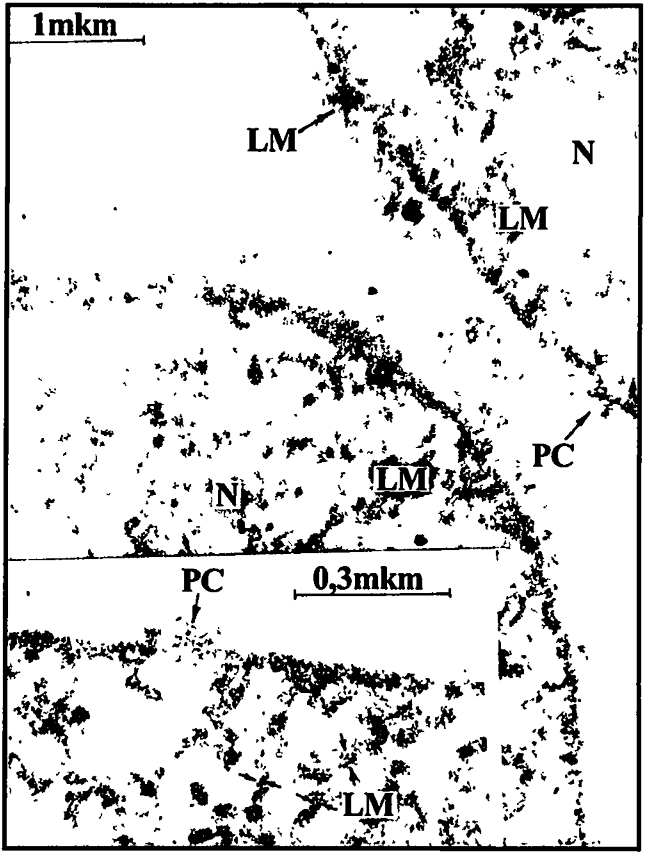
იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს მოქმედება შესაძლებელია განხორციელდეს ტრანსკრიპციული ფაქტორებისათვის დამახასიათებელი ნებისმიერი, მათ შორის ლიგანდ-რეცეპტორული მექანიზმით. ცნობილია მაგალითად, ბირთვული რეცეპტორების დიდი ჯგუფი, რომლებიც ლიგანდ-მოდულირებად ტრანსკრიპციის ფაქტორებს წარმოადგენენ. ამ სუპერ-ოჯახს მიეკუთვნება სტეროიდული ჰორმონების, თირეოიდული ჰორმონების, A და D ვიტამინების ჰორმონალური ფორმების რეცეპტორები (Brinkmann A., 1994), აგრეთვე ე.წ. "ობოლი" რეცეპტორები (Malik S., 1996). გლიკოკორტიკოიდული რეცეპტორებისათვის (GR) ნაჩვენებია სპეციფიკური სუბნუკლეალური კომპარტმენტის არსებობა, სადაც ქრომატინიდან ჩამოშორებული GR-ების დაგროვება ხდება. აღნიშნულ კომპარტმენტში დაგროვილი GR-ები განიცდიან რეაქტივაციას (ჰორმონთან დაკავშირების შედეგად) ან ექსპორტირდებიან ბირთვიდან ციტოპლაზმაში (Yang J., 1997). ზოგიერთი ავტორის თანახმად, გლუკოკორტიკოიდების რეცეპტორები ბირთვში მხოლოდ ჰორმონ-რეცეპტორული კომპლექსის წარმოქმნის შემდეგ შედიან (Baulieu E., 1990). ლიტერატურაში თავისუფალი რეცეპტორების ციტოპლაზმური ლოკალიზაციის შესახებაც მოიპოვება ცნობები. ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების კონკრეტული მექანიზმის დადგენა სპეციალურ გამოკვლევას საჭიროებს. ამჯერად კი ამ საკითხის შესახებ ნაწილობრივ წარმოდგენას გვიქმნის კვლევის შემდგომ ეტაპზე ჩატარებული ექსპერიმენტები.

ცნობილია, რომ იზოლირებული ბირთვების დეტერგენტ Triton X-100-ით დამუშავების შემდეგ ბირთვის გარსის მოხსნა ხდება, რაც მასთან ასოცირებული ციტოპლაზმური ცილის ნარჩენებისაგან განთავისუფლების საშუალებას იძლევა. ამავე დროს, ასეთი დამუშავების შედეგად ბირთვების სტრუქტურა არ ზიანდება; შენარჩუნებულია აგრეთვე მათი რნმ-მასინთეზირებელი აქტიურობა (თუმცა დეტერგენტი რნმ-პოლიმერაზული აქტიურობის მცირედ დაქვეითებას იწვევს) (Дзидзигури Д., 1983). კვლევის შემდგომ ეტაპზე ღვიძლის უჯრედებიდან იზოლირებული ბირთვები

დავამუშავეთ Triton X-100-ით. ჩავატარეთ დეტერგენტით დამუშავებული ბირთვების ელექტრონულ-მიკროსკოპიული ანალიზი. ელექტრონოგრამაზე თვალსაჩინოდ არის გამოხატული ბირთვის გარსის გარეთა და შიგნითა მემბრანების არარსებობა; ხოლო ბირთვის ფორმა და ქრომატინის პერიფერიული გრანულარული ფენა (ლამინა) შენარჩუნებულია (სურ.4). შევადარეთ ინტაქტური და Triton X-100-ით დამუშავებული ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენით. მიღებული შედეგები გვიჩვენებს, რომ პლაფერონი ლბ ტრანსკრიპციული აქტიურობის სტიმულაციის უნარს ბირთვის გარსის მოხსნის შემდეგაც ავლენს (თუმცა ამ შემთხვევაში სტიმულაციის ეფექტი რამდენადმე ნაკლებად არის გამოხატული): ინტაქტური ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობა პრეპარატის ზემოქმედებით გაზრდილია 39%, ხოლო დამუშავებული ბირთვებისა – 25%-ით (სურ. 5).

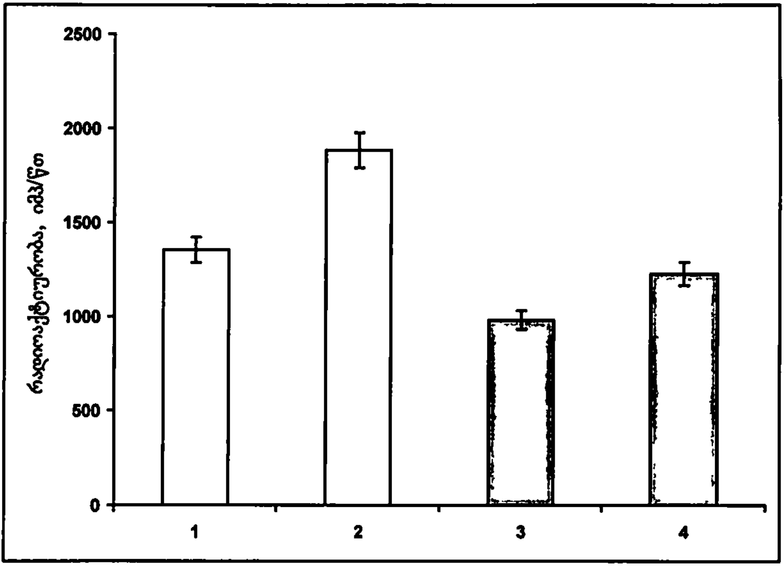
კვლევის შემდგომ ეტაპზე შევისწავლეთ პლაფერონი ლბ-ს მოქმედება იზოლირებული ბირთვაკების ტესტ-სისტემაში. აღნიშნული ტესტ-სისტემა უშუალოდ რიბოსომული გენების ექსპრესიაზე დაკვირვების საშუალებას იძლევა. თეთრი ზრდასრული ვირთაგვას ღვიძლის უჯრედების ბირთვებიდან მოვახდინეთ ბირთვაკების იზოლირება ბუშისა და სმეტანას მეთოდით (Buch H., Smetana K., 1970). აღნიშნული მეთოდით გამოყოფილი ბირთვაკები ინარჩუნებს ყველა მორფოლოგიურ ნიშანს. იზოლირებული ბირთვაკების ელექტრონოგრამაზე კარგად ჩანს, რომ მათში მთლიანად არის შენარჩუნებული ნუკლეოლონემის ბადისებრი სტრუქტურა; ნუკლეოლონემურ ჭიმებში განირჩევა მრავალი ფიბრილარული ცენტრი; ზომიერად არის განვითარებული გრანულარული კომპონენტი; არ ვლინდება ბირთვაკთან ასოცირებული ქრომატინის კონდენსირებული ბლოკები, რაც ბირთვაკული პრეპარატის სისუფთავის მაღალ ხარისხზე მიუთითებს (სურ.6).

იზოლირებულ ბირთვაკების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების შესწავლამ გვიჩვენა, რომ პრეპარატი (25 მკგ ცილა 50მკგ დნმ-ზე გადათვლით) მათი ტრანსკრიპციული აქტიურობის დაქვეითებას



სურ. 4 თეთრი ვირთაგვას ღვიძლის უჯრედების ტრიტონ X-100-ით დამუშავებული იზოლირებული ბირთვების ელექტრონოგრამა

N - ბირთვი
PC - ფორის კომპლექსი
LM - ლამინა



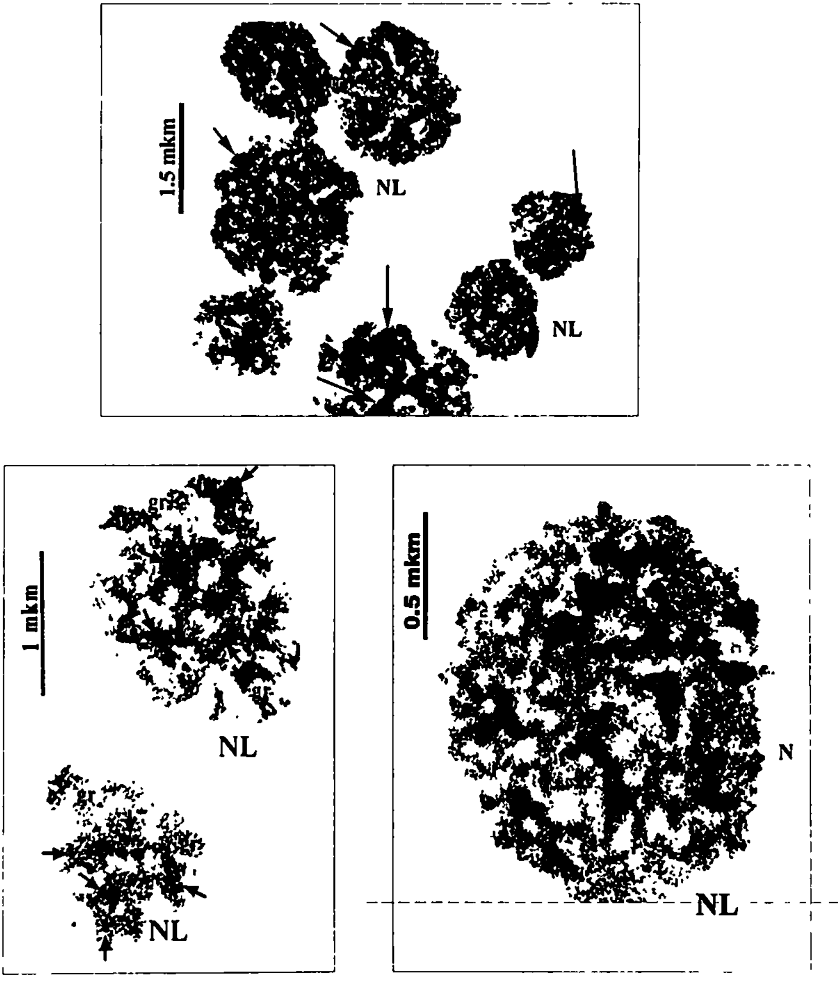
სურ. 5 ჰეპატოციტების ინტაქტური და ტრიტონ X-100-ით დამუშავებული ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება პლაფერონი ლბ-ს ზემოქმედების შედეგად

1. ინტაქტური ბირთვები
2. ინტაქტური ბირთვები + პლაფერონი ლბ
3. ტრიტონ X-100-ით დამუშავებული ბირთვები
4. ტრიტონ X–100-ით დამუშავებული ბირთვები + პლაფერონი ლბ

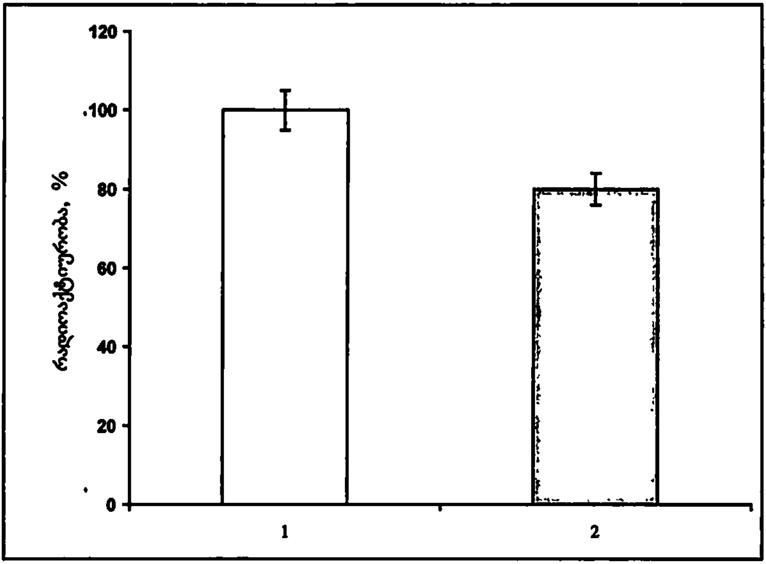
იწვევს, საშუალოდ 20%-ით (სურ.7). ეს ეფექტი რადიკალურად განსხვავდება *in vitro* ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე და *in vivo* რნმ-პოლიმერაზა I-ის აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს მიერ გამოვლენილი ეფექტებისაგან. როგორ შეიძლება მიღებული მონაცემების ინტერპრეტაცია? ის ფაქტი, რომ იზოლირებული ბირთვაკების ტესტ-სისტემაში პრეპარატის მასტიმულირებელი ზემოქმედება აღარ ვლინდება, იმაზე მიუთითებს, რომ პლაფერონი ლბ-ს მასტიმულირებელი კომპონენტი აქტიურობისათვის საჭიროებს ნუკლეოპლაზმაში ე.წ. "გადამტანის" არსებობას, რომელსაც იზოლირებული ბირთვაკების პრეპარატი (ბირთვულისაგან განსხვავებით) აღარ შეიცავს. შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ სწორედ ნუკლეოპლაზმაში არსებული ე.წ. "გადამტანი" (მაგალითად, ბირთვული რეცეპტორი) განსაზღვრავს მასტიმულირებელი კომპონენტის სპეციფიკურობას და ამიტომ მის გარეშე სტიმულაციის ეფექტის განხორციელება შეუძლებელი ხდება.

რაც შეეხება ჰეპატოციტების ბირთვებზე პრეპარატის დამთრგუნველ ზემოქმედებას: ის ფაქტი, რომ პლაფერონი ლბ თრგუნავს ტრანსკრიპციულ აქტიურობას ჰეპატოციტების ბირთვებში *in vitro* და აგრეთვე იზოლირებული ბირთვაკების ტესტ-სისტემაში, იმაზე მიუთითებს, რომ აღნიშნული ეფექტის განმსაზღვრელი ფაქტორის შეღწევა ჰეპატოციტებში უჯრედული მემბრანის დონეზე ბლოკირდება.

აღწერილი შედეგების საფუძველზე გამოვლინდა ინტაქტური ღვიძლის უჯრედების ბირთვული კომპარტმენტის ფუნქციონირებაზე, კერძოდ კი ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს მარეგულირებელი ზემოქმედების უნარი. პრეპარატის მოქმედების კონკრეტული მექანიზმების დადგენა კი შემდგომი კვლევის საგნად გვესახება.



სურ. 6 თეთრი ვირთაგვას ჰეპაროციტებიდან იზოლირებული ბირთვაკები (NL)



სურ. 7 თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტების იზოლირებული ბირთვაკების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება პლაფერონი ლბ-ს ზემოქმედებით in vitro

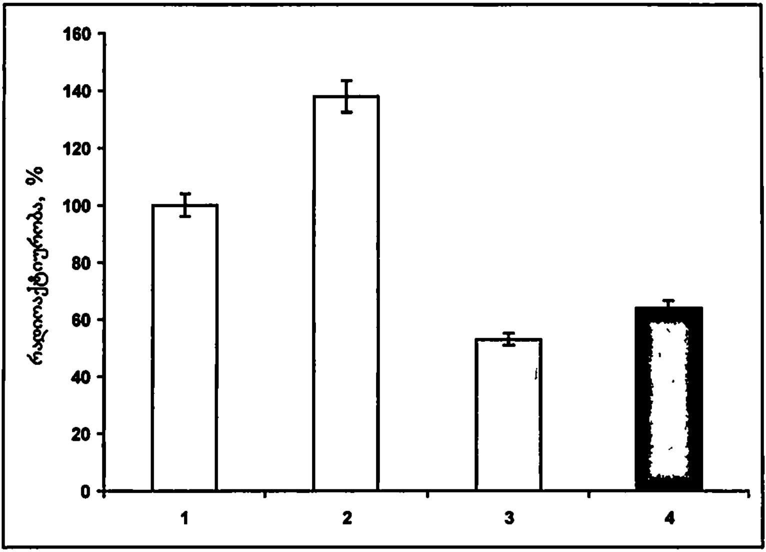
1. კონტროლი
2. ცდა

3.1.2 სხვადასხვა ტიპის უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების შედარებითი შესწავლა

. თანამედროვე ეტაპზე დიდი მნიშვნელობა ენიჭება იმ სარეგულაციო მექანიზმების გამოვლენას, რომლებიც სხვადასხვა ტიპის ქსოვილების უჯრედებში გენეტიკური აპარატის დონეზე ხორციელდება. განსაკუთრებულ ინტერესს იმსახურებს გენების პირველადი აქტიურობის რეგულაციის მექანიზმები. დღეისათვის იდენტიფიცირებულია არაერთი ტრანსკრიპციის მარეგულირებილი ცილოვანი ფაქტორი, რომელიც ქსოვილოვანი სპეციფიკურობით ხასიათდება. მაგალითად, ხერხემლიანების ერითროიდული უჯრედები შეიცავენ ქსოვილსპეციფიკურ ტრანსკრიპციულ ფაქტორს Ery F1, რომლის შემაკავშირებელი საიტები გლობინის გენის პრომოტორში არის განთავსებული (Trainor C., 1990). თაგვის პლაცენტის ტროფობლასტურ უჯრედებში ექსპრესირდება GATA ოჯახის ფაქტორები (GATA2, GATA3), რომლებიც პლაცენტური ლაქტოგენი I გენის პრომოტორის აქტიურობას არეგულირებენ და მის ტროფობლასტ-სფეციფიკურ ექსპრესიას განსაზღვრავენ (Ng YK, George KM., 1994). კარგად არის შესწავლილი აგრეთვე HNF ოჯახი. აღნიშნული ფაქტორები ღვიძლის უჯრედებისთვის სპეციფიკური გენების ტრანსკრიპციის რეგულაციაში მონაწილეობენ (Duncan et all, 1998; Vallet et all, 1995). კერძოდ, იდენტიფიცირებულია ჰეპატოციტების ბირთვული ფაქტორები HNF1, HNF3, HNF4, HNF6, C/EBP, DBP და LAP, რომლებსაც დიდი მნიშვნელობა ენიჭებათ ღვიძლის უჯრედების მეტაბოლიზმში. დადგენილია, რომ HNF1 და HNF4-ის გენების მუტაცია ინსულინის სეკრეციის დარღვევასა და მეორე ტიპის დიაბეტის განვითარებას განაპირობებს. HNF1 არის HTH- თანმიმდევრობების შემცველი ცილების ოჯახის წევრი, ხოლო HNF4 სტეროიდული ჰორმონების რეცეპტორების სუპეროჯახის წევრია (Toniatti C. et al., 1993, Vallet V. et al., 1995).

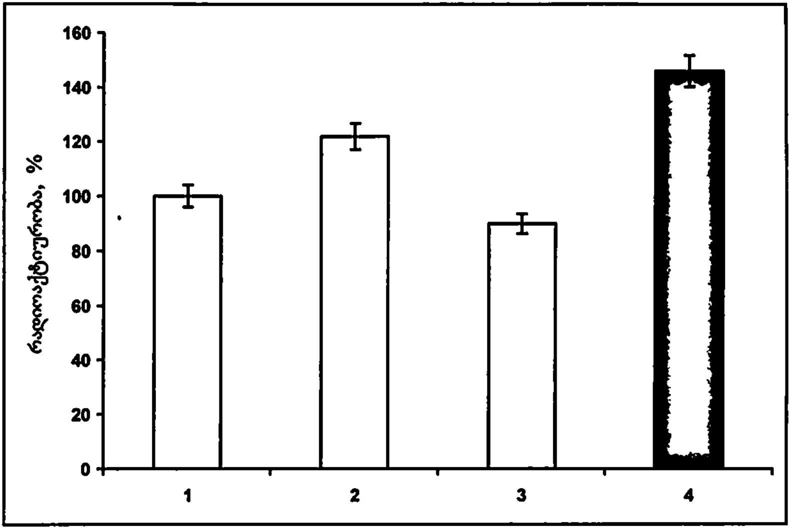
გავითვალისწინეთ რა ტრანსკრიპციის რეგულაციის ქსოვილსპეციფიკური ფაქტორების არსებობა, კვლევის შემდგომ ეტაპზე ჩავატარეთ თეთრი ვირთაგვას სხვადასხვა ტიპის ქსოვილებში გენების პირველად აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენის შედარებითი შესწავლა. ამ მიზნით ღვიძლის უჯრედებთან ერთად გამოვიყენეთ თირკმლისა და თავის ტვინის უჯრედები. აღმოჩნდა, რომ 5 დღის განმავლობაში პლაფერონი ლბ-ს ინტრაპერიტონიალური ინექციის (0,1მგ ცილა/1კგ წონაზე დღეში ერთხელ) შედეგად ღვიძლის ქსოვილისაგან განსხვავებით თირკმლისა და თავის ტვინის უჯრედებში ადგილი აქვს რნმ-ს სინთეზის ინჰიბირებას. კერძოდ, პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენით თირკმლის ეპითელიოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობა კონტროლთან შედარებით მცირდება 47%-ით, ხოლო თავის ტვინის უჯრედებიდან იზოლირებული ბირთვებისა – 36%-ით (სურ.8).

პარალელურად გამოკვლევები ჩავატარეთ *in vitro* სისტემაში. კერძოდ, ინტაქტური ვირთაგვას ღვიძლის, თირკმლისა და თავის ტვინის ქსოვილების უჯრედებიდან მოვახდინეთ ბირთვების იზოლირება და *in vitro* მათი რნმ-მასინთეზირებელი აქტიურობის შედარებითი ანალიზი. ამ მიზნით, საინკუბაციო სინჯარებში სამივე ტიპის ქსოვილიდან იზოლირებული ბირთვების თანაბარ რაოდენობას (100γ დნმ-ზე გადათვლით) ვამატებდით პლაფერონი ლბ-ს ერთიდაიგივე დოზას (25მკგ ცილა/100მკგ დნმ-ზე). 37^{0}C-ზე თხუთმეტი წუთის განმავლობაში ინკუბაციის შემდეგ რეაქციას ვაჩერებდით 10%-იანი ცივი TXY-ს დამატებით და მჟავაში უხსნად ფრაქციაში მონიშნული წინამორბედის ჩართვის ინტენსიურობის მიხედვით ვმსჯელობდით რნმ-ს სინთეზის ინტენსიურობის ცვლილებაზე. თირკმლის უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობა, როგორც მე-9 სურათიდან ჩანს, კონტროლთან შედარებით 10%-ით ითრგუნება, ხოლო ჰეპატოციტებისა და თავის ტვინის უჯრედებისა კი – იზრდება შესაბამისად 22 და 46%-ით. ექსპერიმენტების ამ სერიაში გამოვლინდა, რომ თირკმლის ქსოვილის შემთხვევაში *in vivo* და *in vitro* სისტემებში პლაფერონი ლბ გენების პირველად



სურ. 8 პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა (in vivo) თეთრი ვირთაგვას სხვადასხვა ქსოვილების უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე

1. კონტროლი
2. ღვიძლის უჯრედების ბირთვები
3. თირკმლის უჯრედების ბირთვები
4. თავის ტვინის უჯრედების ბირთვები



სურ. 9 პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა (in vitro) თეთრი ვირთაგვას სხვადასხვა ქსოვილების უჯრედებიდან იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე

1. კონტროლი
2. ღვიძლის უჯრედების ბირთვები
3. თირკმლის უჯრედების ბირთვები
4. თავის ტვინის უჯრედების ბირთვები

აქტიურობაზე ერთნაირ ანუ დამთრგუნველ ზეგავლენას ახდენს. აქვე უნდა აღვნიშნოთ, რომ რნმ-ს სინთეზზე პრეპარატის მაინჰიბირებელი ზემოქმედება *in vitro* სისტემაში შედარებით ნაკლებად არის გამოხატული (ინჰიბირების ხარისხი მხოლოდ 10%-ს შეადგენს). ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე კი პლაფერონი ლბ (როგორც *in vivo*, ასევე *in vitro*) მასტიმულირებელ ზეგავლენას ახდენს და ამ შემთხვევაშიც *in vitro* სისტემაში ეფექტი უფრო ნაკლებად არის გამოხატული.

ამრიგად, ჰეპატოციტებისაგნ განსხვავებით პლაფერონი ლბ თირკმლის ეპითელიოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე დამთრგუნველ ზეგავლენას ახდენს; პრეპარატის ასეთი ურთიერთსაპირისპირო ეფექტების გამოვლენა შესაძლოა სხვადასხვა ტიპის უჯრედებში გენების დიფერენციალურ აქტიურობასთან იყოს დაკავშირებული. ცნობილა მაგალითად, რომ რიბოსომული გენების ექსპრესია (პლაფერონი ლბ *in vivo*, როგორც უკვე ვნახეთ, სწორედ ამ ჯგუფის გენების ტრანსკრიპციის სტიმულაციას იწვევს) ინტაქტური ვირთაგვას ღვიძლის უჯრედებში ბირთვების ტოტალური ტრანსკრიპციული აქტიურობის 60-70%-ს შეადგენს (Льюин Б., 1987). თირკმლის როგორც პროქსიმალური, ასევე დისტალური მილაკების ეპითელიოციტების ძირითად მასაში კი (უჯრედების 55%) უმთავრესად არააქტიური რგოლისებრი ტიპის ბირთვაკები ვლინდება, რაც მათში რ-რნმ-ს სინთეზის დაბალი დონის მაჩვენებელია (Челидзе П., 1993). გარდა ამისა, ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ გენების ექსპრესიის ჰორმონ-დამოკიდებული რეგულაციის თავისებურებები ღვიძლისა და თირკმლის ქსოვილში დაკავშირებულია ამ ქსოვილებში ფერმენტების — დეჰიდროგენაზასა და ოქსორედუქტაზას განსხვავებულ რაოდენობრივ თანაფარდობასთან (11β-DH/11βOR). აღნიშნული ფერმენტები განსაზღვრავენ კორტიზოლის გადასვლას აქტიური ფორმიდან არაქტიურ ფორმაში. კერძოდ, ოქსორედუქტაზას კორტიზონი (ჰორმონის არააქტიური ფორმა) გადაყავს კორტიზოლში (ჰორმონის აქტიური ფორმა) და პირიქით (Monder C., 1990). ნაჩვენებია, რომ ღვიძლის ქსოვილში, სადაც რ-გენების აქტიურობა საკმაოდ

მაღალია, ოქსორედუქტაზა სჭარბობს დეჰიდროგენაზას. საპირისპიროა ამ ფერმენტების თანაფარდობა თირკმლის ქსოვილში (Monder C., 1990). კორტიზოლი, რომელიც ჰეპატოციტების ბირთვებში რიბოსომული გენების ტრანსკრიპციის აქტივაციას განაპირობებს, თირკმლის პროქსიმალურ მილაკებში დეჰიდროგენაზას მიერ გადაიყვანება არაქტიურ ფორმაში, რითაც როგორც ჩანს აიხსნება ეპითელიოციტების ბირთვებში დაბალი ბირთვაკული აქტიურობა. ყოველივე ზემოთქმულიდან გამომდინარე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ღვიძლისა და თირკმლის უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს განსხვავებული ზეგავლენა აღნიშნულ უჯრედებში რ-გენების განსხვავებულ ექსპრესიასთან არის დაკავშირებული.

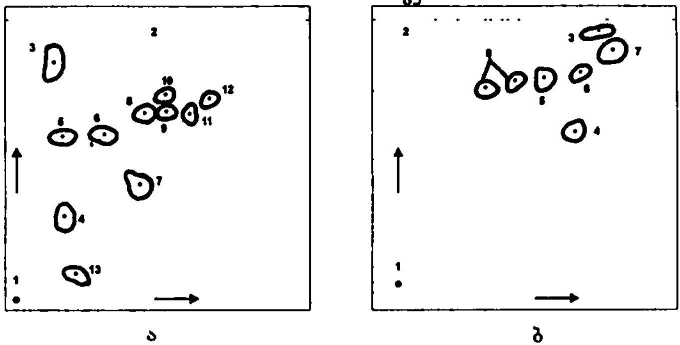
ალსანიშნავია, რომ ტრანსკრიპციის პროცესზე პლაფერონი ლბ-ს ურთიერთსაპირისპირო მოქმედება ნაჩვენები იქნა აგრეთვე ერთიდაიგივე ქსოვილის შემთხვევაშიც. კერძოდ, განსხვავებული ზეგავლენა გამოვლინდა ვირთაგვას თავის ტვინის უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე *in vivo* და *in vitro*. თუ *in vivo* პრეპარატი რნმ-ს სინთეზზე დამთრგუნველ ზეგავლენას ახდენს (სურ.8), *in vitro* მისი მასტიმულირებელი მოქმედება ვლინდება. ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობა, როგორც სურათიდან ჩანს კონტროლთან შედარებით 46%-ით იზრდება (სურ.9). როგორ შეიძლება აიხსნას მიღებული შედეგები? ცნობილია, რომ თავის ტვინის შემთხვევაში გასათვალისწინებელია ჰემატოენცეფალური ბარიერის არსებობა, რომელიც *in vivo* მოლეკულების შერჩევით განვლადობას უზრუნველყოფს. აღნიშნულ ბარიერს ადვილად გადის მხოლოდ ცხიმში კარგად ხსნადი ნივთიერებები, რის გამოც ჰემატოენცეფალური ბარიერი მთელ რიგ სიძნელეებს წარმოქმნის სამედიცინო თვალსაზრისით. თავის ტვინის იზოლირებულ ბირთვებში მასტიმულირებელი ეფექტის გამოვლენა კიდევ ერთხელ ადასტურებს ჩვენს მოსაზრებას იმის შესახებ, რომ პრეპარტის აღნიშნული ეფექტის განმსაზღვრელ კომპონენტს ბირთვის დონეზე გააჩნია ე.წ. "გადამტანი", რომელიც უზრუნველყოფს მის აქტიურობას *in vitro*. როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ტრანსკრიპციის პროცესზე პლაფერონი ლბ-ს

ორგვარი მოქმედება შესაძლოა განპირობებული იყოს პრეპარატში ურთიერთსაპირისპირო ეფექტების მქონე კომპონენტების (რეპრესორისა და აქტივატორის) არსებობით. თუმცა ლიტერატურაში აღწერილია აგრეთვე ორგვარი ბუნების ფაქტორები (Lu H., et all, 1995, Liu X., 1993). მაგალითად, Kr-ცილის ორგვარი მოქმედების მიზეზია მისი დიმერული და მონომერული ფორმის სხვადასხვა ტრანსკრიპციულ ფაქტორებთან დაკავშირება (Sauer F., et all, 1995). YYI-ფაქტორი კი დადებით ან უარყოფით რეგულაციას პრომოტორების სხვადასხვა ცის-აქტივაციურ ელემენტებთან ურთიერთობის გზით ანხორციელებს (Yang W., et all, 1996). გარდა ამისა ცნობილია, რომ ტრანსკრიპციის ფაქტორების აქტიურობის რეგულაციის სხვადასხვა გზები არსებობს, როგორიცაა კონცენტრაციის ცვლილება, (დე) ფოსფორილირება, ლიგანდთან დაკავშირება და სხვა. თუ გავითვალისწინებთ ტრანსკრიპციის რეგულაციის მექანიზმების მრავალფეროვნებას, აღნიშნულ პროცესზე პლაფერონი ლბ-ს ორგვარი მოქმედების კონკრეტული მექანიზმის გამოვლენა სერიოზულ პრობლემად გვესახება. აქედან გამომდინარე კვლევის შემდგომ ეტაპზე შევეცადეთ მოგვეხდინა პრეპარატიდან აქტიური კომპონენტ(ებ)ის იდენტიფიცირება.

3.1.3. პლაფერონი ლბ-ს შემადგენელი კომპონენტების ნაწილობრივი დახასიათება

ცნობილია, რომ პლაფერონი ლბ ცილოვან-პეპტიდური ბუნების მრავალკომპონენტიანი პრეპარატია. მის შემადგენლობაში არსებული ნივთიერებების გარკვეული ნაწილი დღეისათვის იდენტიფიცირებულია. დადგენილია, რომ პლაფერონი ლბ არ შეიცავს პლაცენტისა და ნაყოფისათვის დამახასიათებელ ზოგიერთ ცილას, როგორებიცაა: α-ფეტოპროტეინი, ქორიონული გონადოტროპინი და ტროფობლასტური γ-გლობულინი (Мерабишвили Д., 1988). პლაფერონი ლბ-ს შემადგენლობაში არსებული ცილოვანი ფრაქციებისა და თავისუფალი ამინომჟავების თვისობრივი ანალიზი კვლევის შემდგომ ეტაპზე ჩვენი სამუშაოს მიზანს წარმოადგენდა.

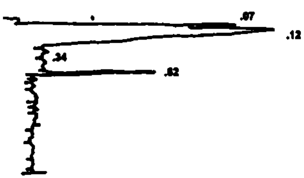
თავდაპირველად შევეცადეთ პრეპარატის შემადგენლობაში არსებული დაბალმოლეკულური ნაერთების იდენტიფიცირებას. კერძოდ, თავისუფალი ამინომჟავების განსაზღვრის მიზნით გამოვიყენეთ დანსილირების რეაქცია (Gray W., Hartley B., 1972) და ორმიმართულებიანი თხელფენოვანი ქრომატოგრაფია (Беленький В., 1982). საკვლევი ნიმუშის ქრომატოგრამას ვადარებდით ამინომჟავების დანსილწარმოებულების სტანდარტული ნაკრების (Serva, FeinBiochemica) ქრომატოგრამასთან. აღნიშნული მეთოდით პლაფერონი ლბ-ს შემადგენლობაში იდენტიფიცირებული იქნა თავისუფალი ამინომჟავების ნაკრები: სერინი, თრეონინი, გლიცინი, პროლინი, ალანინი, ფენილალანინი, ვალინი, იზოლეიცინი, ასპარაგინი, თიროზინი (სურ.10). ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ ამონომჟავები მონაწილეობენ გენების ექსპრესიის კონტროლში (Jousse C., et al., 1998). გამოვლენილია აგრეთვე რ-გენების ტრანსკრიპციის რეგულაციაში მონაწილე სხვა არაცილოვანი ბუნების ფაქტორებიც: რიფამიცინი, აქტინომიცინი D, NAD^+, ოლიგონუკლეოტიდები (Mishima Y., 1993, Elela 1994).



სურ.10 პლაფერონი ლბ-ს თავისუფალი ამინომჟავების ორმიმართულებიანი თხელფენოვანი ქრომატოგრაფია გამხსნელების ორ სისტემაში

ა) I სისტემა; 1-სტარტი, 2-ფრონტი, 3-დანსილ-OH, 4-Ser, 5-Thr, 6-Gly, 7-Pro, 8-Ala, 9-Phe, 10-Tyr, 11-Val, 12-Ile, 13-Asp

ბ) II სისტემა; 1-სტარტი, 2-ფრონტი, 3-დანსილ-OH, 4-Asp, 5-Ser, 6-Gly, 7-Tyr, 8-არაიდენტიფიცირებული ლაქები.



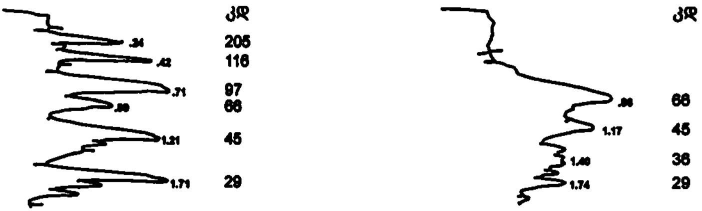
სურ.11 პლაფერონი ლბ-ს ნატიური ელექტროფორეზი 5-25% გრადიენტულ გელში (დენსიტოგრამა)

პლაფერონი ლბ-ს ცილოვანი კომპონენტების შესასწავლად გამოვიყენეთ როგორც ნატიური, ასევე SDS–ელექტროფორეზი პოლიაკრილამიდის გელში. 5-25% გრადიენტულ გელში ნატიური ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით (Davis,1964) პლაფერონი ლბ-ს შემადგენლობაში გამოვლენილი იქნა დაახლოებით ოთხი ცილოვანი ფრაქცია (სურ.11).

ცილოვანი ფრაქციების მოლეკულური მასების განსაზღვრის მიზნით ჩავატარეთ პრეპარატის ელექტროფორეზული ფრაქციონირება ნატრიუმის დოდეცილსულფატის თანაობისას. გამოვიყენეთ გელები აკრილამიდის კონცენტრაციული გრადიენტით 5-დან 15%-მდე და 16-დან 30%-მდე, რაც 5 – 200 კდ მოლეკულური მასის პოლიპეპტიდების დაყოფის საშუალებას გვაძლევდა. ნიმუშების დენსიტოგრამებს ვადარებდით ცილების სტანდარტული ნაკრების (205-29კდ და 20-12კდ, შესაბამისად) დენსიტოგრამასთან.

პლაფერონი ლბ-ს ელექტროფორეზული ფრაქციონირების შედეგად მის შემადგენლობაში იდენტიფიცირებული იქნა პოლიპეპტიდური ფრაქციები მოლეკულიური მასებით: 66, 45, 36, 29, 25, 18, 14, 12, 9კდ (სურ.12).

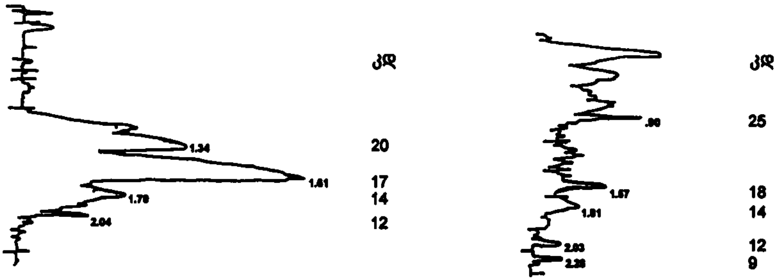
ამრიგად, მიღებული შედეგების ანალიზმა გვიჩვენა, რომ პლაფერონი ლბ წარმოადგენს მრავალკომპონენტიან ნარევს, რომელიც დაბალ- და მაღალმოლეკულურ ნივთიერებებს შეიცავს. აქედან გამომდინარე, კვლევის შემდგომ ეტაპზე პრეპარატი გავყავით ორ ფრაქციად ცილების სპირტული გადალექვის მეთოდის გამოყენებით. მიღებული (ცილოვანი ფრაქცია და სუპერნატანტი) ფრაქციების გავლენა ტრანსკრიპციის პროცესზე შევამოწმეთ ჰეპატოციტების იზოლირებული ბირთვების რნმ-მასინთეზირებელ ტესტ-სისტემაში *in vitro*. როგორც მე-13 სურათიდან ჩანს, აღნიშნულ სისტემაში ორივე ფრაქციამ დოზადამოკიდებული მოქმედების უნარი გამოავლინა. კერძოდ, მათი ზეგავლენის შედეგად აღინიშნება ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის სტიმულირებაცა და ინჰიბირებაც. ამრიგად, პრეპარატის აქტიური საწყისის ნაწილობრივი გასუფთავებისათვის სპირტული გადალექვის მეთოდი საკმარისი არ აღმოჩნდა. ნათელი გახდა პლაფერონი ლბ-ს აქტიური კომპონენტების იდენტიფიცირებისა და გასუფთავების მიზნით ფრაქციონირების



სტანდა̇რტების ნაკრები

პლაფერონი ლბ

ა



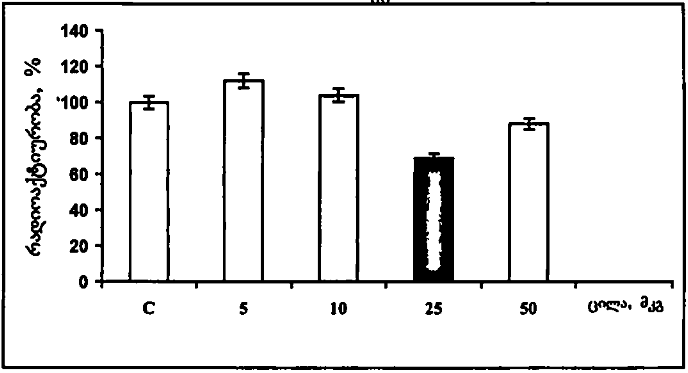
სტანდარტების ნაკრები

პლაფერონი ლბ

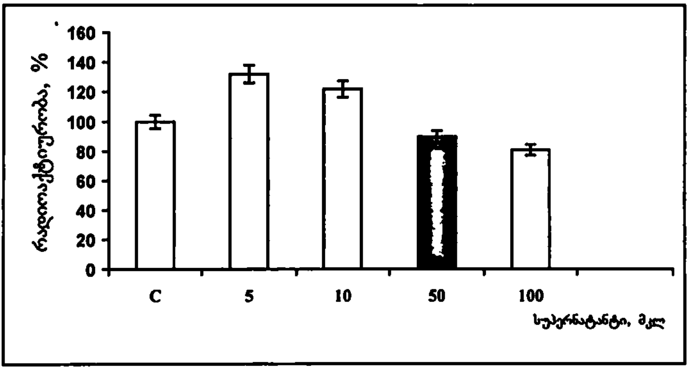
ბ

სურ. 12

SDS-ელექტროფორეზი 5-15% (ა) და 16-30% (ბ) გრადიენტულ გელში (დენსიტოგრამები)



ა)



ბ)

სურ. 13 თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება პლაფერონი ლბ-ს ფრაქციების მოქმედების შედეგად

ა) ცილოვანი ფრაქცია

ბ) სუპერნატანტი

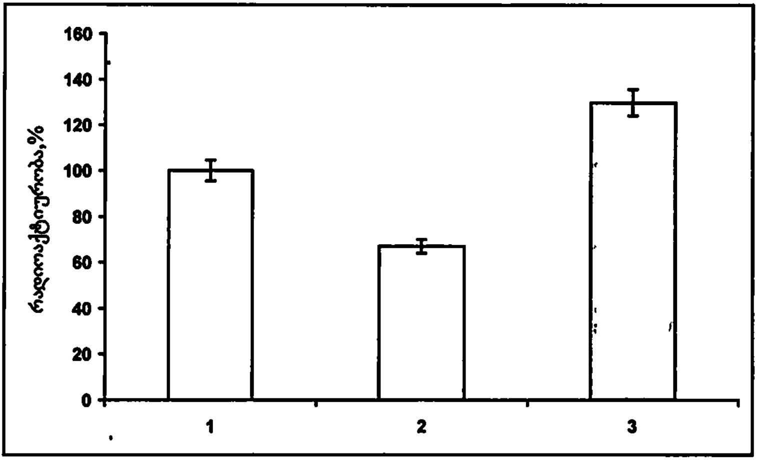
სხვა (ქრომატოგრაფიული) მეთოდების გამოყენების აუცილებლობა. რადგან აღნიშნული საკითხი ჩვენი სამუშაოს ფარგლებს სცილდება, კვლევის შემდგომ ეტაპზე ჩატარებულ ყველა ექსპერიმენტში ისევ ტოტალური კომერციული პრეპარატი იქნება გამოყენებული.

3.2. თეთრი ვირთაგვას დესტრუქციული ღვიძლის უჯრედების ბირთვების სატრანსკრიპციო აპარატზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენის შესწავლა

პლაფერონი ლბ-ს ფარმაკოლოგიურ ეფექტებს შორის ყურადღებას იმსახურებს მისი ჰეპატოპროტექტული მოქმედება, რაც დადგენილი იქნა არაერთი გამოკვლევის შედეგად. ნაჩვენებია, მაგალითად, რომ მწვავე ვირუსული B ჰეპატიტის დროს პრეპარატი ღვიძლის პარენქიმის დაზიანების შემცირებას უზრუნველყოფს (Квитаишвили Г., 1991); ღვიძლის ქრონიკული დაავადებების შემთხვევაში პრეპარატის პოზიტიურ კლინიკურ ეფექტს თან სდევს ღვიძლის ფუნქციური მდგომარეობის ბიოქიმიური მაჩვენებლების გაუმჯობესება (Адамия Е., 1995). CCl_4-ით მოწამლულ ვირთაგვებში ის აბრკოლებს ჰეპატოციტების მიტოქონდრიონების მემბრანიდან ციტოქრომ C-ს გამორეცხვას და განაპირობებს ატფ-ის სინთეზის დონის შენარჩუნებას (Имедидзе Е. и соавт., 1995); პლაფერონი ლბ-ს ჰეპატოპროტექტული ეფექტი შესწავლილია აგრეთვე თირეოიდული ჰორმონების დისბალანსის პირობებში. ნაჩვენებია, რომ ექსპერიმენტული ჰიპო- და ჰიპერთირეოზის დროს პრეპარატი ჰეპატოციტების ანტიოქსიდაციური უნარის შენარჩუნებას და ლიპიდების ზეჟანგვითი ჟანგვის ნორმალიზებას უზრუნველყოფს. ეს ეფექტი გამოხატულებას ჰპოვებს მემბრანების სტაბილიზაციის, უჯრედებში დესტუქციული ცვლილებების შემცირების, ქსოვილის ნორმალური სტრუქტურის შენარჩუნების სახით (რ. რუხაძე, 1999).

ჩვენს მიერ, როგორც უკვე აღვნიშნეთ, დადგენილი იქნა პრეპარატის მასტიმულირებელი ზეგავლენა თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე ნორმალურ ფიზიოლოგიურ პირობებში (თავი3.1.1). ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე, კვლევის შემდგომ ეტაპზე მიზანშეწონილად მივიჩნიეთ შეგვესწავლა აგრეთვე ჰეპატოციტების სატრანსკრიპციო აპარატზე პლაფერონი ლბ-ს მოქმედება ღვიძლის ქსოვილის სხვადასხვა პათოლოგიების დროს.

ღვიძლის უჯრედების ფუნქციური აქტიურობის ცვლილების მიზნით თავდაპირველად გამოვიყენეთ სამედიცინო პრაქტიკაში ფართოდ გამოყენებული ანტიბიოტიკი ქლორამფენიკოლი (ლევომიცეტინი). აღნიშნული პრეპარატი, როგორც ცნობილია, უკავშირდება რიბოსომების 50S-სუბერთეულს და 95%-ით თრგუნავს მიტოქონდრიონების ტრანსლაციას ეუკარიოტულ უჯრედებში (Ленинджер А., 1974; Watson J., 1987). ნაჩვენებია, რომ მიტოქონდრიონების ტრანსლაციის ინჰიბირების გზით პრეპარატი ღვიძლის ქსოვილში დესტრუქციული ცვლილებების წარმოშობას განაპირობებს. აქედან გამომდინარე, ექსპერიმენტების შემდგომ სერიაში ერთი თვის ასაკის (25გრ) ცხოველებს (II ჯგუფი) შვიდი დღის განმავლობაში ჩავუტარეთ ქლორამფენიკოლის ინტრაპერიტონიალური ინექციები (ერთჯერადი დოზა – 2.5მკგ\1კგწონაზე). III ჯგუფის ცხოველებში იგივე დროის განმავლობაში ერთდროულად შეგვყავდა ქლორამფენიკოლი და პლაფერონი ლბ. I ჯგუფში გავაერთიანეთ საკონტროლო (ინტაქტური) ვირთაგვები. მიღებული შედეგები გვიჩვენებს, რომ ქლორამფენიკოლი ჰეპატოციტების ბირთვების რნმ-მასინთეზირებელ აქტიურობაზე დამთრგუნველ (შესაძლოა არაპირდაპირ) ზემოქმედებას ახდენს: II ჯგუფის ცხოველების ღვიძლის ქსოვილიდან იზოლირებულ ბირთვებში მონიშნული წინამორბედის ჩართვის ინტენსიურობა 33%-ით მცირდება კონტროლთან (I ჯგუფი) შედარებით. III ჯგუფის ცხოველების ჰეპატოციტებიდან იზოლირებულ ბირთვებში კი საპირისპირო ეფექტი გამოვლინდა: მათი ტრანსკრიპციული აქტიურობა I ჯგუფთან შედარებით 30%-ით გაიზარდა (სურ.14). ამრიგად, დადგინდა, რომ



სურ.14 თეთრი ვირთაგვას(1 თვის ასაკი) ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-სა და ქლორამფენიკოლის მოქმედების შედარებითი შესწავლა (in vivo)

1. კონტროლი
2. ქლორამფენიკოლი
3. ქლორამფენიკოლი და პლაფერონი ლბ

პლაფერონი ლბ-ს თანაობისას ქლორამფენიკოლი რნმ-ს სინთეზზე დამთრგუნველ ზემოქმედებას ვერ ახდენს. უფრო მეტიც, ამ ჯგუფის ცხოველებში კვლავ ვლინდება ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს მასტიმულირებელი მოქმედება. მიღებული შედეგები უფლებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ პლაფერონი ლბ-ს

ჰეპატოპროტექტული მოქმედების უნარი გენების ექსპრესიის რეგულაციაში მის მონაწილეობასთან არის დაკავშირებული.

. ღვიძლის ქსოვილში დესტრუქციული პროცესების ინდუცირების მიზნით გამოვიყენეთ აგრეთვე თირკმელზედა ჯირკვლების ექსტირპაციის მეთოდი. ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, გლუკოკორტიკოიდების დეფიციტი ღვიძლის ქსოვილში შექცევადი ხასიათის დესტრუქციული ცვლილებების განვითარებას იწვევს (Derenzini M., 1979; Dzidziguri D., et al., 1997). ორმხრივი ადრენალექტომიის კარგად აპრობირებული ექსპერიმენტული მოდელისადმი ჩვენი ინტერესი განპირობებული იყო აგრეთვე იმით, რომ თირკმელზედა ჯირკვლების ექსტირპაციით გამოწვეული ჰორმონალური დისბალანსის პირობებში სამიზნე ქსოვილის უჯრედებში ირღვევა გენების ექსპრესიის რეგულაციის ჰორმონდამოკიდებული მექანიზმი. კერძოდ, სისხლში სტეროიდული ჰორმონების, უპირველეს ყოვლისა კი კორტიზოლის კონცენტრაციის თანდათანობითი შემცირება ღვიძლის უჯრედების ბირთვებში ტრანსკრიპციული აქტიურობის დაქვეითებას იწვევს (Kokrashvili Z., et al., 1995). ტრანსკრიპციული აქტიურობის დათრგუნვა რიბოსომული გენების ექსპრესიის ინაქტივაციით იწყება და გარკვეული დროის შემდეგ ნუკლეოპლაზმურ გენებზეც ვრცელდება. აღნიშნული ცვლილებები ბირთვული და ბირთვაკული ქრომატინის სტრუქტურულ ორგანიზაციაზეც აისახება. ჰორმონალური დისბალანსის პირობებში, როგორც ბიოქიმიური, ასევე მორფოლოგიური მახასიათებლების ცვლილებები მკვეთრად არის გამოხატული ოპერაციიდან მე-4 დღეს (Derenzini M., 1979; ზ.ქოქრაშვილი, 1998). სწორედ ამიტომ აღნიშნულ ვადაზე შევისწავლეთ ჰეპატოციტების ბირთვების

ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება პლაფერონი ლბ-ს ზემოქმედების შემდეგ. ექსპერიმენტული ცხოველები დავყავით სამ ჯგუფად:

I ჯგუფი – ინტაქტური ცხოველები;

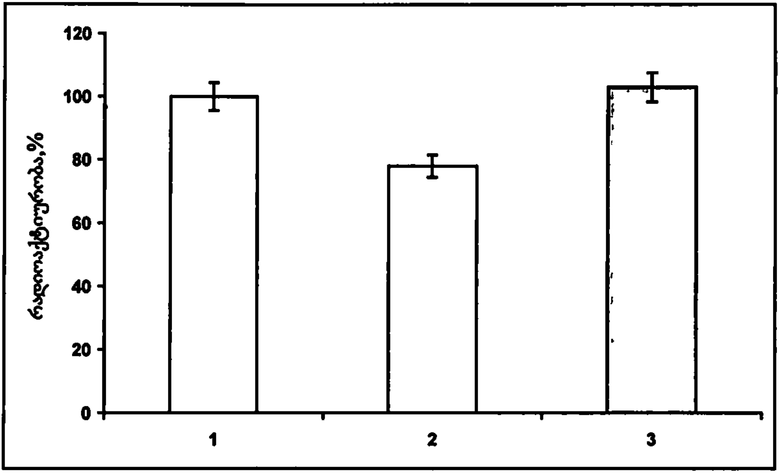
II ჯგუფი – ადრენალექტომირებული ცხოველები;

III ჯგუფი – ადრენალექტომირებული ცხოველები, რომელთაც ოპერაციამდე 1 დღით ადრე, ოპერაციის წინ და შემდგომი 4 დღის განმავლობაში უტარდებოდათ პლაფერონი ლბ-ს i.p. ინექციები.

ჩატარებულმა გამოკვლევამ გვიჩვენა, რომ თირკმელზედა ჯირკვლების ექსტირპაციიდან ოთხი დღის შემდეგ II ჯგუფის ცხოველების ჰეპატოციტების ბირთვების რნმ-მასინთეზირებელი აქტიურობა 22%-ით არის დაქვეითებული I ჯგუფთან შედარებით (სურ.15; 1,2). III ჯგუფის ცხოველებში კი საწინააღმდეგო სურათი აღინიშნება: იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობა მნიშვნელოვნად (32%-ით) აღემატება II ჯგუფის მაჩვენებელს (სურ.15,3).

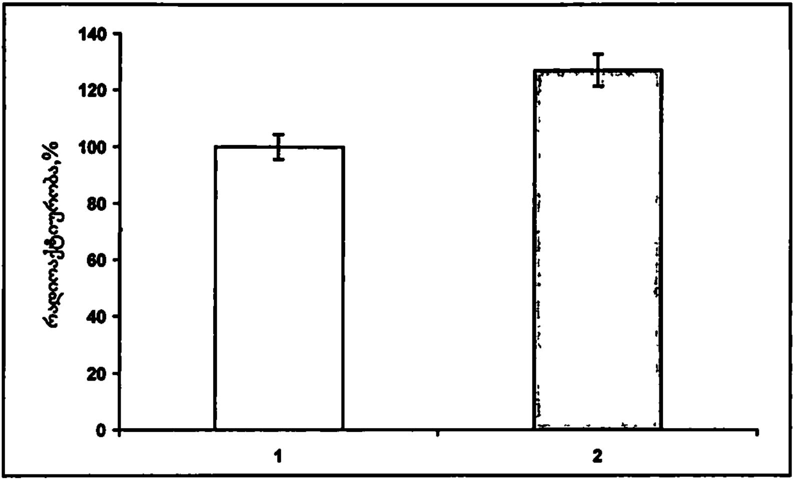
აღსანიშნავია, რომ პლაფერონი ლბ ტრანსკრიპციის სტიმულაციის უნარს *in vitro* სისტემაშიც ავლენს: ორმხრივი ადრენალექტომიიდან ოთხი დღის შემდეგ ვირთაგვას ჰეპატოციტებიდან იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობა 27%-ით იზრდება პრეპარატის ზემოქმედებით (25მკგ ცილა 100მკგ დნმ-ზე გადათვლით) (სურ.16).

. *In vivo* და *in vitro* ექსპერიმენტებით მიღებული შედეგების შეჯერება გვიჩვენებს: 1. ჰორმონალური დისბალანსის პირობებში აღნიშნულ პრეპარატს უნარი აქვს შეფერხოს ჰეპატოციტებში ტრანსკრიპციის ინაქტივაციის პროცესი; 2. მისი ზეგავლენით ხდება დესტრუქციული ღვიძლის უჯრედების ბირთვების რნმ-მასინთეზირებელი აქტიურობის აღდგენა. ამრიგად, თეთრი ვირთაგვას ღვიძლის უჯრედების ბირთვებში რნმ-ის სინთეზის პროცესზე პლაფერონი ლბ-ს მასტიმულირებელი ზეგავლენა არა მხოლოდ ინტაქტურ, არამედ დესტრუქციულ ღვიძლის ქსოვილშიც გამოვლინდა. ღვიძლი, როგორც უკვე აღვნიშნეთ, წარმოადგენს სამიზნე ორგანოს სტეროიდული ჰორმონებისათვის, კერძოდ კი გლუკოკორტიკოიდებისათვის, რომელთა შორის



სურ.15 პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე ჰორმონალური დისბალანსის პირობებში

1. I ჯგუფის ცხოველები
2. II ჯგუფი ცხოველები
3. III ჯგუფი ცხოველები

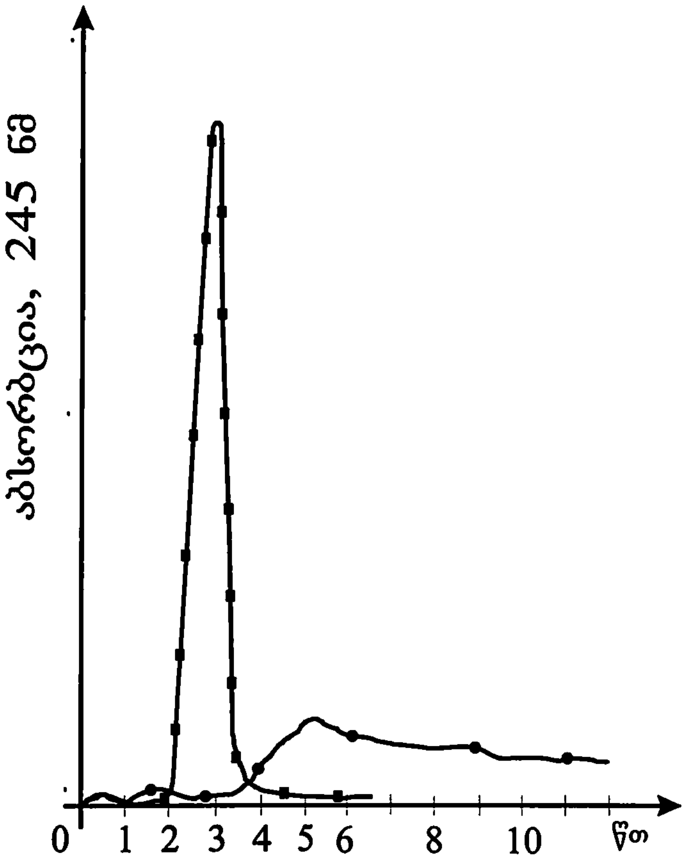


სურ.16 ადრენალექტომირებული თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტების იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება პლაფერონი ლბ-ს მოქმედებით

1. კონტროლი
2 ცდა

ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი კორტიზოლია. ცნობილია, რომ აღნიშნული ჰორმონები მაღალაფინური რეცეპტორების საშუალებით არეგულირებენ სამიზნე გენების ტრანსკრიპციას (Archer T., 1995). ამის საფუძველზე გამოითქვა მოსაზრება, რომ ჰეპატოციტების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა შესაძლებელია მის შემადგენლობაში გლუკოკორტიკოიდების, კერძოდ კი კორტიზოლის არსებობით იყოს განპირობებული. აღნიშნული მოსაზრების შემოწმების მიზნით გამოვიყენეთ მაღალეფექტური თხევადი ქრომატოგრაფიის მეთოდი (Arx E., 1978; Andersson P., 1982) პლაფერონი ლბ-სა და ჰიდროკორტიზონის (ფარმაკოლოგიური პრეპარატი) შესადარებლად. გამოვლინდა, რომ სეპარონ C_{18}-სვეტზე ჰიდროკორტიზონის შეკავების დროა 3 წთ და 5 წმ. დროის ამ მონაკვეთში პლაფერონი ლბ-ს ქრომატოგრამაზე ჰიდროკორტიზონისათვის დამახასიათებელი პიკი არ აღინიშნება. (სურ.17). ეს შედეგები უფლებას გვაძლევს გამოვრიცხოთ კორტიზოლის არსებობა პლაფერონი ლბ-ს შემადგენლობაში. ამის სასარგებლოდ მეტყველებს აგრეთვე ლიტერატურული მონაცემები ემბრიონალური განვითარების პერიოდში ჰორმონების სინთეზის ადგილის შესახებ. პლაცენტის ჰორმონები სინთეზირდება სინციტიო - და ციტოტროფობლასტში; აგრეთვე დეციდუალურ ქსოვილში. კორტიზოლი ძირითადად პროდუცირდება ნაყოფის ღვიძლსა და თირკმელზედა ჯირკვლების მიერ (Савельева Г., 1991). პლაფერონი ლბ-ს შემადგენლობაში სტეროიდული ჰორმონების არსებობას (მათი წყალში უხსნადობის გამო) პრეპარატის მიღების ტექნოლოგიური პროცესიც გამორიცხავს.

ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარეობს, რომ პლაფერონ ლბ-ს უნარი აქვს შეაფერხოს დესტრუქციული ღვიძლის უჯრედებში ტრანსკრიპციის ინაქტივაციის პროცესი, რაც არ არის განპირობებული პრეპარატში გლუკოკორტიკოიდების, კერძოდ კი კორტიზოლის არსებობით.



სურ.17 ჰიდროკორტიზონისა (■) და პლაფერონი ლბ-ს (●) ქრომატოგრამები

3.3. ფიზიოლოგიური და რეპარაციული ზრდის მაკონტროლებელი გენების ექსპრესიაზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენის შესწავლა

ეუკარიოტული უჯრედების პროლიფერაცია საფუძვლად უდევს ისეთ სასიცოცხლო მოვლენებს, როგორიცაა ფიზიოლოგიური და რეპარაციული ზრდა. ცნობილია აგრეთვე, რომ პროლიფერაციული აქტიურობის რეგულაციის დარღვევა სხვადასხვა სახის პათოლოგიების, მათ შორის ონკოლოგიური დაავადებების განვითარებას განაპირობებს (Belanger C., 1990). აქედან გამომდინარე უჯრედების გამრავლების რეგულაციის მოლეკულური მექანიზმებისა და მასში მონაწილე ენდოგენური ფაქტორების შესწავლას განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება.

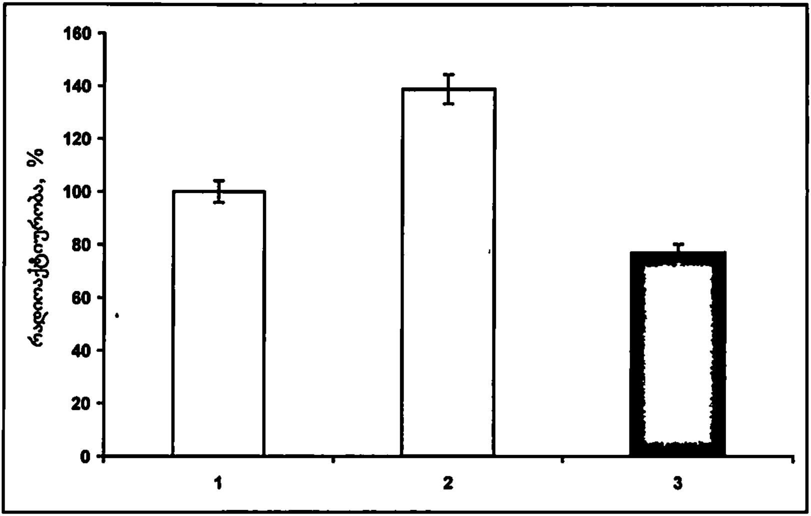
მრავალრიცხოვანი გამოკვლევების მიუხედავად, დღემდე არ არის საბოლოოდ დადგენილი, განსხვავდება თუ არა ფიზიოლოგიური და ინდუცირებული პროლიფერაციის მაკონტროლებელი მექანიზმები (Карлсон Б., 1986). განსაკუთრებით აქტუალურია პროლიფერირებად უჯრედებში გენების პირველადი აქტიურობის მარეგულირებელი მექანიზმების დადგენა, რადგანაც გენების ექსპრესიის კორექტული რეგულაცია ორგანიზმის ჰომეოსტაზის შენარჩუნებას უზრუნველყოფს. ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე შევისწავლეთ გენების ექსპრესიაზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა როგორც ფიზიოლოგიური, ისე რეპარაციული ზრდის პირობებში.

პროლიფერირებადი უჯრედების სატრანსკრიპციო აპარატზე აღნიშნული პრეპარატის მოქმედების შესწავლის მიზნით თავდაპირველად გამოვიყენეთ პოსტნატალური ზრდის საწყის ეტაპზე მყოფი ცხოველები. კერძოდ, 30-დღიან თეთრ ვირთაგვებში 5 დღის განმავლობაში ინტრაპერიტონიალურად შეგვყავდა პლაფერონი ლბ (0,1მგ ცილა 1კგ წონაზე). ხუთი დღის შემდეგ ღვიძლისა და თირკმლის უჯრედებიდან მოვახდინეთ ბირთვების იზოლირება. ჩავატარეთ ინტაქტური (I ჯგუფი) და

პრეპარატით ინექცირებული (II ჯგუფი) ცხოველების შესაბამის ქსოვილებში ბირთვების რნმ-მასინთეზირებელი აქტიურობის ინტენსიურობის ცვლილების შედარებითი ანალიზი. დადგინდა, რომ ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობა II ჯგუფის ცხოველებში 39%-ით აღემატება საკონტროლო მაჩვენებელს (სურ.18,2). ამავე ჯგუფის ცხოველებში გამოვლინდა თირკმლის ეპითელიოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს მაინჰიბირებელი ზეგავლენა. აღმოჩნდა, რომ ამ შემთხვევაში მონიშნული წინამორბედის მჟავაში უხსნად ფრაქციაში ჩართვა კონტროლთან შედარებით 23%-ით მცირდება (სურ.18,3). მსგავსი შედეგები მიღებული იყო *in vitro* სისტემაშიც. ჰეპატოციტებიდან იზოლირებული ბირთვების ტესტ-სისტემაში პლაფერონი ლბ-ს დამატების შემდეგ მათი ტრანსკრიპციული აქტიურობა იზრდება (10%-ით), ხოლო ნეფროციტების რნმ-მასინთეზირებელი აქტიურობა თითქმის არ იცვლება პრეპარატის იგივე დოზის ზემოქმედებით (სურ.19).

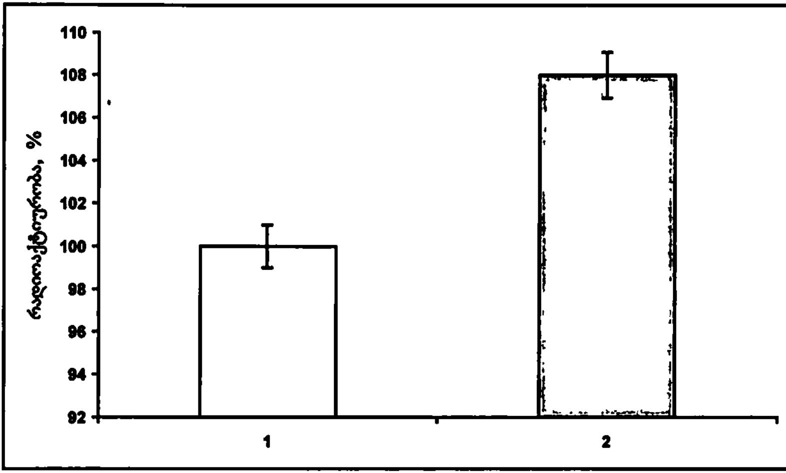
მიღებული შედეგები გვიჩვენებს, რომ პოსტნატალური განვითარების საწყის ეტაპზე (მოზარდ ორგანიზმში) პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების შედეგად სხვადასხვა სახის უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება ისეთივე ხასიათს ატარებს, როგორც ზრდასრულ ცხოველებში. ტრანსკრიპციის მარეგულირებელ მრავალრიცხოვან ფაქტორთა შორის, როგორც უკვე აღვნიშნეთ (თავი3.1.2.), ქსოვილსპეციფიკური ფაქტორების ოჯახებიც არის იდენტიფიცირებული. ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარეობს, რომ სხვადასხვა ტიპის უჯრედებში ბირთვების რნმ-მასინთეზირებელ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს ურთიერთსაწინააღმდეგო ეფექტები როგორც მზარდი, ასევე ზრდასრული ვირთაგვას უჯრედებში სპეციფიკური გენების ექსპრესიაზე მისი ზეგავლენით შეიძლება აიხსნას.

პროლიფერაციის მაკონტროლებელი გენების ექსპრესიის თავისებურებების შესასწავლად ფართოდ გამოიყენება აღდგენითი ანუ რეპარაციული ზრდის ექსპერიმენტული მოდელები. ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, ადამიანის პლაცენტის ექსტრაქტი (HPE)



სურ. 18 პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა (in vivo) თეთრი ვირთაგვას სხვადასხვა ქსოვილების უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პოსტნატალური განვითარების საწყის ეტაპზე

1. კონტროლი
2. ღვიძლის უჯრედების ბირთვები
3. თირკმლის უჯრედების ბირთვები



სურ.19 პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა (in vitro) თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პოსტნატალური განვითარების საწყის ეტაპზე

1. კონტროლი
2. ცდა

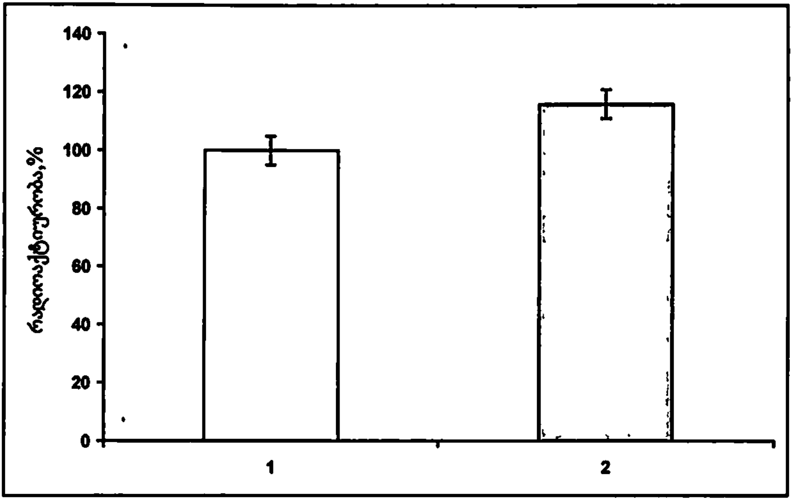
astimulirebs ღვიძლის რეგენერაციას ვირთაგვებში ალფა-ნაფტილიზოთიოციანიტის ინტრაპერიტონიალური ინექციის შემდეგ. ავტორებმა შესძლეს ეჩვენებინათ, რომ პლაცენტის ექსტრაქტის აღნიშნული ზემოქმედება არ არის დაკავშირებული მასში ჰეპატოციტების ბირთვული ფაქტორის არსებობასთან. დადგენილი იქნა, რომ HPE სრულიად ასწორებს ალფა-ნაფტილიზოთიოციანიტით გამოწვეულ ბიოქიმიურ დარღვევებს, თუმცა არაფერი არ არის ცნობილი HPE-ს მოქმედების მექანიზმების შესახებ (Liu K., et all; 1998).

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ აღდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე ძუძუმწოვრების რეგენერირებადი ღვიძლის უჯრედების ბირთვებში გენების ექსპრესიის სწრაფი რეპროგრამირება ხდება (Hallahan, D. 1995). ღვიძლის ქსოვილის მაგალითზე დადგენილია, რომ ნაწილობრივი ჰეპატექტომიის შემდეგ ადგილი აქვს ზრდის მაკონტროლებელი გენების ექსპრესიის აქტივაციას. ოპერაციიდან პირველი ოთხი საათის განმავლობაში გენების კასკადური აქტივაცია ე.წ. დაუყოვნებელი ადრეული პასუხის გენების ("immediate early genes") ექსპრესიით იწყება. მათ მიეკუთვნება jun და foc პროტოონკოგენები, რომელთა პროდუქტები (ტრანსკრიპციის ფაქტორები) ინდუცირებენ დაყოვნებული ადრეული პასუხის გენების ("delayed early genes") ექსპრესიას ოპერაციიდან მე-6 სთ-ზე. თავდაპირველად ცნობილი იყო, რომ გენების ამ ჯგუფს მიეკუთვნება p53 და c-ras. შემდგომში გამოვლენილი იქნა კიდევ 12 გენი, რომელთა ექსპრესია აღნიშნულ ვადაზე 1,5-10,4-ჯერ ძლიერდება. მათ შორისაა რიბოსომული გენებიც (Groenink M., 1999). პროლიფერაციული სტიმულის საპასუხოდ თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტების ბირთვებში რიბოსომული გენების აქტივაცია ნაწილობრივი ჰეპატექტომიიდან მე-6 სთ-ზე არაერთი ავტორის მიერ არის ნაჩვენები (Платонов О., 1980; Farkas R, 1995; დ.ძიძიგური, 1997). აღნიშნული ჯგუფის გენების ("delayed early genes") ექსპრესიაზე პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების შესწავლის მიზნით ნაწილობრივი ჰეპატექტომიიდან მე-6 სთ-ზე მოვახდინეთ პროლიფერაციისადმი სტიმულირებული ღვიძლის ქსოვილიდან ბირთვების იზოლირება. *in vitro*

სისტემაში ჩატარებული გამოკვლევით დადგინდა, რომ მათი ტრანსკრიპციული აქტიურობა პრეპარატის ზემოქმედების შედეგად 16%-ით იზარდება (სურ.20).

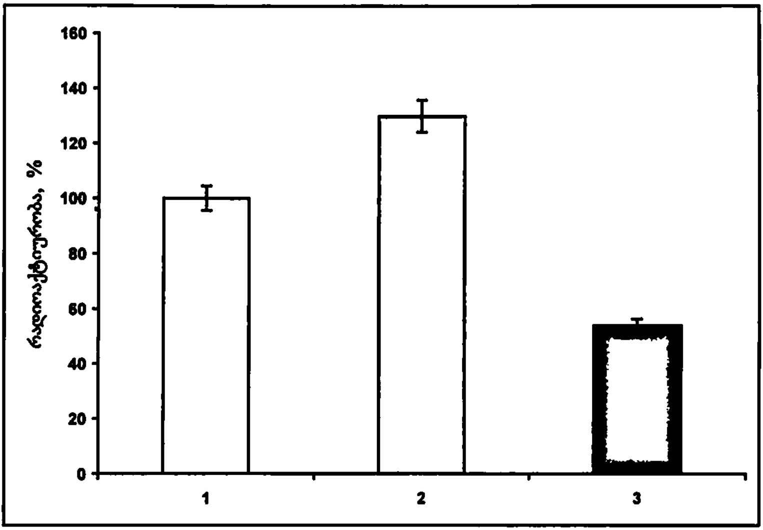
ოპერაციიდან მე-6 სთ-ზე ტრანსკრიპციული აქტიურობის გაძლიერება აღინიშნება აგრეთვე პლაფერონი ლბ-ს წინასწარი, 5-დღიანი i.p. ინექციის შემდეგ. ინტაქტურთან შედარებით, პრეპარატით ინექცირებული ცხოველების ღვიძლის უჯრედების ბირთვებში ტრანსკრიპციული აქტიურობა 30%-ით იზრდება (სურ.21,2). აღსანიშნავია, რომ უშუალოდ დაუყოვნებელი პასუხის გენების ექსპრესიაზე ზემოქმედების მიზნით, კვლევის შემდგომ ეტაპზე შევცვალეთ პლაფერონი ლბ-ს ინექციების დრო. კერძოდ, პრეპარატი ცხოველებში შეგვყავდა სამჯერ: ოპერაციამდე 1 სთ-ით ადრე, ოპერაციის დროს და 1 სთ-ის შემდეგ. ექსპერიმენტების ამ სერიაში პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების საწინააღმდეგო ეფექტი გამოვლინდა. კერძოდ, ტრანსკრიპციული აქტიურობის პიკი (მე-6 სთ) 46%-ით დაქვეითდა (სურ.21,3).

ლიტერატურულ მონაცემებზე დაყრდნობით გამოითქვა მოსაზრება, რომ პრეპარატის აღნიშნული ეფექტი "immediate early" გენების ექსპრესიაზე მისი ზემოქმედებით არის განპირობებული. ამ მოსაზრების შესამოწმებლად პლააფერონი ლბ-ს მოქმედება შევადარეთ აღნიშნული კლასის გენების ექსპრესიის ცნობილი ინჰიბიტორების – კორტიზოლისა და დოქსორუბიცინის მოქმედებას. კორტიზოლი, როგორც ცნობილია ინტაქტურ ჰეპატოციტებში რიბოსომული გენების აქტივაციას იწვევს; ზრდის მაკონტროლებელი გენების ექსპრესიაზე კი ციტოსტატიკური ზემოქმედებით ხასიათდება (Herrlich P., et al., 1994, Helmberg A., et al., 1995, Sanchez I., et al., 1995). კარგად არის შესწავლილი აგრეთვე c-foc და c-jun გენების ექსპრესიზე დოქსორუბიცინის მაინჰიბირებელი მოქმედება (Lippincott W., 1998). აქედან გამომდინარე, დაუყოვნებელი გენების ინაქტივაციის მიზნით, ჰეპატექტომირებულ ცხოველებს ჩავუტარეთ კორტიზოლის 3-ჯერადი (ოპერაციამდე 1 სთ-ით ადრე, ოპერაციის დროს და 1 სთ-ის მერე – სულ 30მგ) და დოქსორუბიცინის ერთჯერადი (0,9მგ ოპერაციის შემდეგ) ინექციები. ტრანსკრიპციულ აქტიურობას ვსაზღვრავდით



სურ.20 პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა (in vitro) თეთრი ვირთაგვას პროლიფერაციისადმი სტიმულირებული ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე

1. ნაწილობრივი ჰეპატექტომია (მე-6 სთ)
2. ნაწილობრივი ჰეპატექტომია (მე-6 სთ.) + პალფერონი ლბ

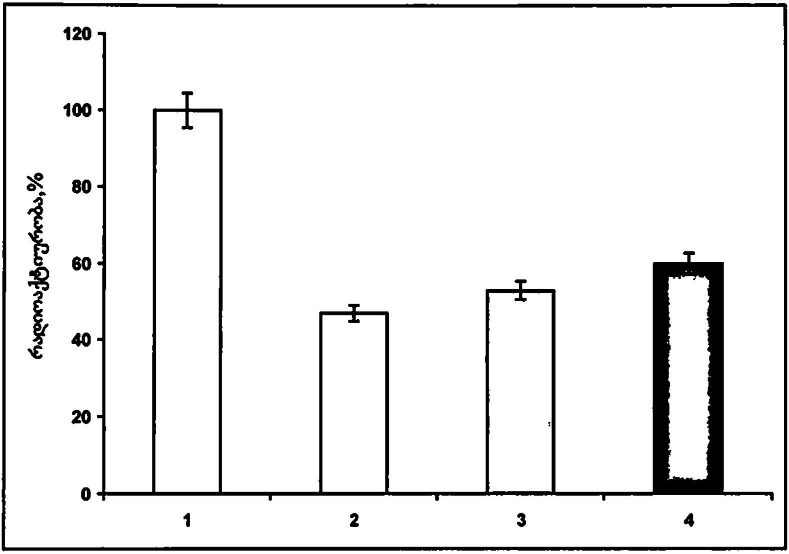


სურ.21 პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა (in vivo) თეთრი ვირთაგვას რეგენერირებადი ღვიძლის უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე

1. კონტროლი (ნაწილობრივი ჰეპატექტომია, მე-6 სთ.)
2. პრეპარატის 5-დღიანი ინექცია
3. პრეპარატის 3-ჯერადი ინექცია (ოპერაციამდე 1 სთ-ით ადრე, ოპერაციის დროს და 1სთ-ის შემდეგ)

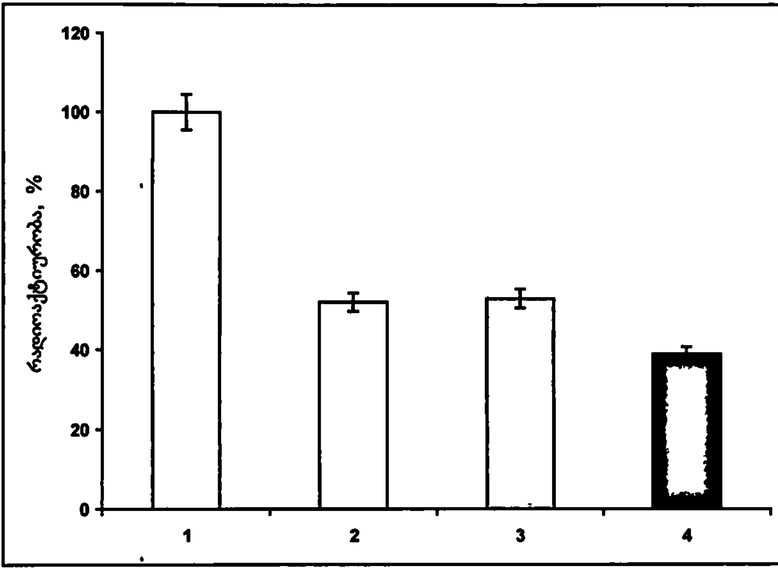
ღვიძლის ნაწილობრივი რეზექციიდან მე-6 საათზე. დადგინდა, რომ კორტიზოლის, ისევე როგორც დოქსორუბიცინის ინექციების შემდეგ ჰეპატოციტების ტრანსკრიპციული აქტიურობა დაახლოებით 50%-ით მცირდება (სურ.22,2; და სურ.23,2), რაც იმაზე მიუთითებს, რომ აღდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე ადრეული პასუხის დაუყოვნებელი გენების ექსპრესიის ინაქტივაციის გზით დაყოვნებული გენების ტრანსკრიპციული აქტიურობის დათრგუნვა ხდება. იგივე ექსპერიმენტული მოდელის პირობებში აღმოჩნდა, რომ ინჰიბირების ეფექტი ვლინდება აგრეთვე პლაფერონი ლბ-სა და თითოეული ამ პრეპარატის ერთდროული შეყვანის შემთხვევაშიც. კერძოდ, პლაფერონი ლბ-სა და კორტიზოლის ერთობლივი მოქმედების შემთხვევაში ინჰიბიციის ეფექტი 40%-ს შეადგენს (სურ.22,4), რაც რამდენადმე ნაკლებია ცალკეული ამ ნივთიერების მიერ გამოწვეულ ეფექტთან შედარებით. პლაფერონი ლბ-სა და დოქსორუბიცინის ერთობლივი მოქმედების შემთხვევაში კი ინჰიბიციის ეფექტი უფრო ძლიერადაა გამოხატული: ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობა 61%-ით მცირდება კონტროლთან შედარებით (სურ.23,4). ამრიგად, ჩატარებული გამოკვლევებით დადგინდა, რომ ადამიანის პლაცენტის ამნიონური გარსიდან მიღებული პრეპარატი, პლაფერონი ლბ ჰეპატოციტების ბირთვებში სხვადასხვა ჯგუფის გენების აქტიურობაზე განსხვავებულ ზეგავლენას ახდენს. კერძოდ, მისი მასტიმულირებელი ეფექტის განმსაზღვრელი საწყისი რიბოსომული გენების ტრანსკრიპციის სტიმულაციას იწვევს. ამავე დროს, პრეპარატი პროტოონკოგენების გარკვეული ჯგუფის ექსპრესიის ინჰიბირების უნარით ხასიათდება, რაც კარგად გამოვლინდა რეგენერირებადი ღვიძლის ექსპერიმენტულ მოდელზე.

პროლიფერაციული აქტიურობის მიხედვით თირკმლის ქსოვილი მნიშვნელოვნად განსხვავდება ღვიძლისაგან. წყვილი ორგანოდან ერთ-ერთის ამოკვეთის შემდეგ თირკმლის ქსოვილის აღდგენა ძირითადად ჰიპერტროფიის (მისი კომპენსატორული ფორმის) ხარჯზე ხდება (Bonvalent J., 1972; Карлсон Б., 1986). ორგანოს დარჩენილი ნაწილის ნეფროციტები დაბალი პროლიფერაციული აქტიურობით ხასიათდება. მიტოზური აქტიურობის



სურ.22 თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-სა და კორტიზოლის მოქმედების შედარებითი შესწავლა

1. კონტროლი (ნაწილობრივი ჰეპატექტომია, მე-6 სთ.)
2. კორტიზოლის 3-ჯერადი ინექცია
3. პლაფერონი ლბ-ს 3-ჯერადი ინექცია
4. კორტიზოლისა და პლაფერონი ლბ-ს ერთდროული ინექცია

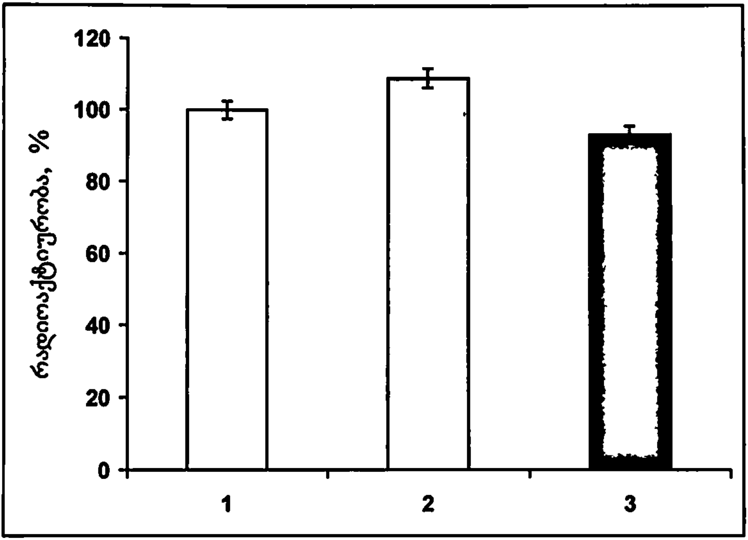


სურ.23 თეთრი ვირთაგვას ჰეპატოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-სა და დოქსორუბიცინის მოქმედების შედარებითი შესწავლა

1. კონტროლი (ნაწილობრივი ჰეპატექტომია, მე-6 სთ.)
2. დოქსორუბიცინის 1-ჯერადი ინექცია
3. პლაფერონი ლბ-ს 3-ჯერადი ინექცია
4. დოქსორუბიცინის და პლაფერონი ლბ-ს ერთდროული ინექცია

მაქსიმალური მნიშვნელობა ღვიძლის ქსოვილთან შედარებით 16 საათით გვიან, ოპერაციიდან 48 სთ-ზე ვლინდება (Саламатина., 1975). ტრანსკრიპციული აქტიურობის პირველი პიკი ცალმხრივი ნეფრექტომიის შემდეგ მე-6 სთ-ზე აღინიშნება (დ.ძიძიგური, 1997). თუმცა აღსანიშნავია, რომ ამ შემთხვევაში რნმ-მასინთეზირებელი აქტიურობა ღვიძლის ქსოვილთან შედარებით გაცილებით დაბალია.

კვლევის შემდგომ ეტაპზე შევისწავლეთ პლაფერონის გავლენა ნეფროციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე ცალმხრივი ნეფრექტომიიდან 6 სთ-ის შემდეგ. როგორც აღმოჩნდა, 5 დღის განმავლობაში პრეპარატის i.p. ინექცია იწვევს ნეფროციტების ბირთვების რნმ-მასინთეზირებელი აქტიურობის უმნიშვნელო გაზრდას (9%-ით), 3-ჯერადი ინექცია კი (ოპერაციამდე 1 სთ-ით ადრე, ოპერაციის დროს და 1 სთ-ის მერე) ასევე უმნიშვნელო დაქვეითებას (7%-ით) დროის აღნიშნული მომენტისათვის (სურ.24). ცნობილია, რომ ჰეპატოციტების ბირთვებში ოპერაციიდან მე-6 სთ-ზე ტრანსკრიპციული აქტიურობის მომატება ბირთვაკული აქტიურობის გაზრდით არის განპირობებული, ამის მაჩვენებელია ერთის მხრივ, რნმ- პოლიმერაზას I ფორმის აქტიურობის მატება და მეორეს მხრივ, მატრიცაზე გ-ც წყვილებით მდიდარი უბნების დემასკირება (ასეთი უბნები ჭარბად არის წარმოდგენილი ბირთვაკებში) (Dzidziguri D. et al., 1994). ცალმხრივი ნეფრექტომიდან მე-6 სთ-ზე პროქსიმალური მილაკის ეპითელიოციტებში ბირთვების ულტრასტრუქტურული ცვლილებებისა და დნმ-აზა I-ადმი მგრძნობელობის შესწავლის შედეგად დადგენილია, რომ აქ რ-რნმ-ის სინთეზის დონე დაბალია და ძირითადად ნუკლეოპლაზმური სინთეზის ინტენსიფიკაცია ხდება (ეჩერქეზია, 1995). ჩვენის აზრით, სწორედ ამ განსხვავებით შეიძლება აიხსნას ის, რომ პლაფერონ ლბ-ს მოქმედების ინტენსიურობა გაცილებით მცირეა ნეფროციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე, ჰეპატოციტებთან შედარებით.



სურ.24 პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა ნეფრექტომირებული თეთრი ვირთაგვას თირკმლის უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე

1. კონტროლი (ცალმხრივი ნეფრექტომია, მე-6სთ.)
2. პლაფერონი ლბ-ს 5-დღიანი ინექცია
3. პლაფერონი ლბ-ს 3-ჯერადი ინექცია

პლაფერონი ლბ, როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ადამიანის ამნიონური გარსიდან მიღებული პრეპარატია. ადამიანის ექსტრაემბრიონული ქსოვილები კი მდიდარია ზრდის ფაქტორებითა და ციტოკინებით. მათ შორისაა ღვიძლის რეგენერაციაში მონაწილე ფაქტორები: ჰეპატოციტების ზრდის ფაქტორი (HGF) (Stewart F., 1996), სისხლძარღვების ენდოთელური ზრდის ფაქტორი (VEGF) (Lyall F., 1997), ეპიდერმისის ზრდის ფაქტორი (EGF) (Faxen M., 1998, Masuyama H., 1996), მატრანსფორმირებელი ზრდის ფაქტორი–ბეტა (TGF-β) (Beleux C., et al., 1995), ინტერლეიკინები (Shimoya K., et al., 1999); ამიტომ შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ სწორედ რომელიმე ამ ფაქტორის შემცველობა განაპირობებს პრეპარატის გავლენას გენების ექსპრესიაზე აღდგენითი ზრდის საწყის პერიოდში.

3.4. ადამიანის სიმსივნური ქსოვილების უჯრედებში ბირთვების სატრანსკრიპციო აპარატზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენის შესწავლა

მოლეკულურ-ბიოლოგიური კვლევის მეთოდების განვითარებამ ეუკარიოტული ორგანიზმების მრავალრიცხოვანი გენების ფუნქციური ჯგუფების გამოყოფის საშუალება შექმნა. ერთ-ერთ ასეთ ჯგუფში გაერთიანებული გენები, რომლებიც პროტოონკოგენების სახელწოდებით არიან ცნობილი, მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ნორმალური უჯრედების ზრდის, პროლიფერაციისა და დიფერენცირების პროცესებში. პროტოონკოგენების ფუნქციები განპირობებულია მათ მიერ კოდირებული პროდუქტებით, რომლებიც უჯრედის სასიგნალო გზების სხვადასხვა კომპონენტებს წარმოადგენენ (Moroianu J., et al., 1994 Rana B., et al., 1995).

თანამედროვე შეხედულებების თანახმად, გზა სასიგნალო მოლეკულიდან სამიზნე გენამდე სქემატურად შეიძლება ასე გამოისახოს:

ზრდის ფაქტორი ურთიერთქმედებს რა შესაბამის რეცეპტორთან უჯრედის პლაზმურ მემბრანაზე, იწვევს სიგნალის გადაცემას უჯრედის შიგნით; შემდგომ მთელი რიგი გადამცემი ცილების (ras) საშუალებით ხდება სიგნალის გადატანა ციტოპლაზმიდან ბირთვში, სადაც აქტიურდება ტრანსკრიპციის ფაქტორები; აღნიშნული ბირთვული ფაქტორები ტრანსკრიპციის დონეზე აკონტროლებენ გენების ექსპრესიას; ამის შედეგია იმ ცილების სინთეზი, რომლებიც განაპირობებენ უჯრედის ზრდასა და გამრავლებას (Георгиев Г., 1998). აღწერილი სასიგნალო გზის ნებისმიერ საფეხურზე გენის დაზიანება ხელსაყრელ პირობებს ქმნის უჯრედების არაკონტროლირებადი გამრავლებისათვის. კერძოდ, მუტაციის შედეგად ადგილი აქვს პროტოონკოგენის ონკოგენად გარდაქმნას; ონკოგენის აქტივაცია სუპრესორული გენების ინაქტივაციასთან ერთად საფუძველს ქმნის სიმსივნის განვითარებისათვის. დღეისათვის გამოვლენილია 100-ზე მეტი სხვადასხვა გენი და ცილა, რომლებიც მონაწილეობს ნორმალური უჯრედის სიმსივნურ უჯრედად ტრანსფორმირემაციის პროცესში (Block L. et al., 1995). ამრიგად, ეჭვს, აღარ იწვევს, რომ სიმსივნე გენეტიკური დაავადებაა და მისთვის დამახასიათებელი უჯრედების არაკონტროლირებადი პროლიფერაცია გენების ექსპრესიის ცვლილებით არის განპირობებული. ეს კი თავის მხრივ მიზანშეწონილს ხდის გენური თერაპიის მეთოდების გამოყენებას აღნიშნული დაავადების მკურნალობისათვის.

პლაფერონი ლბ-ს მრავალრიცხოვან ეფექტებს შორის ჩვენი ყურადღება მიიქცია მისმა ანტიპროლიფერაციული მოქმედების უნარმა (Бахуташвили А. 1991, Купрадзе С., 1995). კერძოდ, შესწავლილია აღნიშნული პრეპარატის მოქმედება ადამიანის სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაციულ აქტიურობაზე მონიშნული ნუკლეოტიდის (H^3-თიმიდინის) გამოყენებით. დადგენილია, რომ პლაფერონი ლბ სხვადასხვა ტიპის სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაციას 20-50%-ით თრგუნავს. ზოგიერთი ქიმიოთერაპიული პრეპარატისა და პლაფერონი ლბ-ს კომბინირებული გამოყენების გზით კი მიღწეული იყო საუკეთესო შედეგი (100%-იანი

ინჰიბირება). ცნობილია, რომ პროლიფერაციის მაკონტროლებელ მექანიზმებს შორის განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია გენების პირველადი აქტიურობის დონეზე მიმდინარე პროცესები. ტრანსკრიპციის პროცესზე პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა, როგორც უკვე აღვნიშნეთ, გამოვლენილი იყო თეთრი ვირთაგვას სხვადასხვა ქსოვილების ინტაქტურ და პროლიფერირებად უჯრედებში. კერძოდ, დადგენილი იყო, რომ აღდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე პრეპარატი დამთრგუნველ ზეგავლენას ახდენს პროლიფერაციის მაკონტროლებელი გენების ექსპრესიაზე.

ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე, მიზანშეწონილად მივიჩნიეთ შეგვესწავლა აღნიშნული პრეპარატის ზეგავლენა ადამიანის პროლიფერირებადი უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე ნეოპლაზიური ზრდის პროცესში. ამ მიზნით კვლევის პირველ ეტაპზე გამოვიყენეთ პოსტოპერაციული მასალა, რომელიც აღებული იყო ნეიროქირურგიული პროფილის ხუთი პაციენტიდან პ.სარაჯიშვილის სახ. ნევროლოგიის ინსტიტუტში. ცენტრალური ნერვული სისტემის (ცნს) სიმსივნური ქსოვილების უჯრედებიდან ბირთვების იზოლირება მოვახდინეთ ზემოთ აღწერილი მეთოდით (თავი 2), რის შემდეგაც შევისწავლეთ იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება *in vitro* პლაფერონი ლბ-ს მოქმედებით. ცხრილიდან ჩანს, რომ ყველა განხილულ შემთხვევაში სიმსივნური უჯრედებიდან იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობა პრეპარატის ზეგავლენით ითრგუნება საშუალოდ 15-30%-ით (ცხრილი 1). ადამიანის ცნს-ის ინტაქტური უჯრედების ბირთვების სატრანსკრიპციო აპარატზე პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების შეფასება არ აღმოჩნდა ჩვენი შესაძლებლობის ფარგლებში ასეთი მასალის უქონლობის გამო. ამასთან დაკავშირებით ინტერესს მოკლებული არ იქნება გავიხსენოთ, რომ თეთრი ვირთაგვას თავის ტვინის ინტაქტური უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პრეპარატის იგივე დოზა მასტიმულირებელ ზეგავლენას ახდენს *in vitro* სისტემაში (თავი 3.1.2).

ცხრილი 1.

ადამიანის ცნს-ის სიმსივნური ქსოვილების უჯრედებიდან იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება პლაფერონი ლბ-ს ზემოქმედებით

№	პაციენტი	დიაგნოზი	ინჰიბირება, %-ით
1	ხ.ჩ., 23წ.	ჰერმინომა	15
2	ბ.მ., 45წ.	მენინგიომა	20
3	ო.ბ., 37წ.	ოლიგოასტროციტომა	20
4	ი.ა., 61წ.	ეპითელური ბუნების ავთვისებიანი სიმსივნე, მეტასტაზი	30
5	ა.გ., 24წ.	ქონდროსარკომა	14

უკანასკნელი ორი წლის განმავლობაში მნიშვნელოვანი პროგრესი აღინიშნება თირკმლის კიბოს მოლეკულური საფუძვლების შესწავლის საქმეში. დადგენილია მაგალითად, რომ თირკმლის ნათელუჯრედოვანი კიბოს განვითარებაში (ანგიოგენეზში) მნიშვნელოვან როლს ასრულებს pVHL (von Hippel-Lindan) სუპრესორი; Wilm-ის სიმსივნის (ნეფრობლასტომა) პათოგენეზში მონაწილეობს WT1-სუპრესორი; ჰეპატოციტების ზრდის ფაქტორის (Cohen H., 1999) რეცეპტორის მაკოდირებელი c-met-გენი კი აღმოჩნდა მემკვიდრული პაპილარული თირკმლის კიბოს გამომწვევი (Pisters L. et al., 1997). თირკმლის უჯრედების კარცინომის შემთხვევები საგრძნობლად გაიზარდა ბოლო რამოდენიმე ათწლეულში (38%-ით 1974 წლიდან 1990 წლამდე) და ამჟამად მეშვიდე ადგილზეა სიმსივნეებს შორის. ციტოტოქსიური ქიმიოთერაპია მკურნალობის არასახარბიელო მეთოდად არის მიჩნეული, ხოლო პირველ ეფექტურ იმუნოთერაპიულ საშუალებად შემოთავაზებულია ინტერლეიკინ-2 (Figlin R., 1999).

თირკმლის სიმსივნის გენეტიკური მექანიზმების შესწავლის საფუძველზე მიმდინარეობს ახალი თერაპიული მიდგომების ძიების ცდები. ამდენად, პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენის შესწავლა ადამიანის თირკმლის უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე ნეოპლაზიური ზრდის პერიოდში აქტუალურ საკითხად მივიჩნიეთ. ამ მიზნით კვლევის შემდგომ ეტაპზე გამოვიყენეთ 7 პაციენტის პოსტოპერაციული მასალა, რომელიც აღებული იყო ა.წულუკიძის სახ. უროლოგიის ინსტიტუტში. აქედან 4 პაციენტის დიაგნოზი იყო ნათელუჯრედოვანი კიბო. აღნიშნული პაციენტების თირკმლის სიმსივნური ქსოვილებიდან მოვახდინეთ ბირთვების იზოლირება და შევისწავლეთ მათი ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება in vitro სისტემაში პლაფერონი ლბ-ს ზემოქმედებით. დადგინდა, რომ ოთხი გამოკვლეული შემთხვევიდან სამ შემთხვევაში ტრანსფორმირებული უჯრედებიდან იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობა პლაფერონი ლბ-ს ზემოქმედების შედეგად ინჰიბირდება 10-30%-ით (ცხ. 2).

ცხრილი №2

ადამიანის თირკმლის არასიმსივნური და სიმსივნური უჯრედებიდან იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის ცვლილება პლაფერონი ლბ-ს მოქმედებით

№	პაციენტი	დიაგნოზი	პათოლოგიური ქსოვილის მიმდებარე უბანი (პირობითი ნორმა)	პათოლოგიური ქსოვილი
1	გ.ა., 68წ	ფიბროლიპომა	სტიმულაცია 20%-ით	
2	გ.შ., 65წ.	ჰიდრონეფროზი	სტიმულაცია 28%-ით	
3	ზ.ჯ., 52წ.	ჰიდრონეფროზი	სტიმულაცია 17%-ით	
4	ნ.რ., 46წ.	ნათელუჯრედოვანი კიბო	სტიმულაცია 24%-ით	–
5	ი.ტ., 63წ.	ნათელუჯრედოვანი კიბო	სტიმულაცია 13%-ით	ინჰიბირება 30%-ით
6	ო.დ., 46წ.	ნათელუჯრედოვანი კიბო		ინჰიბირება 18%-ით
7	თ.ბ., 50წ.	ნათელუჯრედოვანი კიბო		ინჰიბირება 6%-ით

გარდა ამისა, შევისწავლეთ პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა პირობითად ინტაქტური თირკმლის ეპითელიოციტების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე. კერძოდ, პირობითი ნორმის სახით გამოვიყენეთ ადამიანის ჰიდრონეფროზული თირკმლის ქსოვილი და სიმსივნური კერიდან მაქსიმალურად დაშორებული უბნებიდან აღებული ქსოვილი (5 პაციენტი). აღმოჩნდა, რომ ასეთი უჯრედებიდან იზოლირებული ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ მასტიმულირებელ ზეგავლენას ახდენს. კერძოდ, არასიმსივნური უჯრედების ბირთვების რნმ-მასინთეზირებელი აქტიურობა პრეპარატის მოქმედების შედეგად იზრდება 17-28%-ით (ცხ. 2). მიღებული შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ პლაფერონი ლბ ადამიანის უჯრედებში სხვადასხვა ჯგუფის გენებზე განსხვავებულ ზეგავლენას ახდენს. კერძოდ, თირკმლის არასიმსივნურ უჯრედებში ექსპრესირებად გენებზე პრეპარატს მასტიმულირებელი ზემოქმედების უნარი გააჩნია, მაშინ როდესაც პროლიფერირებად უჯრედებში ექსპრესირებად გენებზე (სავარაუდოდ გამრავლების მაკონტროლებელ გენებზე) ის დამთრგუნველ ზემოქმედებას ახდენს. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენა თეთრი ვირთაგვას ინტაქტური თირკმლის უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე *in vitro* სისტემაში სუსტად არის გამოხატული (ინჰიბიცია 5-10%-ით). ასეთი განსხვავება "აქტიური საწყისის" მოქმედების სახეობრივ სპეციფიკურობასთან შეიძლება იყოს დაკავშირებული.

მიღებული შედეგები საშუალებას გვაძლევს ვიფიქროთ, რომ სიმსივნურ უჯრედებზე პლაფერონი ლბ-ს ანტიპროლიფერაციული მოქმედება განპირობებულია აღნიშნულ უჯრედებში გენების პირველად აქტიურობაზე მისი მაინჰიბირებელი ზემოქმედების უნარით. ამრიგად, აღწერილი შედეგები სხვადასხვა ფუნქციურ მდგომარეობაში მყოფი უჯრედების სატრანსკრიპციო აპარატზე პლაფერონი ლბ-ს არაერთგვაროვანი მოქმედების კიდევ ერთ გამოვლინებას წარმოადგენს. ყოველივე ზემოთ თქმულიდანგამომდინარე, პრეპარატის აქტიური კომპონენტ(ებ)ის იდენტიფიცირება და მათი მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების შესწავლა შემდგომი კვლევის საგნად გვესახება.

დასკვნები

1. ეუკარიოტული უჯრედების გენების ექსპრესიაზე ფარმაკოლოგიური პრეპარატის პლაფერონი ლბ-ს ზემოქმედება სატრანსკრიპციო აპარატის დონეზე ხორციელდება.

2. ინტაქტური ვირთაგვას სხვადასხვა ტიპის ქსოვილთა (ღვიძლი, თირკმელი და თავის ტვინი) უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონი ლბ-ს ორგვარი ზეგავლენა გენების ექსპრესიაზე პრეპარატის მარეგულირებელ მოქმედებას ადასტურებს.

3. პლაფერონი ლბ-ს უნარი, თეთრი ვირთაგვას დესტრუქციული ღვიძლის უჯრედებში შეაფერხოს ტრანსკრიპციის პროცესის ინაქტივაცია, იმაზე მიუთითებს, რომ პრეპარატის ჰეპატოპროტექტული მოქმედება გენების ექსპრესიის რეგულაციაში მისი მონაწილეობით განისაზღვრება.

4. თეთრი ვირთაგვას რეგენერირებადი ღვიძლის უჯრედებში ბირთვული კომპარტმენტის ფუნქციონირებაზე პლაფერონი ლბ-ს მარეგულირებელი ზეგავლენა აღდგენითი ზრდის საწყის ეტაპზე ადრეული პასუხის დაუყოვნებელი და დაყოვნებული გენების ექსპრესიაზე (ზრდის მაკონტროლებელი გენები) პრეპარატის ურთიერთსაპირისპირო მოქმედებაში გამოიხატება.

5. პლაფერონი ლბ ადამიანის ცნს-ისა და თირკმლის ქსოვილების სიმსივნური უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აპარატზე დამთრგუნველ ზეგავლენას ახდენს. ნეოპლაზიური და რეპარაციული ზრდის პროცესში პრეპარატის მიერ ტრანსკრიპციული აქტიურობის ინჰიბირება მისი ანტიპროლიფერაციული მოქმედების საფუძვლად უნდა მივიჩნიოთ.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. ბახუტაშვილი ვ.ი., აკოფოვა ი.ი., ენუქიძე მ.გ., მაჭავარიანი მ.გ., მეზვრიშვილი მ.მ., კარტოზია ლ.ბ. //ახალი სამედიცინო პრეპარატი პლაფერონი// საერთაშორისო სიმპოზიუმი „იმუნოფარმაკოლოგიის პრობლემები", თბილისი, 1990, გვ3.

2. გულორდავა რ.ე. //პრეპარატ პლაფერონის ანტიტოქსიკური მოქმედების მექანიზმები// სადისერ. მაცნე ბიოლ. მეცნ. კანდ. სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლ ად, თბილისი, 1994, 24 გვ.

3. კუკულაძე ნ.მ. //ახალი სამედიცინო პრეპარატის პლაფერონი ლბ-ს იმუნოლოგიური მოქმედების ზოგიერთი მექანიზმი// სადისერ. მაცნე ბიოლ. მეცნ. კანდ. სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1993, 23 გვ.

4. ნანავა ვ.ი. //პლაფერონი ლბ-ს იმუნომამოდულირებელი მოქმედება პერიფერიული პოლინეიროპათიით გართულებული შაქრიანი დიაბეტის დროს// სადისერ. მაცნე მედ. მეცნ. კანდ. სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1994, 24 გვ.

5. ქაცარავა ზ.რ. //პლაფერონის გავლენა ფოტოქიმიური თრომბოზის მეთოდით გამოწვეული ცერებრული იშემიური კერის ჩამოყალიბებაზე ექსპერიმენტის პირობებში// სადისერ. მაცნე მედ. მეცნ. კანდ. სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1995, 25 გვ.

6. რუხაძე რ.გ. //ფარისებრი ჯირკვლისა და ზოგიერთი ორგანოს სტრუქტურულ-ფუნქციური თავისებურებანი ჰიპერ-, ეუ და ჰიპოთირეოზის დროს// სადისერ. მაცნე მედ. მეცნ. დოქტ სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1999, 93 გვ.

7. ქოქრაშვილი ზ. ჰეპატოციტების რეპარაციული ზრდის მაკონტროლირებელი გენების ექსპრესიის თავისებურებების შესწავლა // ავტორეფერატი, თბილისი, 1998.

8. ჩიქოვანი თ.ი. //პლაფერონი ლბ-ს იმუნოფარმაკოლოგია// სადისერ. მაცნე მედ. მეცნ. დოქტ. სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1997, 90 გვ.

9. ჩერქეზია ე.ო. ბირთვების ტრანსკრიპციული აქტიურობის და ულტრა სტრუქტურის ცვლილება მღრღნელების რეგენერირებად ორგანოებში // ავტორეფერატი, თბილისი, 1995.

10. ჭეიშვილი ნ.ო. //პლაფერონი ლბ-ს გავლენა უჯრედული იმუნიტეტის ზოგიერთ რგოლზე// სადისერ. მაცნე ბიოლ. მეცნ. კანდ. სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1994, 24 გვ.

11. ძიძიგური დ. ტრანსკრიპციის ძირითადი კანონზომიერებანი ნორმალური და ადაპტაციური ზრდის პროცესში // ავტორეფერატი, თბილისი, 1997.

12. Адамия Э.Г. //Изменение плаферона при хронических заболеваниях печени// Плаферон - Сборник трудов, Изд-во "Мецниереба", 1995, ст.54-57

13. Алексеенко А.В., Наитаз Э.А., Пушкарёва М.Ю., Русанова С.А., Филлипова И.Г. Изменения эндогенного сфингозина в ядрах клеток регенерирующей печени крыс // Биохимия, 1993, Т.58, №3, с.461-470

14. Бахуташвили А.В. //Иммуномодулирующее действие препа-рата плаферон в эксперименте и клинике// Автореф. дисс. ... докт. мед. наук, 1991, 38 ст.

15. Бахуташвили В.И., Анджапаридзе О.Г., Кузнецов В.П. //Изучение физико-химических и биологических свойств плацентарного амниотического интерферона (плаферона)// Материалы конф.: "Интерферон-85", Тбилиси, 1985, стр.110-111.

16. Бахуташвили В.И., Мерабишвили Д.Г., Гогиташвили Р.В. //Изучение физико-химических и биологических свойств человеческого плацентарного амниотического интерферона// Вопросы вирусологии, 1985, №.6, стр.693.

17. Беленький Б.Г., Ганкина Е. С. и др. //Биоорганич. Химия, т. 10, №2, ст. 244-250.

18. Бродский В.Н., Урываева Н.В. Клеточная полиплоидия, пролиферация и дифференцировка // Москва, Наука, 1981, с.25

19. Георгиев Г., Ермолаева Л., Збарский И. Количественное соотношение белковых и нуклеопротеидных фракций в клеточных ядрах различных тканей// Биохимия, 1960, т.24, вып.2, стр. 318—322.

20. Гибрадзе Т.А., Бахуташвили В.И., Лорткипанидзе Т.Г. //Воздействие плаферона на миокард и его кровеносные сосуды при адреналовом повреждении сердца// Кардиология, 1994, т.34, No.3-4, стр.42-43.

21. Говорка Е. Плацента Человека //Варшава, 1970, 470 ст.

22. Гогиташвили К.В. //Влияние препарата плаферон на некоторые иммунологические показатели при псориазе. //Автор. дисс. ...канд. биол. наук, Тбилиси, 1992, 26 страниц.

23. Георгиев Г.П. Молекулярно - генетические подходы к терапии рака // Вестник Российской Академии Наук, Том 68, № 5, 1998

24. Гогиташвили Р.В. //Сравнительное изучение иммунобиологических свойств медицинских препаратов плаферона (плацентарного интерферона) и человеческого лейкоцитарного интерферона.// Автореф. дисс. ... канд. биол. наук., Тбилиси, 1986, 24 стр.

25. Джанашиа Н.Н., Микеладзе Д.Г., Бахуташвили В.И., Картозия Л.Б. //Действие нового медицинского препарата плаферон на α– и β–адренергические рецепторные системы клеток. // Сообщения АН Грузии, 1990, т.138, No.3, ст.643.

26. Джавахишвили Н.А., Цагарели З.Г., Бахуташвили А.В., Бахуташвили В.И. //Влияние плаферона на инфаркт миокарда в эксперименте// Всем. сем. "Актуальные проблемы сердечной недостаточности", Тбилиси, 1989, ст.115-16.

27. Дзидзигури Д. Факторы ядерного сока, регулирующие процесс транскрипции//Автореферат, 1983.

28. Имедидзе Э.А., Зоров Д.Б., Дадиани Л.Н., Бахуташвили В.И., Барнова Т.В. - Изучение механизмов действия плаферона на энергетику клетки. // Плаферон - Сборник трудов, Изд-во "Мецниереба", 1995, ст.13-18.

29. Карлсон Б.М. Регенерация // М. Наука, 1986, с.296

30. Квиташвили Г.И. //Влияние плаферона на некоторые клинические, биохимические и иммунологические показатели при остром вирусном гепатите В// Автореф. дисс. ...канд. мед. наук, Тбилиси, 1991, 22 стр.

31. Кордзаиа Д.Д. //Пластичность желчных путей: обоснование особенностей тактики лечения и оперативной хирургии внепеченочного холестаза// Автореф. дисс. ... доктора мед. наук, Тбилиси, 1994, 35 стр.

32. Корсантия Б.М., Зардалишвили Л.Ш., Саникидзе Н.Л., Енукидзе М.Г. //Изучение иммунотропности плаферона и природных цеолитов//

33. Кудрявцева М.В.. Сакута Г.А., Штеин Г.И., Кудрявцев Б.Н.//Динамика синтеза гликогена в гепатоцитах//Цитология, 1990, Т.32, с.1010—1017

34. Купрадзе С., Джандиери Т.Л. //Изучение влияния некоторых химиопрепаратов и плаферона на опухолевые клетки// Плаферон - Сборник трудов, Изд-во "Мецниереба", 1995, стр.21-22.

35. Ленинджер А., Биохимия//М."Мир", 1974, с.956

36. Лиознер Л.Д. Основные проблемы учения о регенерации // М. Наука, 1975, с.102

37. Льюин Б. Гены// М. "Мир", 1987, 538 стр.

38. Мерабишвили Д., //Автореферат, Тбилиси 1988

39. Мерабишвили Д., Мкервалишвили Д., Дзоценидзе Л., кузнецов В., Гогиташвили Р., Каджая Л., Бахуташвили В., // Плаферон новый отечественный препарат, синтезированный клетками амниотической оболочки плаценты человека// Плаферон - Сборник трудов, Изд-во "Мецниереба", 1995, ст.8-10

40. Микеладзе Д.Д., Джанашиа Н.Н., Джанашвили Ц.А., Бахуташвили В.И., Картозиа Л.Б. //Действие плаферона на основные возбуждающие и тормозные нейротрансмитерные системы мозга.// Плаферон - Сборник трудов, Изд-во "Мецниереба", 1995, стр.137-140.

41. Мозжухина Т.Г., Глушакова Т.В., Тимошенко А.Я. Динамика структурно - функциональных параметров хроматина регенерирующей печени крыс // Цитология и генетика, 1994, Т.28, №1, с. 21-27

42. Осипова Л.А., Иващенко Ю.Д., Быкорез А.И.//Зависимость пролиферативной активности гепатоцитов от количества рецепторов эпидермального фактора роста//ДАН СССР, 1987, Т.296, с.753—755,

43. Платонов О.М., Лисица Э.Г.//Особенности транскрипции ядерного генома на ранних стадиях регенерации печени//Биохимия, 1980, Т.45, с.565—658

44. Полежаев Л.В. Утрата и восстановление регенерационной способности органов и тканей у животных // Москва, Наука, 1976, с.246

45. Розен В. Б. Основы Эндокринологии //Москва, Высшая школа, 1984, 334 ст.

46. Романова Л.К. Регуляция восстановительных процессов // 2-е изд. Московского Университета,1984,с.175

47. Савельева Г.М. и др. Плацентарная недостаточность // Москва , Медицина, 1991, 270 ст.

48. Саламатина Н.В. Действие внутриклеточных факторов на рост почки крысы после частичной нефректомии // Сообщения Акад. Наук Груз.ССР, 1975, г.78, № 3, с.725-728

49. Сировский Э.Б., Амчеславский В,Г., Инаури Г.Н., Дадиани Л.Н., Пагава К.И., Бахуташвили В.И. //Прменение плаферона у нейрохирургических больных в условях раннего послеоперационного периода// Плаферон - Сборник трудов, Изд-во "Мецниереба", 1995, ст.110-127

50. Фёдорова М.В., Быкова Г.Ф. Роль околоплодных вод в поддержании гомеостаза у плода.// Акуш. и гинек.- 1981- № 11 стр 9-12

51. Фёдорова М.В., Калашникова Е.П. Плацента и её роль при беременности // Москва , Медицина, 1986, с 253

52. Хвадагиани Г.Г. //Защитный эффект плаферона при острой тепловой ишемии почек// Автор. дисс. ... канд. мед. наук, 1990, 21 стр.

53. Чавчанизде Д.Г. //Защитное действие препарата плаферон при обструктивной нефропатии// Автор. дис. ...канд. мед. наук, 1990, 22 ст.

54. Челидзе П.В., Дзидзигури Д.В. и др. Трёхмерная организацыа ядрышек и ядрышкообразующих районов дифференцированных клеток //Цитология, 1993, Т. 35 (10) ст 3-12

55. Чхиквишвили Ц.Ш, Малашхия Ю.И., Надареишвили З.Г., Сомунджаян, //Влияние Плаферона на клинико-имунологические показатели больных с заболеваниями нервной системы// Плаферон - Сборник трудов, Изд-во "Мецниереба", 1995, ст.46-49

56. Ягужинский Л.С., Имедидзе Э.А., Дадиани Л.Н., Бахуташвили В.И. //Действие препарата плаферон на энергетику митохондрии// В кн.: Плаферон, Изд-во "Мецниереба", Тбилиси, 1995, стр.10-13.

57. Allison I., Moyle M., Shales M., Ingles C. Extensive homology among the largest subunit of eucariotic and procariotic RNA polymerases// Cell; 1985, V.42, pp. 599-616.

58. Andersson P., Edsbacker St.In vitro biotransformation of glukokorticoids in liver and skin homogenizate fraction from man, rat and hairless moese. J. Steroid Biochemistry, 1982, v.16, p. 787-795.

59. Anthony F.W., Wheeler T., Elcock C.L., Pickett M., Thomas E.J. Identification of a specific pattern of vascular endothelial growth factor mRNA expression in human placenta and cultured placental fibroblasts // Placenta 1994 Jul; 15(5):557-61

60. Archer, TK;Fryer, CJ;Lee, HL;Zaniewski, E;Liang, T;Mymryk, JS//Steroid hormone receptor status defines the MMTV promoter chromatin structure in vivo//Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 1995, V.53, N.1-6, P.421-429

61. Arx E., Faupel M.Comparison of RP HLPC systems containing much water with RP TLC demonstrated on the separation of steroids, peptides and antibiotics.J.Chromatography, 1978, v.154, p.68-72.

62. Athanassakis et al The immunostimulatory effect of T cells and T cells lymphokines on murine fetally derived placental cells // The Journal of Immunology, Vol.138, pp. 37-44, 1987

63. Bakhutashvili V., Chikovani T. Plaferon - a new immunomodulator. Intern. J. Immunorehab. 1995, 1, 29-34.

64. Bakhutashvili V., Chikovani T., Cheishvili N., Bakhutashvili A. //Immunomodulatory activity of Plaferoni LB// Georgian Symp. Project Devel. Convention, Collec. Of Reports, Tbilisi, 1995. 189-191.

65. Bakhutashvili V., Gagua M., Garishvili T., Kharebava G., Kvaratskhelia E. //Human placenta antioxidant compounds of peptide nature// Atherosclerosis, 1997. V134, 199.

66. Banks R.E., Forbes M.A., Searles J., Pappin D., Canas B., Rahman D., Kaufmann S., Walters C.E., Jackson A., Eves P., Linton G., Keen J., Walker J.J. and Selby P.J. Evidence for the existence for a novel pregnancy associated soluble variant of the vascular endothelial growth factor receptor, Flf-1 // Molecular Human Reproduction, Vol. 4, 377-386, 1998

67. Baudin F., Romaniuk P. A difference in the importance of bulged and their parent base pairs in the binding of transcription factor IIIA to Xenopus 5S RNA and 5S RNA genes// Nucleic Acid Res.; 1989, V.17, N.5, pp. 2043-2056

68. Baulieu E.E., Binart N., Cadepond F. Catelli M.G. et al. Receptor-Associated Nuclear Proteins and Steroid /Antisteroid Action/ Steroid Formation, Degradetion, and Action in Peripheral Tissues, edited by L Castagnetta, S.d'Aquino, F.Labrie, and H.L Bradlow, Annals of the New Yourk Academy of Science, V. 595, 1990.

69. Bauman, JW; Goldsworthy TL; Dunn CS; Fox TR.//Inhibitory effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on rat hepatocyte proliferation induced by 2/3 partial hepatectomy//Cell Proliferation, 1995, V.28, N.8, P.437-451

70. Beauchamp, RD;Papaconstantinou, J;Henderson, AM;Sheng, HM;Townsend CM, Jr;Thompson, JC; Christou, NV;Barke, RA;Billiar, T;Forse, RA; Baker, CC//Activation of hepatic proliferation-associated transcription factors by lipopolysaccharide//Surgery, 1994, V.116, N.2, P.367-377

71. Belanger C., Stimulatoy effects of androgenes, estrogenes, progestins and dexametasone of the growth of the LNCaP human prostate cancer cells / Steroid formation, degradation and action in peripheral tissues. Annals of the New York Academyb of Csiences, V. 595, 1990.

72. Beyer S., Sharp B.M., Zieve L.//An analysis of total RNA translation products of rat liver during regeneration with a comparison to fetal liver//Cell Differ. and Dev., 1989, V.28, P.119-128

73. Bleux C., Bobe P., Kanellopoulos-Langevin C. A mouse placental immonoregulatory factor different from transforming growth factor beta // J Interferon Cytokine Res 1995, Apr; 15(4):351-7

74. Blok, LJ;Grossmann, ME;Perry, JE;Tindall, DJ//Characterization of an early growth response gene, which encodes a zinc finger transcription factor,

potentially involved in cell cycle regulation//Molecular Endocrinology, 1995, V.9, N.11, P.1610-1620

'75. Bonvalent J.P., Champton M., Wanstok T., Bergal G. Compensatory renal hypertrophy in young rats; Increase in the number of nephrons // Kidney Intern., 1972, Vol.1, 391-396

76. Brinkmann, A.O.//Steroid hormone receptors: Activators of gene transcription//Journal of Pediatric Endocrinology, 1994, V.7, N.4, P.275-282

77. Brun I., Sentenac A., Werner M. Dual role of the C34 subunit of RNA polymerase III in transcription initiation// EMBO J.; 1997, V.16, N.18, pp. 5730-5741.

78. Bryant G., Martel L., Burley S., Berk A. Radical mutations reveal TATA-box binding protein surfaces required for activated transcription in vivo.// Genes&Development; 1996, V.10, pp. 2491-2504.

79. Bucher N.L., Malt R.A.//Regeneration of liver and kidney//Boston, 1991, 278p.,

80. Buratovski S. Mechanisms of Gene Activation// Science; 1995, V.270, pp. 1773-1774.

81. Burton K. Determination of DNA concentration with dephenylamine// Methods Enzymolog., 1968, V.12, pp. 163-166.

82. Bush H., Smetana K. The nucleolus// N.Y. London., Academ.Press, 1970, pp. 57-91.

83. Cabrijan T., Pacarizi H., Levanat S. et al Autocrine tumor growth regulation by the insulin growth factor I (IGF I) and the epidermal growth factor (EGF) // Progress in Cancer Research and Therapy, Vol. 35, 1998

84. Carsten U., Henriquesa., Gregory E., Riceb, May H. Wongl, Klaus Bendtzenc Immonolocalization of Interleikin-4 and Interleikin-4 receptor in placenta and fetal membranes in association with preterm labour and preeclampsia // Gynecologic and Obstetric Investigation 46:3:1998, 172-177

85. Caufriez A., et al. Regulation of maternal insulin-like growth factor I by placental growth hormone in pregnancy. Possible action of maternal IGF-I on fetal growth / Horm Res 1994, 42(1-2):62-5.

'86. Cavanaugh A., Hempel W., Tayolor L., Todorov G., Rothblum L. Activity of RNA polymerase I transcription factor UBF blocked by Rb gene product// Nature; 1995, V.374, N.6518, pp. 177-180.

87. Champon M., Cissinga F., MandelL. Purification and properties of calf thymus DNA-dependent RNA polymerases A and B// Cold. Spring Harbor. Symp. Quant Biol.; 1971, V.35, pp. 693.

88. Chard T. et al. α-Interferon in human pregnancy // British Journal of Obstetrics and Gynecology, Vol. 93, pp. 1145-1149, 1986.

89. Chaussivert N., Conesa C., Shaaban S., Sentenac A. Complex interactions between yeast TFIIIB and TFIIIC// J. Biol. Chem.; 1995, V.270, N.25, pp. 15353-15358.

90. Chauveau J., Moule Y., Rouiller C. Isolation of pure and unaltered liver nuclei: Morphology and biochemical composition// Exp. Cell Res.; 1956, V.11, pp. 317-321.

91. Cheung CY Vascular endothelial growth factor: possible role in fetal development and placental function // J Soc Gynecol Investig 1997 Jul-Aug; 4(4):169-77

92. Cipres-Palacin G., Kane C. Clevage of the nacent transcript induced by TFIIS is insufficient to promote read-through of intrinsic blocks to elongation by RNA-polymeraseII// PNAS;1995, V.91, N.17, pp. 8087-8091.

93. Coehen, Herbert T. Advances in the molecular basis of renal neoplasia / Current opinion in nephrology & hypertension 8(3):325-331, May, 1999.

94. Comai L., Tanese N., Tjian R. The TATA-binding protein and associated factors are integral components of the RNA polymerase I transcription factor, SL1// Cell; 1992, V.68, pp. 965-976.

95. Conoway J., Conoway R. An RNA polimerase II transcription factor shares functional properties with Ecoli σ 70 // Science, 1990, Vol. 248, # 6, 1550-53

96. Cressman, DE;Diamond, RH;Taub, R//Rapid activation of the Stat3 transcription complex in liver regeneration// Hepatology, 1995, V.21, N.5, P.1443-1449, Strobl, JS;Wonderlin, WF;Flynn, DC//Mitogenic signal transduction in human breast cancer cells//General Pharmacology, 1995, V.26, N.8 P.1643-1649

97. Das G., Hinkley C., Herr W. Basal promoter elements as a selective determinant of transcriptional activator function// Nature, 1995, V.374, N. 6523, pp. 657-659.

98. Das G., Hinkley C., Herr W. Basal promoter elements as a selective determinant of transcriptional activator function// Nature, 1995, V.374, N. 6523, pp. 657-659.

99. Davis B., J. Ann. New York Acad. Sei 121 404 1964

100. De Smedt D., Menu E., Chaouat G. Immunoactive products of placenta VI. Induction of transient murine T cells anergy by a low-molecular-weight compound obtained from supernatants of human placental cultures // Cell Immunol 1997 Feb; 175(2):128-140

101. DeFranco, AL;Mittelstadt, PR;Blum, JH;Stevens, TL;Law, DA;Chan VW, F; Foy, SP;Datta, SK;Matsuuchi, L//Mechanism of B cell antigen receptor function: Transmembrane signaling and triggering of apoptosis//Advances in Experimental Medicine and Biology, 1994, V.365, P.9-22,

102. Denison FC, Kelly RW, Calder AA and Riley SC Cytokine secretion by human fetal membranes, deciduas and placenta at term // Human Reproduction, Vol. 9, 149-156,1994

103. Dequaid-Chammblat M., Riva M., Calvas C., Sentenac., A. Rpc19, the gene for subunit common to yeast RNA polymerase A (I) and (III)// J. Biol. Chem.; 1991, V.266, pp. 15300-15307.

104. Derenzini M., Pession-Brizzi D., Bonetto E., Novello F.RelationShip between ultrastructure and function of hepatocyte chromatine; a study with adrenalectomized rats after cortisol administation //J. of Ultrastructure Res. 1979, V. 67, p 161-179.

105. Diaz-Cil J., Eskartin P., Gaccia-Canero R., Trilla C., Veloso J., Sanchez G., Monero-Capparos A., Losono R., Gavilares J. Purification of a liver DNA synthesis promoter from plasma of partially hepatectomized rats // Boichem J 1986, Vol. 235, 49-59

106. DibbsK.I., Anteby E., Mallon M.A., Sadovsky J., Adlers S. Transcriptional regulation of human placental corticotrophin-releasing factor by prostaglandins and estradiol // Biol Reprod 1997 Dec; 57(6):1285-92

107. Dixit A. Garg LC. Chao W. Jacob ST. An enhancer element in the far upstream spacer region of rat ribosomal RNA gene. [Journal Article] Journal of Biological Chemistry. 262(24):11616-22, 1987 Aug 25.

108. Drapkin R., Reinberg D. The multifunctional TFIIH complex and transcriptional control.// Trends Biochem Sci; 1994, V.19, pp. 504-508.

109. Duc-Goiran P. et al.Unusual apparently constitutive interferons and antagonist in human placental blood // Proceedings of the National Academy of Science USA. Vol. 82, pp. 5010-5014 (1985)

110. Duncan S., Navas A., Dufort D., Rossant J., Stoffel M. Regulation of a transcription factor network required for differentiation and metabolism// Science; 1998, V.281, pp.692-695.

111. Dzidziguri D.V., Chelidze P.V., Zarandia M.A., Cherkezia E.O., Tumanishvili G.D.//The transcriptional and ultrastructure of various nucleolar types isolated from normal and parially hepatectomized rat hepatocytes//J.Epith.Cell Biol., 1994, V.3

112. Dzidziguri D.V., et al. Is expression of genes regulating cell proliferation in regenerating liver cortisol dependent?/ AIRR conference at Cologne, Germany, 1997.

113. Elela S., Good L., Melekhovets Y., Nazar R. Inhibition of protein synthesis by an efficiently expressed mutation in the yeast 5.8S ribosomal RNA// Nucleic Acids Res.; 1994, V.22, N.4, pp. 686-693.

114. Farkas, R//Ecdysone regulated RNA synthesis in drosophila larval salivary glands//Endocrine Regulations, 1995, V.29, N.3, P.171-185.

115. Farmer G., Friedlander P., Colgan J., Manley J., Prives C. Transcroption repression by p53 involves molecular interactions distinct from those with the TATA box binding protein// Nucl. Acid Res; 1996, V.24, N.21, pp. 4281-4288.

116. Faxen M., Nasiell J., Blanck A., Nisell H., Lunell N.O. Altered mRNA expression pattern of placental epidermal growth factor receptor (EGFR) in pregnancies complicated by preeclampsia and/or intrauterine growth retardation // Am J Perinatol 1998 Jan;15(1):9-11

117. Figlin Robert A. Renal cell carcinoma: management of advanced disease / Journal of Urology 161(2):381-386, Feb 1999.

118. Fiser-Littell R., Duke A., Yanchick J., Hanas J. Deletion of N-terminal region of Xenopus Transcription factor IIIA inhibits specific binding to the 5S RNA genes// J. Biol. Chem.; 1988, V.263, N.5, pp. 1607-1610

119. Fisher P. et al Effects of Interferons on differentiation of normal and tumor cells // Pharmacology and Therapeutics, Vol. 27 pp.143-166.

120. Flodby P., Antonson P., Barlow C., Blanck A., Porsh-Hallstrom I., Xanthopoulos K. Differential patterns of expretion of three C/EBP isoforms, NHF-1, and NHF-4 after partial hepatectomy in rats // Exp Cell Res., 1993, Vol.208, 248-256

121. Florio P., Lombardo M., Gallo R., DiCarlo C., Sutton S., Genazzani A.R., Patraglia F. Activin A, corticotrophin-releasing factor and prostaglandin F2 alpha increase immunoreactive oxitocin release from cultured human placental cells // Placenta 1996 Jul-aug;17(5-6):307-11

122. Freed K A, Moses E K et al Differential expression of type II, IV and cytosolic PLA2 messenger RNA in human intrauterine tissues at term.// Molecular Human Reproduction, Vol. 4, 377- 386, 1998

123. Friend S. p53: A glimpse at the puppet behind the shadow play// Science; 1994, V.265, pp.334-335.

124. Ghosh A., Hoff C., Jacob S. Characterization of the 130-bp repeat enhancer element of the rat ribosomal gene: Functional interaction with transcription factor E1BF// Gene; 1993, V.125, N.2, pp. 217-222.

125. Goldenberg C., Luo Y., Fenna M., Baler R., Weinmann R., Voellmy R. Purified Human Factor Activates Heat Shock Promoter in a Hela Cell-free Transcription System// The Journal of Biological Chemistry; 1988, V. 263, N. 36, pp. 19734-19739.

126. Gottesfeld J., Wolf V., Dang T., Fobres D., Hartl P. Mitotic Represssion of RNA polymerase III transcription in vitro madiated by phosphorilation of a TFIIIB component// Science; 1994, V.263, pp. 81-84.

127. Gray W. R., Hartley B. S. Meth. Enzimology, 25, 1972, p. 121-138.

128. Greenbaum, LE;Cressman, DE;Haber, BA;Taub, R//Coexistence of C/EBPalpha, beta, growth-induced proteins and DNA synthesis in hepatocytes during liver regeneration. Implications for maintenance of the differentiated state during liver growth//Journal of Clinical Investigation, 1995, V.96 N.3, P.1351-1365

129. Hadjiolova K., Hadjiolov A., Bachellerie J. Actinomycin D stimulates the transcription of rRNA minigenes transfected into mouse cells. Implications fopr the in vivo hypersensitivity of rRNA gene transcription// European J. Biochem.; 1995, V.228, N.3, pp. 605-615.

130. Hallahan, DE;Dunphy, E;Virudachalam, S;Sukhatme, VP;Kufe, DW; Weichselbaum, RR//c-jun and Egr-1 participate in DNA synthesis and cell survival in response to ionizing radiation exposure//Journal of Biological Chemistry, 1995, V.270, N.51, P.30303-30309

131. Hart A.H., Corrick C.M., Tymms M.J. et al Human ERG is a proto-oncogene with mitogenic and transforming activity // Oncogene PY, 1995, Vol. 10, # 7, 1423-30

132. Hassink S.G., De Lancey E., Sheslow D.V., Smith-Kirwin S.M., O' Connor D.M., Considine R.V., Opertanova I., Dostal K., Spear M.L., Leef K., Ash M., Spitzer A.R., Funange V.L. Placental leptin: an important new growth factor in intrauterine and neonatal development ? // Pediatrics 1997 Jul;100(1):E1

133. Hayashi M., Numaguchi M., Watabe H., Yaoi Y. High blood levels of macrophage colony-stimulating factor in preeclampsia // Blood 1996,Dec 15;88(12):4426-4428

134. Hoff CM. Ghosh AK. Prabhakar BS. Jacob ST. Enhancer 1 binding factor, a Ku-related protein, is a positive regulator of RNA polymerase I transcription initiation. [Journal Article] Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 91(2):762-6, 1994 Jan 18.

135. Hou, XS;Chou, TB;Melnick, MB;Perrimon, N//The torso receptor tyrosine kinase can activate raf in a ras- independent pathway//Cell, 1995, V.81 N.1, P.63-71,

136. Huber P., Blobe G., Hartmann K. Conformational studies of the nucleic acid binding sites for Xenopus transcriptional factor IIIA // J Biol Chem , 1991,Vol. 226, #5, 3278-86

137. Hume D.A., Yue X., Ross I.L., Favot P., Lishanska A., Ostrowski M.C. Regulation of CSF-1 receptor expression // Mol Reprod Dev 1997, Jan;46(1):46-52

138. Jacob S. Regulation of ribosomal gene transcription// Science; 1995, V.306, pp. 617-626.

139. Jacob ST. Terns MP. Hengst-Zhang JA. Vulapalli RS. Polyadenylation of mRNA and its control. [Review] [102 refs] [Journal Article. Review. Review, Tutorial] Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression. 1(1):49-59, 1990.

140. JacobS., Sazdel E., Munszo H. Different responses of soluble whole nucleolar RNA polymerase to divalent cations and to inhibition by α-amanitin// Biochem. Biophys. Res. Commun.; 1970, V.38, pp.765-770.

141. Jane E., Mijovic, Tamas Zakar et al. Prostaglandin endoperoxid H synthase mRNA expression in the human amnion and deciduas during and in the amnion at preterm labour.// Molecular Human Reproduction Vol.5, # 2, 182-187, February 1999

142. Jeffrey PD, Russo AA, Polyak K, Gibbs E, Hurwitz J, Massague J, Pavletich NP. Mechanism of CDK activation revealed by the structure of a cyclinA-CDK2 complex// Nature; 1995, V.376, N.6538, pp. 313-320

143. Jousse C., et al., Amino acid regulation of gene expression / Current opinion in clinical nutrition & metabolic care. 2(4) : 297-301, July, 1998.

144. Judith Munlhauser et al. Immunohistochemistry of carbonic anhydrase in human placenta and fetal membranes.// Histochemistry, Volume 101, Issue 2 (1994) 91-98

145. Karnitz, LM;Abraham, RT//Cytokine receptor signaling mechanisms//Current Opinion in Immunology, 1995, V.7, N.3, P.320-326

146. Kasinski B.M. CSF-1 and its receptor in breast carcinomas and neoplasms of the female reproductive tract // Mol Reprod Dev 1997, Jan;4691):71-74

147. Kauma S., Huff T., Krystal G., Ryan J., Takacs P., Turner T. The expression of stem cell factor and its receptor c-kit in human endometrium and placental tissues during pregnancy // J Clin Endocrinol Metab, 1996, Mar;81(3):1261-6

148. Kazuyuki K., Hisashi O., Shugen K. et al Possible paracrine mechanism of insulin-like growth factor-2 in the development of liver methastases from colorectal carcinoma // Cancer 85(1). Jan.1,1999,18-25

149. Kelly L.A., et al.//The ras/rac1/Cdc42/Sek/Jnk/c-jun cascade is a key pathway by which Agonists stimulate DNA synthesis in primary cultures of rat hepatocytes//Mol.Cell.Biol., 1998, V.9, Iss.3, P.561-573.

150. Kenton P., Johnson P.M. Growth factor-induced release of placental alkaline phosphatase from human syncytiotrophoblast membranes // J Reprod Fertil 1994 Jan;100(1):71-6

151. Kock J., Evers R., Cornelissen A. // Nucleic Acid Res.; 1988, V.16, pp. 8753-8772.

'152. Koichiro Shimoya, Akhiro Moriyama, Noboru Matsutaki, Isao Ogata, Masayasy Koyama, Chiniro Azuma Human placental cells show enhanced production on interleukin (LL)-8 in response to lipopolysaccharide (LPS), IL-1 and tumor necrosis factor (TNF), but not to IL-6 // Molecular Human Reproduction, Vol.5, #2,182-187, February 1999

153. Kokrashvili Z.N., et al. Study of the effect of bilateral adrenalectomy on functional activity of rat hepatocyte nuclei / Bulletin of the Georgian Academy of Science, 1995, V.155, No.1 : 128-131.

154. KowenzLeutz E., Twamley G., Ansieau S., Leutz A. Novel mechanism of C/EBPbeta (NF-M) transcription control: Activation through derepression// Genes&Dev.; 1994, V.8, N.22, pp. 2781-2791.

155. Krayewski W., Lee K. A monomeric derivative of the cellular transcription factor CREB functions as a constitutive activator//Mol. Cell Biol.;1994, V.14, N.11, pp. 7204-7210

.156. Kuhn A., Voit R., Stefanovsky V., Evers R., Biachi M., Grummt I. Functional differences between the two splice variants of the nucleolar transcription factor UBF: The second HMG box determines specificity of DNA binding and transcriptional 1994

157. Kuhn A.., Stefanovsky V., Grummt I. The nucleolar transcription activator UBF relieves Ku antigen-mediated repression of mouse ribosomal gene transcription// Nucleic Acid Res.; 1993, V.21, N.9, pp. 2057-2063.

158. Kwon H., Imbalzano A., Khavarl P. NUclesome disruption and enhancement of activator binding by a human SW1/SNF complex// Nature; 1994, V.370, N.6489, pp. 474-481.

159. Labhart P. DNA-dependent protein kinase specifically repress promoter- directed transcription initiation by RNA polymerase I// PNAS; 1995, V.92, N.7, pp. 2934-2938.

160. Laemmli U. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4// Nature; 1970, V.227, pp. 680-685.

'161. Langst G., Blank., Becker P., Grummt I. RNA polymerase I transcription on nucleosomal templates: the transcription termination factor TTF-I induces chromatin remodeling and relieves transcriptional repression// EMBO J.; 1997, V.16, N.4, pp. 760-768.

162. Latchman D. Mechanisms of Disease: Transcription-Factor Mutations and Disease// The New England Journal of Medicine; 1996, V.334, pp. 28-33.

163. Lebon P. et al The presence of α-Interferon in human amniotic fluid // Journal of Virology, Vol. 59, pp. 393 -96, 1982

164. Lee T., Young R. Regulation of gene expression by TBP-associated proteins// Genes&Dev.; 1998, V.12, pp. 1398-1408.

165. Levine X.J., Miller K.//Biology//1993, Toronto, 322p.,

166. Li Y, Calhoun D.A., Pollioti B.M., Sola M.C., Al-Mulla Z., Christensen R.D. Production of granulocite colony stimulating factor by the human placenta at various stages of development // Placenta 1996, Nov; 17(8):611-617

167. Lippincott Williams & Wilkins. Primary care online, Copyright. Drug facts and comparisons, 2nd eddition, 1998.

168. Liu K.X., et al., Human placenta extracts stimulate liver regeneration in rats /Biol. Pharm. Bull. 21 No.1 : 44-49, 1998.

169. Liu L., Harding J.E., Evans P.C., Gluckman P.D. Maternal insulin-like growth factor-1 infusion alters feto-placental carbohydrate and protein metabolism in pregnant sheep // Endocrinology 1994, Sep;135(3):895-900

170. Liu M., Bryant M.S., Chen J., Lee S., Yaremko B., Li Z., Dell J., Lipari Ph., Malkowski M., Prioli N. et al Effects of SCH 59228, an orally bioavailable farnesyl protein transferase inhibitor, on the growth of oncogene-transformed fibroblasts and a human colon carcinoma xenograft in nude mice // Cancer Chemotherapy and Pharmacology, Vol. 43, Issue 1, 1999, 50-58

171. Liu M., Freeman L. Transcriptional synerdism between the vitamin D3 receptor and other nonreceptor transcription factors// Mol. Endocrinology; 1994, V.8, N.12, pp. 1593-1604.

172. Liu X., Miller C., Koeffler P., Berk A. The p53 activation domain binds the TATA box- binding polypeptide in holo-TFIID, and a neighboring p53 domain inhibits transcription//Mol. Cell. Biol; 1993, V. 13, N.6, pp. 3291-3300.

173. Lu H., J.Levine A. Human $TAF_{II}31$ protein is a transcription coactivator of the p53 protein// PNAS, 1995, V.92, N.11, pp.5154-5158.

174. Lyall F., et al. Placental expression of vascular endothelial growth factor in placentae from pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction does not support placental hypoxia at delivery / Placenta 1997 May, 18(4):269-79.

175. Lyall F., Joung A., Boswell F., Kingdom J.C., Greer J.A. Placental expression of vascular endothelial growth factor in placenta from pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction does not support placental hypoxia at delivery // Placenta 1997, May; 18(4):269-76

176. Mann C., Buhler Y., Treich I., Sentanac A. PRC 40 a unique gene for a subunit shaved between yeast RNA polymerases A and C// Cell; 1987, V.48, pp.124-137.

177. Martijn Groenink & Aad C.J. Leegwater Isolation of delayed early genes associated with liver regeneration using the CLONTECH PCR-Select

substraction technique / Academic Aedical Center, University of Amsterdam. PCR-SelectLiver.html. 1999.

178. Marx J. How p53 supresses cell growth// Science; 1993, V.262, pp.1644-1645. Masuyama H., et al., Effect of epidermal growth factor on placental amino acid transport and regulation of epidermal growth factor receptor expression of hepatocyte in rat / J. Perinat Med 1996, 24(3):213-20.

179. Masuyama H., Hiramatsu Y., Kudo T. Effects of epidermal growth factor on placental amino acid transport and regulation of epidermal growth factor receptor expression of hepatocite in rats // J Perinat Med 1996; 24(3):213-20

180. McCormick, F//Ras-related proteins in signal transduction and growth control//Molecular Reproduction and Development, 1995, V.42, N.4, P.500-506

181. McLaughlin PJ., Vercruysse L., Hanssens M., Jonson PM., Keith JC Jr., van Assehe FA Pijnenbord Immunolocalization of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in the placental bed of normotensive and hypertensive human pregnancies // Placenta 1998 May; 19(4):231-9

182. Memet S., Gouy M., Maook C., Sentence A., Buhla J. RPA 190, the gene coding for largest subunit if yeast RNA polymerase A// J. Biol. Chem.; 1988, V.263, pp. 2830-2839.

183. Mercol L., Job C., Job D. Studies on the inhibition by α-amanitin of single step addition reaction and productive RNA synthesis catalysed by wheat-germ RNA polymerase II// Biochem J., 1989, V.258, pp. 165-169.

184. Mermelstein F., Yeung K., Cao J., A.Inostroza J., Erdjument-Bromage H., Eagelson K., Landsman D., Levitt P., Tempst P., Reinberg D. Requirement of a corepressor for Dr1-mediated repression of transcription// Genes&Development; 1996, V.10, N.8, pp. 1033-1048

185. Metreveli D., Bakhutashvili V., Bochorishvili T., Jamutashvili M., Gingolia M. Influence of Plaferon LB on clinical course of hepatits B and laboratory data in children//Falk Symposium "New aspects in Hepatology and Gastroenterology".Abs. 1998, Tbilisi, p-195.

186. Michalopoulos G.K., DeFrabce M.C. Liver Regeneration // Science, Vol. 276(5309), Apr 4,1997, 60-66

187. Mishima Y., Nishima T., Muramatsu, Kominami R. Transcription of mouse ribosomal RNA gene with inactive exctracts is activated by NAD^+ in vitro// J. Biochem.; 1993, V.113, N.1, pp. 36-42.

188. Monder C. Characterization and Biological Significane of Corticosteroid 11b-Dehydrogenase, the Oxidizing Component of 11b-Hydroxisteroid Dehydrogenase //Steroid Formation, Degradetion and Action in Peripheral Tissues, edited by L.Castagnetta, S.d'Aquino, F.Labrie, and H.L. Bredlow, Annals of the New Yourk Academy of Science, V. 595, 1990

189. Morishita T.//Requirement of S.serevisiae Ras for completion of mytosis//Science, 1995, V.270, P.1213-1215

190. Moroianu, J;Riordan,//Nuclear translocation of angiogenin in proliferating endothelial cells is essential to its angiogenic activity//Proceedings

of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1994 V.91 P.1677-1681,

191. Morrow D., Xiong N., Getty R., Ratajczak M., Morgan D., Seppala M., Riittinen L., Gewirtz A., Tykocinski M. Hematopoetic placental protein 14. An immunosuppressive factor in cells of megakaryocytic lineage.// Biol Reprod 1994 Dec; 51(6): 1206-12

192. Muthuswamy S.K., Siegel P.M., Dankort D.L. et al Mammary tumors expressing the neu proto-oncogene possess elevated c-Src tyrosine kinase activity // Mol Cell Biol, Jan 1994 735-743, Vol.14, # 1

193. Neely L., Trauger J., Baird E., Dervan P., Gottesfeld J. Importance of minor groove binding zinc fingers within the transcription factor IIIA-DNA// J. Biol. Chem.; 1997, V. 274, N.4, pp. 439-445.

194. Ng YK, George KM., et al. GATA factor activity is required for the trophoblast-specific transcriptional regulation of the mouse placental lactogen I gene / Development 1994 Nov., 120(11):3257-66.

195. Nikolov D., Burley S. RNA polymerase II transcription initiation: a structural view // PNAS, USA, 1997, Vol. 94, 15-22

196. Niu H., Jacob S. Enhancer 1 binding factor (E1BF), a Ku-related protein, is a growth regulated RNA polymerase I transcription factor: Associuated of a repressor activity with purified E1BF from serum-deprived cells// PNAS; 1994, V.91, N.19, pp. 9101-9105.

197. Noda M. Transcription regulation of osteocalcin production by transforming growth factor β in rat osteoblast-like cells.// Endocrinology;1989, V.124, N.2, pp. 612-617.

198. Oliner J., Pietenpol J., Thiagalingam S., Gyuris J., Kinzler K., Vogelstein B. Oncoprotein MDM2 conceals the activation domain of tumour supressor p53// Nature; 1993, V.362, pp. 857-860.

199. Palmer J., Folk W. Unraveling the complexities of transcription by RNA polymerase III// TIBS; 1990, V.15, pp. 300-304.

200. PearsonWhite, S;Deacon, D;Crittenden, R;Brady, G;Iscove, N; Quesenberry, PJ//The ski/sno protooncogene family in hematopoietic development//Blood, 1995, V.86, N.6, P.2146-2155

201. Philips S., Forrest H. DNA-dependent RNA-polymerase from drosophila melanogaster// J. Biol. Chem.; 1973, V.148, pp. 265-274.

202. Pisters L.L.,El-Naggar A.K., Luo W., Malpica A., Lin S-H C-met proto-oncogene expression in benign and malignant human renal tissues // J of Urology, Sept 1997, 158(3):724-728

203. Ponta H., Ponta U., Witersberger E. DNA-dependent RNA-polymerase from yeast// FEBS lett.; 1971, V.28, pp. 204-210.

204. Quinn G., Boam D.S., Davis J.R., Glazier J.D., Mylonap P., Sides K., Sibley C.D. The human placenta expresses transcription enhancer factor-1 but there is no correlation with the expression of placental lactogen // j Mol Endocrinol !996, Apr;16(2):205-10

205. Rana, B;Xie, Y;Mischoulon, D;Bucher, NLR;Farmer, SR//The DNA binding activity of C/EBP transcription factors is regulated in the G1 phase

of the hepatocyte cell cycle//Journal of Biological Chemistry, 1995, V.270 N.30 P.18123-18132

206. Ransone L.G. et al.//Nucleolar proto-oncogenes fos and jun//Ann.Rev.Cell.Biochem., 1990, V.6, P.539-559

207. Rappaport J., Weinmann R. Purine triphosphate β-γ bond hydrolysis requirements for RNA polymerase II transcription initiation and elongation // J. Biol. Chem.; 1987, V.262, pp. 17510-17515.

208. Reese J., Apone L., Walker S., Griffin L., Green M. Yeast TAFs in a multisubunit complex required with VP16 and TFIIB that mediate transcription activation// PNAS; 1995, V.92, N.13, pp. 5788-5792

209. Reines D., Mote J. Elongation factor SII-dependent transcroption by RNA polymeraseII through a sequence-specific DNA-binding protein// PNAS; 1993, V.90, pp. 1917-1921.

210. Roeder R. Multiple forms of DNA dependent RNA polymerase in Xenopus laevis. Isolation and partial purification// J. Mol. Biol.; 1974, V.248, pp. 251-259.

211. Roeder R. Nuclear RNA polymerases// Cold Spring Harbor Symph. Quant. Biol., 1976, V.40, pp. 285-324.

212. Roeder R. The complexities of eukaryotic transcription initiation: regulation of preinitiation complex assembly.// Trends Biochem Sci.; 1991, V.16, pp. 402-408.

213. Roeder R., Rutter W., Specific nucleolar and nucleoplasmic RNA-polymerase// PNAS; 1970, V.65, pp. 675-682.

214. Romaniuk P. Characterization of the RNA binding properties of transcription factor IIIA of Xenopus Laevis oocytes// Nucleic Acid Res; 1985, V.13, N.14, pp. 5369-5387.

215. Romaniuk P., Stevenson I., You Q. The specificity of the RNA binding activity of Xenopus transcription factor IIIA// Molecular Biology of RNA; 1989, pp. 123-132.

216. Romby P., Baudin F., Brunel C., Stevenson L., Westhof E., Romaniuk P., Ehresmann C., Ehresmann B. Ribosomal 5S RNA from Xenonus laevis oocytes: conformation and interaction with transcription factor IIIA// Biochimie; 1990, V.72, pp. 437-452.

217. Ross s., Berkowitz M. et al Effects of products of activated leukocytes on the growth of malignant trophoblast cells in vitro // American Journal of Obstetrics and Gynecology, Vol. 158, pp 199-203

218. Sadovsky P., Stern J.// Cell Biol., 1968, V.37, pp. 147-164.

219. Sanchez A., Alvarez, AM;Benito, M;Fabregat, I//Transforming growth factor beta modulates growth and differentiation of fetal hepatocytes in primary culture//Journal of Cellular Physiology, 1995, V.165 N.2, P.398-405

220. Sauer F.,Fondell D.J., Ohkume Y., Roeder G.R., Jackle H. Control of transcription by Kruppel through interactions with TFIIB and TFIIEβ //Nature;1995,V.375,N.6527,pp.162-164.

221. Scatena C.D., Adler S. Trans-acting factors dictate the species-specific placental expression of corticotrophin-releasing factor genes in choriocarcinoma cell lines // Endocrinology 1996 Jul; 137(7):3000-8

222. Schnapp A., Schnapp B., Erny B., Grummt I. Function of the growth regulated transcription factor TIF-1A in intiation complex formation at the murine ribosomal gene promoter// Mol Cell Biol.; 1993, V.13, pp. 6723-6732
223. Schwarthz L., Skler V. Isolation of the multiple forms of dna-dependent RNA-polymerase in mouse myeloma// Mops J. Biol. Chem.; 1974, V.249, pp. 5889-5902.
224. Scudeletti M., Castagnetta L., Imbimbo B., New Glucocorticoids Mechanisms of Imunological of Formation, Degradction, and Action in Peripheral Tissues, edited by L. Castagnetta, S.d'Aquino, F.Labrie, and H.L.Bradlow, Annals of the New Yourk Academy of Science, V. 595, 1990.
225. Seifart K., Suhasz P., Benecke B. A protein factor from rat liver tissue enhancing the transcription of native templates by homologius RNA-polymerase// Eur. J. Biochem.; 1973, V.33, pp. 181-191.
226. Seither P., Iben S., Grummt I. Mammalian RNA polymerase I exists as a holoenzyme with associated basal transcription factors// J. Mol. Biol.; 1998, V.275, N.1, pp. 43-53.
227. Seppala M., Koistinen R., Rutanen E.M. Insulin-like growth factor binding protein-1 and placental protein 14 revisited // Hum Reprod 1994 Jun;9 Suppl 2:96-102
228. Sheller F., Bianchi D.E.//Cell and Molecular Biology, 1987, New York, 243p.
229. Shigeo N., Yasushi Y., Masao S. Cyclin D1 overexpression in malignant lymphomas // Pathology International. 47(7): 421-29, July 1997
230. Shilakadze A.M. Action of Plaferon LB on some clinical, biochemical, immunological and serological findings in infants with acute B virus hepatits. Tbilisi, 1993, 25p.
231. Shimoya K., et al. Human placental cells show enhanced production of interleukin (IL)-8 in response to lipopolysaccharide (LPS) / Mol Hum Repr, Vol.5, No. 9, 885 Sep, 1999.
232. Singh, IS;Luo, Z;Kozlowski, MT;Erlichman, J//Association of USF and c-Myc with a helix-loop-helix-consensus motif in the core promoter of the murine type IIbeta regulatory subunit gene of cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate-dependent protein kinase//Molecular Endocrinology, 1994, V.8 N.9 P.1163-1174,
.233. Smith S., Hong S., Yang-Yen H., Oriahi D., Lowe D., Rothblum L. Purification and characterisation of factors involved in transcription by RNA polymerase I// DNA-Protein Interactions in Transcription, Alan R. Liss, 1989, pp. 117-124.
234. Sollner-Webb B., Vougev E. News from the nucleolus: rRNA gene expression// TIBS; 1991, V.16, pp. 58-62.
235. Spector T. Refinement of the Coomassie blue method of protein quantitation// Anal. Bichem.; 1978, V.88, pp. 248-254.
236. Steiborn A., von Gall C., Hildenbrand R., Stutte HJ., Kaufmann M. Identification of placental cytokine-producing cells in term and preterm labor // Obstet Gynecol.1998, May, 91(3):329-335

237. Stewart F. Roles of mesenchymal-epithelial interactions and hepatocyte growth factor-scatter factor (HGF-SF) in placental development / Rev Reprod 1996 Sep,1(3):144-8.
238. Struhl K. Naturally occurring poly(dA-dT0 sequences are upstream promoter elements for constitutive transcription in yeast// PNAS; 1985, V.82, pp. 8419-8423.
239. Telfer JF, Thomson AJ et al Expression of superoxide dismutase and xanthene oxidize in myometrium, fetal membranes and placenta during normal human pregnancy and parturition.// Human Reproduction, Vol. 12, 2306-2312, 1997
240. Toniatti C.,Monaci P., Nicosia A., Cortese R., Ciliberto G. A bipartite activation domain is responsible for the activity of transcription factor HNF1/LFB1 in cells of hepatic and nonhepatic origin//DNA and Cell Biology;1993, V.12, N.3, pp 199-208
241. Trainor C., Evans T., Felsenfeld G., Boguski M. Structure and evolution of a human erytroid transcription factor// Nature; 1990, V.343, N.6253, pp.92-96,
242. Treich L., Carbes C., Riva M., Sentenac A. PRC 10 encodes a new mini subunit shaved by yeast nuclear RNA polymerases// Gene expr.; 1992, V.35, pp. 457-486.
243. Tsanev R.//Transcriptionally active chrimatine//Mol.Biol.Res., 1983, V.9, P.9-17
244. Vallejio M., Ron D., Miller CP.,Habener JF.C/ATF, a member of the activating transcription factor family of DNA-binding proteins, dimerizes with CAAT/enhancer-binding proteins and directs their binding to cAMP response elements//PNAS;1993, V.90, N.10, pp. 4679-4683.
245. Vallet V., Antoine B. Overproduction of a truncated hepatocyte nuclear factor 3 protein inhibits expression of liver-specific genes in hepatoma cells// Mol.Cell Biol.;1995, V.15, N.10, pp.5453-5460.
246. Voit R., Kuhn A., Sander E., Grummt I. Activation of mamalian ribosomal gene transcription requires phosphorilation of the nucleolar transcription factor UBF// Nuclec Acids Res.; 1995, V.23, N.14, pp. 2593-2599.
247. Voit R., Schafer K., Grummt I. Mechanism of repression of RNA polymerase I transcription by the retinoblastoma protein// Mol. Cell Biol.; 1997, V.17, N.8, pp. 4230-4237.
248. Wang F., Si Y., Li Y. The effect of platelet activating factor on the biosynthesis of thromboxane Ar and prostaglandin Ir in human placental villi and umbilical artery // Chung Hua Fu Chan Ko Tsa Chih 1997, Apr; 32(4):202-4
249. Wasylyk B., Hahn SI., Giovane A. The Ets family of transcription factors// Eur. J. Biochem.; 1993, V.211, N.1-2, pp. 7-18.
250. Wathes D.C., Reynolds T.S., Robinson R.S., Stevenson K.R. Role of insulin-like growth factor system in uterine function and placental development in ruminants // J Dairy Sci 1998 Jun; 81(6):1778-89
251. Watson J.D., Hopkins N.H., Roberts J.W. et al. Molecular Biology of the Gene //Forth edition, printed in USA, 1987. p.1163.

252. Weinberg R. The retinoblastoma protein and cell cycle control// Cell; 1995, V.81, pp. 323-330.

253. Weir, E;Chen, Q;DeFrances, MC;Bell, A;Taub, R;Zarnegar, R//Rapid induction of mRNAs for liver regeneration factor and insulin-like growth factor binding protein-1 in primary cultures of rat hepatocytes by hepatocyte growth factor and epidermal growth factor//Hepatology, 1994, V.20, N.41, P.955-960

254. Weiss S.B., Gladstone L.A mammalian system for incorporation of cytidine triphosphat into RNA // J Amer Chem Soc, 1959, Vol.81, 4118-4123

255. Wiethege T., Voss B., Müller K.-M. Oncogenes and tumor-suppressor genes in the pathogenesis of lung cancer // Der Chirurg., Vol. 15, Issue 6,1994, 321-30

256. Xigo H., Eziezen J., Lis J. et al A highly conserved domain of RNA polynerase II shares a functional element with acidic activator domains of upstream transcriptional factors // Mol Cell Biol 1994, Vol. 14, #1, 7507-16

257. Yang J., Liu J., DeFranco D.B., Subnuclear Trafficking of Glucocorticoid Receptor In Vitro: Cromatin Recycling and Nuclear Export// J.Cell Biology, V..137 (3) May 5, 1997 523-538.

258. Yang W., Inouye C., Zeng Y., Bearss D., Seto E. Transcriptional repression by YY1 is mediated by interaction with a mammalian homolog of the yeast global regulator RPD3// Mol. Cell Biol.; 1996, V.93, pp. 12845-12850.

259. Yoshinaga S., Dean N., Han., Berk A. Adenovirus stimulation of transcription by RNA polymerase III: Evidence for an E1A-dependent increase in transcription factor TFIIIC concentration// EMBO J;1986, V.5, pp. 343-354.

260. Young H., Whitley H., DNA-dependent RNA-polymerase in the dimorphism of fungus Mucorrouscil// J. Biol. Chem.; 1975, V.250, pp. 479-486.

261. Zhengxin Wang, Luo T., Roeder R. Identification of an autonomously initiatig RNA polymerase III holoenzyme containing a novel factor That is selectively inactivated during protein synthesis inhibition// Genes&Development; 1997, V.11, N.18, pp. 2371-2382.