

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ლი ა ნ ა რ ა მ ი შ ვ ი ლ ი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი  
ბიოლოგიის დეპარტამენტი  
უჯრედული და მოლეკულური ბიოლოგიის კათედრა

050414 - უჯრედული ბიოლოგია

*პროსტატის სიმსივნური ქსოვილისა და სისხლის უჯრედების  
მეტაბოლიზმის ზოგიერთი ასპექტის შესწავლა*

ს ა დ ო ქ ო რ ო დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

*სამეცნიერო ხელმძღვანელი:*

თსუ, ზუსტ და საბუნებისმეტყველო  
მეცნიერებათა ფაკულტეტის  
ბიოლოგიის დეპარტამენტის,  
უჯრედული და მოლეკულური  
ბიოლოგიის კათედრის გამგე,

ბ.მ.დ. პროფესორი *ნანული კოტრიკაძე*

თბილისი  
2017

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University

L i a n a R a m i s h v i l i

Faculty of Exact and Natural Sciences  
Department of Biology  
Division of Cellular and Molecular Biology

050414 - Cellular Biology

*Study of Some Aspects of Prostate Tumor Tissue and Blood Cell Metabolism*

**PhD Thesis**

*Scientific supervisor:*

TSU, Head of the Division of Cellular  
and Molecular Biology,  
Doctor of Biological Sciences

*Professor Nanuli Kotrikadze*

Tbilisi  
2017

## ანოტაცია

პროსტატის კიბო პოლიეტიოლოგიურ დაავადებათა ჯგუფს მიეკუთვნება და გავრცელების სიხშირით მამაკაცთა ონკოლოგიურ დაავადებებს შორის პირველი ადგილი უკავია.

პროსტატის კიბოს გავრცელების სიხშირიდან და სტატისტიკურად სარწმუნო „გაახალგაზრდავებიდან“ გამომდინარე აქტიურად მიმდინარეობს აღნიშნული პათოლოგიის განვითარების უჯრედული და მოლეკულური მექანიზმების კვლევა, თუმცა დღემდე არ არსებობს სრული, კომპლექსური სადიაგნოსტიკო ტესტები, რომლებიც ადრეულ სტადიაზე გამოავლენდნენ პროსტატის სიმსივნეებს. შედეგად დაავადებულთა ~60-80%-ს დაავადების კლინიკური გამოვლენისას პროსტატის პროგრესირებული სიმსივნე უფიქსირდება. აღნიშნულიდან გამომდინარე პროსტატის კანცეროგენეზის მექანიზმების ფუნდამენტური კვლევა, მეტაბოლური ტრანსფორმაციისას მიმდინარე ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილების შესწავლა და პროსტატ-სპეციფიკური ბიომარკერების მოძიება მნიშვნელოვან სიახლეს შეიტანს პროსტატის სიმსივნური ტრანსფორმაციისა და პროგრესირების შესახებ არსებულ მონაცემებში.

**სადისერტაციო ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილისა და სისხლის უჯრედების მეტაბოლიზმის ზოგიერთი ასპექტის შესწავლა.**

კვლევისათვის გამოყენებული იქნა ლაზერით ინდუცირებული ფლუორესცენციის, ელექტრონ-პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ), აბსორბციული სპექტროფოტომეტრიისა და ბიოქიმიური მეთოდები.

პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის უჯრედებში შესწავლილ იქნა **ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ზოგიერთი ასპექტი, კერძოდ კი მიტოქონდრიული დეფექტები და მიტოქონდრიული გლუტათიონ-დამოკიდებული სისტემა.** კვლევის შედეგად პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური უჯრედების მიტოქონდრიუმში დადგინდა იქნა კრებსის ციკლის აქტივაცია, სუნთქვითი ჯაჭვში ელექტრონების ნაკადის გაძლიერება და ტერმინალური ჟანგვის შესუსტება, მეორეს მხრივ კი აღნიშნული უჯრედების თავდაცვის უნარის გაძლიერება; შემუშავებულ იქნა პროსტატის ავთვისებიანი ქსოვილის უჯრედებისათვის დამახასიათებელი ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის სავარაუდო სქემა.

პროსტატის სიმსივნური ქსოვილში შესწავლილ იქნა **თავისუფალრადიკალური პროცესები და რკინა-გოგირდოვანი ცენტრები** ეპრ მეთოდის გამოყენებით. პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის ეპრ სპექტრებზე დაფიქსირდა თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაცია და რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების ეპრ-სიგნალის ინტენსივობის შემცირება, რაც სუნთქვითი ჯაჭვის კომპლექსების (I-III) ფუნქციონირების რღვევაზე მიუთითებს. პროსტატის ავთვისებიანი ქსოვილიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული სუსპენზიის ეპრ სპექტრებზე დაფიქსირდა სუპეროქსიდდისმუტაზას ეპრ სიგნალის ინტენსივობის შემცირება (რაც აღნიშნული ანტიოქსიდანტი ფერმენტის ფუნქციონირების დაქვეითებაზე მიუთითებს) და ციტოქრომ P450-ის სიგნალის ინტენსივობის მატება (რაც სტეროიდოგენეზის პროცესის დაქვეითებაზე მიუთითებს).

პროსტატის **სიმსივნური ქსოვილი შესწავლილ იქნა ასევე ლაზერით ინდუცირებული ფლუორესცენციის მეთოდის გამოყენებით.** აღნიშნული კვლევის შედეგად ჩაწერილ ფლუორესცენციულ სპექტრებში გამოვლინდა კოლაგენის პიკის ინტენსივობის მატება, რაც კარგად ასახავს ავთვისებიანი ტრანსფორმაციისათვის დამახასიათებელ სტრუქტურულ ცვლილებას და ასევე ნიკოტინამიდური კოფერმენტების შესაბამისი პიკის ინტენსივობის ცვლილება, რაც სრულად შეესაბამება ერთი მხრივ პროსტატის კეთილთვისებიანი (კრებსის ციკლის არასრული ფუნქციონირება) და მეორეს მხრივ პროსტატის ავთვისებიანი უჯრედებისათვის (კრებსის ციკლის აქტივაცია) დამახასიათებელ სპეციფიკურ ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმს.

პრაქტიკული გამოყენების თვალსაზრისით პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სისხლში შესწავლილ იქნა **ენდოგენური ინტოქსიკაციის სხვადასხვა კრიტერიუმი.** მიღებული შედეგების მიხედვით ერთროციტების მემბრანის სორბციისუნარიანობა სარწმუნო კრიტერიუმს წარმოადგენს ენდოგენური ინტოქსიკაციის ხარისხის შესაფასებლად აღნიშნული პათოლოგიის შემთხვევაში. ოპერაციამდე სისხლში ენდოგენური ინტოქსიკაციის სხვადასხვა კრიტერიუმის განსაზღვრამ **HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების ცალკე ჯგუფის გამოვლენის საშუალება მოგვცა,** რასაც პრაქტიკული გამოყენების პერსპექტივის თვალსაზრისით დიდი მნიშვნელობა ენიჭება. ყოველივე ამან ხელი უნდა შეუწყოს დაავადების აღნიშნული ფორმის მკურნალობის სწორი და ეფექტური ტაქტიკის შერჩევას (განსხვავებული ქირურგიული და ფარმაცოლოგიური მკურნალობა).

## Annotation

Prostate cancer belongs to the group of polyetiologic diseases and it is one of the most frequently diagnosed tumors among men. Most men diagnosed with prostate cancer are more than 65 years of age, although recent statistical data show the increased tendency of rejuvenation of given pathology. From the above mentioned research of cellular and molecular mechanisms of prostate cancer development deserves especially great interest. The problem of the early diagnostics of the disease should be also considered. Until today there are not available complex diagnostic tests, which on the very initial stage reveal the prostate tumors. As a result the progressed tumor and tumor metastasis is diagnosed in about 60-80 % of patients at the clinical revealing of the disease. Therefore, basic research on the mechanism of prostate carcinogenesis, study of energy metabolism alterations during malignant transformation and searching for the novel prostate specific biomarkers will bring significant novelty in the existing knowledge about prostate tumor transformation and progression.

The goal of the dissertation was to study some aspects of prostate tumor tissue and blood cell metabolism in men with prostate tumors.

Laser induced fluorescence, electron-paramagnetic resonance (EPR), absorption spectrophotometry and biochemical methods have been used for research.

Some aspects of energy metabolism, in particular, mitochondrial defects and activity of mitochondrial glutathione-dependent system have been studied in prostate tumor tissue cells. As a result of the research activation of Krebs cycle, intensification of electron flow in respiratory chain, impaired terminal oxidation and enhanced resistance of prostate malignant cells have been established. The possible scheme of energy metabolism has been drawn out for prostate malignant cells.

Free radical processes and Fe-S clusters have been studied in prostate tumor tissue using EPR method. EPR signal of Fe-S clusters was decreased and free radical signal was increased in case of malignant tumor tissue, that points to intensification of free radical processes and the impeded function of Fe-S cluster containing respiratory chain complexes (I-III). The sharp increase of cytochrome P450 signal and reduced signal of superoxide dismutase in the mitochondrial suspension, gained from prostate malignant tumor tissue, point towards impeded steroidogenesis on the one hand and the reduced function of the given antioxidant enzyme on the other.

Laser induced fluorescence studies of prostate tumor tissue revealed increased intensity of collagen peak that reflects the structural changes characteristic to malignant transformation and also the alterations of nicotinamide coenzymes peak intensity, that perfectly reflect and are in accordance with the specific metabolism of prostate benign and malignant tumor cells, respectively.

In terms of practical application, the study of different criteria of endogenous intoxication has been carried out in blood of men with prostate tumors. According to gained results, sorption capacity of erythrocyte membrane is a reliable criterion for evaluation of the degree of endogenous intoxication in case of prostate tumors.

Determination of different criteria of endogenous intoxication in blood gave us the possibility to distinguish patients with prostate benign hyperplasia with HGPIN regions as separate group, before being operated. This is especially important in terms of perspective of practical application. All this will facilitate the selection of correct and effective tactics for the treatment (different surgical and pharmacological treatment) for the given form of disease. Most importantly, all this will increase quality of life and life-span of the patient.

დიდ მადლობას ვუხდით ალ. წულუკიძის სახელობის უროლოგიის ეროვნულ ცენტრს, პირადად საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის აკადემიკოსს, მ. მ. დ., ლ. მანაგაძეს, თსუ მედიცინის ფაკულტეტის, უროლოგიის დეპარტამენტის ხელმძღვანელს, მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორს, პროფ. თ. ჩიგოგიძეს თანამშრომლობისათვის, გაწეული კონსულტაციებისა და საკვლევო ობიექტის შეუფერხებელი მოწოდებისათვის.

# ს ა რ ჩ ე ვ ი

<b>შესავალი</b>	1
<b>თავი I ლიტერატურის მიმოხილვა</b>	4
<b>1.1 პროსტატის სეკრეტორული უჯრედების მეტაბოლიზმი</b>	4
1.1.1 პროსტატის ნორმალური და ტრანსფორმირებული უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ზოგადი დახასიათება	7
1.2.1 ჟანგვითი სტრესი და პროსტატის კიბო	7
1.2.2 ჰიპოქსია და ROS	11
1.2.3 ჟანგბადის რეაქტიური ფორმები, მიტოქონდრია, ჟანგვითი ფოსფორილირება	12
1.2.4 მიტოქონდრიული ანტიოქსიდანტური სისტემები	15
1.2.5 NADPH ოქსიდაზას როლი პროსტატის კიბოს განვითარებაში	18
1.2.6 ანთებითი პროცესები და პროსტატის კიბო	19
<b>1.3 მიტოქონდრიები და პროსტატის კიბო</b>	24
1.3.1 მიტოქონდრიული სასიგნალო გზები და სიმსივნური პათოლოგია	24
1.3.2 მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციები	28
1.3.3 მეტაბოლური გადართვა და მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციები	32
1.3.4 მ-დნმ-ის მაკოდირებელი და არამაკოდირებელი უბნების მუტაციები პროსტატის კიბოს დროს	34
1.3.5 მიტოქონდრიული მუტაციები, როგორც კიბოს ბიომარკერები	36
<b>1.4 პროსტატის სიმსივნეების მოლეკულური ბიოლოგია</b>	37
1.4.1 პროსტატის კიბოს ინიციაციისა და განვითარების ეტაპები	37
1.4.2 ანდროგენები და პროსტატის კიბო	39
1.4.3 ქრომოსომული დარღვევები და პროსტატის კიბო	47
1.4.4 პროსტატის კიბოს მემკვიდრული საფუძვლები	50
1.4.5 პროსტატის კიბო და სუპრესორი გენები	52
1.4.6 ონკოგენები და პროსტატის კიბოს სასიგნალო გზები	54
1.4.7 ეპიგენეტიკური ცვლილებები და პროსტატის კიბო	58
<b>1.5 რკინა გოგირდოვანი ცილები</b>	59
1.5.1 რკინა-გოგირდოვანი ცილები	59
<b>თავი II კვლევის ობიექტი და მეთოდები</b>	63
2.1 კვლევის მასალა	63
2.2 კვლევის მეთოდები	63
2.2.1 ლაზერით ინდუცირებული ფლუორესცენციის მეთოდი	63

2.2.2 ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) მეთოდი	65
2.2.3 მიტოქონდრიების გამოყოფის მეთოდი	67
2.2.4 სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის განსაზღვრა	68
2.2.5 ციტოქრომოქსიდაზას აქტივობის განსაზღვრა	69
2.2.6 გლუტათიონპეროქსიდაზას (GSH-Px) აქტივობის განსაზღვრა	70
2.2.7 გლუტათიონრედუქტაზას (GR) აქტივობის განსაზღვრა	70
2.2.8 აღდგენილი გლუტათიონის კონცენტრაციის განსაზღვრა	70
2.2.9 ერითროციტის მემბრანის სორბციის უნარის განსაზღვრა	71
2.2.10 ერითროციტის მემბრანის განვლადობის განსაზღვრა	71
2.2.11 კრეატინინის განსაზღვრა სისხლის პლაზმში	72
2.2.12 საშუალო მოლეკულური მასის ნაერთების განსაზღვრა	72
2.2.13 ენდოგენური ინტოქსიკაციის ხარისხის განსაზღვრა	73
2.2.14 მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება	73
<b>თავი III მიღებული შედეგების ანალიზი და განხილვა</b>	74
3.1 პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი; მიტოქონდრიული დეფექტები: სუნთქვითი ჯაჭვის ფერმენტები და მიტოქონდრიული ანტიოქსიდანტური სისტემა	74
3.2 პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის ეპითელური უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილების ზოგიერთი ასპექტი	85
3.3 პროსტატის სიმსივნური ქსოვილსა და მიტოქონდრიებში თავისუფალ რადიკალური პროცესებისა და რკინა-გოგირდოვანი ცილების შესწავლა ელექტრონ-პარამაგნიტური რეზონანსის მეთოდით	88
3.4 პროსტატის სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის შესწავლა ლაზერით ინდუცირებული ფლუორესცენციის მეთოდით	99
3.5 ენდოგენური ინტოქსიკაციის კრიტერიუმები და პროსტატის სიმსივნეები	109
<b>თავი IV დასკვნები</b>	118
<b>თავი V გამოყენებული ლიტერატურა</b>	119

## შემოკლებების სია:

- მ-დნმ** - მიტოქონდრიული დნმ
- ეი** - ენდოგენური ინტოქსიკაცია
- ეიკ** - ენდოგენური ინტოქსიკაციის კოეფიციენტი
- ROS** - ჟანგბადის რეაქტიული ფორმები
- BHP** - პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია
- CaP** - პროსტატის ადენოკარცინომა
- PSA** - პროსტატ სეპეციფიური ანტიგენი
- PIN** - პროსტატის ინტრაეპითელური ნეოპლაზია
- HGPIN** - მაღალი ხარისხის პროსტატის ინტრაეპითელური ნეოპლაზია
- LGPIN** - დაბალი ხარისხის პროსტატის ინტრაეპითელური ნეოპლაზია
- HIF** - ჰიპოქსია ინდუცირებადი ფაქტორი
- SDH** - სუქცინატდეჰიდროგენაზა
- FH** - ფუმარატ ჰიდრატაზა
- COX** - ციტოქრომოქსიდაზა
- NADH** - ნიკოტინამიდადენინდინუკლეოტიდი
- NADP** - ნიკოტინამიდადენინდინუკლეოტიდ ფოსფატი
- D Loop** - მიტოქონდრიული დნმ-ის არაკოდირებადი, რეგულატორული უბანი
- PHD 1-3** - პროლილ ჰიდროქსილაზების კომპლექსი
- VDAC** - პოტენციალ-დამოკიდებულ ანიონურ არხი
- Akt** - პროტეინკინაზა B
- NFκB** - ბირთვული ფაქტორი κB
- ANT** - ადენინუკლეოტიდის ტრანსპორტერი
- Bax** - აპოპტოზის მაინდუცირებელი ცილა
- LNCaP** - პროსტატის კიბოს ანდროგენ მგრძობიარე უჯრედული ხაზი
- C4-2** - პროსტატის ანდროგენ დამოუკიდებელი კიბოს უჯრედული ხაზი
- APE-1** - აპურინის/აპირიმიდინის ენდონუკლეაზა 1
- COI - COIII** - ციტოქრომოქსიდაზას შესაბამისი სუბერთეულების მაკოდირებელი მიტოქონდრიული გენები.
- ATP6, (8)** - ატფ სინთეტაზას შესაბამისი სუბერთეულების მაკოდირებელი მიტოქონდრიული გენები
- LPS** - ლიპოპოლისაქარიდები



- XO** - ქსანტინოქსიდაზა
- TNF- $\alpha$**  - სიმსივნის ნეკროზული ფაქტორი - ალფა
- IFN- $\gamma$**  - ინტერფერონი გამა
- iNOS** - ინდუცირებადი NO სინთეტაზა
- MAPK** - მიტოგენ- აქტივირებული პროტეინ კინაზები
- OGG1** - 8-ოქსოგუანინ დნმ გლიკოზილაზა 1
- Cyt c** - ციტოქრომ c
- Cyt b** - ციტოქრომ b
- Nox** - NADPH ოქსიდაზები
- GSH** - აღდგენილი გლუტათიონი
- GSTA1** - გლუტათიონ S ტრანსფერაზა A1
- GSP1** - გლუტათიონ S ტრანსფერაზა (Pi ქვეკლასი)
- FAK** - ფოკალური ადჰეზიის კინაზა
- FoF<sub>1</sub>-ATP** აზა- მიტოქონდრიული **ATP** სინთეტაზა
- ND1-7** - მიტოქონდრიის **NADH** დეჰიდროგენაზული კომპლექსი (1-7 სუბერთ),  
სუნთქვითი ჯაჭვის I ფერმენტული კომპლექსი;
- CYP17A** - ციტოქრომ P450 17  $\alpha$  ჰიდროქსილაზა
- TRT** - ტესტოსტერონის ჩანაცვლებითი თერაპია
- AR** - ანდროგენის რეცეპტორი
- ADT** - ანდროგენ დამთრგუნველი თერაპია
- CRPC** - კასტრაცია - რეზისტენტული პროსტატის კიბო

## შესავალი

### *თემის აქტუალობა*

პროსტატის (წინამდებარე ჯირკვლის) კიბო პოლიეტიოლოგიურ დაავადებათა ჯგუფს მიეკუთვნება და გავრცელების სიხშირით მამაკაცთა ონკოლოგიურ დაავადებებს შორის პირველი ადგილი უკავია (Coffey, 1993).

ითვლება, რომ პროსტატის კიბო ასაკოვანი მამაკაცების დაავადებაა (Khandrika et al., 2009), თუმცა უახლესი სტატისტიკური მონაცემები წინამდებარე ჯირკვლის სიმსივნეებით დაავადებული 40-50 წლის მამაკაცების რაოდენობის მკვეთრ ზრდაზე მიუთითებს (Greenlee et al., 2001).

პროსტატის სიმსივნეების პათოგენეზში გენეტიკურ (Abate-Shen, 2000), ინფექციურ, იმუნურ (Pienta et al., 1993), ჰორმონულ (Prehn, 1999) და ალიმენტურ ფაქტორებს წამყვანი როლი ენიჭება (Carter et al., 1993). საყურადღებოა გარემო ფაქტორების როლიც (Carter et al., 1990), რამეთუ სიმსივნური პროცესის განვითარებისათვის ერთ-ერთ აუცილებელ პირობას ორგანიზმზე გარემოს არახელსაყრელი ფაქტორების მავნე ზემოქმედებაც წარმოადგენს.

გასათვალისწინებელია ისიც, რომ პროსტატის კიბოს გავრცელების სიხშირიდან და სტატისტიკურად სარწმუნო „გაახალგაზრდავებიდან“ გამომდინარე აღნიშნული პრობლემით მეცნიერ-მკვლევართა ფართო დაინტერესების, სხვადასხვა მიმართულებით წარმოებული მეცნიერული კვლევების სიმრავლის, სიღრმისა და მრავალფეროვნების მიუხედავად სრული, კომპლექსური სადიაგნოსტიკო ტესტები და შესაბამისად პროსტატის სიმსივნეების ადრეულ სტადიაზე გამოვლენის შესაძლებლობა დღემდე არ არსებობს. შედეგად დაავადებულთა ~60-80% პროსტატის პროგრესირებული სიმსივნე დაავადების კლინიკური გამოვლენისას უფიქსირდებათ (Abate-Shen, 2000).

ზემოთთქმულიდან გამომდინარე პროსტატის კანცეროგენეზის მექანიზმების ფუნდამენტური კვლევა, მეტაბოლური ტრანსფორმაციისა (Khandrika et al., 2009) და ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის (მიტოქონდრიული დეფექტები) ცვლილების შესწავლა (Wallace, 2005; Parr et al., 2007), დაავადების პროგრესირებასთან ასოცირებული პროსტატ-სპეციფიკური ბიომარკერების მოძიება მნიშვნელოვან სიახლეს შეიტანს ონკოლოგიის, როგორც დარგის უკვე არსებულ მონაცემებში პროსტატის სიმსივნური ტრანსფორმაციისა და პროგრესირების შესახებ;

ამგვარად, პრობლემის აქტუალობას განაპირობებს პროსტატის სიმსივნეების ფართო გავრცელება, რისკ-ფაქტორების ფართო სპექტრი, სრული, კომპლექსური სადიაგნოსტიკო ტესტების არარსებობა (რომელიც დაავადების საწყის ეტაპზე გამოვლენას ბევრ სირთულეს უქმნის). პრობლემის აქტუალობას ასევე განაპირობებს პროსტატის პერიფერიული ზონის ეპითელიური უჯრედებისათვის დამახასიათებელი ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის სპეციფიური ტიპი, ჰორმონული მკურნალობის ახალი გზების ძიება და მათი სამედიცინო პრაქტიკაში დანერგვა (რომელიც ხელს შეუშლის ჰორმონ-რეზისტენტული კიბოს განვითარებას და შესაბამისად გაზრდის პაციენტთა სიცოცხლის ხანგრძლივობას).

## კვლევის მიზანი და ამოცანები

სადისერტაციო ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა:

*პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილისა და სისხლის უჯრედების მეტაბოლიზმის ზოგიერთი ასპექტის შესწავლა.*

აღნიშნული მიზნის მისაღწევად დასახული იქნა შემდეგი ამოცანები:

1. პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის ეპითელური უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის კერძოდ მიტოქონდრიული დეფექტების (სუნთქვითი ჯაჭვისა და მიტოქონდრიული ანტიოქსიდანტური სისტემის (გლუტათიონ-დამოკიდებული სისტემა) ფერმენტების აქტივობის ცვლილების) შესწავლა;
2. პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის ეპითელური უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის სავარაუდო სქემის მოწოდება;
3. პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილსა და მიტოქონდრიუმში თავისუფალრადიკალური პროცესებისა და რკინა-გოგირდოვანი ცილების შესწავლა ელექტრონ-პარამაგნიტური რეზონანსის მეთოდით;
4. პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის კვლევა ლაზერით ინდუცირებული ფლუორესცენციის მეთოდით;
5. ენდოგენური ინტოქსიკაციის კრიტერიუმების შესწავლა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სისხლში;  
აღნიშნული კრიტერიუმების შეფასება და მათი როგორც დამხმარე სადიაგნოსტიკო ტესტ-მეთოდად გამოყენების პერსპექტივის დასახვა.

## სამეცნიერო სიახლე

- პირველად იქნა შესწავლილი სუნთქვითი ჯაჭვის ფერმენტების: სუქცინატ-დეჰიდროგენაზასა და ციტოქრომოქსიდაზას აქტივობა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილებიდან გამოყოფილ მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში;
- პირველად იქნა შესწავლილი პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილებიდან გამოყოფილ მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში მიტოქონდრიული ანტიოქსიდანტური სისტემის - გლუტათიონ-დამოკიდებული სისტემის ფერმენტებისა (გლუტათიონ პეროქსიდაზა, გლუტათიონ რედუქტაზა) და აღდგენილი გლუტათიონის რაოდენობის ცვლილება.
- პირველად იქნა შესწავლილი პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილები ლაზერით ინდუცირებული ფლუორესცენციის მეთოდით.
- პირველად იქნა შესწავლილი რკინა-გოგირდოვანი კლასტერებისათვის და თავისუფალი რადიკალებისათვის დამახასიათებელი ეპრ-სიგნალები პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილსა და აღნიშნული ქსოვილებიდან გამოყოფილ მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში.

- პირველად განხორციელდა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სისხლში ენდოგენური ინტოქსიკაციის კრიტერიუმებისა და ენდოგენური ინტოქსიკაციის ხარისხის შეფასება.

### ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა

- წინამდებარე ნაშრომი წარმოადგენს ფუნდამენტური და გამოყენებითი კვლევების ერთობლიობას, რომელსაც როგორც თეორიული, ასევე პრაქტიკული მნიშვნელობა ენიჭება. აღნიშნული გამოკვლევა საშუალებას იძლევა გამოვლინდეს ის სპეციფური ნიშნები, რომელიც პროსტატის სიმსივნეების წარმოქმნა-განვითარებასთანაა დაკავშირებული.

შესწავლილია პროსტატის კანცეროგენეზის დღემდე უცნობი მხარეები და დაფიქსირებულია ორგანიზმში უჯრედულ და მოლეკულურ დონეზე მიმდინარე ცვლილებები, რომელსაც ადგილი აქვს აღნიშნული დაავადების მიმდინარეობის დროს.

წინამდებარე ნაშრომი დიდ დახმარებას გაუწევს ბიოლოგიისა და მედიცინის დარგში მომუშავე აღნიშნული საკითხით დაინტერესებულ მკვლევარებსა და კლინიცისტებს.

- სიმსივნური ქსოვილების ლაზერით ინდუცირებულ ფლუორესცენციის სპექტრები საშუალებას იძლევა მოვახდინოთ პროსტატის სიმსივნეების დიფერენცირება და ვიმსჯელოთ დაავადების პროგრესირების ხარისხზე.
- პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სისხლში პირველად მოხდა ენდოგენური ინტოქსიკაციის კრიტერიუმების შეფასება, რაც პრაქტიკული გამოყენების პერსპექტივის დასახვის საშუალებას იძლევა.

# თავი I

## ლიტერატურის მიმოხილვა

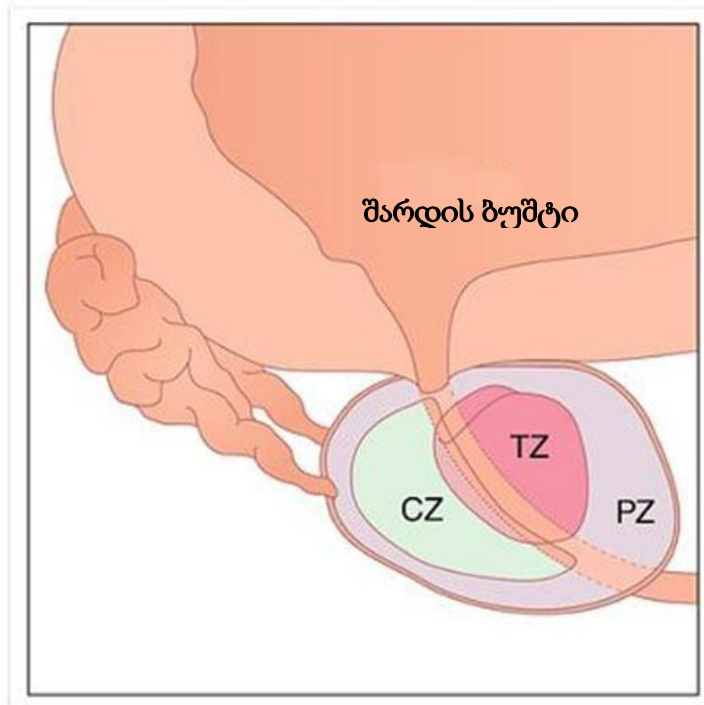
### 1.1 პროსტატის სეკრეტორული უჯრედების მეტაბოლიზმი

#### 1.1.1 პროსტატის ნორმალური და ტრანსფორმირებული უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ზოგადი დახასიათება

პროსტატა კენტი, კუნთოვან-ჯირკვლოვანი ორგანოა. აღნიშნული ორგანოს ჰისტოლოგიურად ორგვაროვანი აგებულება მის ორ განსხვავებულ ფუნქციას უზრუნველყოფს. იგი როგორც კუნთოვანი ორგანო, ქმნის შარდსადენის უნებლიე (გლუვკუნთოვანი) მძლავრ სფინქტერს, რადგან მის სისქეში გაივლის შარდსადენი, ხოლო როგორც ჯირკვლოვანი ორგანო გამოიმუშავებს სეკრეტს, რომელსაც მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება სპერმატოზოიდების ცხოველყოფილობასა და აქტივობაში (კაციტაძე, 1992). როგორც ცნობილია, პროსტატის სეკრეტორულ ფუნქციას უზრუნველყოფს მის ეპითელიუმში არსებული სეკრეტორული უჯრედები. გარდა სეკრეტორული უჯრედებისა, აქ გვხვდება აგრეთვე ბაზალური და ენდოკრინულ-პარაკრინული უჯრედებიც (Isaacs and Coffey, 1989; Sell and Pierce, 1994).

ანატომიურად პროსტატის ჯირკვალში 3 ზონას განარჩევენ (McNeal et al., 1988): პროსტატის იმ უბანს, რომელიც გარს ერტყმის შარდსადენს (*proximal urethra*) ტრანზიციულ ანუ გარდამავალ ზონას უწოდებენ. აღნიშნულ უბანზე პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევათა 10% მოდის და იგი ძირითადად პასუხისმგებელია პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნის განვითარებაზე. პროსტატის ცენტრალური ზონა თავის მხრივ გარს ეკვრის გარდამავალ ზონას და ვრცელდება შარდის ბუშტამდე და შარდსადინარის კუთხემდე. პროსტატის სიმსივნეთა 5% სწორედ აღნიშნულ ზონაში ვითარდება. მესამე ზონა კი წარმოადგენს ე.წ. პერიფერიულ ზონას, რომელიც ჯირკვალის 70%-ს მოიცავს. ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის 80% სწორედ აღნიშნულ უბანზე მოდის (სურ. 1.1.1). აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ პერიფერიული ზონის უჯრედების მეტაბოლიზმი ძლიერ განსხვავდება ცენტრალური ზონის უჯრედების მეტაბოლიზმისაგან (Dakubo et al., 2006).

ცნობილია, რომ პერიფერიული ზონის ეპითელიური უჯრედები მაღალსპეციალიზირებულ სეკრეტორულ უჯრედებს წარმოადგენენ (Costello and Franklin, 2000). აღნიშნული ზონის უჯრედებისათვის ნორმაში დამახასიათებელია თუთიის დიდი რაოდენობებით (ნორმალური ქსოვილი - 3,000 - 4,500 nmol/g; პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია - 4800-6100 nmol/g; პროსტატის კიბო - 400-800 nmol/g) დაგროვება (Costello and Franklin, 2006) (ცხრ.1.1.1), რაც ძირითადად თუთიის ტრანსპორტერების გაძლიერებული აქტივობის შედეგს უნდა წარმოადგენდეს (Kelleher et al., 2011). ცნობილია, რომ აღნიშნული უჯრედების მიტოქონდრიუმში თუთიის მაღალი კონცენტრაცია აინჰიბირებს კრებსის ციკლის ფერმენტის m-აკონიტაზას აქტივობას, რაც დაუჟანგავი ციტრატის ჭარბი რაოდენობით დაგროვებას განაპირობებს (Costello et al., 2004). აქვე უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ თუთიის მაღალი კონცენტრაცია ასევე აინჰიბირებს მიტოქონდრიალურ სუნთქვას და ელექტრონების ტერმინალურ გადატანას (Kelleher et al., 2011).



სურ. 1.1.1 პროსტატის ჯირკვალის აგებულების ზოგადი სქემა (Wesley, 1999 )

TZ – ტრანზიციული ზონა; CZ – ცენტრალური ზონა

PZ - პერიფერიული ზონა

ცხრილი 1.1.1

პროსტატის ნორმალური და სიმსივნური ქსოვილებისათვის დამახასიათებელი ციტრატისა და თუთიის კონცენტრაციები (Costello and Franklin, 2006)

#	ობიექტი	ციტრატის რაოდენობა (nmol/g)	თუთიის რაოდენობა (nmol/g)
1	ნორმალური ქსოვილი (პერიფერიული ზონა)	12,000-14,000	3,000 - 4,500
2	პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია (Franklin et al., 2005)	~14,000	~ 4000
3	პროსტატის კიბო	200 - 2,000	400-800
4	სხვა რბილი ქსოვილები	250-450	200-400
5	პროსტატის სითხე	40,000-150,000	8,000-10,000
6	სისხლის პლაზმა	100-200	15

ცნობილია, რომ პროსტატის ნორმალური ჯირკვლოვანი ეპითელური უჯრედებისათვის დამახასიათებელია კრებსის ციკლის არასრული სახით ფუნქციონირება, სუნთქვისა და ტერმინალური ჟანგვის დაბალი სიჩქარე (Dakubo et al., 2006). ისინი ენერგეტიკულად არაეფექტურები არიან და შესაბამისად წარმოქმნიან მცირე რაოდენობით ჟანგბადის რეაქტიულ ფორმებს (**ROS**) (Parr et al., 2007; Khandrika et al., 2009). შესაძლოა, რომ აღნიშნული ეპითელური უჯრედები ფლობდნენ ალტერნატიულ მეტაბოლურ გარდაქმნებს, რათა ენერჯის პროდუქცია **ROS** წარმოქმნის გარეშე წარიმართოს (Khandrika et al., 2009). **ROS** მცირე რაოდენობით წარმოქმნა ნორმაში შესაძლოა დაკავშირებული იყოს ანტიოქსიდანტური ფერმენტების მაკოდირებელი გენების (GPX1) ექსპრესიის ნეგატიურ რეგულაციასთან, რასაც ხშირად ადგილი აქვს იმ უჯრედების შემთხვევაში, რომლებიც მ-დნმ-ს არ შეიცავენ (Singh, 2004). აქედან გამომდინარე ნორმალური პერიფერიული ზონის უჯრედები სავარაუდოდ ნაკლებ ტოლერანტულები უნდა იყვნენ ROS-ისადმი სხვა უჯრედებთან შედარებით.

რაც შეეხება პროსტატის პერიფერიული ზონის ეპითელურ უჯრედებს, ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის ადრეულ ეტაპზევე ეს უკანასკნელნი ენერგეტიკულად არაეფექტური სისტემიდან გადაერთვებიან ენერგეტიკულად ეფექტურ სისტემაზე (Costello and Franklin, 2000; Dakubo et al., 2006). აღნიშნული მეტაბოლური ცვლილებების ადრეულ მარკერს წარმოადგენს თუთიის ტრანსპორტერების რაოდენობის ძლიერი შემცირება ტრანსფორმაციის სტადიაში მყოფ ეპითელურ უჯრედებში, რასაც უჯრედში თუთიის კონცენტრაციის მნიშვნელოვანი შემცირება მოყვება (~80%-ით) (Costello and Franklin, 2006) (ცხრ.1.1.1). იმის გამო, რომ აღნიშნული უჯრედების მიტოქონდრიებში თუთიის დონის დაბალი მაჩვენებელი ვეღარ აინჰიბირებს ფერმენტ m-აკონიტაზას, ადგილი აქვს ციტრატის სრული მეტაბოლიზმის განხორციელებას კრებსის ციკლის საშუალებით (Costello and Franklin, 2000; Singh et al., 2006). შედეგად წარმოიქმნება 38 ATP/ ერთ მოლეკულა გლუკოზაზე, რაც ~3-ჯერ აღემატება ნორმალური პერიფერიული ზონის უჯრედების მაჩვენებელს (14 ATP/გლუკოზის ერთ მოლეკულაზე) (Dakubo et al., 2006). ამგვარად, პროსტატის პერიფერიული ზონის ავთვისებიანი ეპითელური უჯრედები ახდენენ ციტრატის სრულად დაჟანგვას და არიან ბიოენერგეტიკულად უფრო ეფექტურები ნორმალურ უჯრედებთან შედარებით. შესაბამისად, ციტრატის კონცენტრაცია ავთვისებიან ქსოვილში მკვეთრად დაბალია კეთილთვისებიან ქსოვილთან შედარებით (ცხრ.1.1.1) (Costello and Franklin, 2006). არსებობს ვარაუდი, რომ ენერჯის ეფექტური პროდუქცია ხელს უნდა უწყობდეს და აადვილებდეს ავთვისებიან ტრანსფორმაციას (Dakubo et al., 2006). სავარაუდოა, რომ ციტრატის ნაწილი აღნიშნულ ტრანსფორმირებულ უჯრედებში გამოიყენება ლიპიდების ბიოსინთეზისათვის *de novo*, რაც აუცილებელ სუბსტრატს უნდა წარმოადგენდეს სწრაფად გაყოფადი უჯრედებისათვის (Costello and Franklin, 2006; Dakubo et al., 2006).

## 1.2. თავისუფალრადიკალური პროცესები და პროსტატის კიბო

### 1.2.1 ჟანგვითი სტრესი და პროსტატის კიბო

პროსტატის კიბო ძირითადად ასაკოვანი მამაკაცების დაავადებაა და უმეტესად 55 წელს გადაცილებულ მამაკაცებში გვხვდება (Coffey 1993; Khandrika et al., 2009), თუმცა აღსანიშნავია აღნიშნული პათოლოგიის გაახალგაზრდავების ტენდენცია (Greenlee et al., 2001). თვლიან რომ, ხანდაზმულ ადამიანებში უჯრედის მეტაბოლიზმში წლების მანძილზე მიმდინარე პროგრესირებადი, მემკვიდრული ან შეძენილი ცვლილებები მნიშვნელოვან როლს უნდა ასრულებდეს აღნიშნული დაავადების განვითარებაში (Khandrika et al., 2009). მრავალი ფაქტორი როგორცაა: ალიმენტური ფაქტორი, გარემოში ფაქტორები, სხვადასხვა ანთებითი დაავადებები, ჰორმონალური ჰომეოსტაზის ცვლილება და მრავალი სხვა ზრდის პროსტატის კიბოს განვითარების რისკს ორივე ასკობრივ პერიოდში (Dakubo et al., 2006).

ბოლო წლების გამოკვლევები მიუთითებენ ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების (ROS) მატების როლზე ზოგიერთ უჯრედულ პროცესებზე, როგორცაა: უჯრედის ტრანსფორმაცია, ატიპური ზრდა, უჯრედის პროლიფერაცია (Lambeth, 2007; Naka et al., 2008). ვარაუდობენ, რომ პროლიფერაცია, აპოპტოზი და დაბერებასთან დაკავშირებული პროცესები იმ სასიგნალო გზების აქტივაციის შედეგია, რომლის ჩართვასაც უჯრედშიდა ROS-ის რაოდენობის ცვლილება იწვევს (Sauer et al., 2001).

ცნობილია, რომ ჰიდროქსი-რადიკალები ( $\text{OH}^\cdot$ ), ზეჟანგები ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) და სუპეროქსიდები ( $\text{O}_2^\cdot$ ) ჟანგბადის რეაქტიულ ფორმებს წარმოადგენენ, რომელთა წარმოქმნა მეტაბოლიზმის შედეგად ნორმალურ უჯრედებშიც მიმდინარეობს. ROS რომლებიც წარმოიქმნებიან როგორც ენდოგენურად (მიტოქონდრიებში, მეტაბოლურ პროცესებში, ანთების დროს და სხვ.) ასევე ეგზოგენურად, მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ზოგიერთი ბიოლოგიური პროცესის რეგულაციაში (Barzilai et al., 2002). ტრადიციულად ROS-ის მატებას ქსოვილების ან დნმ-ის დაზიანებასთან აკავშირებენ, რაც პათოლოგიის ზოგად გამოვლინებად ითვლება და უკავშირდება ინფექციებს, ასაკს, მიტოქონდრიული დნმ-ის (მ-დნმ) მუტაციებს და უჯრედების პროლიფერაციას (Lambeth, 2007).

ცნობილია, რომ ROS-ის ჭარბი რაოდენობით წარმოქმნამ ანუ ნორმალური უჯრედის დამცველი ანტიოქსიდანტური სისტემის ნორმიდან გადახრამ შეიძლება უჯრედის ჟანგვითი სტრესი გამოიწვიოს (Naka et al., 2008). დაბერება, ჰორმონული დისბალანსი, საკვებში არსებული ცხიმი და პრესიმსივნი მდგომარეობა, როგორცაა მაგ: პროსტატის მაღალი ხარისხის ინტრაეპიტელური ნეოპლაზია (HGPIN) და სხვა, შესაძლოა დაკავშირებული იყოს ჟანგვით სტრესთან (Khandrika et al., 2009). ავთვისებიანი სიმსივნის განვითარების კლასიკური თეორია განიხილავს ფიზიკურ (რენტგენის  $\gamma$  სხივები, ულტრაიისფერი გამოსხივება), ქიმიურ (ჰეტეროციკლური ამინები, არომატული პოლიციკლური ნახშირწყალბადები, ნიტროზონაერთები და სხვა) და ბიოლოგიურ (ვირუსები) კანცეროგენებს. სამივე ტიპის კანცეროგენებს საფუძვლად უდევს თავისუფალრადიკალური პროცესები (Maeda и др., 1998).

ჰიდროქსილის რადიკალი ( $\text{OH}^\cdot$ ), სუპეროქსიდი ( $\text{O}_2^\cdot$ ) და სინგლეტური ჟანგბადი, წარმოიქმნებიან რა წყლის ან ჟანგბადის მოლეკულაზე მაიონიზებული გამოსხივების



მოქმედებით, აზიანებენ ცილებს, ნუკლეინის მჟავებს და სასიცოცხლო მნიშვნელობის სხვა მოლეკულებს. შესაბამისად, ნუკლეინის მჟავების დაზიანება იწვევს მუტაციებს და სიმსივნის განვითარებას (Maeda и др., 1998). აქვე უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ ქიმიური კანცეროგენების მოქმედებითაც ადგილი აქვს  $O_2^-$  და სხვა თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნას სისტემაში ციტოქრომ P<sub>450</sub>-ისა და ციტოქრომ P<sub>450</sub>-რედუქტაზას თანაობისას (Sato et al., 1992).

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ NO წარმოადგენს უჯრედული მეტაბოლიზმის უნივერსალურ რეგულატორს იგი მონაწილეობს სისხლძარღვთა სისტემის ტონუსის რეგულაციაში, როგორც ადრენერგული ნერვული სისტემის ანტაგონისტი, აფერხებს თრომბოციტების აგრეგაციას და სისხლძარღვთა კედლებზე მათ ადგეზიას. NO უზრუნველყოფს არა მხოლოდ სისხლძარღვთა კედლების, არამედ კუჭ-ნაწლავის კედლების გლუვი კუნთების მოდუნებასაც (Maeda и др., 1998). NO ფუნქციონირებს ცენტრალურ და პერифერიულ ნერვულ სისტემაში. ეფერენტული ნერვებით აღნიშნული აგენტი არეგულირებს კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის, სასუნთქი და შარდ-სასქესო სისტემის ორგანოთა მოქმედებას. აღინიშნება NO-ს გავლენა სეკრეტორული ქსოვილებისა და უჯრედების ფუნქციონირებაზეც (Ванин, 1998).

ბოლო ათწლეულის მანძილზე განსაკუთრებული ყურადღებით განიხილება NO-სა და მისი წარმოებულების როლი კანცეროგენეზში. ცნობილია, რომ აზოტოვანი მჟავა, დეამინირებისა და ნიტრირების გზით, აზიანებს ნუკლეინის მჟავებს (Fraenkel-Conrat, 1964). ცნობილია, ისიც რომ NO ფერმენტული და არაფერმენტული ჟანგით, წარმოქმნის აზოტის ოქსიდის აქტიურ ფორმებს (Peутов и др., 1998). NO განსაკუთრებით სწრაფად რეაგირებს  $O_2^-$ -თან, შედეგად წარმოქმნის პეროქსინიტრიტს (ONOO<sup>-</sup>), რაც ნუკლეინის მჟავების ძლიერ დამაზიანებელ აგენტსა (Imley and Linn, 1988) და კანცეროგენეზის ინიცირების უმნიშვნელოვანეს ფაქტორს წარმოადგენს (Maeda и др., 1998). აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ არსებობს გარკვეული კორელაცია ადამიანის მიერ ნიტრატების მოხმარებასა და სიმსივნით (საყლაპავის, კუჭის, შარდის ბუშტის, მსხვილი ნაწლავის) დაავადების რისკს შორის (Hartman, 1982).

უკანასკნელ წლებში განსაკუთრებულ ინტერესს იმსახურებს NO-სა და მისი წარმოებულების უნარი, მოახდინონ მთელი რიგი ცილებისა და ფერმენტების ('სტრესული' ცილების, ფერიტინის, ანტიოქსიდატური ცილების, ტრანსფერინის რეცეპტორული ცილების, ბირთვული ცილა P<sub>450</sub>-ის) ექსპრესია ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის დონეზე. ასევე მოახდინონ გარკვეული ცილების და ფერმენტების (გუანილატციკლაზას, რიბონუკლეოტიდრედუქტაზას, სუნთქვითი ჯაჭვისა და გლიკოლიზის კომპონენტების, ციტოქრომ P<sub>450</sub>-ის, იონური არხების ცილების) აქტივობის რეგულირება (Ванин, 1998). ასევე ცნობილია NO-ს გამააქტივებელი მოქმედება მნიშვნელოვან შიდაუჯრედულ ცილაზე (გუანილატციკლაზაზე), რომელიც პასუხისმგებელია მეორადი მესენჯერის (cGMP-ის) სინთეზზე (Arnold et al., 1997). აღნიშნული ნაშრომის ავტორები თვლიან, რომ აღნიშნული აქტივაცია გამოწვეული უნდა იყოს NO-ს დაკავშირებით გუანილატციკლაზას ჰემის ჯგუფთან. აქედან გამომდინარე ავტორები ვარაუდობენ, რომ NO-ს აქტიური ფორმების როლი კანცეროგენეზში გენთა (ონკოგენების) ექსპრესიის არასპეციფიურ გაძლიერებასთან უნდა იყოს დაკავშირებული (Григорьев и Кольтовер, 1987).

უკანასკნელი წლების მონაცემებით თავისუფალი რადიკალების დაგროვება დამახასიათებელია არა მხოლოდ სიმსივნური, არამედ ანთებითი და ინფექციური დაავადებების დროს. ცნობილია, რომ ანთებითი პროცესებისთვის დამახასიათებელია შესაბამის ქსოვილებში  $O_2^-$ -ისა და NO-ს აქტიური ფორმების რაოდენობის მნიშვნელოვანი მატება (Maeda и др., 1998). არსებობს მოსაზრება, რომ სწორედ აღნიშნული რადიკალები ( $O_2^-$  და NO) და მათი ურთიერთქმედების პროდუქტი პეროქსინიტრიტი ( $ONOO^-$ ) ასრულებს ძირითად როლს ინფექციური დაავადებების პათოგენეზშიც (Akaike et al., 2002). აღნიშნულ თავისუფალ რადიკალებს შეუძლიათ მასპინძელი უჯრედების დნმ-ის, ფერმენტებისა და ცილების დაზიანება (Maeda и др., 1998). განსაკუთრებით აღსანიშნავია  $ONOO^-$ -ის მიერ ნუკლეინის მჟავების დაზიანება და მუტაციების წარმოქმნა, რაც შეიძლება სიმსივნის ინიცირების მიზეზი გახდეს (Imley and Linn, 1988).

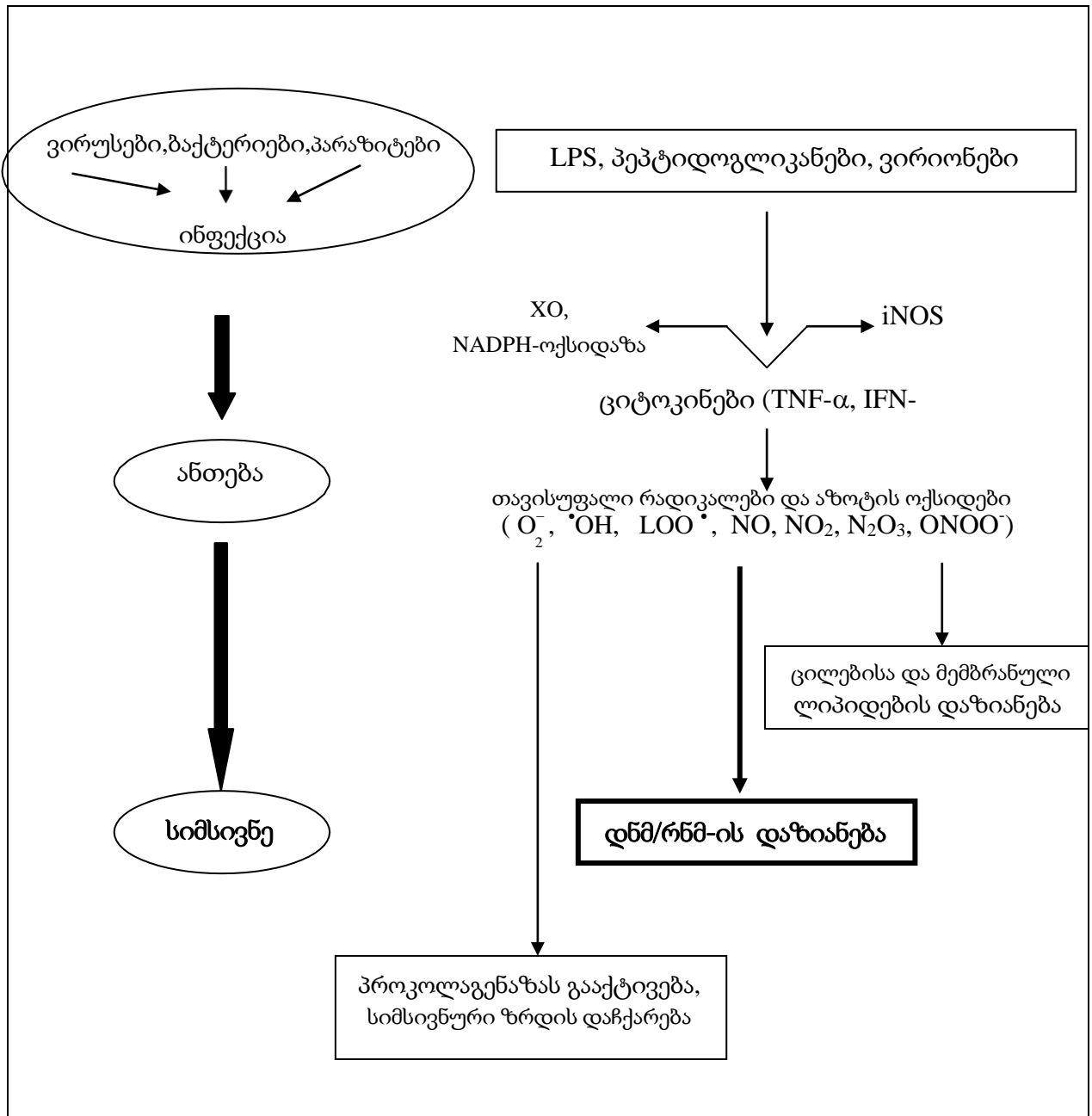
ცნობილია, რომ ანთებითი პროცესების დროს წარმოქმნილი თავისუფალი რადიკალები ( $O_2^-$ ,  $ONOO^-$  და სხვა), ხდებიან რა ანთებითი მედიატორები, იწვევენ ნუკლეინის მჟავების დაზიანებასა და ცილების მოდიფიცირებას. ანთებითი პროცესის ქრონიკული მიმდინარეობისას კი აღნიშნული ეფექტი გრძელდება წლების მანძილზე, რაც კანცეროგენეზის ინიცირებას იწვევს (Maeda и др., 1998).

ცნობილია, რომ *Helicobacter pilori* ქრონიკული ინფექციური პროცესის ჩამოყალიბების გზით, იწვევს კუჭის სიმსივნეს (Maeda и др., 1998). მეცნიერთა გარკვეული ჯგუფის მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ *HH. pilori*-ით ინფიცირებისას კუჭის ლორწოვანი გარსის უჯრედების დნმ-ში ადგილი აქვს გუანინის ნიტრირებას და შესაბამისად მის დაზიანებას (Beckman et al., 1990). იგივე ჯგუფის მიერ ნაჩვენები იქნა ისიც, რომ ნუკლეინის მჟავებს აზიანებს პეროქსინიტრიტი (Imley and Linn, 1988). ამ უკანასკნელს გააჩნია გაცილებით მაღალი რეაქციისუნარიანობა, ვიდრე NO-ს და  $O_2^-$ -ს (Beckman et al., 1990). ეს უკანასკნელი კი გავლენას ახდენს ბიოლოგიური სისტემების ფუნქციონირებაზე (Ignarro and Murad, 1995), მონაწილეობს ცილების თიროზინული ნაშთების ნიტრირებაში (Beckman et al., 1994), ასევე ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ინიცირებაში, მიტოქონდრიებში ელექტრონული ტრანსპორტის დაქვეითებასა (Radi et al., 1994) და ბიოლოგიური თიოლების ჟანგვაში (Лоньшева и др. 1997). პეროქსინიტრიტი მიჩნეულია დნმ-ის ძლიერ დამზღველ აგენტად (Imley and Linn, 1988). ამგვარად, პეროქსინიტრიტი როგორც ჩანს, აჩქარებს ქსოვილთა დესტრუქციას და სხვადასხვა დაავადებების განვითარებას.

აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ვირუსული და პარაზიტული ინფექციებიც ასევე იწვევენ ჟანგბადისა და NO-ს რადიკალების გენერირებას ანთებითი პროცესების განვითარების ფონზე (Akaike et al., 2002). არსებობს ვარაუდი იმის შესახებ, რომ ანთებით, ინფექციურ (ვირუსული და ბაქტერიული) და სიმსივნურ პროცესებს გააჩნიათ საერთო ეტიოლოგიური საფუძველი (Maeda и др., 1998). (სურ. 1.2.1).

ლიტერატურიდან ცნობილია ტიფისა და პარატიფის ქრონიკულ მატარებლებში (გამომწვევები შესაბამისად *Salmonella typhi* და *salmonella paratyphi*) ნაღვლის ბუშტის, კუჭქვეშა ჯირკვლის და სხვა ორგანოების ავთვისებიან სიმსივნეთა მაღალი სიხშირე (Maeda и др., 1998). თავისუფალი რადიკალებისა და  $ONOO^-$ -ს წარმოქმნა სალმონელას (*Salmonella typhi* და *salmonella paratyphi*) მატარებელ ადამიანებში ერთხელ კიდევ მიგვანიშნებს ქრონიკულ ბაქტერიულ ინფექციებსა და სიმსივნის განვითარებას შორის

კავშირზე (Caygill et al., 1994). უფრო მეტიც, ლიტერატურაში ინფექციები, გამოწვეული B და C ჰეპატიტისა და ეფშტეინზარის ვირუსებით, ასევე პარაზიტებით (*Opisthorchis viverrini* და *Schistosoma mansoni*), ითვლება ჰეპატომისა და



სურ. 1.2.1. თავისუფალი რადიკალების როლი ინფექციური და სიმსივნური პროცესების დროს (Maeda et al., 1998).

*LPS* – ლიპოპოლისაქარდები

*XO* - ქსანტინოქსიდაზა

*TNF-α*- სიმსივნის ნეკროზული ფაქტორი

*IFN-γ*- ინტერფერონი გამა

*iNOS*- იდუცირებადი NO-სინთეტაზა

კუჭის სიმსივნის განვითარების მძლავრ რისკ-ფაქტორებად. აღნიშნული სიმსივნეები შესაძლოა მჭიდროდ იყოს დაკავშირებული თავისუფალი რადიკალებისა და აზოტის ჟანგის, კერძოდ ONOO<sup>-</sup> წარმოქმნასთან (Ohshima et al., 1994).

ცნობილია, რომ ინფექციური პროცესის დროს ციტოკინების წარმოქმნის პარალელურად ადგილი აქვს თავისუფალი რადიკალების (O<sub>2</sub><sup>-</sup>, ONOO<sup>-</sup>) და სხვადასხვა ფერმენტების (ქსანთინოქსიდაზას (XO), NO-სინთეტაზას (NOS)) აქტივობის ინდუქციას, რომლებიც უნდა განაპირობებდნენ ანთებითი და ინფექციური პროცესების სიმსივნურ პროცესებად გარდაქმნას (Maeda и др., 1998). ყოველივე ზემოთ თქმულიდან ნათლად ჩანს, რომ ინფექციურ, ანთებით და სიმსივნურ პროცესებს აქვთ მსგავსი ეტიოლოგიური საფუძველი.

ამრიგად, თავისუფალი რადიკალები უნდა წარმოადგენდნენ ერთ-ერთი მნიშვნელოვან ფაქტორს კანცეროგენების განვითარებაში. ეს უკანასკნელი ორგანულად აკავშირებენ ანთებით და ქრონიკულ ინფექციურ პროცესებს სიმსივნურ პროცესებთან. წარმოქმნილი რადიკალები იწვევენ აღნიშნული პროცესების წარმართვას სიმსივნის განვითარების მიმართულებით (Maeda и др., 1998).

### 1.2.2. ჰიპოქსია და ROS

ცნობილია, რომ ზოგადად თითქმის ყველა ტიპის სიმსივნისათვის დამახასიათებელია გაძლიერებული პროლიფერაცია. არაორგანიზებული სისხლძარღვოვანი ქსელი კი იწვევს ჰიპოქსიურ მდგომარეობას, რაც აიძულებს უჯრედს ანაერობულ გლიკოლიზზე გადაერთოს (McDonald and Choyke, 2003; Brahimi-Horn et al., 2007). ავთვისებიანი სიმსივნური უჯრედები მდგრადები არიან ჟანგბადის დაბალი კონცენტრაციის მიმართ, რასაც ჰიპოქსია-ინდუცირებული ფაქტორის (HIF-1) დროული აქტივაცია და სტაბილიზაცია უზრუნველყოფს (Mansfield et al., 2005). მთელი რიგი გამოკვლევები მიუთითებენ, რომ ჟანგბადის ნაკლებობის პირობებში HIF-1 აქტივაციის შემთხვევაში ადგილი აქვს უჯრედშიდა ROS-ს წარმოქმნის სტიმულაციას, კონკრეტულად კი მიტოქონდრიული ROS წარმოქმნის გაძლიერებას (Mansfield et al., 2005; Guzy and Schumacker, 2006). Bourdeau-Heller-ისა და Oberley-ს გამოკვლევებში (2007) გამოთქმულია მოსაზრება, რომ პროსტატის კიბოს უჯრედების ხანგრძლივი დროით მოთავსება ჰიპოქსიის პირობებში იწვევს ROS-ს დონის და ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილებას უჯრედის გადარჩენისა და ზრდის უზრუნველყოფის მიზნით (Bourdeau-Heller and Oberley, 2007).

Zhou და თანაავტორების კვლევაში (2007) ნაჩვენებია, რომ ჰიპოქსიის პირობებში ROS-ს მატების შედეგად ადგილი აქვს არაერთი სასიგნალო გზის აქტივაციას, რაც საბოლოოდ იწვევს HIF-1 და ანგიოგენური ფაქტორის (VEGF) გაძლიერებულ ექსპრესიას პროსტატის კიბოს უჯრედებში (Zhou et al., 2007). HIF-1 სინთეზთან ერთად, მნიშვნელოვანია ასევე უჯრედის რედოქს-სტატუსი, რაც გადამწყვეტ როლს უნდა ასრულებდეს HIF-1 აქტიური ფორმით შენარჩუნებაში და სავარაუდოდ მის საბოლოო დეგრადაციაში (BelAiba et al., 2004).

ცნობილია, რომ ჰიპოქსიის ადრეულ პასუხად ითვლება ანდროგენ-დამოკიდებული პროსტატის კიბოს უჯრედებში p38 MAPK აქტივაცია (Galanis et al., 2008). რაც შეეხება

ჰიპოქსია-რეოქსიგენაციას, ამ უკანასკნელს სიმსივნური უჯრედები მიყავს გადარჩენამდე (რომლებიც აღარ არიან ანდროგენებზე დამოკიდებულნი).

### 1.2.3. ჟანგბადის რეაქტიური ფორმები, მიტოქონდრია, ჟანგვითი ფოსფორილირება

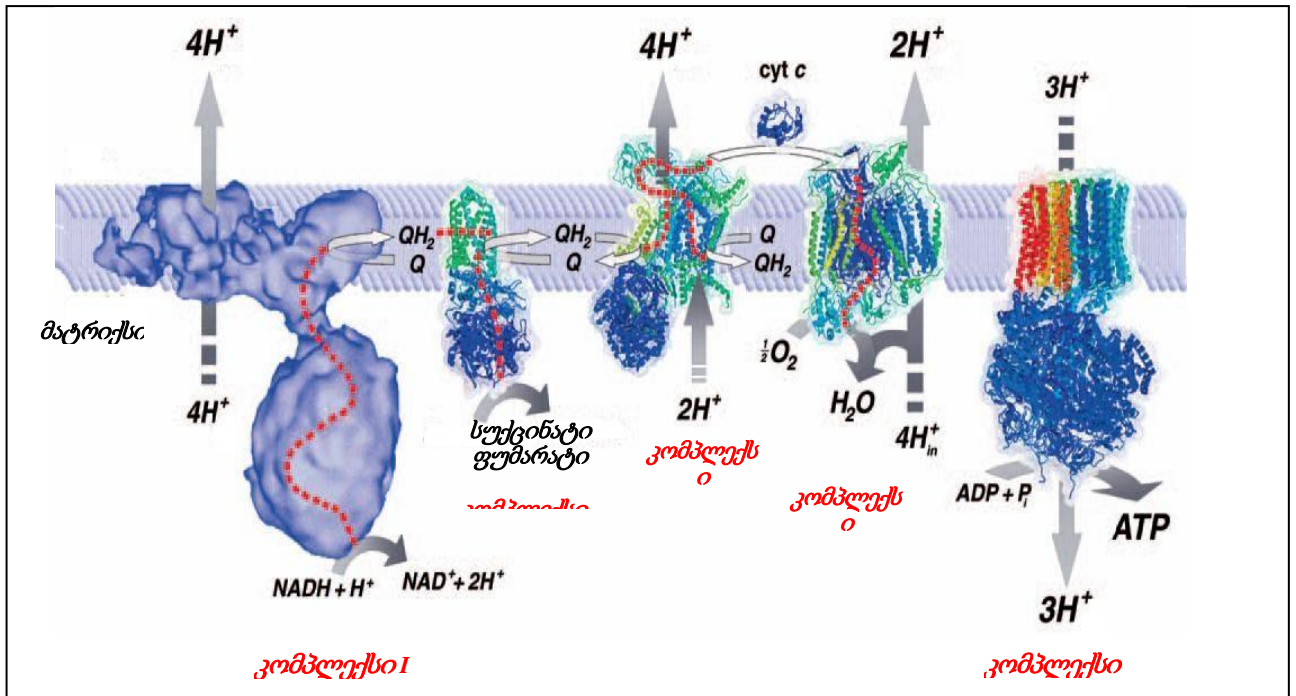
როგორც უკვე აღვნიშნეთ, პროსტატის ეპითელიუმის ნორმალური უჯრედები წარმოადგენენ ენერგეტიკულად არაეფექტურ უჯრედებს, რომლებიც არ არიან ადაპტირებული ჟანგბადის აქტიური ფორმებისადმი. ამ ფაქტის გათვალისწინებით ცხადი ხდება, რომ ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის პროცესში პროსტატის ეპითელიური უჯრედების მიტოქონდრიებში მიმდინარე თავისუფალრადიკალურ პროცესებს გაცილებით დიდი მნიშვნელობა ენიჭება, ვიდრე სხვა სიმსივნური ტრანსფორმაციის დროს (Dakubo et al., 2006).

ცნობილია, რომ მიტოქონდრიები, შიდა მემბრანაზე არსებული ელექტრომატრანსპორტირებელი ჯაჭვის (ჟანგბადს იყენებს, როგორც ელექტრონების აქცეპტორს) ფუნქციონირების შედეგად, გარკვეული რაოდენობით მუდმივად წარმოქმნიან სუპეროქსიდის რადიკალებს (Ebadi, 2001). რომ არა მთელი რიგი დაცვითი სისტემები, წარმოქმნილი რადიკალები მიტოქონდრიის კომპონენტების სერიოზულ დაზიანებას გამოიწვევდა. გარდა ზემოთაღნიშნულისა მიტოქონდრია შეიცავს ცვალებადი ვალენტობის მეტალის იონებს, როგორცაა რკინა და სპილენძი. ყოველივე აღნიშნული კი საუკეთესო გარემოს ქმნის ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების ფორმირებისათვის (Hanson and Berliner, 2010). აღნიშნული მიუთითებს, რომ მიტოქონდრიები ადვილად ექვემდებარებიან ჟანგვით სტრესს. აღნიშნულ პირობებში იზრდება მ-დნმ-ის, ასევე მიტოქონდრიული ლიპიდებისა და ცილების სტრუქტურის დაზიანების რისკიც (Cui et al., 2012).

ცნობილია, რომ მიტოქონდრიის ელექტრონსატრანსპორტო ჯაჭვის 5 ფერმენტული კომპლექსისაგან I-IV კომპლექსები ემსახურება **NADH**-ის და სუქცინატის ჟანგვას, ელექტრონების ტრანსპორტს და ელექტროქიმიური გრადიენტის შექმნას (პროტონების გადაქაჩვა მიტოქონდრიის მემბრანათშორის სივრცეში). საბოლოო ჯამში აღნიშნული პროტონების მამოძრავებელი ძალა გამოიყენება მე-5 კომპლექსის მიერ **ADP**-სა და არაორგანული ფოსფორიდან ადენოზინტრიფოსფატის (**ATP**) სინთეზისათვის (Nijtmans and Smeitink, 2007) (სურ. 1.2.2).

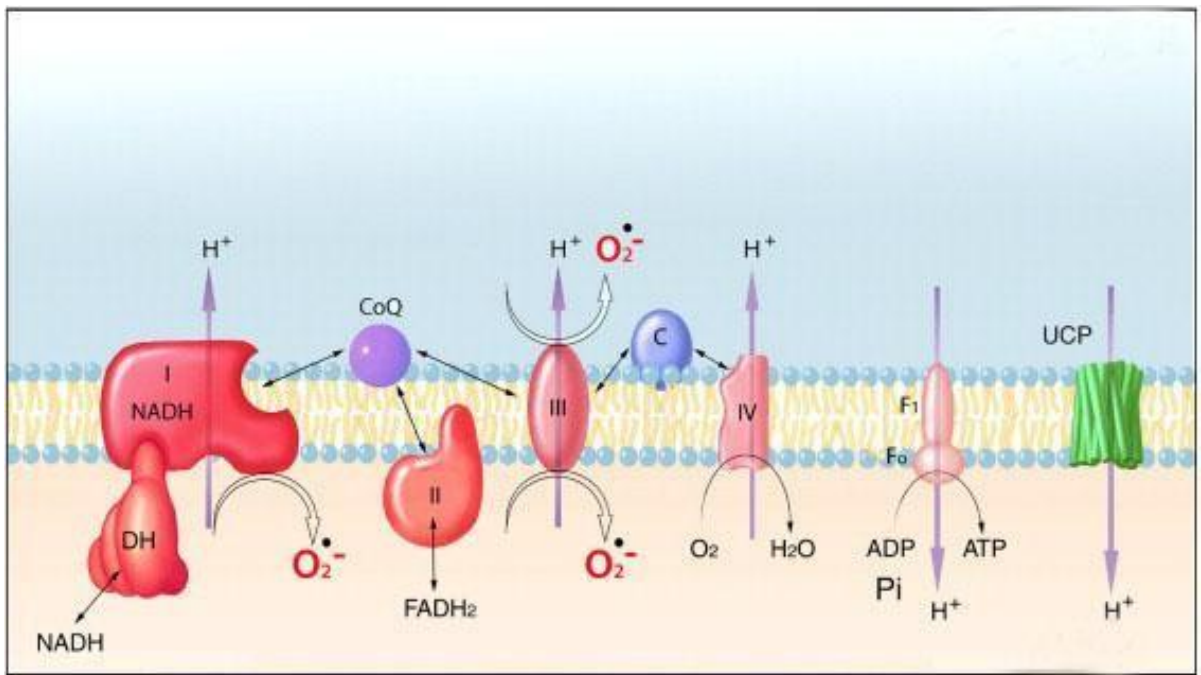
ცნობილია, რომ მიტოქონდრიის ელექტროსატრანსპორტო ჯაჭვში  $O_2^-$ -ისა და  $H_2O_2$ -ს გენერაციის ძირითად წყაროს სუნთქვითი ჯაჭვის I და III სუნთქვითი კომპლექსი (ე.წ. უბისემიქინონ-ციტოქრომ **b** უბანი) წარმოადგენს (სურ.1.2.3) (Clark, 2000; Balaban et al., 2005). გარდა აღნიშნულისა სუნთქვით ჯაჭვში **NADH** ან სუქცინატის ჟანგვისას ადგილი აქვს ცხიმში ხსნადი უბიქინონის (კოფერმენტი **Q**) აღდგენას სემიუბიქინონამდე და შემდეგ დიჰიდროუბიქინონამდე (Clark, 2000).

ცნობილია ისიც, რომ  $O_2^-$ -რადიკალის წარმოქმნა ძირითადად უკავშირდება ნახევრად-აღდგენილ უბიქინონს, რომელსაც ელექტრონი უშუალოდ ჟანგბადზე გადააქვს, რაც იწვევს სუპეროქსიდის გენერაციას. სუპეროქსიდის თანმიმდევრული ერთელექტრონიანი აღდგენის პირობებში კი ადგილი აქვს  $H_2O_2$ -ის პროდუქციას (Cui et al., 2012).



სურ. 1.2.2. მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის კომპლექსები და ელექტრონების გადატანის მიმართულება (Nijtmans and Smeitink, 2007)

- I – NADH დეჰიდროგენაზა
- II - სუქცინატდეჰიდროგენაზა
- III - ციტოქრომ C რედუქტაზა
- IV - ციტოქრომოქსიდაზა
- V – ATP სინთეტაზა



სურ. 1.2.3 ROS გენერაციის სქემატური მოდელი მიტოქონდრიაში. სუნთქვითი ჯაჭვის I და III კომპლექსები: სუპეროქსიდის წარმოქმნის უბნები მიტოქონდრიაში (Balaban et al., 2005)

წარმოქმნილი ჟანგბადის რეაქტიული ფორმები (სუპეროქსიდი და  $H_2O_2$ ) ურთიერთ-ქმედებენ რა მიტოქონდრიის არაჰემური რკინის იონებთან, კლასიკური ფენტონის რეაქციის შედეგად წარმოქმნიან ჰიდროქსილის რადიკალებს ( $OH$ ) (Ebadi, 2001), რომლებიც მიტოქონდრიის დნმ-ის (მ-დნმ), ლიპიდებისა და ცილების მნიშვნელოვან დაზიანებას იწვევენ (Balaban et al., 2005).

ცნობილია, რომ მ-დნმ გაცილებით მგრძობიარეა ჟანგვითი სტრესის მიმართ, რის გამოც ჟანგვითი დაზიანების ალბათობა სულ მცირე 10-ჯერ მეტია, ვიდრე ბირთვის დნმ-ის (Dakubo et al., 2006). შესაბამისად, მუტაციების სიხშირეც გაცილებით მაღალია მ-დნმ-ისათვის, რაც სავარაუდოდ რამოდენიმე ფაქტორით არის განაპირობებული (Higuchi et al., 2006; Dakubo et al., 2006):

- სუნთქვით ჯაჭვთან სიახლოვის გამო მ-დნმ მუდმივად განიცდის ჟანგბადის რეაქტიური ფორმების ზემოქმედებას;
- ჰისტონების არარსებობა (დამცავი ცილები, რომლებითაც შეფუთულია ბირთვის დნმ);
- მ-დნმ-ის სუსტი რეპარაციული სისტემა.

მიტოქონდრიაში ჟანგბადის რეაქტიური ფორმების წარმოქმნისა და დაგროვების შედეგია მთლიანად უჯრედის და პირველ რიგში მიტოქონდრიის გენომის დაზიანება და მუტაციების სწრაფი `აფეთქება`. ხშირ შემთხვევაში სწორედ აღნიშნულ მუტაციებს უკავშირდება მიტოქონდრიის სუნთქვითი ჯაჭვის დეფექტები (Parr et al., 2007; Kulawiec et al., 2010).

როგორც ცნობილია ჟანგვით ფოსფორილირებაში ჩართული ცილების მაკოდირებელი გენები მოთავსებულია, როგორც ბირთვის ასევე მიტოქონდრიული დნმ-ში. შესაბამისად მ-დნმ-ში ნებისმიერი ამგვარი ცილის მაკოდირებელი უზნის დაზიანებამ უნდა გამოიწვიოს სუნთქვითი ჯაჭვის აქტივობის მოშლა (Parr et al., 2007; Gaude and Frezza, 2014). აქედან გამომდინარე არ არის გასაკვირი, რომ სუნთქვითი ჯაჭვის დეფექტებით გამოწვეული მ-დნმ მუტაციები ვლინდება არაერთი დეგენერაციული დაავადების სახით (Kulawiec et al., 2010)

ამგვარად, სუნთქვითი ჯაჭვის ფუნქციონირების შედეგად მიტოქონდრიული გენომი მუდმივად იმყოფება ენდოგენურად წარმოქმნილი ROS-ის დამანგრეველი ზემოქმედების ქვეშ. აღმოჩნდა, რომ ამგვარ პირობებში მ-დნმ-ში ადგილი აქვს 8-ჰიდროქსი-2'-დეოქსიგუანოზინის (8-oxo-G) დიდი რაოდენობით დაგროვებას (Higuchi et al., 2006; Cui et al., 2012). აღნიშნული ნაერთი წარმოადგენს დნმ-ის ერთ-ერთი ნუკლეოტიდის - გუანინის ჰიდროქსილირების (მე-8 ნახშირბადთან) პროდუქტს, რაც თავისთავად მუტაგენურ დაზიანებას წარმოადგენს (Cui et al., 2012). აღმოჩნდა, რომ დნმ-ის ამგვარი დაზიანების აღდგენას ახორციელებს ფერმენტი 8-ოქსოგუანინ-დნმ-გლიკოზილაზა-1 (OGG1), რომელიც დნმ-ის მთავარ გლიკოზილაზას წარმოადგენს. აღნიშნული ფერმენტის ინაქტივაცია საბოლოოდ ჯამში იწვევს მიტოქონდრიულ გენომში დელეციებისა და წერტილოვანი მუტაციების დაგროვებას (Higuchi et al., 2006). ზემოთაღნიშნულიდან გამომდინარე მ-დნმ-ის რეპარაციული სისტემის ინჰიბირება ან ROS-ის გენერაციის ზრდა სავარაუდოდ სწორედ ის მიზეზებია, რაც საბოლოო ჯამში იწვევს მ-დნმ-ის წერტილოვან მუტაციებს, დიდი დელეციების მქონე მუტანტური დნმ-ის დაგროვებას და მ-დნმ-ის დეფიციტს უჯრედებში (Higuchi et al., 2006; Kulawiec et al., 2010).

Chen და თანაავტორების (2003) აზრით მრავლობითი მუტაციები მ-დნმ-ის მოლეკულაში დასაბამს აძლევს მიტოქონდრიული დნმ-ის ჰიპერმუტაგენეზის პროცესს (Chen et al., 2003, Zanssen et al., 2005). მ-დნმ-ში დაგროვილმა მუტაციებმა შესაძლოა კიდევ უფრო მეტად დაარღვიოს ჟანგვითი ფოსფორილირების პროცესი, რაც შესაბამისად გამოიწვევს ROS-ის გენერაციის გაძლიერებას და ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას (Khandrika et al., 2009; Cui et al., 2012). ოქსიდაციური სტრესის პირობებში უჯრედის გენომის დაზიანება თავისთავად უნდა გახდეს ანტიოქსიდანტური სისტემის (სუპეროქსიდდისმუტაზა, გლუტათიონი, გლუტათიონ პეროქსიდაზა, გლუტათიონ-რედუქტაზა, კატალაზა, ცერულოპლაზმინი) მაკოდირებელი გენების დაზიანებისა და შესაბამისად აღნიშნული სისტემის აქტივობის ცვლილების მიზეზი (Bostwick et al., 2000; Dakubo et al., 2006).

#### 1.2.4. მიტოქონდრიული ანტიოქსიდანტური სისტემები

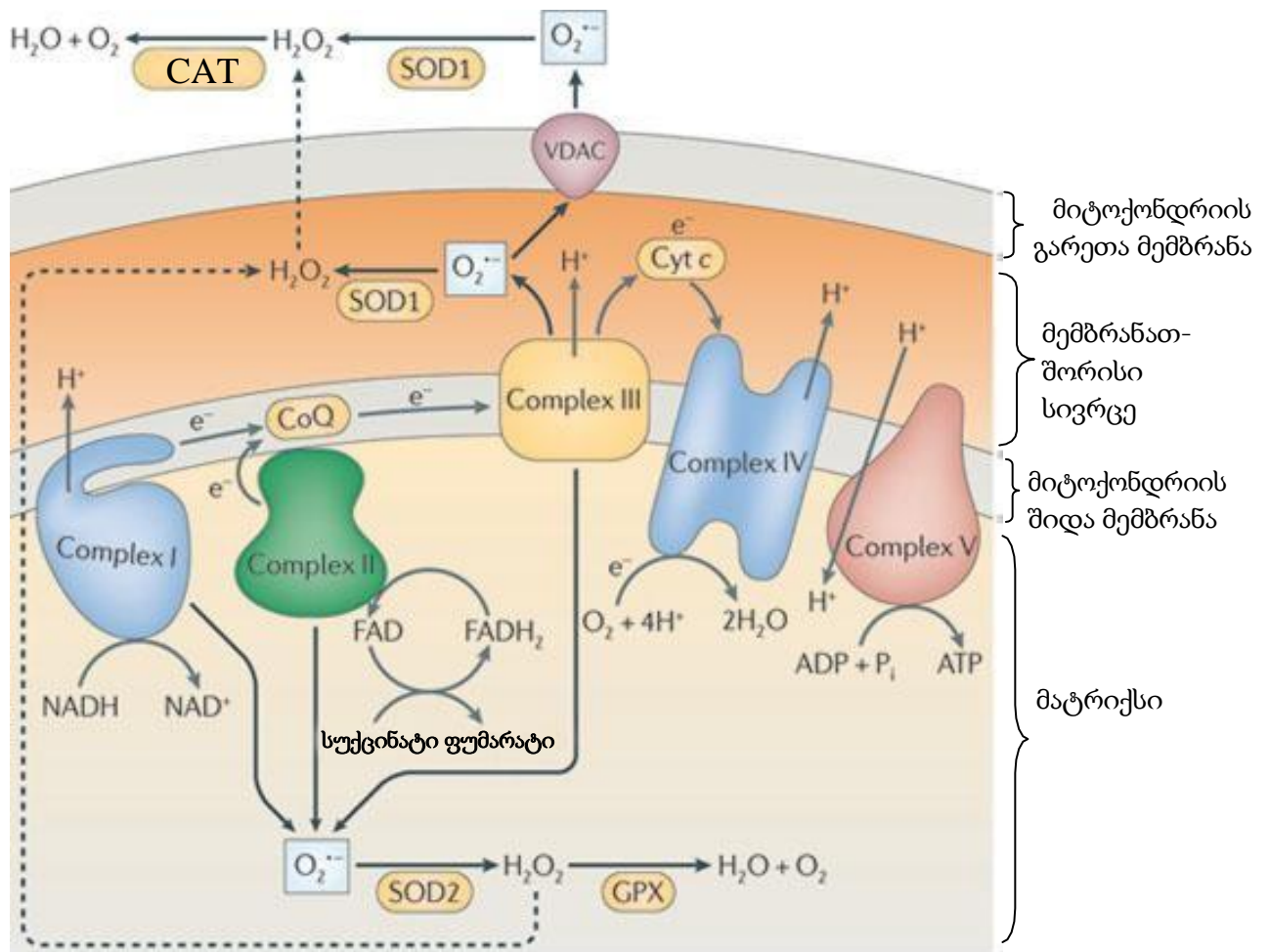
ადამიანის, ცხოველების, აერობული ბაქტერიების და მცენარეების ძირითად ენერგეტიკულ წყაროს უჯრედული სუნთქვა ანუ საკვები პროდუქტების დაჟანგვა წარმოადგენს. ამასთან, ისევე როგორც მთელი რიგი ბიოქიმიური პროცესები, სუნთქვა წარმოადგენს პოლიფუნქციონალურ პროცესს, ასრულებს რა სხვა მრავალ ბიოლოგიურ ფუნქციას (Скулачев, 1999). როგორც უკვე აღვნიშნეთ მათ შორის ყველაზე მნიშვნელოვანია ჟანგბადის ერთელექტრონიანი ან ორელექტრონიანი აღდგენა სუპეროქსიდამდე ( $O_2^-$ ) და წყალბადის ზეჟანგამდე ( $H_2O_2$ ). ამ ტიპის სუნთქვა არსებითად წარმოადგენს მექანიზმს, რომლის დროსაც წარმოიქმნება ტოქსიური ჟანგბადის აქტიური ფორმები. როგორც აღვნიშნეთ,  $O_2^-$  რადიკალი და  $H_2O_2$  წარმოადგენს ჰიდროქსილის რადიკალის ( $OH^\cdot$ ) წინამორბედს. როგორც ცნობილია ჰიდროქსილის რადიკალი ( $OH^\cdot$ ) ძლიერი ოქსიდანტია, რომელიც ჟანგავს უჯრედის ყველა ნაერთს და მათ შორის დნმ-ს (Владимиров, 2000). ჟანგბადის აქტიური ფორმების წარმოქმნა ორგანიზმის მიერ მკაცრად რეგულირებადი პროცესია.

მიტოქონდრიებს ჟანგბადის აქტიური ფორმებისაგან თავდაცვის შემდეგი გზები გააჩნიათ (სურ.1.2.4) (Skulachev, 2000; Parr et al., 2007; West et al., 2011):

- ციტოქრომოქსიდაზა წარმოადგენს ფერმენტს, რომელსაც გააჩნია უნარი მაღალი სიჩქარით გადაიტანოს ჟანგბადის მოლეკულაზე ოთხი ელექტრონი და წარმოქმნას მეტაბოლური წყალი ( $H_2O$ ). აღნიშნული პროცესი განაპირობებს მიტოქონდრიებში ჟანგბადის კონცენტრაციის დაბალ დონეზე შენარჩუნებას, მაშინ როდესაც სუნთქვითი გადამტანების მიერ  $O_2$  ერთელექტრონიანი აღდგენის პროცესი ლიმიტირებულია ჟანგბადის დონით.
- ადგილი აქვს სუპეროქსიდის ( $O_2^-$ ) რეჟანგვას ჟანგბადამდე, დაჟანგული ციტოქრომ c-ს მოქმედების შედეგად. ეს უკანასკნელი მიტოქონდრიის მემბრანათაშორის სივრცეში ხვდება მიტოქონდრიის შიდა მემბრანის ზედაპირიდან.
- ადგილი აქვს მიტოქონდრიული სუპეროქსიდდისმუტაზას მოქმედების შედეგად სუპეროქსიდის ( $O_2^-$ ) გარდაქმნას მემბრანაში ადვილად განვლად წყალბადის ზეჟანგად. აღნიშნული ფერმენტი ლოკალიზებულია მიტოქონდრიის მატრიქსში.



- ადგილი აქვს მიტოქონდრიის მატრიქსში წყალბადის ზეჟანგის ( $H_2O_2$ ) უტილიზაციას მიტოქონდრიული გლუტათიონპეროქსიდაზასა (გლუტათიონის გამოყენებით წყალბადის ზეჟანგის წყლამდე აღდგენა) და კატალაზას (CAT) (გარდაქმნის  $H_2O_2$ -ს წყლად და ჟანგბადად) მოქმედებით.
- ადგილი აქვს ჟანგბადის რეაქტიური ფორმების მოცილებას ტოკოფეროლის,  $CoQH_2$ -ის, ასკორბატისა და სხვა დაბალმოლეკულური ანტიოქსიდანტებით, რომლებიც უშუალოდ ურთიერთქმედებენ ჟანგბადის რეაქტიულ ფორმებთან.



სურ. 1.2.4. მიტოქონდრიის ანტიოქსიდანტური სისტემები და სუნთქვითი ჯაჭვი (West et al., 2011).

**SOD1** - სუპეროქსიდდისმუტაზა 1

**CAT** - კატალაზა

**SOD2** - მიტოქონდრიული სუპეროქსიდდისმუტაზა 2

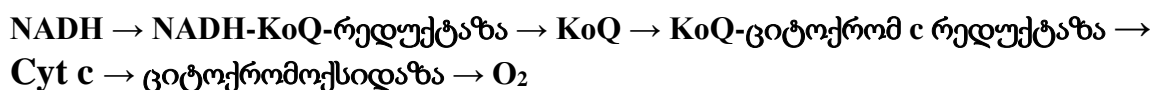
**GPX** - გლუტათიონ პეროქსიდაზა

უნდა აღინიშნოს, რომ ბოლო ორი თავდაცვითი გზის საშუალებით მიტოქონდრია თავიდან იცილებს ჟანგბადის აქტიურ ფორმებს, რომელთა გამოყოფა ხდება მატრიქსში (სურ.1.2.4). იმ შემთხვევაში თუ მიტოქონდრიებში ადგილი ექნება ჟანგბადის აქტიური ფორმების კონცენტრაციის მატებას (მიუხედავად ზემოთ ჩამოთვლილი გზების მოქმედებისა) მაშინ უჯრედი ღებულობს შემდგომ რადიკალურ ზომებს:

➤ ATP/ADP-ანტიპორტერებზე (მიტოქონდრიის შიდა მემბრანის ცილები) ჟანგბადის აქტიური ფორმების ზემოქმედების შედეგად ადგილი აქვს ცისტეინის (Cys-56) SH-ჯგუფების ჟანგვას, რაც იწვევს ადენილნუკლეოტიდის აღნიშნული გადამტანის გარდაქმნას არასპეციფიურ არხად (“ფორა”) რომელიც განვლადია ნებისმიერი დაბალმოლეკულური ნაერთისათვის (სურ.1.2.5). (Скулачев, 2001) აღნიშნული „ფორები” იწვევენ მიტოქონდრიული მემბრანის განვლადობის ზრდას და ოსმოსური ბალანსის რღვევას მიტოქონდრიის მატრიქსსა და მემბრანათაშორის სივრცეს შორის. ჩვეულებრივ პირობებში აღნიშნული ბალანსი ძირითადად რეგულირდება  $K^+$  და  $Cl^-$  იონებით. ზემოთ აღნიშნული „ფორების” წარმოქმნის შედეგად შიდა მემბრანა ხდება განვლადი ყველა აღნიშნული იონებისათვის. ამ დროს მხოლოდ მაღალმოლეკულური ნაერთები ძირითადად ცილები განაპირობებენ ოსმოსურ წნევას (Скулачев, 2001). ვინაიდან მატრიქსში ცილები უფრო მეტია, ვიდრე მემბრანათაშორის სივრცეში. შედეგად მატრიქსი ჯირჯვდება და შიდა მემბრანის ნაკეციები სწორდება. რაც შეეხება გარეთა მემბრანას ეს უკანასკნელი სკდება. ამასთან ყველა ცილა, რომელიც იმყოფება მემბრანათაშორის სივრცეში, მათ შორის ციტოქრომ c (Cyt c), გადმოიფრქვევა ციტოზოლში. მიტოქონდრიიდან Cyt c გამოსვლა კი იწვევს უჯრედის ანტიოქსიდანტური სისტემის მობილიზაციას (Skulachev, 2000) (სურ.1.2.5).

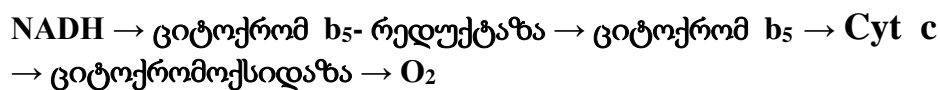
➤ მიტოქონდრიის გარეთ გამოსული Cyt c ახორციელებს  $O_2^-$ -ის მოცილებას ციტოზოლიდან, გარდაქმნის რა მას  $O_2$ -ად (Ott et al., 2002).

*სუნთქვითი ჯაჭვში რეაქციების შემდეგ თანმიმდევრობას აქვს ადგილი:*

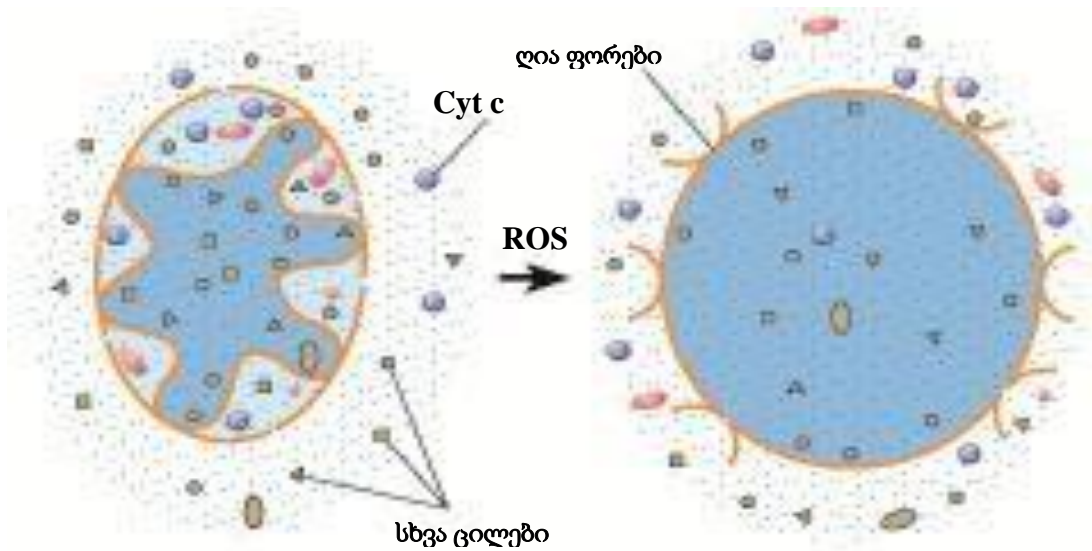


➤ **Cyt c** ასევე შეუძლია დაჟანგოს ციტოქრომ  $b_5$ , რომელიც ლოკალიზებულია მიტოქონდრიის გარეთა მემბრანასა და ენდოპლაზმური რეტისკულუმის მემბრანაზე. შედეგად ადგილი აქვს ელექტრონის გადატანას სუნთქვითი ჯაჭვის საწყის და შუალედურ მონაკვეთებზე ანუ იმ მონაკვეთზე, სადაც შესაძლებელია სუპეროქსიდის წარმოქმნა (Скулачев, 2001):

*გზა ციტოქრომ  $b_5$  - ის გავლით:*



➤ სუნთქვითი ჯაჭვის საწყის მონაკვეთზე ( $KoQH_2 \rightarrow NAD^+$ ) **Cyt c**-ს ჯერ კიდევ უცნობი მექანიზმით, ელექტრონის უკუ გადატანის პირობებში, შესწევს უნარი გამორთოს სუპეროქსიდის ( $O_2^-$ ) გენერაცია. ვარაუდობენ, რომ მიტოქონდრიის გარეთა მემბრანის ზედაპირზე არსებობს **Cyt c** რეცეპტორი, რომელიც გადასცემს რა სიგნალს შიდა მემბრანაზე **NADH-CoQ-რედუქტაზას**, ხელს უშლის აღნიშნულ ფერმენტს აღადგინოს ჟანგბადი ელექტრონების უკუ გადატანის პირობებში (Skulachev, 2000; Ott et al., 2002).



სურ. 1.2.5. ღია ფორების წარმოქმნა მიტოქონდრიის მემბრანაზე  
 ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების ზემოქმედებით (Скулачев, 2001)

### 1.2.5. NADPH ოქსიდაზას როლი პროსტატის კიბოს განვითარებაში

ცნობილია, რომ უჯრედში მოლეკულური ჟანგბადის NADPH დამოკიდებული აღდგენა განაპირობებს ROS-ის წარმოქმნას სუპეროქსიდ ანიონის ( $O_2^-$ ) სახით, რომელიც დისმუტაციის გზით წარმოქმნის  $H_2O_2$ -ს (Clark, 1999). ცნობილია ასევე, რომ ფაგოციტური უჯრედები NADPH ოქსიდაზებს იყენებენ ROS-ის დიდი რაოდენობით პროდუქციისათვის რაც თავიანთი ბაქტერიოციდული მოქმედების ნაწილს წარმოადგენს (Lambeth, 2004). მთელ რიგ გამოკვლევებში აღნიშნულია მათი არსებობა ზოგიერთ არაფაგოციტურ ქსოვილშიც, როგორცაა ნაყოფის თირკმელი, ფარისებური ჯირკვალი, პროსტატა, მსხვილი ნაწლავი და სხვ (Lambeth, 2004). NADPH ოქსიდაზა წარმოადგენს ფაგოციტებში მიმდინარე “სუნთქვით აფეთქებაში” ჩართულ ოქსიდაზას, რომელიც შედგება პლაზმურ მემბრანასთან დაკავშირებული 2 კატალიზური სუბერთეულისგან (gp91phox და p67phox) და ციტოქრომ b558–სგან (p22phox). აღნიშნული ფერმენტის აქტიური კომპლექსი შეიცავს აგრეთვე ციტოზოლური ცილის ორ კომპონენტს (p67phox და p47phox) და პატარა GTP-აზურ Rac ცილას (Khandrika et al., 2009).

არაფაგოციტურ უჯრედებში gp91phox-ის ჰომოლოგებს ეწოდათ **Nox** ცილები (NADPH ოქსიდაზას გამო) (Szatrowski and Nathan, 1991), რითაც აიხსნა არაფაგოციტური უჯრედების NADPH-ოქსიდაზური აქტივობა. აღნიშნული **Nox**-ცილების ოჯახი შედგება 5 წევრისაგან (**Nox1, Nox2, Nox3, Nox4, Nox5**) (Lambeth, 2004). მიაჩნიათ, რომ აღნიშნული ცილები მონაწილეობენ სხვადასხვა სასიგნალო პროცესებში, მათ შორის უჯრედების ზრდაში, გადარჩენასა და სიკვდილში (Khandrika et al., 2009), თუმცა აღნიშნული ოქსიდაზების ზუსტი დანიშნულება ჯერ კიდევ არ არის დადგენილი.

როგორც უკვე აღვნიშნეთ პროსტატის კიბოს უჯრედების აგრესიული ზრდა, პროლიფერაცია და მეტასტაზების წარმოქმნის უნარი ROS-ის მაღალი შემცველობით უნდა

იყოს განპირობებული (Lim et al., 2005). აღნიშნულ უჯრედებში ადგილი აქვს ასევე ROS-ს და **Nox** ცილების წარმოქმნას. ROS-ს და **Nox** ცილების მნიშვნელოვანი რაოდენობით წარმოქმნა უნდა განაპირობებდეს ავთვისებიანი ფენოტიპის შენარჩუნებასა და განვითარებას პროსტატის კიბოს უჯრედებში (Brar et al., 2003).

ბოლო წლების გამოკვლევები მიუთითებენ, რომ **Nox** ცილების ოჯახის ერთ-ერთი წარმომადგენელი, კერძოდ კი **Nox 1**, ჩართავს რა ანგიოგენურ მექანიზმს, სიმსივნე გადაჰყავს მიძინებული მდგომარეობიდან აგრესიულ, მზარდ ფორმაში; მაშინ როდესაც, **Nox 4** ცილა მელანომისა და პანკრეასის უჯრედებშია აქტიური (Block et al., 2006). გარდა აღნიშნულისა პროსტატის კიბოს უჯრედებში აღმოჩენილია როგორც **Nox 1**, ასევე **Nox 5** ცილები (Arbiser et al., 2002).

Khandrika და თანაავტორების მიერ (2009) პროსტატის კიბოს ხაზებში აღწერილ იქნა **Nox** ცილების სხვადასხვა იზოფორმებიც, მათ შორის **Nox 4**, **Nox 2** და **Nox5**, რომლებიც ნორმალური პროსტატის უჯრედულ ხაზებში არ არის აღმოჩენილი (Khandrika et al., 2009). პროსტატის კიბოს უჯრედებში **Nox 1**-ის ექტოპური (გენის უჩვეულო ექსპრესია, რაც ნორმაში დათრგუნულია) ექსპრესია ასტიმულირებს და აძლიერებს სიმსივნური უჯრედების ზრდას და ანგიოგენეზს (Arbiser et al., 2002). არსებობს ასევე ვარაუდი მჭიდრო ურთიერთკავშირზე **Nox** ცილებით განპირობებული ROS-ის გაძლიერებასა და შესაბამისად სიმსივნის განვითარებას შორის (Kumar et al., 2008)]. გარდა ამისა, ბოლო წლების გამოკვლევებით ნაჩვენებია, რომ პლასტიკური ორქექტომია იწვევს ROS-ის წარმომქმნელი სამი NADPH-ოქსიდაზას–**Nox 1**, **Nox 2** და **Nox 4**, აქტივობის ძლიერ მატებას (Tam et al., 2003). ცნობილია ისიც, რომ **Nox 5**-ის აქტივობის შემცირება იწვევს სიმსივნური ზრდის შეჩერებას და აპოპტოზს (Brar et al., 2003).

ვარაუდობენ, რომ **Nox** ცილების მატების შედეგად ROS წარმოქმნა პროსტატის კიბოს შემთხვევაში შესაძლოა იწვევდეს ავთვისებიანი ფენოტიპის განვითარებას სხვადასხვა სასიგნალო გზების მოდულირების გზით (Khandrika et al., 2009).

### 1.2.6. ანთებითი პროცესები და პროსტატის კიბო

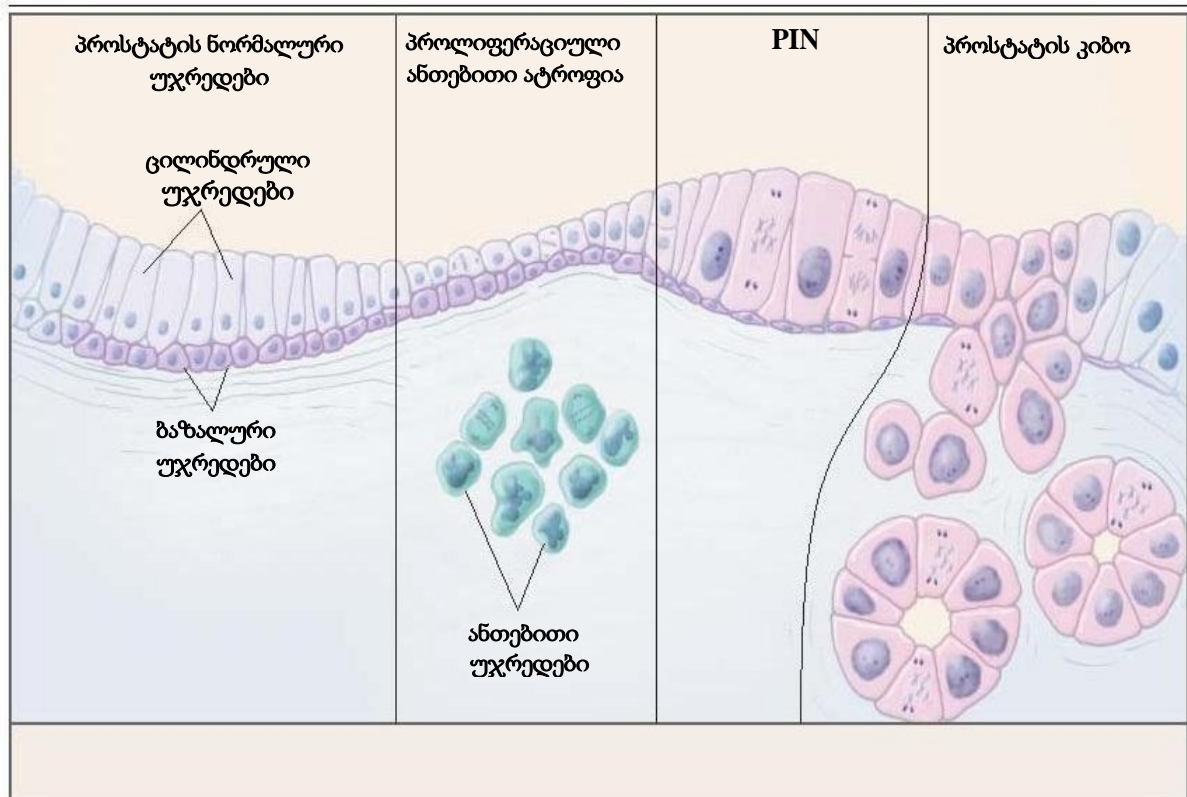
ცნობილია, რომ პროსტატის ქსოვილში ხანგრძლივად მიმდინარე ანთებითი პროცესები იწვევს ROS-ის გაძლიერებულ მატებას, რაც თავის მხრივ განაპირობებს ცილების სტრუქტურისა და ფუნქციის ცვლილებებს, სომატო-გენეტიკურ ცვლილებებს და დნმ-ს პოსტტრანსლაციურ მოდიფიკაციებს K(Khandrika et al., 2009; Olinski et al., 2002). ვარაუდობენ, რომ აღნიშნულმა ცვლილებებმა შესაძლოა ქსოვილების შემდგომი დაზიანება გამოიწვიოს, რაც გამოიხატება პროსტატის ეპითელური უჯრედების გაძლიერებულ პროლიფერაციაში (ქსოვილების დაზიანების კომპენსაციის მიზნით) და პროსტატის ნეოპლაზიურ ცვლილებებში (Naber and Weidner, 2000). ქრონიკულმა ანთებამ შესაძლოა გაააქტივოს ქსოვილის მიკროგარემო, რაც გულისხმობს მუტაგენური ROS-ის მაღალ შემცველობას. აღნიშნული პროცესი მონაწილეობს მრავალი სიმსივნის, მათ შორის მკერდის კიბოს განვითარებაშიც (Scholl et al., 1994).

არაერთი გამოკვლევით დასტურდება, რომ ანთებას გადაამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს კანცეროგენეზში (De Marzo et al., 2007). ანთების გამომწვევი ფაქტორები, რომელიც პროსტატის ქსოვილში გროვდება, შეიძლება მწვავე ანთების და **PSA**-ს მატების მიზეზი გახდეს, რაც ადრეულ პრესიმსივნურ ცვლილებებს ასახავს (Sutcliffe et al., 2006). ანთებამ

შესაძლებელია გამოიწვიოს ქსოვილის მიკროგარემოს ცვლილება პროტეაზების კონცენტრაციის მატების გზით, მათ შორისაა: სერინის პროტეაზები, ცისტეინის პროტეაზები და მატრიქსის მეტალოპროტეაზები. აღნიშნული დამშლელი ფერმენტები, ანთებითი უჯრედებიდან გამოთავისუფლებული სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის (TNF- $\alpha$ ), ინტერფერონებისა და უჯრედის კვდომის სხვა მედიატორებთან ერთად, შემდგომში შესაძლოა პროსტატის კიბოს განვითარების მიზეზი გახდეს (Kuper et al., 2000). სიმსივნური წარმონაქმნის ერთ-ერთი მთავარი საპასუხო რეაქცია ანთებით პროცესზე აზოტის ოქსიდის (NO) სინთეზია. NO-ს ფორმები მონაწილეობენ არა მხოლოდ უჯრედის კომპონენტების უშუალო დაზიანებაში (დნმ და ცილები) (Baltaci et al., 2001), არამედ ROS-თან ერთად შეუძლიათ გამოიწვიონ ანტიოქსიდანტური სისტემის ცვლილებები (Palapattu et al., 2005).

Stanik-ისა თანაავტორების მიერ (2004) დადგენილი იქნა PSA-ს მატება ქრონიკული პროსტატიტით დაავადებულ პაციენტებში (Stanik et al., 2004). პროსტატიტის ფონზე გაზრდილი PSA-ს რაოდენობა ავტორების აზრით მიუთითებდა პროსტატის კიბოს მომატებულ რისკზე (Dennis et al., 2002).

De Marzo და კოლეგებმა (1999) გამოთქვეს ვარაუდი, რომ პროსტატის პროლიფერაციული ანთებითი ატროფია პროსტატის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიისა (PIN) და პროსტატის კიბოს პრეკურსორია (De Marzo et al., 1999) (სურ.1.2.6). სავარაუდოდ პროსტატის პროლიფერაციული ანთებითი ატროფიის როლი არსებითი უნდა იყოს პროსტატის კანცეროგენეზში (Gardner and Bennett, 1992). ცნობილია, რომ ამგვარი ატროფიული უბნები ძირითადად ჩნდება პროსტატის პერიფერიაში, იქ სადაც ყველაზე ხშირად ვითარდება ავთვისებიანი სიმსივნეები. აღნიშნული უბნები შეიცავენ პროლიფერაციულ ეპითელურ უჯრედებს, რომლებიც არ დიფერენცირდებიან ცილინდრულ სეკრეტორულ უჯრედებად (Ruska et al., 1998; De Marzo et al., 1999). ტერმინი „პროლიფერაციული ანთებითი ატროფია“ გულისხმობს ატროფიულ დაზიანებებს, რომლებიც ასოცირებულია ქრონიკულ ანთებასთან და ხშირად უშუალოდ ესაზღვრება PIN უბნებს და/ან პროსტატის კიბოს უჯრედებს. PIN და კიბოს უჯრედების გენომის სომატური ანომალიების მსგავსი მუტაციები აღმოჩენილია პროლიფერაციული ანთებითი ატროფიის უჯრედებშიც (Putzi and De Marzo, 2000; Shah et al., 2001). პროსტატის ქრონიკულ ანთებასა და პროლიფერაციული ანთებითი ატროფიის დროს მიმდინარე დაზიანებებს შორის მჭიდრო კავშირის არსებობა საშუალებას იძლევა ივარაუდონ, რომ აღნიშნული დაზიანებები ვითარდება პროსტატის ეპითელური უჯრედების რეგენერაციის დროს მიმდინარე პროლიფერაციის შედეგად. თავის მხრივ პროლიფერაციული ანთებითი ატროფია წარმოადგენს ანთებითი ოქსიდანტების მოქმედების საპასუხო რეაქციას (De Marzo et al. 1999).



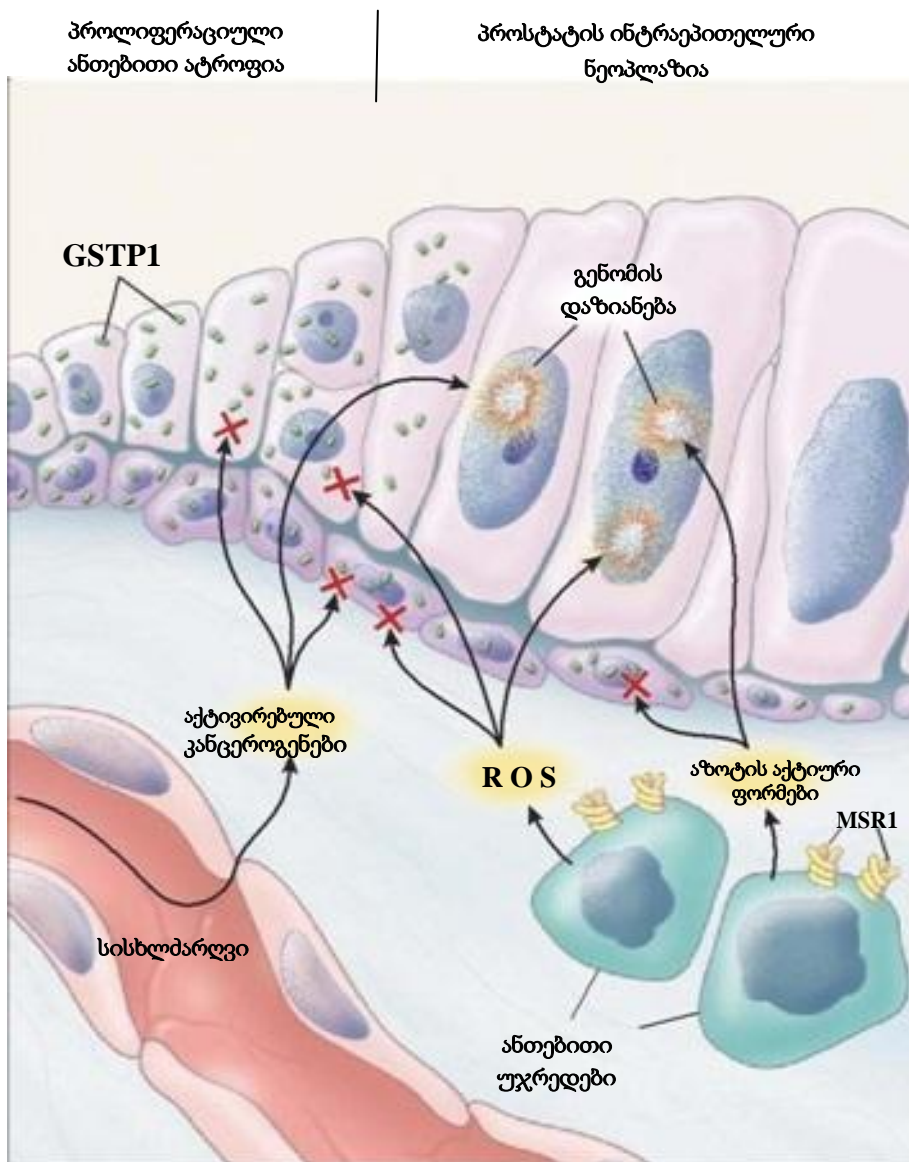
სურ. 1.2.6. პროლიფერაციული ანთებითი ატროფია, როგორც პროსტატის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიის და პროსტატის კიბოს პრეკურსორი (Nelson et al., 2003).

პროლიფერაციული ანთებითი ატროფიის უჯრედებში გაზრდილია ზოგიერთი ფერმენტის აქტივობა, როგორცაა: GSTP1, გლუტათიონ S-ტრანსფერაზა A1 (GSTA1) და ციკლოოქსიგენაზა-2 (COX-2) (Zha et al., 2001; Parsons et al., 2001).

როგორც ცნობილია ზოგადად, გლუტათიონ S-ტრანსფერაზა (GSTP) ახორციელებს ტოქსიური ნაერთების, მათ შორის წამლებისა და საკვების გზით ორგანიზმში მოხვედრილი კანცეროგენების კონიუგაციას აღდგენილ გლუტათიონთან (GSH) და ამგვარად უზრუნველყოფს აღნიშნული ნაერთების დეტოქსიკაციას. აღნიშნული მოქმედების შედეგად GSTP იცავს დნმ-ს, მიტოქონდრიებს და მთლიანად უჯრედს ტოქსიური ნაერთების დამაზიანებელი მოქმედებისაგან (Nelson et al., 2003). უნდა აღინიშნოს, რომ ორგანიზმში არსებული ზოგიერთი ფერმენტული სისტემა (მაგ: ღვიძლის მონოოქსიგენაზა, ციტოქრომ P-450) ახდენს რა ჟანგბადის ერთი ატომის მიერთებას ორგანულ ნაერთებთან პირიქით, უზრუნველყოფს ორგანიზმში მოხვედრილი ქსენობიოტიკების (საკვებში არსებული კანცეროგენები) აქტივაციას (Stuart et al., 2000).

ნორმალსა და პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნის შემთხვევაში ზემოთაღნიშნული აქტიური კანცეროგენების გაუვნებელყოფა ხორციელდება ბაზალურ უჯრედებსა და პროლიფერაციული ანთებითი ატროფიის უჯრედებში არსებული გლუტათიონ S-ტრანსფერაზას (GSTP1) საშუალებით. პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ უჯრედებში (PIN და პროსტატის კიბო) GSTP1-გენი გათიშულია ჰიპერმეთილირების გამო (ეპიგენეტიკური ცვლილება). შედეგად აღარ წარიმართება აღნიშნული გენის ტრანსკრიპცია (Dakubo et al., 2006). არსებობს ვარაუდი, რომ პროსტატის უჯრედებში GSTP1-ის გენის მუტაცია განაპირობებს აღნიშნული დამცველობითი ფერმენტის

დეფიციტს, რაც საფუძვლად უნდა ედოს პროლიფერაციული ანთებითი ატროფიის გარდაქმნას პროსტატის ინტრაეპითელურ ნეოპლაზიად ან პროსტატის კიბოდ (სურ.1.2.7). უნდა აღინიშნოს, რომ პროსტატის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიის უჯრედებში GSTP1-ის დეფიციტი განაპირობებს გენომურ დაზიანებებს, რაც ხელს უნდა უწყობდეს ავთვისებიანი ფენოტიპის ჩამოყალიბებას (Nelson et al., 2003). ამავდროულად ანთების ფონზე პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში ადგილი უნდა ჰქონდეს იმუნური უჯრედების მობილიზაციას (მაკროფაგები), რომლებიც გამოიმუშავებენ რა აქტიურ დამჟანგველებს ( $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ ,  $OH^-$ ; NO), ხელს უწყობენ და აძლიერებენ კანცეროგენების დამაზიანებელ მოქმედებას გენომზე და მთლიანად უჯრედზე (Nelson et al., 2003).



სურ. 1.2.7 გლუტათიონ ტრანსფერაზას (GSTP1) დეფიციტის როლი პროსტატის კანცეროგენეზში (Nelson et al., 2003).

არსებობს ვარაუდი, რომ მომატებულმა ROS-მა შესაძლოა უჯრედთა პროლიფერაციას შეუწყოს ხელი, გამოიწვიოს სომატური დნმ-ს მუტაციები და გენეტიკური არასტაბილურობა, უჯრედული ციკლის შეჩერება, უჯრედის დაბერება, ხოლო სიმსივნურ უჯრედებში გააძლიეროს ანგიოგენეზი და სიმსივნური უჯრედების ძვრადობა (Araldi et al., 2008; Khandrika et al., 2009).

პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში **ROS** (გარდა დნმ-ს დამაზიანებელი ფაქტორისა) შეიძლება მოქმედებდეს როგორც მეორადი მესენჯერი და აკონტროლებდეს სხვადასხვა სასიგნალო გზას. მრავალი ტრანსკრიპციული ფაქტორის (**HIF-1 $\alpha$** , **snail**) გააქტივების გზით ROS ასევე უზრუნველყოფს ონკოგენური ფენოტიპის შენარჩუნებას პროსტატის კიბოს შემთხვევაში (Maroni et al., 2004).

ბოლო წლების კვლევების ყურადღების ცენტრშია ფოკალური ადჰეზიის კინაზას (**FAK**) და მიტოგენ-აქტივირებული პროტეინკინაზას (**MAPK**) სასიგნალო გზები. არსებობს ვარაუდი რომ აღნიშნული სასიგნალო გზები შესაძლოა მნიშვნელოვან როლს ასრულებდნენ აგრესიული, ანდროგენ-დამოუკიდებელი პროსტატის კიბოს განვითარებაში (Khandrika et al., 2009; Maroni et al., 2004).

მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ ანთებითი პროცესის ზუსტი წვლილი პროსტატის კიბოს ჩამოყალიბებასა და განვითარებაში დღეისათვის ჯერ კიდევ გაურკვეველია და დამატებით შესწავლას მოითხოვს.



## 1.3 მიტოქონდრიები და პროსტატის კიბო

### 1.3.1. მიტოქონდრიული სასიგნალო გზები და სიმსივნური პათოლოგია

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ბოლო წლების კვლევები ადასტურებენ, რომ მიტოქონდრიები და მიტოქონდრიული დეფექტები, მნიშვნელოვან როლს უნდა ასრულებდნენ კიბოს განვითარებასა და პროგრესირებაში. ვარაუდობენ, რომ აღნიშნული დეფექტების უმეტესობა დაკავშირებულია სუნთქვითი ჯაჭვის კომპლექსების სხვადასხვა სუბერთეულებისა და გლიკოლიზში მონაწილე ფერმენტების სახეცვლილ ექსპრესიასთან, მათი აქტივობის ცვლილებასთან (Dakubo et al., 2006; Gaud and Frezza, 2014), ნიკოტინამიდადენინდინუკლეოტიდთან (NADH) დამაკავშირებელი სუბერთეულების აქტივობის ცვლილებასთან, მ-დნმ-ის მუტაციებთან (Parr et al., 2007; Kulawiec et al., 2010) და სხვა. დღეს უკვე მიტოქონდრია შესაძლოა განხილული იქნას როგორც “ორკესტრის დირიჟორი”, რომელიც აკონტროლებს იმ სასიგნალო გზებს, რაც მნიშვნელოვანია ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის ინიციაციასა და ტრანსფორმირებული ფენოტიპის შენარჩუნებისათვის (Augenlicht and Heerdt, 2001).

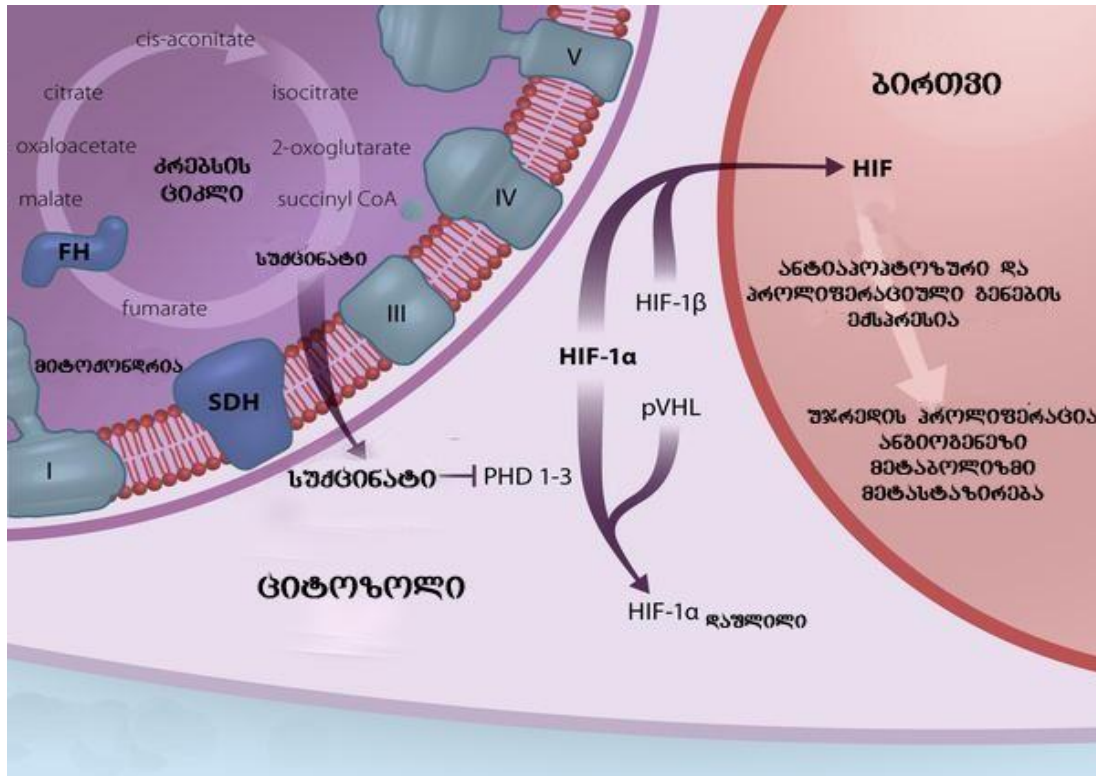
ბოლო კვლევებმა ნათელი მოჰფინა ახალ სასიგნალო გზას მიტოქონდრიიდან ციტოზოლის მიმართულებით, რაც თვალნათლივ აკავშირებს მიტოქონდრიულ დარღვევებს სიმსივნის პროგრესირებასთან (Zanssen and Schon, 2005; Selak et al., 2005).

აღნიშნული სასიგნალო გზა უკავშირდება კრებსის ციკლის ერთ-ერთ ფერმენტს სუქცინატდეჰიდროგენაზას (SDH), რომელიც იმავდროულად მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის II ფერმენტულ კომპლექსს წარმოადგენს. აღნიშნული ფერმენტი მთლიანად ბირთვის გენებით კოდირდება. ცნობილია, რომ მისი სუბერთეულების მაკოდირებელი გენების მუტაციები იწვევენ მემკვიდრულ ფეოქრომოციტომებს და პარაგანგლიომებს (Eng et al., 2003).

აღნიშნული სასიგნალო გზის კიდევ ერთ კომპონენტს წარმოადგენს კრებსის ციკლის კიდევ ერთი ფერმენტი ფუმარატ ჰიდრატაზა (FH), რომლის მუტაციები თავის მხრივ იწვევს საშვილოსნოს ლეიომიომებსა და თირკმლის სიმსივნეებს. (სავარაუდოდ სწორედ მიტოქონდრიული ცილები მონაწილეობენ თირკმლის სპორადული სიმსივნის – ონკოციტომის განვითარებაში) (Zanssen et al., 2004).

Selak და თანაავტორების მიერ (2005) გამოვლენილ იქნა კავშირი სიმსივნესა და SDH/FH თანაფარდობას შორის (Selak et al., 2005). აღმოჩნდა, რომ SDH დეფიციტის შემთხვევაში ადგილი ჰქონდა სუქცინატის ჭარბ დაგროვებას მიტოქონდრიის მატრიქსში (იგივე მოვლენას აქვს ადგილი FH დეფიციტის დროსაც) და მის ტრანსპორტს მატრიქსიდან ციტოზოლის მიმართულებით (სურ. 1.3.1.). ავტორები ვარაუდობენ, რომ ციტოზოლში სუქცინატის მომატებული კონცენტრაცია აინჰიბირებს პროლილ ჰიდროქსილაზების კომპლექსს (PHD 1-3), შედეგად PHD ვეღარ ახორციელებს ჰიპოქსია ინდუცირებადი ფაქტორი-1 $\alpha$ -ს (HIF-1 $\alpha$ ) დაშლას ჟანგბადის ნორმალური კონცენტრაციის პირობებში კი. აღნიშნული კი იწვევს HIF-1 $\alpha$  სტაბილიზაციას და მის დაკავშირებას HIF-1 $\beta$  სუბერთეულთან, რაც საბოლოოდ განაპირობებს ჰიპოქსია ინდუცირებადი ფაქტორის

(HIF) წარმოქმნას. HIF კი აინდუცირებს იმ ბირთვული გენების ტრანსკრიპციას, რომლებიც ჩართულნი არიან ანტიაპოპტოზური სიგნალის გადაცემაში და სიმსივნურ ზრდაში (აღნიშნული გენების ექსპრესია უზრუნველყოფს უჯრედების პროლიფერაციას, ანგიოგენეზს და მეტასტაზირებას) (Zanssen and Schon, 2005).

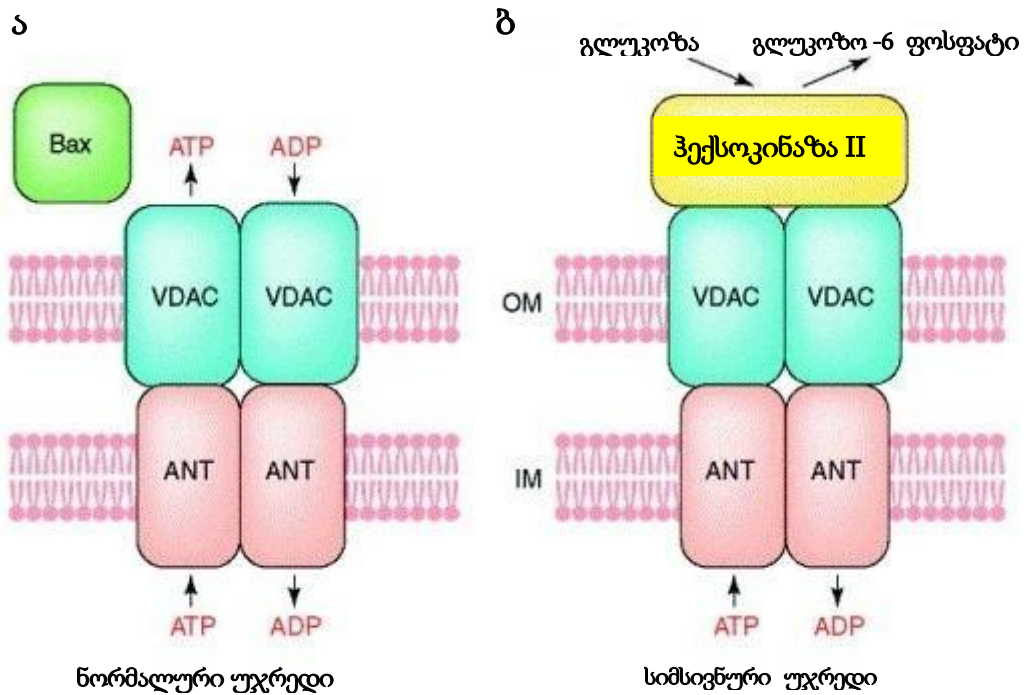


სურ 1.3.1. სიმსივნის განვითარების სქემატური მოდელი SDH დეფიციტის პირობებში (Zanssen and Schon, 2005)

ცნობილია, რომ კიდევ ერთი მიტოქონდრიული სასიგნალო გზა დაკავშირებულია სიმსივნურ უჯრედებში ჰექსოკინაზა II აქტივაციასთან (Brandon et al., 2006).

Otto Warburg-ის დაკვირვებამ (1956წ) უჩვენა, რომ სიმსივნური უჯრედების მეტაბოლიზმისათვის დამახასიათებელი იყო ე.წ. „აერობული გლიკოლიზი“, რაც გულისხმობდა გლუკოზის აქტიურ მეტაბოლიზმსა და რძემჟავას ჭარბ პროდუქციას და იმავდროულად ჟანგბადის მოხმარებასა და ჟანგვით ფოსფორილირებას (Brandon et al., 2006). ცნობილია, რომ მიტოქონდრიებში ენერჯის წარმოქმნა სწორედ ჟანგვითი ფოსფორილირების შედეგად ხდება. ამ დროს შუალედურ პროდუქტებად ჟანგბადის რეაქტიული ფორმები (ROS) წარმოიქმნება. როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ROS-ის მატება კი დაკავშირებულია ქსოვილებისა და/ან დნმ-ს დაზიანებებთან (Higuchi et al., 2006; Khandrika et al., 2009). აღმოჩნდა, რომ სიმსივნური უჯრედები განვითარებული ჰიპოქსიის საპასუხოდ აინდუცირებენ ჰექსოკინაზა II-ს, რომელიც პირდაპირ უკავშირდება მიტოქონდრიის პოტენციალ-დამოკიდებულ ანიონურ არხებს (VDAC)

(სურ.1.3.2). აღნიშნული არხები წარმოადგენენ მიტოქონდრიის გარე მემბრანის ინტეგრალურ ცილებს, რომელთა საშუალებითაც ხორციელდება ნივთიერების გადატანა ატფ-ის ჩათვლით (Zamzami and Kroemer, 2001; Brandon et al., 2006).



სურ. 1.3.2 ჰექსოკინაზას მიერ აპოპტოზის დათრგუნვის (ა) და სიმსივნური უჯრედების გლიკოლიზზე გადართვის (ბ) სქემატური მოდელი (Zamzami and Kroemer, 2001).

VDAC - პოტენციალდამოკიდებული ანიონური არხი;

ANT - ადენინუკლეოტიდის ტრანსპორტერი;

Bax – აპოპტოზის მაინდუცირებელი ცილა

ჰექსოკინაზა II-ის პოტენციალ-დამოკიდებულ ანიონურ არხებთან დაკავშირების ე.წ. “პრომოტორს” წარმოადგენს პროტეინკინაზა B (Akt კინაზა), რომელიც თავის მხრივ მონაწილეობს ონკოგენური სიგნალების გადაცემაში (სურ.1.3.2). VDAC-თან დაკავშირებული ჰექსოკინაზა II იკავშირებს რა ატფ-ს, იწვევს გლუკოზის ფოსფორილირებას გლუკოზო-6-ფოსფატამდე (რაც გლიკოლიზის პირველ რეაქციას წარმოადგენს) (Wallace, 2005). შედეგად სიმსივნური უჯრედები ჟანგვითი ფოსფორილირებიდან გლიკოლიზზე გადაერთვებიან რათა წარმოქმნან ატფ ჟანგბადის დაბალი კონცენტრაციის პირობებშიც (Zamzami and Kroemer, 2001; Brandon et al., 2006). აღმოჩნდა, რომ ჰექსოკინაზა II VDAC-თან დაკავშირების პირობებში ახდენს ასევე აპოპტოზის ინჰიბირებას, მოქმედებს რა როგორც Bax და Bak აპოპტოზის მაინდუცირებელი ცილების ანტაგონისტი (Birnbbaum, 2004; Majewski et al., 2004).

ყოველივე აღნიშნულიდან გამომდინარე სიმსივნური უჯრედები გადაერთვებიან რა ჟანგვითი ფოსფორილირებიდან გლიკოლიზზე, ჟანგბადის დაბალი კონცენტრაციის პირობებშიც ახერხებენ გამრავლებას და ამავედროულად აპოპტოზის პროცესის შეფერხებას (Brandon et al., 2006).

ცნობილია, რომ პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში მიტოქონდრიული დეფექტები შესაძლებელია ასევე განპირობებული იყოს ჰორმონალური დისბალანსით, რამეთუ მიტოქონდრია წარმოადგენს ანდროგენებისა და ესტროგენების მოქმედების სამიზნეს (Kulinsky and Kolesnichenko, 2007). ანდროგენები პირდაპირი თუ არაპირდაპირი გზით, მონაწილეობას იღებენ პროსტატის კიბოს უჯრედებში ჟანგვითი სტრესის გამოწვევაში (Liehr, 2000). აღნიშნული რეალიზდება მიტოქონდრიების რაოდენობისა და აქტივობის ცვლილებით, ოქსიდანტების პროდუცირების გზით (Ripple et al., 1997).

Ripple-მა თანაავტორებთან ერთად (1997) უჩვენა, რომ ანდროგენები აინდუცირებენ მიტოქონდრიების რიცხვის, მასისა და აქტივობის ზრდას, **ROS**-ის პროდუცირების მატებას მამაკაცის პროსტატის კიბოს ანდროგენ-მგრძნობიარე **LNCaP** უჯრედებში (Ripple et al., 1997).

ცნობილია, რომ როგორც ესტროგენებს, ასევე ანდროგენებს, შეუძლიათ იმოქმედონ მიტოქონდრიულ ცილებზე, მიტოქონდრიის სუნთქვით კომპლექსებზე – **I**-, **II**-, **III**-, **IV**-სა და მიტოქონდრიულ **ATP**-სინთეტაზაზე (**F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATP**-აზა) (Kipp and Ramirez 2001; Borrás et al., 2003; Felty and Roy, 2005). ცნობილია ისიც, რომ პროსტატის კიბოს პროგრესირება ანდროგენული ბლოკადის შემდგომ პერიოდში დაკავშირებულია ანდროგენ-დამოუკიდებელი უჯრედების გაჩენასთან, რაც შედეგად იწვევს ჰორმონრეზისტენტული კიბოს განვითარებას (Higuchi et al., 2006).

Higuchi და თანაავტორებმა (2006) პროსტატის კიბოს პროგრესირების პარალელურად შეისწავლეს ნორმალური და დელეციების მქონე მ-დნმ-ის ცვლილებები. ნაჩვენებია იქნა, რომ ანდროგენ-დამოუკიდებელი უჯრედული ხაზისათვის (C4-2) დამახასიათებელი იყო დიდი დელეციების მქონე მ-დნმ-ის დაგროვება და ნორმალური მ-დნმ-ის დეფიციტი (Jessie et al., 2001; Petros et al., 2005) აღსანიშნავია, რომ მ-დნმ-ის ნორმალური ფორმების მკვეთრი შემცირება ანდროგენ-დამოუკიდებელ **LNCaP** უჯრედებში კი იწვევდა ანდროგენ-დამოუკიდებულების დაკარგვას. აღმოჩნდა, რომ ნორმალური მ-დნმ-ის თავდაპირველი რაოდენობის აღდგენა იმ კლონებში, სადაც ძირითადად მუტანტური დნმ ჭარბობდა, იწვევდა ანდროგენ-დამოუკიდებულების აღდგენას (Higuchi et al., 2006).

აღნიშნული კვლევის შედეგად გამოითქვა მოსაზრება, რომ პროსტატის კიბოს უჯრედების კულტურის ანდროგენ-დამოუკიდებულება დამოუკიდებელია ნორმალური მ-დნმ-ის რაოდენობაზე უჯრედებში. ამგვარად, დიდი დელეციების მქონე მ-დნმ-ის დაგროვება და/ან ნორმალური მ-დნმ-ის მკვეთრი შემცირება მნიშვნელოვან როლს უნდა ასრულებდეს სიმსივნური უჯრედის ანდროგენ-დამოუკიდებლობის განვითარებაში, რაც საბოლოოდ აღნიშნული დაავადების დამძიმებას იწვევს (Rasmussen et al., 2003; Higuchi et al., 2006).

### 1.3.2. მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციები

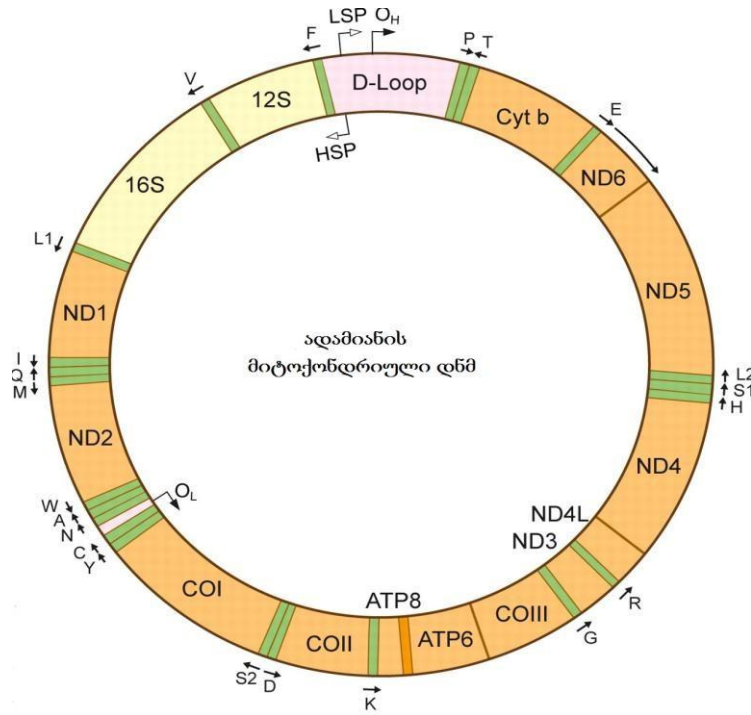
ცნობილია, რომ სიმსივნის წარმოქმნისა და განვითარების დამახასიათებელ ნიშანს წარმოადგენს გენეტიკური დარღვევების დაგროვება მიტოქონდრიულ და ბირთვულ გენომში (Dakubo et al., 2006; Kulawiec et al., 2010). ასევე ცნობილია, რომ მიტოქონდრიული დარღვევები თავის მხრივ იწვევენ ისეთი პროცესების მოშლას როგორცაა ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი, აპოპტოზი, უჯრედის ზრდა, ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების წარმოქმნა და სხვ რაც საბოლოოდ ნორმალური უჯრედის ტრანსფორმაციას იწვევს (Brandon et al., 2006; Khandrika et al., 2009; Gaude and Frezza, 2010). დღესდღეობით მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციები თითქმის ყველა სახის სიმსივნეშია ნაჩი, თუმცა აღნიშნული კუთხით კვლევები მოითხოვს ახალ მონაცემებს, რათა გამოიკვეთოს ზუსტი კავშირი მიტოქონდრიულ მუტაციებსა და სიმსივნის ეტიოლოგიას შორის.

ცნობილია, რომ მიტოქონდრიების სტრუქტურა, ფორმა და რაოდენობა უჯრედში მეტად ცვალებადია. მათი რაოდენობა უჯრედში საშუალოდ 1-10 000-მდე მერყეობს, რაც უჯრედის ტიპზე და მის ენერგეტიკულ მოთხოვნებზეა დამოკიდებული (Henze and Martin, 2003). მიტოქონდრიები ყველაზე დიდი რაოდენობით გვხვდება გულის, ტვინის, ღვიძლის, კუჭნაწლავის ტრაქტისა და თირკმლის უჯრედებში (Nunnari and Suomalainen, 2012), მაშინ როდესაც სისხლის ერითროციტებს მიტოქონდრიები საერთოდ არ გააჩნიათ (Clark, 2000).

აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ მიტოქონდრიები პოლიპლოიდური ორგანოებია, რამეთუ თითოეული მათგანი შეიცავს წრიული დნმ-ის 5-10 ასლს (Tu et al., 2015). მიტოქონდრიული დნმ-ის რეპლიკაცია, ისევე როგორც ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის პროცესები მიტოქონდრიის მატრიქსში მიმდინარეობს. აღსანიშნავია, რომ ყველა აღნიშნული პროცესი პროკარიოტებისათვის დამახასიათებელი პრინციპებით ხორციელდება (Anderson et al., 1981; Finnila, 2000).

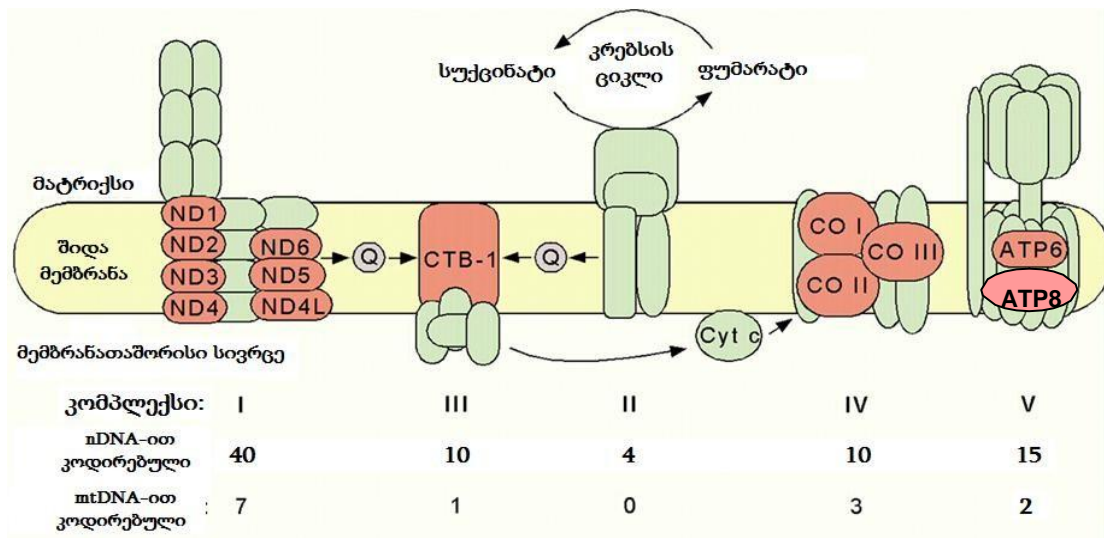
მიტოქონდრიის ორჯაჭვიანი წრიული დნმ აგებულია **16 569** აზოტოვანი ფუძისაგან და მოიცავს **37 გენს**. კერძოდ კი: **13 ცილის** მაკოდირებელ (სუნთქვითი ჯაჭვის სუბერთეულები), **2 რიბოსომული რნმ-ის (12S და 16S სუბერთეულები)** და **22 სატრანსპორტო რნმ-ის** მაკოდირებელ გენს. მიტოქონდრიული დნმ-ის მიერ კოდირებული 13-ვე ცილა შედის მიტოქონდრიის სუნთქვითი ჯაჭვის ფერმენტული კომპლექსების შემადგენლობაში (Kogelnik et al., 1996), გარდა მეორე კომპლექსისა (სუქცინატდეჰიდროგენაზა), რომელიც, როგორც აღვნიშნეთ მთლიანად ბირთვული გენებით კოდირდება. სუნთქვითი ჯაჭვის დანარჩენ 4 ფერმენტულ კომპლექსში მიტოქონდრიული ცილები წარმოდგენილია შემდეგი სუბერთეულების სახით (სურ 1.3.3; სურ. 1.3.4) (Anderson et al., 1981; Wallace, 2005):

- I კომპლექსის 7 სუბერთეული (46-დან): (ND1, ND2, ND3, ND4, ND5, ND6, ND7);
- III კომპლექსის 1 სუბერთეული (Cytb) (11-დან);
- IV კომპლექსის 3 სუბერთეული (COI, COII, COIII) (13-დან);
- V კომპლექსის 2 სუბერთეული (ATP 6 და ATP 8) (16-დან).



სურ.1.3.3 მიტოქონდრიული გენომის სქემატური გამოსახულება (Lagouge and Larsson, 2013)

- მ-რნმ
- ტ-რნმ
- რ-რნმ
- არაკოდირებადი უბანი



სურ. 1.3.4 მიტოქონდრიული ცილების სქემატური განაწილება სუნთქვითი ჯაჭვის კომპლექსებში (Lemire, 2005)

მიტოქონდრიული ცილები

მ-დნმ შეიცავს ასევე არაკოდირებად უბანსაც, რომელსაც დისლოკაციური მარყუჭი ანუ **D მარყუჭი** (D-loop) ეწოდება (სურ 1. 3.3). D მარყუჭი სამჯაჭვიანი რეგულატორული უბანია, რომელიც მიტოქონდრიული გენების ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის პროცესებს აკონტროლებს (Dakubo et al., 2006). სუნთქვითი ჯაჭვის აღნიშნული კომპლექსების დანარჩენი სუბერთეულები ბირთვული დნმ-ით კოდირდება (Lemire, 2005).

ცნობილია, რომ მ-დნმ მნიშვნელოვან როლს ასრულებს როგორც სიმსივნური უჯრედების კვდომაში, ასევე მეტასტაზირების უნარის შეძენაში. აღმოჩნდა, რომ პროსტატის კიბოს უჯრედებისათვის ხშირ შემთხვევაში დამახასიათებელია ჰეტეროპლაზმური, დიდი დელეციების მქონე მ-დნმ არსებობა (Brandon et al., 2006) .

მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციების შემცველობის მიხედვით განარჩევენ **ჰომოპლაზმურ** და **ჰეტეროპლაზმურ** უჯრედებს და შესაბამისად ჰომოპლაზმიასა და ჰეტეროპლაზმიას (Brandon et al., 2006). არჩევენ ჰომოპლაზმიის ორ ფორმას - ნორმალურსა და მუტანტურს. ცნობილია, რომ ნორმალური ჰომოპლაზმიის დროს უჯრედი მხოლოდ ჯანმრთელ მიტოქონდრიებს შეიცავს, მუტანტური ჰომოპლაზმიის შემთხვევაში კი უჯრედის ყველა მიტოქონდრიაში მსგავსი მუტაციები ფიქსირდება. ჰეტეროპლაზმიის დროს უჯრედში მ-დნმ-ის მუტაციები ფიქსირდება მიტოქონდრიების მხოლოდ გარკვეულ ნაწილში (Lagouge and Larsson, 2013). ცნობილია, რომ უჯრედის მრავალი თანმიმდევრული გაყოფის შედეგად შესაძლოა მნიშვნელოვნად შეიცვალოს თანაფარდობა ნორმალურ და მუტანტურ მ-დნმ-ს რაოდენობებს შორის, რაც საბოლოოდ იძლევა ნორმალურ ან მუტანტურ ჰომოპლაზმიას. გარდა აღნიშნულისა სიმსივნურ უჯრედებში ადგილი აქვს მიტოქონდრიული გენების მუტაციების ორ ტიპს (Brandon et al., 2006):

➤ □ **ადაპტაციური მუტაციები:**

ნორმაში ფიქსირდება ადამიანთა არაერთ პოპულაციაში დაბერებისა და/ან სხვადასხვა დაავადების დროს.

სიმსივნური უჯრედების შემთხვევაში აღნიშნული მუტაციები ემსახურება სიმსივნური უჯრედების ადაპტაციას შეცვლილ გარემოსთან (ენერგეტიკული სუბსტრატების ნაკლებობა, ჟანგბადის დაბალი კონცენტრაცია, ტემპერატურის ცვლა, მომატებული ROS, აპოპტოგენური პირობები) და ვლინდება შედარებით გვიან, მეტასტაზირებისას. ადაპტაციურ მუტაციებში განარჩევენ ერთი მხრივ **მისენს (missense) მუტაციებს**, რის შედეგადაც ცილის პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში შეცვლილია ფუნქციურად მნიშვნელოვანი ამინომჟავები და მეორეს მხრივ კი **რეგულატორული უბნის** (D-მარყუჭი) მუტაციებს, რომლის დროსაც ადგილი აქვს დნმ-ის რეპლიკაციისა და ტრანსკრიპციის პროცესების ცვლილებას.

➤ □ **კანცეროგენული მუტაციები:**

აღნიშნული მუტაციები ვლინდება სიმსივნის ადრეულ ეტაპზე. ჟანგბადის დეფიციტის ფონზე აღნიშნული მუტაციები აინჰიბირებენ ჟანგვით ფოსფორილირებას და აძლიერებენ ROS-ის წარმოქმნას, რაც საბოლოო ჯამში იწვევს ავთვისებიან ტრანსფორმაციას (პროტონკოგენების ონკოგენებად გარდაქმნა) და სიმსივნის პროგრესირებას. კანცეროგენული მუტაციების შემთხვევაში ROS-ის გაზრდილი კონცენტრაციის პირობებში ადგილი აქვს H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ის წარმოქმნის ინტენსივობის ზრდას

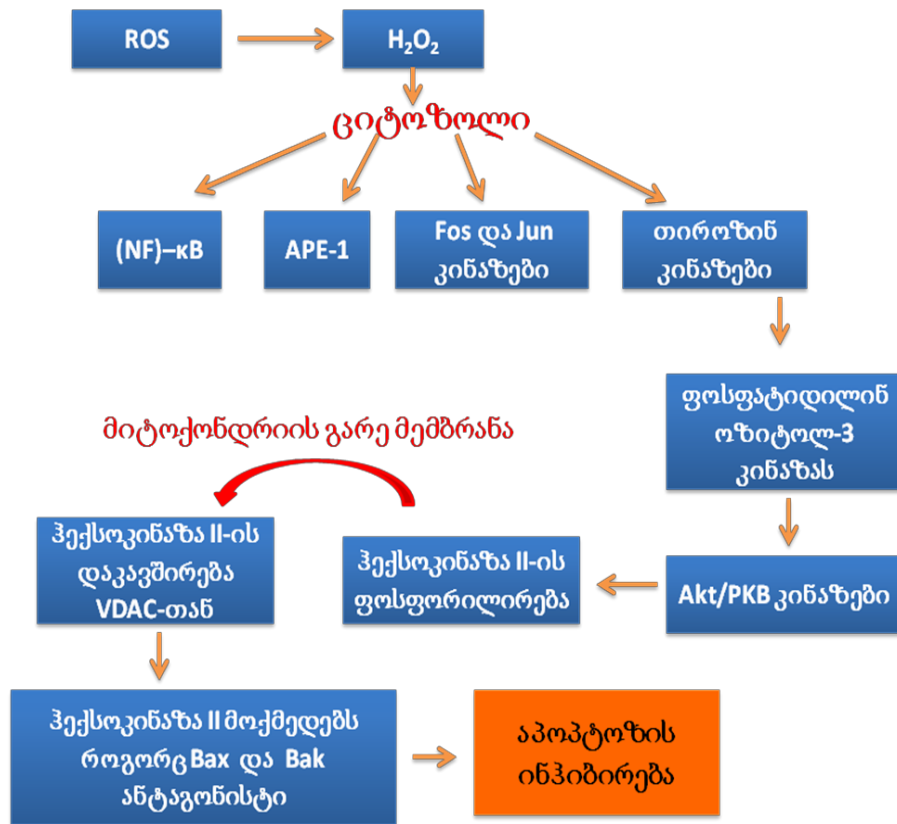
(სურ.1.3.5).  $H_2O_2$  დიფუნდირებს რა მიტოქონდრიის გარეთა მემბრანაში, ხვდება ჯერ ციტოპლაზმაში და შემდგომ კი ბირთვში. ბირთვში იგი

ურთიერთქმედებს ცვალებადი ვალენტობის მქონე მეტალებთან და წარმოქმნის ჰიდროქსილის რადიკალს, რომელიც ბირთვულ დნმ-თან ურთიერთქმედების შედეგად იწვევს ცალკეული გენების მუტაციებს. ციტოზოლში  $H_2O_2$  მოქმედებს რა მიტოგენური სიგნალების გადაცემაზე, ურთიერთქმედებს ისეთ ფაქტორებთან როგორცაა: ბირთვული ფაქტორი (NF $\kappa$ B), აპურინის/აპირიმიდინის ენდონუკლეაზა 1 (APE-1), Fos, Jun და თიროზინ კინაზები (Src კინაზა, პროტეინ კინაზა C, მიტოგენ აქტივირებული პროტეინკინაზა და რეცეპტორული თიროზინკინაზა). თიროზინ კინაზების აქტივაცია განაპირობებს ფოსფატიდილინოზიტოლ-3 კინაზას აქტივაციას, რაც თავის მხრივ ააქტიურებს Akt/PKB კინაზებს. ონკოგენებით ინდუცირებული ტრანსფორმირებული უჯრედების რეპლიკაციის პირობებში შესაძლოა განვითარდეს ჰიპოქსია, რაც იწვევს ჰექსოკინაზა II-ის ტრანსკრიპციის ინდუცირებას, შედეგად Akt/PKB კინაზები ახდენენ ჰექსოკინაზა II-ის ფოსფორილირებას, რასაც მოჰყვება ჰექსოკინაზა II დაკავშირება VDAC-ს (სურ. 1.3.2). აღნიშნული კი ზემოთაღწერილი მექანიზმით განაპირობებს სიმსივნური უჯრედების გადართვას ინტენსიურ გლიკოლიზზე და იმავდროულად აპოპტოზის ინჰიბირებას (სურ 1.3.5) (Zamzami and Kroemer, 2001; Brandon et al., 2006).

როგორც უკვე აღვნიშნეთ ავთვისებიანი სიმსივნის განვითარებას ხშირ შემთხვევაში თან სდევს მიტოქონდრიული დნმ-ს მუტაციები, რამაც მიტოქონდრიების დისფუნქციასა და შეცვლილ მეტაბოლიზმთან ერთად შესაძლოა ხელი შეუწყოს სიმსივნის განვითარებასა და მეტასტაზირებას (Dakubo et al., 2006; Gaude and Frezza, 2014).

როგორც ზემოთ იქნა აღნიშნული ჯანმრთელი პროსტატის ქსოვილის უჯრედებისათვის დამახასიათებელია თუთიის მაღალი შემცველობა (Costello et al., 2004), რაც კრების ციკლის ბლოკირებას და პროსტატის სითხეში ციტრატის დიდი რაოდენობით დაგროვებას იწვევს. შედეგად ნორმალური პროსტატის ეპითელიურ უჯრედებს სუნთქვის დაბალი ინტენსივობა ახასიათებთ, ისინი ენერგეტიკული თვალსაზრისით არაეფექტურები არიან და ნაკლებად წარმოქმნიან ROS (Dakubo et al., 2006; Costello and Franklin, 2006). ნორმისაგან განსხვავებით, პროსტატის ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის ადრეულ სტადიაზევე ადგილი აქვს თუთიის მატრანსპორტირებელი ცილების სინთეზის დათრგუნვას, რაც შედეგად განაპირობებს ფერმენტ m-აკონიტაზას აქტივაციას და ციტრატის სრულ მეტაბოლიზმს). აღნიშნული მეტაბოლური გადართვა თუთიის რაოდენობის შემცირებას და ციტრატის ჟანგვის გაძლიერებას იწვევს (Juang, 2004). ამგვარად, პროსტატის ავთვისებიანი უჯრედები ენერგეტიკულად ეფექტურები არიან, ახასიათებთ სუნთქვითი პროცესების ინტენსიფიკაცია, რაც შესაბამისად მეტი ROS-ის წარმოქმნას იწვევს (Dakubo et al., 2006).





სურ. 1.3.5 პროსტატის სიმსივნური უჯრედებში მუტაციის შედეგად ჰექსოკინაზას აქტივაციის პირობითი გზა (Zamzami and Kroemer, 2001; Brandon, 2006).

(NF) –κB – ბირთვული ფაქტორი κB;  
 APE-1 -აპირიმიდინული ენდონუკლეაზა 1;  
 Akt/PKB - სერინ/თრეონინ პროტეინ კინაზა.

### 1.3.3. მეტაბოლური გადართვა და მიტოქონდრიული დნმ-ს მუტაციები

უკანასკნელ წლებში სულ უფრო მეტი ყურადღება ექცევა მიტოქონდრიების როლის შესწავლას პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების განვითარებაში. პროსტატის კიბოს შემთხვევაში მეტაბოლიზმის ცვლილებებსა და მიტოქონდრიული დნმ-ს მუტაციებს შორის შესაძლო კავშირის დასადგენად არაერთი კვლევა იქნა შესრულებული (Petros et al., 2005; Dakubo et al., 2006). აღნიშნული კვლევების მიხედვით მიტოქონდრიები ROS-ის წარმოქმნის ძირითადი წყაროა. ამიტომ გასაკვირი არ უნდა იყოს, რომ შეცვლილი მიტოქონდრიული ენერგეტიკა და მუტაციები საფუძვლად უნდა ედოს პროსტატის კიბოს განვითარებას.

Jessie-მ კოლეგებთან ერთად (2001) პირველებმა დაადგინეს, რომ პროსტატის ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის გვიან სტადიაზე ადგილი ჰქონდა მიტოქონდრიული დნმ-ის უფრო მეტ დელეციებს, ვიდრე ტრანსფორმაციის ადრეულ სტადიაზე. ავტორებმა დაუშვეს ვარაუდი, რომ ჟანგვითი სტრესის გაძლიერებამ დროთა განმავლობაში შესაძლოა გამოიწვია კიდევ უფრო მეტი მუტაციების დაგროვება მიტოქონდრიულ დნმ-ში (Jessie et al., 2001).

Chen და მისი თანამშრომლების მიერ ჩატარებული კვლევების შედეგად (2002-2003წწ) დადგინდა იქნა პროსტატის კიბოს შემთხვევაში მ-დნმ-ის არასტაბილურობა, და ჰომოპლაზმური წერტილოვანი მუტაციების მაღალი რიცხვი. ავტორების აზრით მიტოქონდრიული ჰიპერმუტაგენეზი განპირობებული უნდა ყოფილიყო უჯრედებში მიმდინარე ჟანგვითი სტრესით, რაც თავის მხრივ იწვევდა მ-დნმ-ის მრავლობით მუტაციურ აფეთქებებს პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების დროს (Chen et al., 2002; Chen et al., 2003).

ცნობილია, რომ ასაკის მატებასთან ერთად ადგილი აქვს მ-დნმ-ის მუტაციებს და მეტაბოლიზმის ცვლილებებს (Lagouge and Larsson, 2013). თუმცა კავშირი მათ შორის ჯერ კიდევ დასადგენია. უცნობია განაპირობებს თუ არა მ-დნმ-ის მუტაცია თუთიის სატრანსპორტო ცილის ექსპრესიის დაქვეითებას. არსებულ მონაცემებზე დაყრდნობით ვარაუდობენ, რომ ასაკის მატებასთან ერთად მ-დნმ-ის მუტაციების მატება და მასთან დაკავშირებული ROS-ის ფორმირებისა და ბირთვული სასიგნალო პროცესების სტიმულაცია შესაძლებელია გავლენას ახდენდეს ბირთვში მიმდინარე გენეტიკურ და ეპიგენეტიკურ ცვლილებებზე. თავის მხრივ აღნიშნულმა დარღვევებმა შესაძლოა გამოიწვიოს მარეგულირებელი გზების ცვლილება, რაც თუთიის გადამტანი ცილების მაკოდირებელი გენების (Zip1) ექსპრესიის დაქვეითებას და მეტაბოლურ გადართვას გამოიწვევს (Costello et al., 1999; Dakubo et al., 2006).

განსაკუთრებულ ინტერესს იმსახურებს თუთიისა და ციტრატის სხვადასხვა პროცენტული განაწილება ნორმალური და ავთვისებიანი პროსტატის ქსოვილის შემთხვევაში. ცნობილია, რომ ნორმალური პროსტატის ქსოვილში თუთიისა და ციტრატის მაღალი შემცველობა დაკავშირებულია პროსტატის პერიფერული ზონასთან, რაც ტესტოსტერონით რეგულირდება (Costello et al., 1999). გასათვალისწინებელია ისიც, რომ მ-დნმ-ის მუტაციები დაკავშირებულია დიდი რაოდენობით ROS-ის წარმოქმნასთან, შესაბამისად უჯრედებმა სუნთქვით ჯაჭვში ნაკლები პირუვატი და NADH უნდა დაჟანგონ, რაც ჭარბი რაოდენობით ლაქტატის წარმოქმნას უნდა განაპირობებდეს.

ამრიგად, თუ მიტოქონდრიული ROS-ის წარმოქმნა მნიშვნელოვანია ისეთი სიმსივნისათვის, როგორცაა პროსტატის კიბო, მაშინ ე.წ. „აერობული გლიკოლიზი“ ზოგადი მახასიათებელი ნიშანი უნდა იყოს აღნიშნული ტიპის სიმსივნისათვის, როგორც ამას ვარბურგი ამტკიცებდა (Warburg, 1930; Brandon et al., 2006).

#### 1.3.4. მ-დნმ-ის მაკოდირებელი და არამაკოდირებელი უბნების მუტაციები პროსტატის კიბოს დროს

ცნობილია, რომ პროსტატის კიბოს დროს მიტოქონდრიული დნმ-ის (მ-დნმ) არაკოდირებად უბანში ანუ D-მარყუჟში მუტაციები მაღალი სიხშირით ფიქსირდება. როგორც ჩანს, აღნიშნული უბნის მუტაციები ძირითადად სიმსივნის ინიციაციის ეტაპისათვის არის დამახასიათებელი (Chen et al., 2002). დღესდღეობით D-მარყუჟში აღმოჩენილია ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის 34 სხვადასხვა ცვლილება, მათ შორის 4 ინსერცია-დელეცია (Dakubo et al., 2006). ცნობილია ისიც, რომ იმ შემთხვევაში თუ მუტაცია მოიცავს მხოლოდ D-მარყუჟის უბანს, მაშინ სავარაუდოდ ირღვევა და ფერხდება რეპლიკაციისა და ტრანსკრიპციის პროცესები მიტოქონდრიაში (Higuchi et al., 2006) ხოლო თუ მუტაცია ეხება სატრანსპორტო ან რიბოსომული რნმ-ის უბანს, შესაძლოა დაირღვეს მ-დნმ-ით კოდირებული ყველა ცილის, ან ცილების ნაწილის აქტივობა (Higuchi et al., 2006; Lagouge and Larsson, 2013). რაც შეეხება მაკოდირებელი უბნების მუტაციებს, ეს უკანასკნელნი აქტიურად ერთვებიან მოგვიანებით, სიმსივნის პროგრესიის ეტაპზე (Chen et al., 2003; Dakubo et al., 2006).

Jeronimo და თანაავტორების მიერ (2001) შესწავლილ იქნა მ-დნმ-ის D-მარყუჟის უბანი, 16S მქონე რიბოსომული რნმ და I კომპლექსის სუბერთეულები. აღნიშნული შრომის ავტორებმა დააფიქსირეს წერტილოვანი მუტაციები PIN უბნებიან და პირველადი სიმსივნეების ნიმუშებში. შესწავლილი 16 პაციენტიდან 3-ს დაუფიქსირდა 20 სომატური მუტაცია. აღნიშნული მუტაციები მიეკუთვნებოდა ჰომოპლაზმურ მუტაციებს (Jeronimo et al., 2001).

Jessie და თანაავტორების (2001) მიერ აღწერილი იქნა დელეციების მქონე ჰეტეროპლაზმური მუტანტური მ-დნმ-ის დაგროვება პროსტატის კიბოს უჯრედებში (Jessie et al., 2001).

Chen და თანაავტორების მიერ (2002) შესწავლილ იქნა პროსტატის კიბოს შემთხვევაში მ-დნმ-ის D-მარყუჟის უბანი. გამოვლენილ იქნა სომატური მუტაციები ძლიერ მაღალი ხარისხით (90%) (Chen et al., 2002).

Parr და თანაავტორების (2007) მიერ პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილიდან გამოყოფილი მ-დნმ-ის სექვენირების შედეგად დაფიქსირებულ იქნა სხვადასხვა სახის მუტაციები (ნიმუშების 92%-ში), კერძოდ, ატფ-სინთაზას ერთ-ერთი სუბერთეულის მაკოდირებელი გენის (ATP6) მუტაციების რიცხვის ზრდა. ასევე, გამოვლენილ იქნა 3.4 kb დელეცია, რაც განმასხვავებელი იყო ავთვისებიან და კეთილთვისებიან სიმსივნეების შემთხვევაში (Parr et al., 2007).

მიტოქონდრიული გენების (12S/MT-RNR1, MT-COI/COII, და MT-ATP6) შეცვლილი ექსპრესია დაფიქსირებულ იქნა Abril და თანაავტორების მიერ (2008) პროსტატის კიბოს ქსოვილის უჯრედებში, ასევე მნიშვნელოვნად შემცირებული იყო აღნიშნული გენების ტრანსკრიპტების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით (Abril et al., 2008).

Petros და თანაავტორების აზრით (2005) ციტოქრომოქსიდაზას ერთ-ერთი გენის (COI) მუტაციები პროსტატის კიბოთი დაავადებულ პაციენტებში იწვევდა ამინომჟავათა ძირითადი თანმიმდევრობის ცვლილებას (Petros et al., 2005).

Dakubo და თანაავტორების კვლევამ (2006) ასევე დაადასტურა მიტოქონდრიულ გენომში სუნთქვითი ჯაჭვის ფერმენტის ციტოქრომოქსიდაზას გენის (COI) მუტაციების სიხშირის ზრდა პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების დროს (Dakubo et al., 2006).

ლიტერატურიდან ცნობილია COI სუბერთეულის მისენს (missense) მუტაციები. აღნიშნული მუტაციები დადგენილ იქნა პაციენტების 12%-ში, სადაც ფიქსირდებოდა COI სუბერთეულის როგორც ჰეტეროპლაზმური, ასევე ჰომოპლაზმური მემკვიდრული მუტაციები. აქვე უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ აღნიშნული სუბერთეულის მუტაცია ზოგადად ჯანმრთელ პოპულაციის 6,5–7,8% ფიქსირდებოდა. ავტორები აღნიშნულ ფაქტს ხსნიან იმით, რომ მ-დნმ მხოლოდ დედის ხაზით გადაეცემა. რაც შეეხება პროსტატის სიმსივნეს ეს უკანასკნელი კი მხოლოდ მამაკაცებში ვლინდება. დადგენილია, რომ მამაკაცები, რომლებსაც COI-ის მუტაცია გენეტიკურად გადაეცათ, პროსტატის სიმსივნის განვითარების მაღალი რისკის ქვეშ იმყოფებიან (Kulawiec et al., 2010).

დადგენილ იქნა, რომ პროსტატის კიბოს შემთხვევაში დაფიქსირებული ატფ-სინთაზას მე-6 სუბერთეულის მაკოდირებელი გენის მისენს მუტაციები იწვევდა სუნთქვის ინჰიბირებას და ზრდიდა ROS-ის წარმოქმნის ინტენსივობას. აღნიშნული მუტაციის მქონე უჯრედებში შეინიშნებოდა ჟანგვითი ფოსფორილირების, NADH-ისა და პირუფატის სინთეზის ინჰიბირება. აერობული გლიკოლიზის პირობებში ადგილი ქონდა ლაქტატდეჰიდროგენაზას საშუალებით ლაქტატის ზედმეტი რაოდენობით წარმოქმნას (Abril et al., 2008).

ამგვარად, პროსტატის კიბოს უჯრედების უმეტეს ნაწილის მ-დნმ-ში ნანახი იქნა, როგორც ჰეტეროპლაზმური დიდი დელეციების მქონე, ასევე ჰომოპლაზმური და ჰეტეროპლაზმური წერტილოვანი მუტაციები (Higuchi et al., 2006). აღნიშნული შრომის ავტორები ვარაუდობენ, რომ მ-დნმ-ში მომხდარი წერტილოვანი მუტაციები ძირითადად გავლენას ახდენს მ-დნმ-ით კოდირებული განსაზღვრული ცილების ფუნქციონირებაზე (რაც დამოკიდებულია მუტაციის უბანზე). მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ დიდი დელეციების მქონე მუტანტური დნმ-ის რაოდენობის ზრდა ნორმალური დნმ-ის შემცირების პარალელურად, იწვევდა იმ 13 ფერმენტის სინთეზის შეფერხებას, რომლებიც ჟანგვითი ფოსფორილირებას უზრუნველყოფდა. შედეგად ადგილი უნდა ჰქონდეს ჟანგვითი ფოსფორილირების პროცესის რღვევას, უჯრედების რედოქს სტატუსისა და  $Ca^{2+}$  ჰომეოსტაზის რღვევას (Anderson et al., 1981).

### 1.3.5. მიტოქონდრიული მუტაციები როგორც კიბოს ბიომარკერები

მიუხედავად იმისა, რომ დაავადების პათოგენეზის პროცესში მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციების აკუმულაციისა და უჯრედის ყველა მიტოქონდრიაში მათი გავრცელების ზუსტი მექანიზები ჯერ კიდევ აუხსნელია, ავთვისებიანი სიმსივნეების უმრავლესობაში დადასტურებულია მრავლობითი ჰომოპლაზმური მუტაციების არსებობა (Kulawiec et al., 2010; Lagouge and Larsson, 2013). მიტოქონდრიული დნმ-ს გააჩნია რამოდენიმე უნიკალური თვისება, რაც მის როგორც გენეტიკური ბიომარკერის გამოყენებას სრულიად საფუძვლიანს და უდაოს ხდის. როგორც უკვე აღვნიშნეთ, მიტოქონდრიული გენომი **დეტალურადაა შესწავლილი** და მოიცავს ~16 569 ნუკლეოტიდურ წყვილს, სადაც 37 გენია ლოკალიზებული. მიტოქონდრიული გენომი უჯრედში **მრავალი ასლითაა წარმოდგენილი** (ზოგიერთ უჯრედში მიტ. დნმ-ის რამოდენიმე ასეულიდან რამოდენიმე ათასამდე ასლია) და შედარებით **მდგრადია დაზიანების მიმართ** (რასაც მისი მცირე ზომა და ჩაკეტილი წრიული სტრუქტურა განაპირობებს). იგი **მოკლებულია ინტრონებს**, შესაბამისად მუტაციები, რომლებიც აქ წარმოიქმნება ხშირად კოდირებად უბნებში გროვდება, რაც სწრაფად აისახება უჯრედის ფუნქციონირებაზე (Wallace, 1999; Rasmussen et al., 2003). ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე მოაზრებულია 2 მიდგომა მიტოქონდრიული დნმ-ის პრაქტიკულ ბიომარკერად გამოყენების თვალსაზრისით სიმსივნური დაავადებების დროს. ესენია: თავისუფალი მიტოქონდრიული დნმ-ისა და ინტაქტური კიბოს უჯრედების მონიტორინგი პერიფერიულ სისხლში.

ცნობილია, რომ არსებობს მიტოქონდრიული დნმ-ის მოცირკულირე ფორმებიც, რომლებიც კიბოთი დაავადებული პაციენტების პლაზმასა და/ან შრატში პირველად დაფიქსირებულ იქნა 1977 წელს (Leon et al., 1977). აღნიშნული პერიოდის შემდეგ იწყება დნმ-ის საერთო კონცენტრაციის შესწავლა სხვადსხვა ტიპის კიბოთი დაავადებული პაციენტების სისხლის პლაზმაში (Gormally et al., 2007). დადგენილ იქნა, რომ Solid სიმსივნეების მქონე პაციენტებში თავისუფალი დნმ-ის რაოდენობა პლაზმაში გაზრდილი იყო, რაც მათ განასხვავებდა ჯანმრთელი ინდივიდებისაგან (შესწავლილ იქნა ფილტვების (Sozzi et al., 2001), მსხვილი ნაწლავის (Umetani et al., 2006), მკერდის კიბოს [Huang et al., 2006), საკვერცხის (Chang et al., 2002), სათესლეებისა და პროსტატის (Jung et al., 2004) სიმსივნეების შემთხვევაში). მიუხედავად იმისა, რომ კიბოთი დაავადებული პაციენტების სისხლში თავისუფალი მიტოქონდრიული დნმ-ის რაოდენობის მატების ზუსტი მიზეზი და მექანიზმი გარკვეული არ არის, მისი როგორც სიმსივნის არაინვაზიური ბიომარკერის გამოყენების პოტენციალი სრულიად ცხადი და რეალური გახდა (Kulawiec et al., 2010).

## 1.4 პროსტატის სიმსივნეების მოლეკულური ბიოლოგია

მიუხედავად პროსტატის კიბოს დიაგნოსტიკისა და მკურნალობაში მიღწეული პროგრესისა აღნიშნული დაავადება დღემდე გვევლინება ერთ-ერთ ყველაზე ხშირად დიაგნოსტირებად სიმსივნედ, რომელიც გამოირჩევა სიკვდილიანობის მაღალი მაჩვენებლით. პროსტატის კიბოს მოლეკულურ-ბიოლოგიურ კვლევას მნიშვნელოვანი წვლილი შეაქვს აღნიშნული დაავადების განვითარებაზე პასუხისმგებელი ასპექტების გამოვლენაში. აღნიშნული ერთი მხრივ ხელს შეუწყობს დაავადების პრევენციის უკეთესი გზების მოძებნას, მეორეს მხრივ კი უზრუნველყოფს დაავადების სხვადასხვა ფორმების (ნელა მზარდი ფორმის გარჩევა უფრო აგრესიული და სწრაფად მზარდი კიბოსგან) ადრეულ ეტაპზე დიაგნოსტირებას და ასევე ლოკალური და მეტასტაზირებული კიბოს მკურნალობისათვის კონკრეტული სამიზნეების დადგენას (Schultz et al., 2003).

ტრადიციულად პროსტატის კიბოს კვლევა ფოკუსირდება ანდროგენების შესწავლაზე (Zhou et al., 2015). თუმცა ბოლოდროინდელ კვლევებში ინტენსიურად მიმდინარეობს ასევე სიმსივნის სუპრესორული გენებისა და პროტონკოგენების კვლევა (Abate-Shen et al., 2000; Hanahan, and Weinberg, 2000), რომლებიც ძირითადად შესწავლილი იყო სხვა ტიპის სიმსივნეების დროს. უფრო თანამედროვე მიდგომები მოიცავს იმ გენების კვლევას, რომელთა მუტაციაც დაფიქსირებულია ოჯახის წევრებში (Bratt, 2000). ასევე მნიშვნელოვანია რეკურენტული (განმეორებადი) ქრომოსომული მუტაციების დადგენა და მათთან დაკავშირებული სიმსივნის სუპრესორული გენების კვლევა, გენის ექსპრესიის კონკრეტული ტიპის დადგენა, რაც დამახასიათებელია სიმსივნის კონკრეტული სტადიისათვის და ტიპისათვის. მნიშვნელოვანია ასევე ეპიგენეტიკური ცვლილებების როლის დადგენა დაავადების განვითარებაში (Ehrlich, 2002). დღესდღეობით უკვე მიმდინარეობს ზემოთ აღნიშნული კვლევების შედეგად მიღებული შედეგების გადატანა კლინიკაში (Schultz et al., 2003).

კანცეროგენეზის მოლეკულური მექანიზმების კვლევა დიდ დახმარებას გაუწევს დაავადების პრევენციას. აღნიშნული ტიპის კვლევებმა უნდა უზრუნველყოს კონკრეტული მოლეკულური მარკერების დადგენა, რომელთა საშუალებითაც მოხდება დაავადების სრულყოფილი დიაგნოსტიკა და გაადვილდება სიმსივნის ზუსტი სტადიის დადგენა.

პროსტატის კიბოს კვლევაში პირველ საფეხურად (მიმართულებად) ითვლება ანდროგენული ბლოკადის განხორციელება ორქექტომიის შემდგომ. ოპერაციის შემდეგ ეტაპზე მართლაც ადგილი აქვს პაციენტის საერთო მდგომარეობის გაუმჯობესებას, თუმცა გარკვეული პერიოდის შემდეგ პროსტატის კიბო ჰორმონრეზისტენტულ კიბოში გადაიზრდება (Feldman and Feldman, 2001; Zhou et al., 2015).

პროსტატის კიბოს კვლევაში მეორე მიმართულება დაიწყო უკვე 90-იან წლებში როდესაც დადასტურდა, რომ სხვა სიმსივნეების მსგავსად პროსტატის კიბოს განვითარებაც ასევე დაკავშირებულია მრავლობითი გენეტიკური მუტაციების დაგროვებასთან (წერტილოვანი მუტაციები ან ქრომოსომული დარღვევები). აღნიშნული გენეტიკური ცვლილებები იწვევენ პროტონკოგენების აქტივაციას და სიმსივნის სუპრესორული გენების ინაქტივაციას (მაგ: სწორი ნაწლავის პარადიგმა) (Schultz et al., 2003).

ბოლო ათწლეულში დაიწყო პროსტატის კიბოს კვლევის მესამე მიმართულება ე.წ. „მიტოქონდიული დეფექტები და პროსტატის კიბო“, სადაც აქტიურად მიმდინარეობს პროსტატის სიმსივნური ტრანსფორმაციისათვის დამახასიათებელი სპეციფიური ცვლილებების შესწავლა (Petros et al., 2005; Dakubo et al., 2006).

#### 1.4.1 პროსტატის კიბოს ინიციაციისა და განვითარების ეტაპები.

პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების უმეტესობა ვითარდება ჯირკვლის პერიფერიულ ზონაში და საწყის ეტაპზე ჯირკვლოვანი სტრუქტურა შენარჩუნებულია. აღნიშნულის გამო ამგვარ წარმონაქმნს პროსტატის ადენოკარცინომას უწოდებენ. პროსტატის ადენოკარცინომის ყველაზე ადრეულ პრეკურსორს წარმოადგენს პროსტატის ინტრაეპითელური ნეოპლაზია (PIN). PIN უბანი ხასიათდება ეპითელური შრის გასქელებით და ბაზალური და სეკრეტორული შრეების რღვევით (Gleason, 1966; Nelson et al., 2003). ტრანსფორმაციის მოცემული ფორმა ხშირად აღიწერება, როგორც ბაზალური შრის დაკარგვა, თუმცა პროსტატის კიბოს უჯრედები სინამდვილეში კიდევ შეიცავენ ორივე შრისათვის დამახასიათებელ მოლეკულურ მარკერებს, როგორცაა ბაზალური შრის სპეციფიური ციტოკერატინები, სეკრეტორული უჯრედებისათვის ანდროგენული რეცეპტორები (AR) და პროსტატ-სპეციფიური ანტიგენი (PSA) (Schulz et al., 2003; Zynger and Yang, 2009).

განარჩევნ დაბალი (LGPIN) და მაღალი ხარისხის (HGPIN) PIN-ს. დადგენილია, რომ HGPIN წარმოადგენს კარცინომის უშუალო პრეკურსორს და მისგან განსხვავდება მხოლოდ ბაზალური მემბრანის არსებობით (Zynger and Yang, 2009).

ცნობილია, რომ ნორმალურ პროსტატაში უჯრედების პროლიფერაციის დონე დაბალია. უმეტეს შემთხვევაში ეს მახასიათებელი მხოლოდ მცირედაა მომატებული PIN-ის და კარცინომის შემთხვევაში. აღსანიშნავია, რომ დაავადების აღნიშნულ ფორმებში პროსტატის უჯრედების რაოდენობის უჩვეულო მატება ხშირად განპირობებულია აპოპტოზის უჩვეულოდ დაბალი მაჩვენებლით (Gleason, 1966).

აღსანიშნავია, რომ პროსტატის კიბო ხშირ შემთხვევაში მულტიცენტრული განვითარებით ხასიათდება. დაავადებული მამაკაცის პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილში შესაძლოა ერთდროულად იქნას დაფიქსირებული როგორც კარცინომის, ასევე PIN უბნების ცალკეული კერები, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან უჯრედული დისპლაზიის ხარისხით, ქსოვილის დეზორგანიზაციითა და გენეტიკური ცვლილებებით. უფრო მეტიც, ერთმანეთთან მოსაზღვრე კარცინომები ხშირად შესაძლოა ხასიათდებოდნენ ქსოვილის ჰეტეროგენულობით (Nelson et al., 2003). აღნიშნული ჰეტეროგენულობის პრაქტიკული კვლევის შედეგად სიმსივნური ქსოვილის ჰისტოლოგიური კლასიფიკაცია (G1-G3), თითქმის მთლიანად ჩანაცვლებულ იქნა გლისონის ინდექსით, რომელიც ქსოვილის ტრანსფორმაციის დონეს განიხილავს სიმსივნური ქსოვილის 2 ძირითადი კომპონენტის მიხედვით (Gleason, 1966).

მიუხედავად იმისა, რომ პროსტატის კარცინომების დიდი ნაწილი ფარულად მიმდინარეობს, შემთხვევათა 1/3-ში ადგილი აქვს სიმსივნის ინვაზიასა და გავრცელებას

ორგანოს საზღვრებს მიღმა ან სხვა შემთხვევაში ადგილი აქვს მეტასტაზირებას ლოკალურ ლიმფურ კვანძებსა და დისტანციურ ორგანოებზე, უმეტესად ძვლებზე, ღვიძლზე და ფილტვებზე (Schulz et al., 2003).

სიმსივნის პროგრესიის სტადიაზე პროსტატის კიბოს უჯრედების უმეტესობისათვის დამახასიათებელია ანდროგენული რეცეპტორის ექსპრესია (Eder et al., 2001; Zhou et al., 2015), შესაბამისად ანდროგენული ბლოკადის შედეგად ადგილი აქვს სიმსივნური მასის კლებას, რაც სავარაუდოდ განპირობებულია აპოპტოზის ინდუქციითა და უჯრედების ზრდის შეჩერებით. მიუხედავად ამისა, კარცინომაში მაინც არსებობს, ან ვითარდება ისეთი უჯრედები, რომლებიც აგრძელებენ გამრავლებას ანდროგენების არარსებობის პირობებშიც (Zhou et al., 2015).

#### 1.4.2. ანდროგენები და პროსტატის კიბო

ცნობილია, რომ ანდროგენები და ანდროგენის რეცეპტორები მთავარ როლს ასრულებენ ნორმალური პროსტატის ჯირკვალის განვითარებასა და სრულყოფილ ფუნქციონირებაში. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ პროსტატის კიბოს უჯრედების ზრდისა და გამრავლების ხელშეწყობაც, უმრავლეს შემთხვევაში, სწორედ ანდროგენის რეცეპტორის სასიგნალო გზის საშუალებით ხორცილდება. აღნიშნულიდან გამომდინარე, ლოგიკურია ვიფიქროთ, რომ ისინი ასევე ჩართული უნდა იყვნენ პროსტატის კიბოს ინიციაციასა და სიმსივნური ზრდის ადრეული ეტაპების მიმდინარეობაში.

როგორც კლინიკური, ისე ცხოველებზე ჩატარებული კვლევები ადასტურებენ იმ ფაქტს, რომ ანდროგენები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ პროსტატის კიბოს ინიციაციაში. პროსტატის სიმსივნით დაავადებულ მამაკაცებში ჩატარებული იქნა არაერთი კლინიკური კვლევა, რათა დაედგინათ კორელაცია სისხლის შრატში ანდროგენების დონესა და პროსტატის კიბოს განვითარების რისკს შორის. ფართომასშტაბიანმა კვლევამ, რომელშიც 200 000-ზე მეტი ევროპელი მამაკაცი მონაწილეობდა, უჩვენა რომ სისხლში ტესტოსტერონის შედარებით მაღალი დონე დაკავშირებული იყო პროსტატის კიბოს განვითარების შემცირებულ რისკთან (Stattin et al., 2004). მსგავსი დასკვნები გამოქვეყნდა ასევე სხვა კვლევების შედეგადაც. კერძოდ, ბოლო წლებში ჩატარებულმა ორმა კვლევამ საბოლოოდ დაადასტურა სისხლში ტესტოსტერონის მზარდი შემცველობის დამცველობითი ეფექტები ჰიპოგონადიზმით დაავადებულ მამაკაცებში (Zhou et al., 2015). აღნიშნულ პაციენტებს 16 წლის განმავლობაში უკეთდებოდათ სინთეზური ტესტოსტერონის პრეპარატის (testosterone undecanoate) ინექცია. შედეგად, (გარდა იმისა, რომ პროსტატის ჯირკვალის ზომა მკვეთრად გაიზარდა და 6 თვეში მიაღწია ნორმალურ ზომას) აღმოჩნდა, რომ პროსტატის განვითარების რისკი არათუ გაზრდილი, არამედ შემცირებული იყო. დაფიქსირებულ იქნა მხოლოდ 55 შემთხვევა 10 000 პაციენტში, მაშინ როდესაც კიბოს ეროვნული ცენტრის მიერ პროსტატის კიბოს სკრინინგის პროგრამის ფარგლებში ჩატარებული ე.წ. „ბრმა კვლევების“ მიხედვით პროსტატის კიბოს ~ 116 შემთხვევა დაფიქსირდა 100 000 მონაწილეზე (Haider et al., 2014). ამასთან, არაერთი სამეცნიერო კვლევის შედეგებმა უჩვენა, რომ პროსტატის



კიბოთი დაავადებულთა სისხლში დაბალი ტესტოსტერონის შემცველობა უკავშირდებოდა დროის მცირე მონაკვეთში აგრესიული ფორმის მეტასტაზირებული კიბოს განვითარებას (Massengill *et al.*, 2003; Imamoto *et al.*, 2005).

Schatzl და თანაავტორების მიერ 2001 წელს ნაჩვენები იქნა, რომ სისხლში ტესტოსტერონის დაბალი შემცველობის მქონე პაციენტები გარდა იმისა, რომ გამოირჩეოდნენ პროსტატის კიბოს უფრო აგრესიული ფორმით, ასევე აღნიშნული პაციენტების პროსტატის ქსოვილში ადგილი ჰქონდა ანდროგენის რეცეპტორის მკვეთრად გაზრდილ ექსპრესიას (Schatzl *et al.*, 2001). უფრო მეტიც Morgentaler-ისა და თანაავტორების მიერ (1996) გაკეთებული იქნა დასკვნა, რომ სისხლის შრატში ტესტოსტერონის შემცირებული დონე პროსტატის კიბოს ფარული ფორმის ინდიკატორს უნდა წარმოადგენდეს (Morgentaler *et al.*, 1996).

კიდევ ერთი დამადასტურებელი ფაქტი იმისა, რომ ანდროგენები აქტიურად არიან ჩართული პროსტატის კანცეროგენულ ტრანსფორმაციაში მომდინარეობს კლინიკური კვლევებიდან. კერძოდ, პროსტატის ლოკალიზებული კიბოს მქონე მამაკაცებში გამოყენებული იქნა ანდროგენების სინთეზის დამთრგუნველი ნაერთები. როგორცაა: **დუტასტერიდი** (5 $\alpha$ -რედუქტაზას ინჰიბიტორი), **აბირატერონი** - ფერმენტ-ციტოქრომ P-450c17 (CYP17A) ინჰიბიტორი (CYP17A მონაწილეობს სხვადასხვა უჯრედის და მათ შორის პროსტატის კიბოს უჯრედების მიერ ანდროგენების სინთეზში) და **ლუპრონი** - მალუთეინიზებული ჰორმონის - რილიზ ჰორმონის აგონისტი, რომელიც თრგუნავს სათესლეებში ანდროგენების სინთეზს. აღნიშნულ ინჰიბიტორებს Hu და მისი თანაავტორების აზრით (2013) უნდა გამოეწვია უკვე ჩამოყალიბებული სიმსივნური წარმონაქმნის თანდათანობითი რეგრესი (Hu *et al.*, 2013). მართლაც, ერთ-ერთ პრევენციულ კლინიკურ კვლევაში, სადაც 4-7 წლის განმავლობაში პაციენტებს აძლევდნენ 5 $\alpha$ -რედუქტაზას ინჰიბიტორებს - დუტასტერიდას და ფინასტერიდას, დაფიქსირდა პროსტატის კიბოს განვითარების რისკის 23—24%-იანი შემცირება (Andriole *et al.*, 2004; Goodman *et al.*, 2004). ცნობილია, რომ აღნიშნული პრეპარატები ეწინააღმდეგებიან ქსოვილის უჯრედებში ტესტოსტერონის ლოკალურ გარდაქმნას დიჰიდროტესტოსტერონად, რის შედეგადაც ადგილი აქვს ანდროგენის დონის შემცირებას ქსოვილში. აღნიშნულ შემთხვევაში ანდროგენების სისტემური (ანუ სისხლში ანდროგენების დონე) შემცველობა ორგანიზმში არ იცვლებოდა (Zhou *et al.*, 2015).

პროსტატის კანცეროგენეზის პროცესში ანდროგენების მონაწილეობაზე მიუთითებს ასევე გენეტიკური კვლევები, რომელთა შედეგად გამოვლენილ იქნა ანდროგენების მეტაბოლიზმში ჩართული არაერთი გენის პოლიმორფიზმი (Setiawan *et al.*, 2007). ცნობილია, რომ 17 $\beta$ -ჰიდროქსისტეროიდ დეჰიდროგენაზას (HSD17B), ციტოქრომ P-450c17-ისა (CYP17) და 5 $\alpha$ -რედუქტაზა ტიპი2-ის (SRD5A2) გენები კოდირებენ ანდროგენების ბიოსინთეზში მონაწილე ფერმენტებს. აღნიშნული გენები დაკავშირებული არიან პროსტატის კიბოსადმი წინასწარგანწყობასთან. აღსანიშნავია, რომ სამეცნიერო კვლევების დიდ ნაწილში ყურადღება გამახვილებულია აღნიშნული გენების კონკრეტულ ალელებზე, რომლებიც მნიშვნელოვნად ზრდიან პროსტატის კიბოს განვითარების რისკს (Nelson *et al.*, 2003; Kraft *et al.*, 2005; Setiawan *et al.*, 2007). მაგ: ცნობილი გახდა, რომ 3-ჰიდროქსისტეროიდ დეჰიდროგენაზას (HSD3B) ლოკუსი კოდირებს ანდროგენების მეტაბოლიზმში ჩართულ 2 ფერმენტს, რომლებიც უზრუნ-

ველყოფენ სტეროიდული ჰორმონების სამიზნე ქსოვილებში დიჰიდროტესტოსტერონის (DHT) არააქტიურ მეტაბოლიტებად გარდაქმნას. Xu და თანაავტორების (2001) კვლევის საფუძველზე გამოითქვა მოსაზრება აღნიშნული ლოკუსის კავშირზე პროსტატის კიბოსადმი წინაწარგანწყობასთან (Xu et al., 2001).

ცნობილია, რომ CYP19A1 კოდირებს ფერმენტ - არომატაზას, რომელიც ახორციელებს ანდროგენების ესტროგენებად გარდაქმნას (Suzuki et al., 2003). ბოლო წლების კვლევების თანახმად აღნიშნული გენის სხვადასხვა ფუნქციურმა პოლიმორფიზმმა შესაძლოა გამოიწვიოს სასქესო ჰორმონების დონის ცვლილება როგორც სისხლის შრატში, ასევე სიმსივნურ ქსოვილში, და შესაბამისად ზეგავლენა მოახდინოს პროსტატის კიბოს განვითარების რისკზე (Suzuki et al., 2003; Tsuchiya et al., 2006; Kanda et al., 2015). ყველა ზემოთ მოწოდებული მაგალითი მიუთითებს, რომ ანდროგენების მეტაბოლიზმში ჩართული გენები მართლაც ახდენენ ზეგავლენას პროსტატის კიბოს განვითარების რისკზე.

მოდელურ სისტემებზე ჩატარებული ექსპერიმენტების შედეგად გამოითქვა მოსაზრება, რომ ორგანიზმში ანდროგენების როგორც დაბალი, ასევე მაღალი სისტემური დონე გავლენას ახდენს პროსტატის კიბოს განვითარების ინტენსივობაზე (Bosland and Mahmoud, 2011).

Banach-Petrosky-სა (2007) და თანაავტორების მიერ გამოყენებულ იქნა გენური ინჟინერიის გზით გამოყვანილი მოდელური თაგვები, რათა შეესწავლათ და დაედგინათ ურთიერთკავშირი ანდროგენების სისტემურ დონესა და პროსტატის კაცეროგენეზს შორის. ნაჩვენები იქნა, რომ ტესტოსტერონის დაბალი კონცენტრაციით დიდი ხნის განმავლობაში მიღება ხელს უწყობდა უფრო აგრესიული ფენოტიპის მქონე კიბოს ჩამოყალიბებას და იწვევდა სიმსივნის პროგრესირების დაჩქარებას, რასაც ადგილი არ ქონდა ტესტოსტერონის ნორმალური ან კასტრაციის შემდეგ არსებული დონის შემთხვევაში (Banach-Petrosky et al., 2007). ასევე ნაჩვენები იქნა, რომ ვირთაგვებში, რომლებშიც სიმსივნის ინდუქციას ახდენდნენ მეთილნიტროზო-შარდოვანით და რომლებსაც დიდი ხნის განმავლობაში ეძლეოდათ ტესტოსტერონი დაბალ კონცენტრაციებით, განვითარდა პროსტატის კიბო, რომლის ინჰიბირება შესაძლებელი გახდა ანდროგენის რეცეპტორის კონკურენტული ანტაგონისტი - ფლუტამიდით (Bosland & Mahmoud 2011). ზემოთ აღწერილი კვლევებიდან გამომდინარე გაკეთდა დასკვნა, რომ სისხლში ანდროგენების როგორც ჭარბი, ასევე ფიზიოლოგიურ შემცველობაზე დაბალი კონცენტრაციები უარყოფით ზეგავლენას უნდა ახდენდეს პროსტატის ჯირკვალის ფუნქციონირებაზე, რომელიც ზემოთაღნიშნულ პირობებში ვეღარ ახერხებს ანდროგენების ქსოვილური დონის და AR სიგნალიზაციის სტაბილურ დონეზე შენარჩუნებას (Zhou et al., 2013). ყოველივე ზემოთ თქმული კი უნდა იწვევდეს პროსტატის კიბოს პროგრესირების ხელშეწყობას და დაჩქარებას.

პროსტატის კიბოს განვითარების რისკსა და სისხლში ანდროგენების დონეს შორის ურთიერთსაწინააღმდეგო დამოკიდებულება შესაძლოა განპირობებული იყოს არა სისხლის შრატში არსებული ანდროგენებით არამედ პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილში არსებული ანდროგენებით. დღეისათვის უკვე საყოველთაოდ აღიარებულია ის ფაქტი, რომ სისხლში არსებული ანდროგენების დონე უმნიშვნელო ზეგავლენას ახდენს პროსტატისა და პროსტატის კიბოს სიმსივნური ქსოვილებზე (Mostaghel et al., 2012). აღმოჩნდა, რომ ტესტოსტერონის შემცველი დანამატების მიღება (მაგ: ტესტოსტერონის

ჩანაცვლებითი თერაპია (TRT)) გავლენას არ ახდენდა პროსტატის ქსოვილში არსებული ანდროგენების კონცენტრაციაზე (Page et al., 2006).

Page-სა და თანაავტორების (2006) კვლევაში, ქიმიურად კასტრირებულ მამაკაცებში გამოვლენილ იქნა, რომ მიუხედავად სისხლში არსებული ტესტოსტერონის 94%-იანი შემცირებისა, პროსტატის ქსოვილში არსებული ტესტოსტერონისა და დიჰიდროტესტოსტერონის კონცენტრაციები რჩებოდა საკონტროლო ჯგუფის მონაცემების 20-30%-ის რაოდენობით. უფრო მეტიც, პროსტატის უჯრედების პროლიფერაცია, აპოპტოზი და ანდროგენ-დამოკიდებული ცილების ექსპრესია იგივე ინტენსივობით მიმდინარეობდა (Page et al., 2006). გარდა აღნიშნულისა Zhou და თანაავტორების მიერ (2013) ნაჩვენები იქნა, რომ ვირთაგვების პროსტატის კეთილთვისებიან ქსოვილში არსებული ანდროგენების დონე საკმარისი იყო ანდროგენის რეცეპტორის აქტიური სიგნალიზაციის შესანარჩუნებლად, მიუხედავად იმისა რომ თავგებს ხანგრძლივი დროის განმავლობაში ეძლეოდათ ტესტოსტერონის დაბალი კონცენტრაცია (Zhou et al., 2013). ზემოთ აღნიშნული კვლევები მიუთითებენ, რომ პროსტატის კეთილთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილს უნარი აქვს შეინარჩუნოს ქსოვილური ანდროგენების ფუნქციური კონცენტრაციები მიუხედავად სისხლში აღნიშნული ჰორმონების დაბალი შემცველობისა (Zhou et al., 2015). ვარაუდობენ, რომ კეთილთვისებიან ქსოვილის აღნიშნული თვისება მნიშვნელოვან როლს უნდა ასრულებდეს პროსტატის კანცეროგენეზის პროცესში.

გარდა აღნიშნულისა, არსებობს მონაცემები, რომლებიც მიუთითებენ სისხლში ანდროგენების კონცენტრაციის კლების პარალელურად კიბოს უჯრედების გაყოფათა რიცხვის ზრდაზე, რასაც თავის მხრივ უნდა გამოეწვია მუტაციების სიხშირისა და ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის ინტენსივობის ზრდა (Zhou et al., 2015). აღნიშნული კვლევის მიხედვით სისხლში ანდროგენების დაბალი შემცველობა ხელს უწყობდეს და განაპირობებდეს ანდროგენის რეცეპტორის ექსპრესიის ინტენსივობის ზრდას (Eikenberry et al., 2010). შესაბამისად, მართებული იქნება იმის ვარაუდი, რომ სისხლში ანდროგენების დონის კლება (რაც დაბერების ერთ-ერთი მაჩვენებელია) მნიშვნელოვან როლს უნდა ასრულებდეს პროსტატის კიბოს განვითარებაში (Zhou et al., 2015).

***არსებობს რამოდენიმე მექანიზმი, რაც სავარაუდოდ უნდა განაპირობებდეს სისხლში ანდროგენების დაბალი შემცველობის პირობებში სიმსივნის პროგრესირებას:***

- ტესტოსტერონის დონის შემცირება იწვევს ანდროგენების რეცეპტორის გადართვას

ე.წ. „ავთვისებიან რეჟიმზე“ (*malignancy switch*).

აღნიშნული მექანიზმი წარმოადგენს ანდროგენ-დამთრგუნველი თერაპიის (ADT) შედეგად მიმდინარე ცვლილებების მსგავს მექანიზმს. ვარაუდობენ, რომ სისხლში ტესტოსტერონის დონის ასაკობრივი შემცირებაც მსგავს ცვლილებებს უნდა იწვევდეს პროსტატის კეთილთვისებიანი ქსოვილის უჯრედებში (Zhou et al., 2013).

ანდროგენების დამთრგუნველი თერაპია (როგორც ქირურგიული, ასევე მედიკამენტებით გამოწვეული) დღემდე აღიარებულია თერაპიის ყველაზე ეფექტურ ფორმად პროსტატის მეტასტაზური კიბოს მკურნალობისათვის. თუმცა აღსანიშნავია, რომ ანდროგენების სისტემური დონის მკვეთრი შემცირება ხშირ შემთხვევაში პროსტატის ჰორმონრეზისტენტული კიბოს განვითარებით სრულდება, რომელსაც კასტრაცია - რეზისტენტულ პროსტატის კიბოსაც უწოდებენ (CRPC). დაავადების აღნიშნული

ფორმის ყველაზე საინტერესო მახასიათებელს წარმოადგენს ის, რომ მიუხედავად ანდროგენების მკვეთრად შემცირებული სისტემური დონისა (მედიკამენტოზური კასტრაციის შედეგად), პროსტატის კიბოს უჯრედებში ანდროგენის რეცეპტორის სასიგნალო გზა კვლავ აქტიური რჩება (Mostaghel & Plymate, 2011).

ვარაუდობენ, რომ AR უჩვეულო აქტივობის ერთ-ერთ გამომწვევ ფაქტორს, სხვა ფაქტორებთან (რეცეპტორის გენის ამპლიფიკაცია, ჭარბი ექსპრესია, კორეგულატორების ზემოქმედება და ა.შ.) ერთად უნდა წარმოადგენდეს უჯრედშიდა ანდროგენების ისეთი რაოდენობით შენარჩუნება რაც საკმარისია AR აქტივაციისათვის და AR მიერ რეგულირებადი გენების ექსპრესიის სტიმულაციისთვის (Zhou *et al.*, 2013). ამგვარად, სხვადასხვა შრომაში ნაჩვენებია იქნა, რომ ფარმაკოლოგიური ან ქირურგიული კასტრაციის შემდგომ პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილში შენარჩუნებული იყო ტესტოსტერონისა და დიჰიდროტესტოსტერონის შესამჩნევი რაოდენობები (Cai & Balk, 2011).

აღნიშნული ქსოვილური ანდროგენების წყარო ჯერ კიდევ დაუდგენელია, თუმცა არაერთ კვლევაში დადასტურებულია სტეროიდული ჰორმონების სინთეზის რეაქციებში მონაწილე ფერმენტების შესაბამისი მ-რნმ-ის რაოდენობისა და გენების ექსპრესიის ცვლილება (Cai & Balk 2011). ზემოთ აღნიშნული კი იმის დასტურია, რომ **CRPC** უჯრედებს უნარი აქვთ ხელმისაწვდომი წინამორბედი ნაერთებიდან განახორციელონ ანდროგენების *de novo* სინთეზი, რათა შეინარჩუნონ ანდროგენების ფუნქციური დონე და AR-ის აქტიური სასიგნალო გზა (Zhou *et al.*, 2015).

ცნობილია, რომ ზრდასრული ადამიანის პროსტატის ჯირკვალის შედგება ფიბრომუსკულარული სტრომის (ფიბრობლასტები+გლუვკუნთოვანი უჯრედები), ბაზალური და სეკრეტორული ეპითელიური უჯრედებისაგან (McNeal *et al.*, 1988). ბაზალური უჯრედების სეკრეტორულ უჯრედებად დიფერენცირება მრავალსაფეხურიანი პროცესია, რომელსაც უზრუნველყოფს ბაზალური შრის განსაკუთრებული უჯრედები: ნაწილობრივ დიფერენცირებული შუალედური უჯრედები ან **ტრანზიტორული უჯრედები**. აღნიშნულ უჯრედებს აქტიური პროლიფერაციის უნარი გააჩნიათ, თუმცა თითქმის არ ახორციელებენ AR-ის ექსპრესიას (Isaacs, 2004).

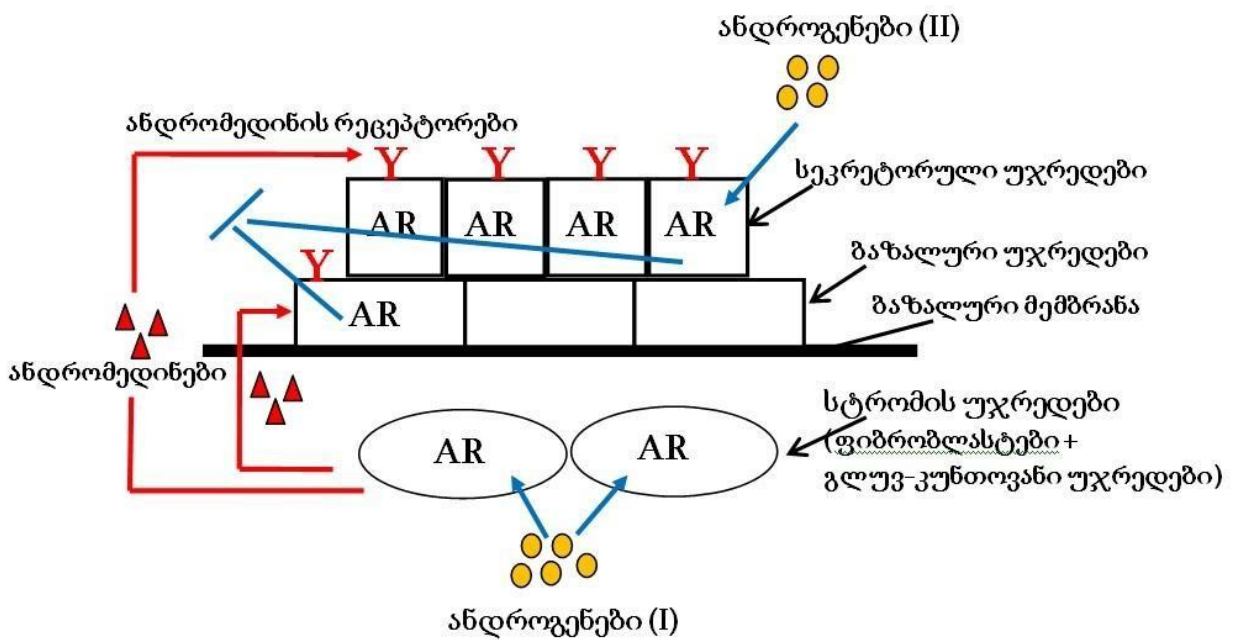
ნორმაში პროსტატის ქსოვილის განვითარება და დიფერენცირება დამოკიდებულია სტრომისა და ეპითელიურ უჯრედებს (ბაზალურ და სეკრეტორულ) შორის მიმდინარე ორმხრივ ურთიერთქმედებაზე (Hayward *et al.* ,1998). ცნობილია, რომ სტრომის უჯრედები, რომლებიც ნორმაში ექსპრესირებენ AR-ებს, სისხლში არსებული ანდროგენების ფიზიოლოგიური დონის (I - სისხლში არსებული ანდროგენების მოქმედება) ზემოქმედების პასუხად გამოყოფენ პეპტიდური ზრდის ფაქტორებს - **ანდრომედიინებს** (ზრდისა და გადარჩენის ფაქტორები (IGF-1, FGF-7, FGF-10) (Lu *et al.*, 1999) (სურ.1.4.1). ანდრომედიინები ერთი მხრივ უკავშირდება ბაზალური უჯრედების ანდრომედიინის რეცეპტორებს ხოლო მეორეს მხრივ კი სეკრეტორულ უჯრედებზე არსებულ ანდრომედიინის რეცეპტორებს, რის შემდგომაც ანდრომედიინები 2 სხვადასხვა მექანიზმით ახორციელებენ პროსტატის ქსოვილის უჯრედების განვითარებასა და დიფერენცირებას (სურ.1.4.1). კერძოდ: ანდრომედიინები რეცეპტორებთან კომპლექსში განაპირობებს ბაზალური უჯრედების პროლიფერაციას და დიფერენცირებას სეკრეტორულ უჯრედებად (Wickstrom *et al.*, 1999), ხოლო სეკრეტორულ უჯრედებში კი ანდრომედიინები რეცეპტორებთან კომპლექსში უზრუნველყოფს უჯრედშორისი სიგნალების გადაცემის გზით აპოპტოზის დათრგუნვას (Zhou *et al.*, 2015). აღწერილი მექანიზმის

პარალელურად პროსტატის ქსოვილის ეპითელურ უჯრედებში ანდროგენები (II-ქსოვილში არსებული ანდროგენების მოქმედება) მათთვის სპეციფიური მექანიზმით ახდენენ ანდრომედიანების სიგნალების განეიტრალებას. ითრგუნება რა ანდრომედიანების ზემოქმედება როგორც ბაზალურ ასევე სეკრეტორულ უჯრედებზე, შედეგად ადგილი აქვს ბაზალური უჯრედების დიფერენცირებას სეკრეტორულ უჯრედებად (Isaacs, 2004). ამგვარად, ნორმალურ პროსტატის ქსოვილში სტრომის უჯრედებზე არსებული AR-ების მოქმედება განაპირობებს პროსტატის ჯირკვალის ფორმირებას **პარაკრინული მექანიზმით** (იგულისხმება ანდრომედიანების ზეგავლენა ბაზალურ უჯრედებზე), ხოლო სეკრეტორული უჯრედების ზედაპირზე არსებული AR-ების მოქმედება კი თრგუნავს აღნიშნული უჯრედების პროლიფერაციას, თუმცა იწვევს მათ დიფერენცირებას და სეკრეტორულ ფუნქციის უზრუნველყოფას. შედეგად სეკრეტორული უჯრედები წარმოქმნიან პროსტატის დიფერენციაციის მარკერებს, როგორცაა: პროსტატ სპეციფიური ანტიგენი (PSA), პროსტატის მჟავა ფოსფატაზა (PAP) და ადამიანის კალიკრინ 2 (hk2) (Isaacs, 2004; Zhou *et al.*, 2015).

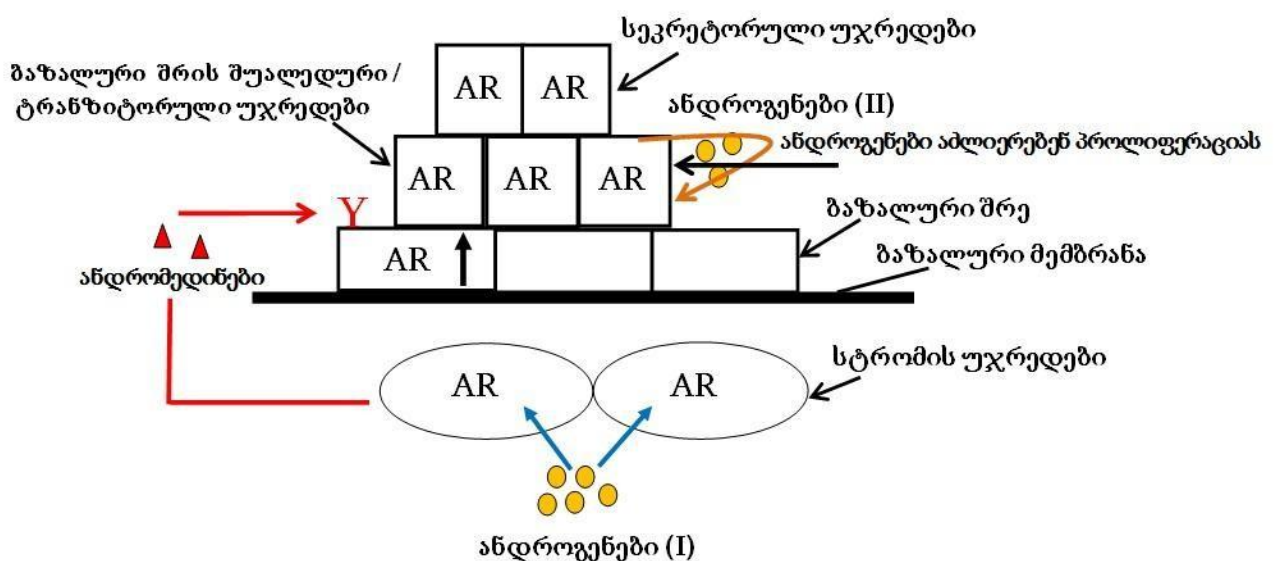
არაერთი კვლევის მიხედვით პროსტატის კიბოს ინიციაციის სტადიაზე ადგილი აქვს AR-ების სასიგნალო გზების მკვეთრ ცვლილებას (სურ. 1.4.2). კერძოდ, პროსტატის ქსოვილში გამომუშავებული ანდროგენები (II-ქსოვილური ანდროგენების მოქმედება) ბაზალური შრის შუალედურ ან ტრანზიტორულ უჯრედებში იწვევს AR-ების უზვეულოდ ჭარბ ექსპრესიას ნორმალური უჯრედებისაგან განსხვავებით. შედეგად ადგილი აქვს აღნიშნული უჯრედების არა დიფერენცირებას, არამედ აქტიურ პროლიფერაციას (Gao & Isaacs, 1998; Isaacs, 2004). აღნიშნული უჯრედების პროლიფერაცია და გადარჩენა აღარაა დამოკიდებული სტრომის პარაკრინულ სიგნალებზე (ანდრომედიანებზე) (სურ.1.4.1), არამედ ექვემდებარება ბაზალური შრის (შუალედური ან ტრანზიტორული) AR-ების საკუთარ ანუ **აუტოკრინულ** სიგნალიზაციას (Gao *et al.*, 2013). AR-ის აუტოკრინული სიგნალიზაცია საშუალებას აძლევს ანდროგენ/AR კომპლექსს ჩაერთოს პათოლოგიურ სასიგნალო გზებში და უზრუნველყონ გადარჩენასა და პროლიფერაციაში ჩართული გენების ექსპრესიის გაძლიერება, რასაც ნორმაში ადგილი არა აქვს (Zhou *et al.*, 2015).

ამგვარად, აღნიშნული მექანიზმი გულისხმობს ანდროგენის რეცეპტორის ე.წ. „ავთვისებიან რეჟიმზე“ გადართვას, რაც შედეგად იწვევს პროსტატის ეპითელური სიმსივნური უჯრედების დიფერენცირებიდან პროლიფერაციაზე გადართვას.

არსებობს მოსაზრება თუ რა უნდა განაპირობებდეს AR-სიგნალიზაციის აუტოკრინულ გზაზე გადართვას. გარდა საყოველთაოდ აღიარებული მიზეზებისა, რაც გულისხმობს რეცეპტორის მაკოდირებელი გენის და რეცეპტორის კოფაქტორების შეცვლილ ექსპრესიას (Zhou *et al.*, 2015) (მაგ: რეცეპტორის გენის ამპლიფიკაცია) აღნიშნულ მექანიზმის ჩართვას ხელს უნდა უწყობდეს ასევე ეპითელური უჯრედების შეცვლილი მიკროგარემო. კერძოდ, სისხლში ანდროგენების დონის მკვეთრი შემცირების გამო (რასაც ადგილი აქვს კასტრაციის შედეგად), პროსტატის ქსოვილის სტრომის უჯრედები(ფიბრობლასტები) წყვეტენ ზრდის ფაქტორების - ანდრომედიანების წარმოქმნას. შედეგად, სრულად დიფერენცირებული სეკრეტორული უჯრედები განიცდიან აპოპტოზს, ხოლო ბაზალური უჯრედები კი რჩებიან არააქტიურ მდგომარეობაში. ისინი აღარ ღებულობენ გამრავლებისა და დიფერენცირების სიგნალებს სტრომის უჯრედებიდან (Litvinov *et al.*, 2003; Nelson *et al.*, 2003).



სურ. 1.4.1 პროსტატის ნორმალურ ქსოვილში ანდროგენის რეცეპტორის (AR) პარაკრინული სიგნალიზაციის ამსახველი ზოგადი სქემა (Zhou et al., 2015).  
 I - სისხლში არსებული ანდროგენების მოქმედება;  
 II -პროსტატის ქსოვილში არსებული ანდროგენების მოქმედება.



სურ. 1.4.2. პროსტატის კიბოს შემთხვევაში ანდროგენის რეცეპტორის (AR) აუტოკრინული სიგნალიზაციის ამსახველი ზოგადი სქემა (Zhou et al., 2015) .  
 I - სისხლში არსებული ანდროგენების მოქმედება;  
 II -პროსტატის ქსოვილში არსებული ანდროგენების მოქმედება.

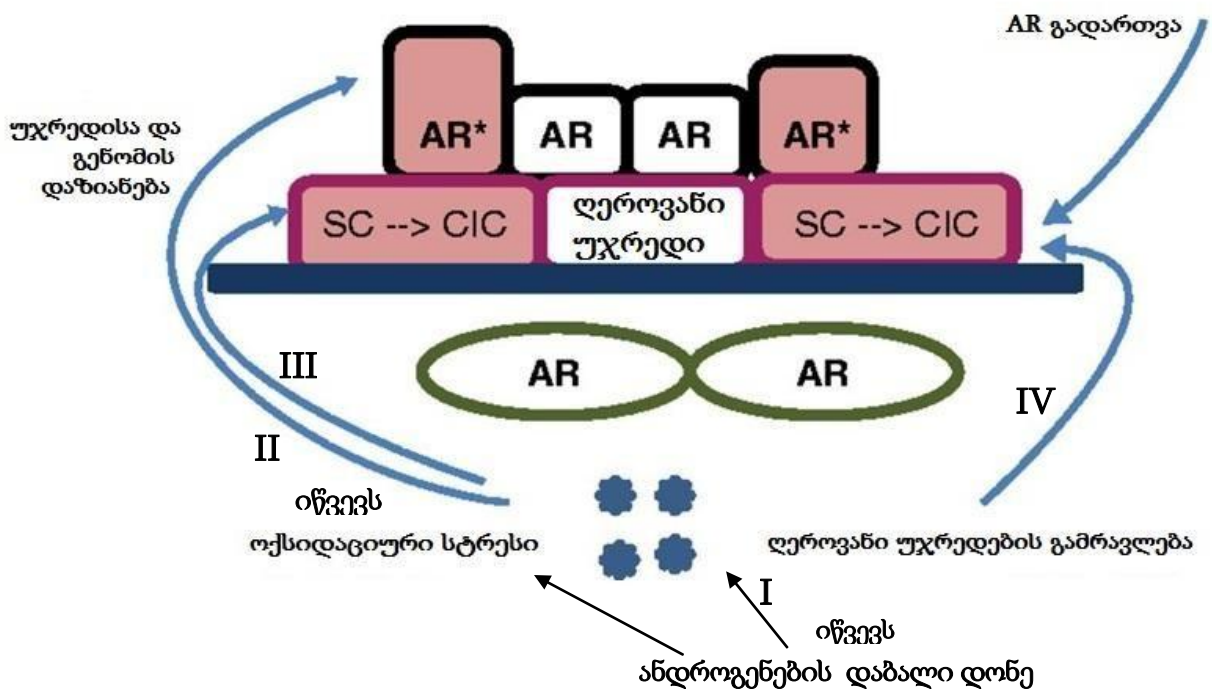
შესაბამისად აღარ იქცევიან ისე როგორც სისხლში ანდროგენების ფიზიოლოგიური შემცველობის პირობებში და მოქმედების სხვა მექანიზმზე გადაერთვებიან. აღნიშნულ უჯრედების ანდროგენის რეცეპტორები უკავშირდებიან დნმ-ის არა ანდროგენ რესპონზიულ რეგულატორულ უბნებს, არამედ დნმ-ის პროლიფერაციაზე პასუხისმგებელი გენებს რაც საბოლოოდ ხელს უნდა უწყობდეს და განაპირობებდეს ე.წ. „ავთვისებიან რეჟიმზე“ გადართვას. შედეგად სეკრეტორული უჯრედები განიცდიან ანდროგენის რეცეპტორით განპირობებულ აქტიურ პროლიფერაციას (Zhou *et al.*, 2015).

➤ **ტესტოსტერონის დონის შემცირება იწვევს მუტაგენეზის პროცესის გაძლიერებას პროსტატის ღეროვან უჯრედებში.**

ცნობილია, რომ ანდროგენის რეცეპტორის ათვისებიან რეჟიმზე გადართვა უპირატესად იმ უჯრედში უნდა ხდებოდეს რომელსაც აქვს ათვისებიან უჯრედად გარდაქმნის პოტენციალი. ასეთ უჯრედს კიბოს მაინიცირებელი უჯრედი ეწოდება (cancer initiating cell, CIC) (Wang *et al.*, 2009). ჯერ კიდევ არსებობს აზრთა სხვადასხვაობა თუ კონკრეტულად რომელი ტიპის უჯრედებიდან უნდა ვითარდებოდეს პროსტატის კიბო, თუმცა გარკვეული კვლევები მიუთითებს, გარდა ზემოთ აღნიშნული უჯრედებისა, ასევე პროსტატის ქსოვილში არსებულ ღეროვან უჯრედებზე ან ისეთ უჯრედებზე რომლებიც ავლენენ ღეროვანი უჯრედების მსგავს თვისებებს (Goldstein *et al.* 2010). სრულიად შესაძლებელია, რომ ზოგადად კიბო ვითარდებოდეს სხვადასხვა არასრული დიფერენცირების მქონე უჯრედებიდან (Chen *et al.*, 2013). იმის გამო, რომ პროსტატის ქსოვილში ღეროვანი უჯრედების შემცველობა ძალიან დაბალია შესაბამისად დაბალი უნდა იყოს მათში მუტაციის ალბათობაც. თუმცა გასათვალისწინებელია ის ფაქტი, რომ ღეროვანი უჯრედები ქსოვილის სტრუქტურული დაზიანების საპასუხოდ იწყებენ აქტიურ პროლიფერაციას რათა განახორციელონ ატროფირებული ქსოვილის რეგენერაცია. ამ დროს მათი რაოდენობა შესამჩნევად იზრდება (Haverkamp *et al.*, 2008). შესაბამისად კიბოს განვითარების სიხშირე უფო მეტი უნდა იყოს იმ ადამიანებში ვისაც პროსტატის ქსოვილის განმეორებითი გარკვეული პათოლოგიები აღენიშნება. ვარაუდობენ, რომ ამ დროს გაცილებით დიდია მუტაციის ალბათობა ღეროვან უჯრედებში. დღეისათვის მართლაც დადასტურებულია ის ფაქტი, რომ ქრონიკული ანთებითი პროცესის (პროსტატიტის) მქონე პაციენტებში (როდესაც ადგილი აქვს ქსოვილის დაზიანებას და მის შემდგომ რეგენერაციას ღეროვანი უჯრედების გამრავლებით და აქტიური მონაწილეობით) გაცილებით მაღალია პროსტატის კიბოს განვითარების რისკი (Bardia *et al.*, 2009). საინტერესოა ასევე კვლევები, რომლის მიხედვითაც ტესტოსტერონის ქრონიკულად დაბალი კონცენტრაციების პირობებში ადგილი ჰქონდა პროსტატის ქსოვილის დაზიანებას და ამ ფონზე ღეროვანი უჯრედების სხვადასხვა პოპულაციის გამრავლებას (Lin-/Cd133+/Cd117+ და Lin-/Cd49f<sup>Hi</sup>/Trop2+ უჯრედები). შესაძლებელია ტესტოსტერონის დაბალი კონცენტრაცია (ქრონიკული ანთების მსგავსად) იწვევდეს კანცეროგენული ტრანსფორმაციის რისკის ზრდას ღეროვან უჯრედებში მუტაციის ალბათობის გაზრდით (Wang and Shen, 2011).

ცნობილია ასევე, რომ ტესტოსტერონის დაბალი კონცენტრაცია იწვევს პროსტატის ქსოვილში არსებული ჰომეოსტაზის რღვევას, შედეგად ადგილი აქვს პროსტატის ღეროვანი უჯრედების პოპულაციის გამრავლებას და გენეტიკური არასტაბილურობის ხარისხის ზრდას აღნიშნულ უჯრედებში (სურ. 1.4.3. I-გზა). გარდა აღნიშნულისა, შესაძლებელია, რომ ტესტოსტერონის ქრონიკულად დაბალმა კონცენტრაციებმა ასევე

გამოიწვიოს ოქსიდაციური სტრესის გაძლიერება ასაკთან ერთად (Shiota *et al.*, 2011). ქრონიკული ოქსიდაციური სტრესი, რომელიც პროსტატის უჯრედების დნმ-ში მრავალი ტიპის დაზიანებას იწვევს, წარმოადგენს მთავარ მუტაგენს რომელიც უნდა განაპირობებდეს პროსტატის კიბოს ინიციაციას (Shen & Abate-Shen, 2010) და მის პროგრესირებას (Khandrika *et al.*, 2009)(სურ.1.4.3.II). ოქსიდაციური სტრესი, რომელიც ნაწილობრივ გამოწვეულია ტესტოსტერონის დაბალი დონით, აინდუცირებს დნმ-ის დაზიანებებს ასევე ღეროვან უჯრედებშიც, რაც ხელს უწყობს მათ გარდაქმნას კიბოს მაინიცირებელ უჯრედებად (CICs) (სურ. 1.4.3. III). გარდა აღნიშნულისა ვარაუდობენ, რომ ოქსიდაციური სტრესი ასევე გავლენას ახდენს ანდროგენის რეცეპტორის სასიგნალო გზაზე (სურ.1.4.3.IV). კერძოდ კი აძლიერებდეს რეცეპტორის და მისი კორეგულატორების ექსპრესიას ცალკეული უჯრედშიდა სასიგნალო გზების საშუალებით (Shiota *et al.*, 2011).



სურ. 1.4.3 ტესტოსტერონის დაბალი კონცენტრაციის როლი პროსტატის კანცეროგენეზის პროცესში (მოდელოური სქემა) (Zhou *et al.*, 2015).  
 AR – ანდროგენის რეცეპტორი; SC - ღეროვანი უჯრედი;  
 CIC - კიბოს მაინიცირებელი უჯრედი

ამგვარად, ტესტოსტერონის დაბალმა კონცენტრაციამ შესაძლოა განაპირობოს კანცეროგენული ტრანსფორმაცია შემდეგი მექანიზმებით (Zhou *et al.*, 2015) (სურ.1.4.3):

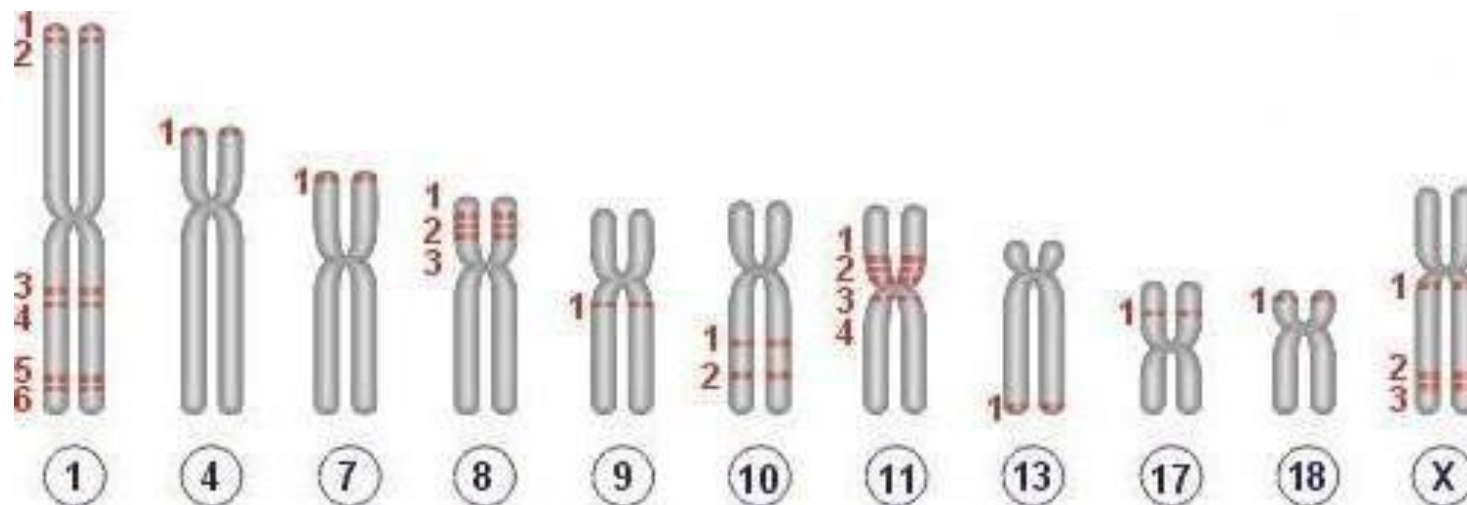
1. გამოიწვიოს ღეროვანი უჯრედების პოპულაციის გამრავლება. აღნიშნულ უჯრედებს კი გააჩნიათ კიბოს მაინიცირებელ უჯრედებად (CIC) გარდაქმნის პოტენციალი.
2. გამოიწვიოს უჯრედებში დნმ-ის მუტაგენეზის პროცესის გაძლიერება ოქსიდაციური სტრესის ფონზე;
3. გამოიწვიოს ანდროგენის რეცეპტორის აქტივობის ცვლილება დაზიანებულ უჯრედებში.



### 1.4.3. ქრომოსომული დარღვევები და პროსტატის კიბო

ცნობილია, რომ პროსტატის კიბოს უჯრედები საწყის სტადიაზე ეუპლოიდურია. ქრომოსომათა რიცხოვრივი და სტრუქტურული ცვლილებების დაგროვებას კი უფრო გვიან სტადიაზე აქვს ადგილი. სიმსივნის საწყის სტადიაზე დომინირებს ქრომოსომული უბნების დელეცია, მაშინ როცა ქრომოსომული სეგმენტების მატება და ამპლიფიკაცია ხშირია უფრო პროგრესირებული სიმსივნის შემთხვევებში (Dong, 2001). პროსტატის ადენოკარცინომის დროს, ყველაზე ხშირად ცვლილებები დაფიქსირებულ იქნა მე-8, მე-13, მე-7, მე-10, მე-16, მე-6 და მე-17 ქრომოსომებში (ცვლილების სიხშირის კლებადი თანმიმდევრობით) (Hyytinen et al., 1999;) (სურ. 1.4.4. ქრ. რუკა). გარდა აღნიშნულისა, ხშირად იქნა გამოვლენილი X ან Y ქრომოსომათა გარკვეული უბნების ამპლიფიკაცია. პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევათა დაახლოებით 50%-ში ადგილი ჰქონდა 8p ქრომოსომის ასლების რიცხვის შემცირებას და ჰეტეროზიგოტულობის დაკარგვას. ასევე ხშირი იყო მე-13q ქრომოსომის დელეცია და ჰეტეროზიგოტულობის დაკარგვაც (Latil et al., 1999). ცნობილია ისიც, რომ მე-7 ქრომოსომის შემთხვევაში ადგილი აქვს როგორც ასლების მატებას, ასევე დაკარგვას. ამასთან უცნობია, 7q ქრომოსომაზე ალელური დისბალანსი მიზეზი. ვარაუდობენ, რომ აღნიშნული გამოწვეული უნდა იყოს ასლთა რიცხვის ზრდით (რაც სავარაუდოდ აღნიშნულ უბანში ონკოგენის არსებობის მანიშნებელი იქნებოდა) ან ალელების დაკარგვით, რაც აღნიშნულ უბანში სიმსივნის სუპრესორული გენის არსებობაზე მიუთითებს (Alers et al., 2000). დადგენილ იქნა კონკრეტული უბნების დელეცია 16q, 10p, 5q, 6q, და 17p ქრომოსომებისთვის (Latil et al., 1997). მნიშვნელოვანია ის, რომ პროსტატის სიმსივნეებში ყველაზე სტაბილურად ფიქსირდება 8q ქრომოსომის ზომაში მატება 8q24.1 უბნის ამპლიფიკაციის გზით. აღმოჩნდა, რომ ამგვარი ცვლილება განსაკუთრებით დამახასიათებელია მეტასტაზირებული კიბოს დროს (Leube et al., 2002).

მიუხედავად ზემოთაღწერილი ცვლილებებისა, პროსტატის სიმსივნეების დროს ქრომოსომული არასტაბილურობა არ ატარებს რეგულარულ და მკვეთრად გამოხატულ ხასიათს. ამასთან, ქრომოსომული ცვლილებების რიცხვიც ხშირად დიდი არ არის. უნდა ითქვას, რომ ზემოთჩამოთვლილი ქრომოსომული ცვლილებები სავარაუდოდ მიუთითებს სიმსივნის სუპრესორული გენების ან ონკოგენების ლოკალიზაციაზე ქრომოსომების აღნიშნულ დაზიანებულ უბნებში (Schulz et al., 2003).



სურ. 1.4.4 ქრომოსომული რუქის სქემატური გამოსახულება წითლად მონიშნულია ცალკეული ქრომოსომული უბნები, რომლებიც განიცდიან მუტაციას პროსტატის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნეების დროს. <http://www.anticancer.net/ru/prostate/>

#### 1.4.4 პროსტატის კიბოს მემკვიდრული საფუძვლები

ადამიანის ზოგიერთი მემკვიდრული სიმსივნის გამომწვევი გენების იდენტიფიკაციამ მნიშვნელოვნად შეუწყო ხელი იმ გენეტიკური ცვლილებების შესწავლას, რასაც ადგილი აქვს შესაბამისი სპორადული სიმსივნეების განვითარების დროს. აღნიშნული ფაქტის კარგი და ცნობილი მაგალითია მემკვიდრული სინდრომი – ოჯახური ადენომატოზური პოლიპოზი (Familial Adenomatous Polyposis coli (FAP)), რომელიც დამახასიათებელია მსხვილი ნაწლავის კიბოთი დაავადებულთათვის და მათი ოჯახის წევრებისათვის. აღნიშნულ დაავადებას იწვევს APC გენი, რომელიც ლოკალიზებულია 5q21 ქრომოსომაში (Schulz et al., 2003).

ცნობილია, რომ მემკვიდრული სიმსივნეები სპორადული სიმსივნეებისგან ძირითადად განსხვავდებიან ოჯახური გავრცელებითა და აუტოსომურ-დომინანტური მემკვიდრეობით, მულტიცენტრულობითა და ადრეული გამოვლინებით (Bratt, 2002). მემკვიდრული სიმსივნეების უმრავლესობაში აღნიშნული თვისებები იხსნება სიმსივნის სუპრესორული გენის ერთ-ერთ ალელში მომხდარი მემკვიდრული მუტაციით, რის შემდეგაც მეორე ალელის სომატური მუტაციაც საკმარისია სიმსივნის განვითარებისთვის. ცნობილია, რომ სპორადული სიმსივნის შემთხვაში საჭიროა ერთსა და იმავე უჯრედულ ხაზში ადგილი ჰქონდეს სუპრესორული გენის ორივე ალელის მსგავს მუტაციას (Simard et al., 2002).

პროსტატის კიბოს გამომწვევი გენების დადგენა გაცილებით რთული აღმოჩნდა მსხვილი ნაწლავის კიბოსთან შედარებით, რადგან დღემდე არ არსებობს არცერთი კონკრეტული მემკვიდრული სინდრომი, რომელიც დაკავშირებული იქნებოდა პროსტატის კიბოსადმი მემკვიდრულ წინაწარგანწყობასთან. გარდა ამისა, გასათვალისწინებელია ასევე მოცემული პათოლოგიის მულტიცენტრულობა, რაც კიდევ ერთ ხელისშემშლელ ფაქტორს წარმოადგენს (რადგან სიმსივნის სხვადასხვა უბანში განსხვავებული გენეტიკური ცვლილებები ფიქსირდება).

მიუხედავად ზემოთაღნიშნულისა, მკვლევარების მიერ მოხერხდა რამოდენიმე გენისა და მარკერის დადგენა, რომელთა მუტაციები პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნის განვითარებას უკავშირდება. ადამიანის გენომში გამოყოფილი და იდენტიფიცირებული იქნა 7 უბანი, რომელიც შეიცავს პროსტატის კიბოს გამომწვევ აუტოსომურ-დომინანტურ გენებს, ესენია: 1q24-1q25 (HPC1), 1q42-q43 (PCAP), Xq27-q28 (HPCX), 1p36 (CAPB), 20q13 (HPC20), 17p11 (ELAC2) და 16q23 (Nwosu et al., 2001).

პროსტატის კიბოთი დაავადებულთა სხვადასხვა პოპულაციაში ჩატარებულმა კვლევამ ვერ დააფიქსირა ვერცერთი ჩამოთვლილი უბნის თანაბარი გამოვლენა ან პირიქით თანაბრად დაკარგვა (ალელების დაკარგვა). აღნიშნული ფაქტი მიუთითებს, რომ გენეტიკური განწყობა პროსტატის კარცინომისადმი, შესაძლოა არ ჯდება სტანდარტულ სქემაში.

დღეისათვის ცნობილია 2 გენი, რომელიც სავარაუდოდ მონაწილეობს პროსტატის სიმსივნეებისადმი წინასწარგანწყობის ჩამოყალიბებაში. მათგან პირველია **ELAC2**, რომლის ინაქტივაცია ფრეიმშიფტის (Frame shift) გზით დადგენილია ზოგიერთ პოპულაციაში (Simard et al., 2002). მიუხედავად იმისა, რომ თავად **ELAC2** გენის

პროდუქტის ფუნქცია ბოლომდე არ არის გარკვეული, ვარაუდობენ, რომ იგი უნდა ურთიერთმედებდეს  $\gamma$ -ტუბულინთან (Koerver et al., 2003).

ცნობილია მეორე სავარაუდო გენი - **RNASEL** (1q24-1q25 უბანში), რომელიც ანტივირუსული, პროაპოპტოზური და ინტერფერონ-აქტივირებული რიბონუკლეაზების (RNase) კოდირებას ახორციელებს (Carpten et al., 2002).

აღსანიშნავია, რომ პროსტატის სიმსივნეებისადმი გენეტიკურ წინასწარგანწყობას უფრო მეტად შესაძლოა განაპირობებდეს არა სპეციფიური გენის მუტაციები, არამედ გარკვეული გენების პოლიმორფიზმი. კონკრეტულად კი: ჰორმონულ პასუხსა და მეტაბოლიზმში, უჯრედების თავდაცვაში, დნმ-ის რეპარაციასა და ნუკლეოტიდების მეტაბოლიზმში ჩართული გენების პოლიმორფიზმი, რაც ზრდის დაავადების განვითარების რისკს როგორც ჰეტეროზიგოტებში, ასევე ჰომოზიგოტებში (Simard et al., 2002).

ჩამოთვლილ გენთაგან პირველ ჯგუფში (ჰორმონულ პასუხსა და მეტაბოლიზმში ჩართული გენებიდან) ყველაზე კარგად შესწავლილია ანდროგენებისა და **D** ვიტამინის რეცეპტორების (**AR**, **VDR**) პოლიმორფიზმი. ცნობილია, რომ **AR**-ის N-ტერმინალურ ტრანსკრიპციული აქტივაციის დომენში პოლიმორფული **CAG** და **GGA** განმეორებები კოდირებენ გლუტამინის და გლიცინის განმეორებებს. ამგვარი მოკლე განმეორებების პოლიმორფიზმი, როგორც ჩანს, დაკავშირებულია პროსტატის რისკის მცირე ხარისხით ზრდასთან (Schulz et al., 2003), თუმცა არსებობს საწინააღმდეგო მოსაზრებაც (Simard et al., 2002). ცნობილია, რომ **VDR**-ის 3'-დაბოლოებაზე პოლი A-განმეორების სიგრძით განპირობებული რამდენიმე პოლიმორფიზმი კავშირშია სიმსივნეებისადმი გენეტიკურ მიდრეკილებასთან (Correa-Cerro et al., 1999). ასევე კარგადაა შესწავლილი 5 $\alpha$ -რედუქტაზას **SRD5A2** გენის Ala49Thr პოლიმორფიზმი. აღნიშნული ფერმენტი პროსტატში ტესტოსტერონს გარდაქმნის უფრო აქტიურ დიჰიდროტესტოსტერონად. აღნიშნული პოლიმორფიზმი შეიძლება იყოს ერთ-ერთი რისკ-ფაქტორი კონკრეტულ პოპულაციაში, მაგ: აფრო-ამერიკულ პოპულაციაში და არა ევროპული პოპულაციისთვის (Makridakis et al., 1999).

ქიმიური კანცეროგენებით გამოწვეულ სიმსივნეებში რისკ ფაქტორად შეიძლება განიხილებოდეს ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმში ჩართული ფერმენტების მაკოდირებელი გენების პოლიმორფიზმი. მაგ: ცნობილია, რომ ნორმაში გლუტათიონ-ტრანსფერაზა (**GST**) უჯრედს იცავს მუტაგენური ენდოგენური ნაერთებისა და ოქსიდაციური სტრესისაგან. აღმოჩნდა, რომ აღნიშნული ფერმენტის მაკოდირებელი გენის პოლიმორფიზმი (**GSTT** და **GSTP**) დაკავშირებულია პროსტატის სიმსივნისადმი წინასწარგანწყობასთან (Nelson et al., 2003; Dakubo et al., 2006).

ცნობილია, რომ დნმ-ის რეპარაციაში მონაწილე გენებს შორის, **BRCA1** და **BRCA2** (მკერდის კიბოსადმი წინასწარგანწყობის გენები) მუტაციები ასევე დაკავშირებულია პროსტატის კიბოს განვითარების რისკის ზრდასთან (Edwards et al., 2003).

საყურადღებოა მეთილენ-ტეტრაჰიდროფოლატ-რედუქტაზას (**MTHFR**) გენის პოლიმორფიზმი Ala677Val. ეს უკანასკნელი შეიძლება ასევე დაკავშირებული იყოს პროსტატის კიბოსადმი წინასწარგანწყობასთან). ცნობილია, რომ აღნიშნული ფერმენტი ჩართულია ფოლიუმის მჟავას მეტაბოლიზმში, გვევლინება რა ძირითად ფერმენტად ნუკლეოტიდების ბიოსინთეზისა და დნმ-ს მეთილირების რეაქციებში (Shenk et al.,

2001). MTHFR-ის პოლიმორფიზმი დიდ მნიშვნელობას იძენს საკვების - მაგ: ფოლატების და B<sub>12</sub> ვიტამინის დეფიციტის პირობებში (Kim, 2000). აღნიშნული მიუთითებს, რომ პოლიმორფიზმი ხშირად ხდება სიმსივნის განვითარების ერთ-ერთი რისკ ფაქტორი სხვა ფაქტორებთან ერთად, როგორცაა კვება ან სპეციფიკური ტოქსიკური ნაერთების მოქმედება. მნიშვნელოვანია ადამიანების ცხოვრების წესი და გარემო ფაქტორები პროსტატის კიბოს განვითარებაში (Schulz et al., 2003).

#### 1.4.5. პროსტატის კიბო და სუპრესორი გენები

სიმსივნის ინდუქციაში მთავარ როლს პროტონკოგენები და სიმსივნის სუპრესორული გენები თამაშობენ. აღნიშნული გენები კოდირებენ ცილებს, რომლებიც მონაწილეობენ უჯრედის ზრდისა და პროლიფერაციის რეგულაციაში, ამიტომ აღნიშნული გენების მუტაციები ხელს უწყობს სიმსივნის განვითარებას. სიმსივნეების უმრავლესობას ახასიათებს მაინდუცირებელი მუტაციები ერთ ან ორ სიმსივნის სუპრესორ გენში, რომელთა პროდუქტებიც აკონტროლებენ უჯრედის პროგრესირებას G<sub>1</sub> ფაზაში (Dong, 2001).

ადამიანებში ავთვისებიან სიმსივნის სუპრესორული გენების იდენტიფიცირება სამი ძირითადი მიმართულებით გახდა შესაძლებელი.

ერთ-ერთი მიდგომა მემკვიდრული სიმსივნეების შემთხვევაში იმ გენების დადგენაა, რომლებმაც განიცადეს მუტაცია და რომლებიც ხშირად სიმსივნის სუპრესორულ გენებს შეესაბამება. Schulz და თანაავტორების აზრით (2003) აღნიშნული გენების მუტაციები ნაკლებად დამახასიათებელი იყო პროსტატის კიბოსათვის (Schulz et al., 2003). მეორე მიდგომა იმ სუპრესორი გენების კვლევას ითვალისწინებს, რომლებიც განიხილებოდა სხვა ტიპის სიმსივნეების შემთხვევაში, თუმცა აღნიშნული სუპრესორი გენების კვლევაც პროსტატის კიბოს შემთხვევაში არ აღმოჩნდა წარმატებული (Schulz et al., 2003).

ძირითად მიდგომას პროსტატის კიბოს კვლევაში წარმოადგენს სიმსივნის სუპრესორი გენების ძიება გენომის იმ უბნებში, რომლებიც ხშირად განიცდიან დელეციას აღნიშნული სიმსივნეების დროს (Dong, 2001).

ცნობილია, რომ პროსტატის კიბოს პროგრესირებაში ჩართულია სიმსივნის სუპრესორი გენები - p53 და PTEN. აღნიშნული გენების შემცველი უბნების (17p და 10q ქრომოსომების) დელეცია საკმაოდ სიხშირით გვხვდება პროსტატის კიბოს შემთხვევაში ცნობილია ისიც, რომ p53 გენის ერთი ალელის დაკარგვას თან ახლავს წერტილოვანი მუტაცია აღნიშნული გენის მეორე ასლში, რაც განაპირობებს მის ფუნქციურ ინაქტივაციას (Heidenberg, et al., 1995). წერტილოვანი მუტაციები ასევე აღწერილია PTEN-ის შემთხვევაში. თუმცა, ტრანსკრიპციის ეტაპზე PTEN-ის მეორე ასლის ინაქტივაცია ხორციელდება ჯერ კიდევ უცნობი მექანიზმით (Whang et al., 1998).

ცნობილია პროსტატის კიბოს შემთხვევაში ქრომოსომის 13q14 უბანი (რომელიც ყველაზე ხშირად განიცდის დელეციას) რომელშიც ლოკალიზებულია RB1 გენი (Latil et al., 1999). თუმცა არაა დადგენილი მისი როლი პროსტატის კიბოს განვითარებაში (რამეთუ RB1 გენის მეორე ალელი ინტაქტური რჩება) (Schmidt et al., 2001).

ცნობილია, პროსტატის კიბოს შემთხვევაში CDKN2A გენის არსებობა ქრომოსომის 9p21 უბანში. აღნიშნული უბანი კოდირებს ცილა p16-ს (რომელიც წარმოადგენს RB1-ის

მნიშვნელოვან რეგულატორს) და ცილა p14-ს (რომელიც უზრუნველყოფს p53-ის აქტივაციას პროლიფერაციის სიგნალის საპასუხოდ) (Jarrard et al., 1999), თუმცა პროსტატის კიბოს შემთხვევაში 9p ქრომოსომის დელეცია არ არის დამახასიათებელი იმ სიხშირით, რასაც ადგილი აქვს სხვა ტიპის ავთვისებიანი სიმსივნეების შემთხვევაში. გარდა აღნიშნულისა ცნობილია ისიც, რომ 9p21 ქრომოსომაზე მდებარე CDKN2A გენის მუტაციები და მისი პრომოტორის ჰიპერმეთილირებაც იშვიათია (Schulz et al., 2003).

ამგვარად, ერთი მხრივ სიმსივნის სუპრესორული გენების ნაკლები ჩართულობა პროსტატის სიმსივნურ ტრანსფორმაციაში და მეორეს მხრივ კი სპეციფიკური ქრომოსომული უბნების რეგულარული დაკარგვა მიუთითებს, რომ პროსტატის კიბოს განვითარებისათვის გადამწყვეტ როლს ქსოვილ-სპეციფიური სუპრესორი გენები უნდა ასრულებდნენ. უკანასკნელ წლებში იდენტიფიცირებული იქნა რამოდენიმე სუპრესორი გენი (ცხრ. 1.4.1).

**ცხრილი 1.4.1**

**სიმსივნის სუპრესორული გენები, რომლებიც მონაწილეობენ პროსტატის კიბოს განვითარებაში (Schulz et al., 2003)**

გენი	მდებარეობა	ფუნქცია	ინაქტივაციის მექანიზმი
<b>ANX7</b>	10q24	ანექსინი	დათრგუნვა/ჰეტეროზიგოტულობის დაკარგვა
<b>FEZ1(LZTS1)</b>	8p22	ციტოჩონჩხი/ ტრანსკრიპცია	ჰეტეროზიგოტულობის დაკარგვა/ მუტაცია
<b>FOXP1</b>	3p14	ტრანსკრიპცია	დათრგუნვა
<b>KAI1</b>	11p11	უჯრედის ადჰეზია	დათრგუნვა
<b>KLF6</b>	10p	ტრანსკრიპცია	მუტაცია
<b>LAPSER1</b>	10q24	ტრანსკრიპცია	დათრგუნვა/ ჰეტეროზიგოტულობის დაკარგვა
<b>NKX3A</b>	8p21	ტრანსკრიპცია	დათრგუნვა/ ჰეტეროზიგოტულობის დაკარგვა
<b>p75NTR</b>	17q21	მემბრანული რეცეპტორი	დათრგუნვა
<b>RASSF1A</b>	3p21	სიგნალის გადაცემა	ჰიპერმეთილირება/ ჰეტეროზიგოტულობის დაკარგვა
<b>TIG1</b>	3p12	რეტინოიდური პასუხი	ჰიპერმეთილირება/ ჰეტეროზიგოტულობის დაკარგვა
<b>WWOX</b>	16q23	სტეროიდების მეტაბოლიზმი	FRA16D

ყველაზე დიდ ინტერესს იმსახურებს 8p ქრომოსომაში არსებული გენი - NKX3A (8p21), რომელიც კოდირებს მხოლოდ პროსტატის ჯირკვალისათვის დამახასიათებელ

სპეციფიურ ტრანსკრიპციის ფაქტორს (Abate-Shen and Shen, 2000). ცნობილია, რომ აღნიშნული ტრანსკრიპციის ფაქტორის სინთეზის ინდუქცია ხორციელდება ანდროგენებით, ხოლო თავად ტრანსკრიპციის ფაქტორი ასტიმულირებს პროსტატ-სპეციფიკური გენების ტრანსკრიფციას. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ NKX3A გენის ინაქტივაცია ლაბორატორიულ ვირთაგვებში აინჰიბირებს პროსტატის ჯირკვალის მომწიფებას და იწვევს პროლიფერაციის მნიშვნელოვან გაძლიერებას (Ornstein et al., 2001). მიუხედავად ზემოთაღნიშნულისა NKX3A გენი ჯერ კიდევ არ არის მიჩნეული სიმსივნის სუპრესორ გენად, რამეთუ არ არის დადგენილი არც მუტაციები და არც მისი პრომოტორის ჰიპერმეთილირების შემთხვევები (Schulz et al., 2003). დღევანდელი მონაცემებით მსგავსი დასკვნა შეიძლება გაკეთდეს სხვა სიმსივნის სუპრესორულ გენებზე, რომლებიც ცხრილშია (ცხრ.1.4.1) მოცემული, თუმცა Mმუტაციის გზით ინაქტივაცია დადასტურებულია მხოლოდ ერთეულ შემთხვევაში, კერძოდ ტრანსკრიფციის ფაქტორ - KLF6-ის მაკოდირებელ გენში (10p) (Narla et al., 2001).

როგორც ჩანს, პროსტატის კიბოს შემთხვევაში სუპრესორული გენების ინაქტივაციის მექანიზმი მოიცავს ძირითადად გენის დათრგუნვას (down-regulation), უმეტესად პრომოტორის ჰიპერმეთილირების გზით.

#### 1.4.6. ონკოგენები და პროსტატის კიბოს სასიგნალო გზები

ცნობილია, რომ პროსტატის კიბოს განვითარებასა და პროგრესირებაში მნიშვნელოვანი როლი კონკრეტული პროტო-ონკოგენების სახეცვლილ ექსპრესიას მიუძღვის (Schulz et al., 2003). იშვიათია შემთხვევები როდესაც ადგილი აქვს კონკრეტული გენის მაგ: RAS გენის მუტაციას (Jenkins et al., 1997). პროსტატის მეტასტაზირებულ კიბოს შემთხვევაში ხშირია MYC გენის (რეგულატორული გენი, რომელიც კოდირებს ტრანსკრიფციის ფაქტორებს) ჭარბი ექსპრესია, რაც გამოწვეულია მოცემული გენის ასლების რიცხვის ზრდით (კონკრეტული ქრომოსომული უბნის რედუბლიკაციის შედეგად) ან გენის ამპლიფიკაციით (Djakiew, 2000). ცნობილია, რომ აღნიშნული პროცესების შემდგომ ეტაპზე, ადგილი აქვს 8q ქრომოსომაზე არსებული სხვა გენების ჰიპერექსპრესიასაც, რაც კიდევ უფრო ხელს უწყობს პროსტატის კიბოსათვის დამახასიათებელი ფენოტიპის ჩამოყალიბებას (Saramaki et al., 2001). აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ნორმალური უჯრედების ზრდის მასტიმულირებელი სიგნალი, რომელზეც MYC გენია პასუხისმგებელი, დათრგუნულია BCL2-ის პრო-აპოპტოზური სიგნალების მოქმედების გზით (p14, p53 და BAX ცილების სასიგნალო გზა) (Djakiew, 2000).

რაც შეეხება პროსტატის კიბოს, აღნიშნულ შემთხვევათა თითქმის ნახევარში დაფიქსირებულ იქნა ანტიაპოპტოზური ცილის BCL2-ის ჭარბი ექსპრესია (განსაკუთრების ანდროგენ-დამოუკიდებელი კიბოს შემთხვევაში). ერთი მხრივ MYC გენის რეგულაციის მოშლა და მეორეს მხრივ BCL2/BAX ცილების შეცვლილი

თანაფარდობა უჯრედებში მნიშვნელოვნად უნდა უწყობდეს ხელს პროსტატის კიბოს ინტენსიურ ზრდას (Schulz et al., 2003).

ცნობილია, რომ პროსტატის კიბოს შემდგომი სტიმულირება შეიძლება აგრეთვე გამოიწვიოს რამდენიმე ზრდის ფაქტორის რეცეპტორის, მათ შორის თიროზინკინაზას რეცეპტორის, EGFR, MET, FGFR2c და ERBB2 გაზრდილმა ექსპრესიამ (Djakiew, 2000). ქრომოსომული უბნის გადიდება შესაძლოა ასევე ხელს უწყობდეს ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის რეცეპტორის (EGFR) და MET ჰიპერექსპრესიას. თუმცა აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ აღნიშნული მექანიზმი არ წარმოადგენს EGFR გენის ჭარბი ექსპრესიის ერთადერთ მიზეზს პროსტატის კიბოს მეტასტაზირების შემთხვაში (Di Lorenzo et al., 2002).

ადამიანის ყველა ტიპის სიმსივნის განვითარებას საფუძვლად უდევს ე.წ. “სიმსივნის სასიგნალო გზებში” მომხდარი ცვლილებები. ნორმაში აღნიშნული სასიგნალო გზები უზრუნველყოფენ უჯრედში მიმდინარე კონკრეტული პროცესების რეგულაციას, როგორცაა – უჯრედის პროლიფერაცია, დიფერენცირება, გადარჩენა, დაბერება და უჯრედშორისი ურთიერთქმედებები ქსოვილში. აღნიშნული კონცეფციის მიხედვით ერთიდაიგივე სასიგნალო გზის სხვადასხვა კომპონენტში განხორციელებული ცვლილება ხშირად მსგავსი შედეგით მთავრდება. შესაბამისად, სიმსივნური უჯრედის პროლიფერაციული სიგნალებით მომარაგება შესაძლოა ერთდროულად განპირობებული იყოს არაერთი ფაქტორით: აუტოკრინული ზრდის ფაქტორით, თიროზინკინაზას რეცეპტორის ჰიპერექსპრესიის საშუალებით, RAS სიგნალის გადამცემის (transducer) მუტაციით, ან ისეთი ტრანსკრიპციის ფაქტორის ჭარბი ექსპრესიით როგორცაა MYC გენი (Hanahan and Weinberg, 2000). MYC გენი თავისთავად წარმოადგენს რეგულატორულ გენს და ამავედროულად ძლიერ პროტოონკოგენს, რომლის ჭარბი ექსპრესია დაფიქსირებულია არაერთი ავთვისებიანი სიმსივნის შემთხვევაში, მისი აქტივაცია ხორციელდება სხვადასხვა მიტოგენურ სიგნალების მიღებისას (მაგ: WNT სიგნალიზაციის მეშვეობით). MYC სასიგნალო გზა სავარაუდოდ ძალიან მნიშვნელოვან როლს უნდა ასრულებდეს პროსტატის სიმსივნეების კანცეროგენეზში (Schulz, et al 2003).

ავთვისებიანი სიმსივნის კიდევ ერთ სასიგნალო გზას წარმოადგენს WNT სიგნალიზაცია, რომლის პერმანენტული აქტივაცია გადამწყვეტ როლს ასრულებს მსხვილი ნაწლავის კიბოს შემთხვევაში (Gerstein et al., 2002). აღნიშნული სასიგნალო გზის აქტივაცია შესაძლოა გამოწვეული იყოს სხვადასხვა ტიპის ცვლილებით. მსხვილი ნაწლავის კიბოს შემთხვევაში ადგილი უნდა ქონდეს APC გენის ნეგატიური რეგულატორის მუტაციას, რაც საბოლოოდ უნდა იწვევდეს კოტრანსკრიპციის ფაქტორის,  $\beta$ -კატენინის განუწყვეტელ აქტივაციას (Chesire et al., 2000). აღნიშნული სახის ცვლილებები დაბალი სიხშირით დაფიქსირებულია ასევე პროსტატის კიბოს შემთხვევაში (Gerstein et al., 2002). აღწერილია ასევე ალელის დაკარგვა და APC გენის ჰიპერმეთილირების შემთხვევებიც (Maruyama et al., 2002). მსხვილი ნაწლავის უჯრედებში WNT სიგნალიზაცია უნდა იწვევდეს არამარტო პროლიფერაციის სტიმულირებას, არამედ აღნიშნულ უჯრედებში განუწყვეტელ პროლიფერაციას (Gerstein et al., 2002). ჯერ კიდევ უცნობია მოქმედებს თუ არა იგივე მექანიზმი პროსტატის კიბოს უჯრედებშიც, თუმცა დადგენილია, რომ  $\beta$ -კატენინს შეუძლია ანდროგენების რეცეპტორთან ურთიერთქმედება (Van de Wetering et al., 2002).



ცნობილია, რომ უჯრედის ციკლის წარმართვა (**WNT** სიგნალიზაციის დროს) და პროლიფერაციული სიგნალების გადაცემა ხორციელდება ციკლინ **D1** და **MYC** ცილის საშუალებით (Schulz et al., 2003). გარკვეული ტიპის სიმსივნეების შემთხვევაში გაძლიერებულ პროლიფერაციას და დიფერენცირების შეწყვეტას განაპირობებს ახლომდებარე უჯრედებში უჯრედული ციკლის რეგულატორების - RB1 და p16 (INK4A) ინაქტივაცია. არსებობს ვარაუდი, რომ აღნიშნული ფაქტორების ინაქტივაცია არ უნდა წარმოადგენდეს აუცილებელ ფაქტორს პროსტატის კიბოს უჯრედებისათვის, რამეთუ პროლიფერაციული სიგნალების გადაცემა აღნიშნულ შემთხვევაში სხვა გზებით ხორციელდება. მიუხედავად ამისა გასათვალისწინებელი ის, რომ p53, ასევე RB1 ცილაც მონაწილეობს უჯრედის დაბერებისა და გენომის სტაბილურობის მაკონტროლებელ მექანიზმში (Jarrard et al., 1999). შესაბამისად აღნიშნული რეგულატორი ცილების ინაქტივაცია სავარაუდოდ პროსტატის კიბოს პროგრესირებისათვის უნდა იყოს აუცილებელი. მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ p27 (KIP1) გენის დათრგუნვაც (რომლის ექსპრესიას ადგილი აქვს პროსტატის ნორმალურ ეპითელიუმში და ზოგიერთ კარცინომაში) დაკავშირებული უნდა იყოს სიმსივნის პროგრესირების მაღალ რისკთან (Yang et al., 1998), ისევე როგორც 8q ქრომოსომის ზომაში ზრდასთან (Jenkins et al., 1998). ცილა p27 (KIP1) წარმოადგენს ციკლინ-დამოკიდებული კინაზების ინჰიბიტორს, შესაბამისად იგი ჩართულია უჯრედული ციკლის რეგულაციაში და განაპირობებს ნორმალური უჯრედის სრულყოფილ დიფერენცირებას. p27-ის რეგულაცია ძირითადად პოსტ-ტრანსკრიპციულ დონეზე ხორციელდება. შესაბამისად **MYC** ცილით განპირობებული ფოსფორილირება მის დეგრადაციას იწვევს. ამგვარად, p27-ის დათრგუნვა და ამის ფონზე სიმსივნის პროგრესია სავარაუდოდ უჯრედული ციკლის “ჩეკპოინტების” ინაქტივაციაზე უნდა მიუთითებდეს (Schulz et al., 2003).

ცნობილია რომ პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნის ძირითად მახასიათებელს აპოპტოზის სიხშირის მკვეთრი შემცირება წარმოადგენს (Zhou et al., 2015). ზრდასრული ადამიანის წინამდებარე ჯირკვალში ანდროგენები აქტიურად არიან ჩართული უჯრედის პროლიფერაციისა და კვდომის მაჩვენებლების თანაბარ დონეზე შენარჩუნებაში (Litvinov et al., 2003). ცნობილია, რომ ანდროგენების ორგანიზმიდან მოცილება იწვევს პროსტატის ჯირკვალის უკუგანვითარებასა და განლევას აპოპტოზის გზით. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ აღნიშნულ შემთხვევაში ელიმინაციას განიცდიან მხოლოდ სეკრეტორული ეპითელიური უჯრედები და არა ბაზალური ან სტრომის უჯრედები (Zhou et al., 2015). აღნიშნულის მსგავსად, ანდროგენული ბლოკადა განაპირობებს აპოპტოზის აქტივაციას პროსტატის კიბოს ანდროგენ-დამოკიდებულ უჯრედებში. შესაბამისად სარავაუდოა, რომ ანდროგენ-დამოუკიდებელი კიბოს შემთხვევაში ანდროგენული სიგნალების გადაცემის გზების შეცვლა მიმართული უნდა იყოს სიმსივნური უჯრედების გადარჩენისაკენ (Memarzadeh et al., 2011).

როგორც ზემოთ იქნა აღნიშნული, აპოპტოზის დონის დაქვეითება პროსტატის კიბოს შემთხვევაში განპირობებულია კიდევ ერთი ფაქტორით - BCL2 გენით. მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ პროსტატის ნორმალურ სეკრეტორულ უჯრედებში BCL2 ექსპრესია არ ხდება, მაშინ როდესაც PIN უბნების გაჩენისთანავე (ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის საწყის ეტაპზე), ადგილი აქვს BCL2 გენის ექსპრესიის გაძლიერებას ჯირკვლის ეპითელიუმში (McDonnell et al., 1992). აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ზრდის

ფაქტორები უჯრედის პროლიფერაციის გაძლიერების პარალელურად მოქმედებენ აპოპტოზის პროცესზე და შედეგად ახორციელებენ პროგრამირებული აპოპტოზის სიხშირის შემცირებას. მაგ: ზრდის ფაქტორი FGF-7, რომელსაც პროსტატის მეზენქიმის უჯრედები გამოიმუშავენ, ამცირებს აპოპტოზის დონეს და იმავდროულად ახანგრძლივებს პროსტატის ავთვისებიანი უჯრედების სიცოცხლეს სწორედ BCL2 ექსპრესიის გაძლიერების გზით (Crescioli et al., 2002). აღნიშნულის მსგავსად IGF-1 ახასიათებს ანტიაპოპტოზური, ისევე როგორც მიტოგენური მოქმედება პროსტატის უჯრედებზე. ცნობილია, რომ IGF-1 ააქტივებს ანტიაპოპტოზურ PI3K/AKT სასიგნალო გზას და ასტიმულირებს BCL-ის მსგავსი ცილების ექსპრესიას, BAX ცილების იმავდროული დათრგუნვით (Grimberg, and Cohen, 2000; Chan et al., 2002).

სიმსივნის პროგრესიის შემდგომ ეტაპს, Hanahan და Weinberg-ის მოდელის მიხედვით, წარმოადგენს სიმსივნური უჯრედების მეტასტაზირება და ინვაზია. აღნიშნული თვისებების ჩამოყალიბება მოითხოვს მრავლობით ცვლილებებს გენის ექსპრესიაში, რაც საბოლოოდ იწვევს უჯრედებს შორის ადჰეზიის შემცირებას, ძვრა-დობის გაზრდას, ექსტრაცელულარული მატრიქსის კომპონენტებთან ურთიერთ-ქმედების შეცვლას, გაძლიერებულ ანგიოგენეზსა და ჰიპოქსიის პირობებში გადარჩენის უნარის შეძენას (Hroudá et al., 2003). ამგვარ ცვლილებებს ადგილი აქვს აგრესიული პროსტატის კიბოს შემთხვევაში. დღეისათვის პროსტატის კიბოს შემთხვევაში დადგენილია უჯრედის ადჰეზიური მოლეკულების (E-კადჰერინი (Richmond et al., 1997), KAI-1 (Dong et al., 1996) და CD44 (Gao et al., 1997)) დაქვეითებული ექსპრესია, მეტალოპროტეინაზების გაძლიერებული ექსპრესია (Lichtinghagen et al., 2002) და ასევე ანგიოგენური ფაქტორების შეცვლილი ექსპრესია (Hroudá et al., 2003). ზემოთ ჩამოთვლილი ფაქტორები კარგ პროგნოზულ მარკერებს წარმოადგენენ პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების დიაგნოსტიკისათვის.

#### 1.4.7 ეპიგენეტიკური ცვლილებები და პროსტატის კიბო

ცნობილია, რომ პროსტატის ნორმალური განვითარების დროს, გენტა ექსპრესიის სტაბილური ხასიათის შენარჩუნება ეპიგენეტიკური მექანიზმებით ხორციელდება. კერძოდ, დნმ თანმიმდევრობის შეცვლის გარეშე (Schulz et al., 2003).

ყველაზე კარგად შესწავლილ ეპიგენეტიკურ მექანიზმს წარმოადგენს დნმ-ის მეთილირება, რომელიც ძუძუმწოვრებში ხორციელდება ციტოზინების მეთილირებით CpG დინუკლეოტიდში. აღნიშნულ შემთხვევაში არ იცვლება დნმ-ში ჩაწერილი ინფორმაცია, თუმცა იცვლება დნმ-ის ურთიერთქმედება ტრანსკრიპციის ფაქტორებთან და ხშირად მიიღება ქრომატინის არააქტიური მდგომარეობები (Lin et al., 2001). ამიტომ გენების დათრგუნვა (silencing) ხშირად ასოცირდება რეგულატორული თანმიმდევრობების გაზრდილ მეთილირებასთან. პროსტატის კიბოში ადგილი აქვს დნმ მეთილირების მნიშვნელოვან ცვლილებებს (Nelson et al., 2003). პროსტატის კარცინომათა >70%-ში დაფიქსირებულია რამდენიმე გენის ჰიპერმეთილირება. მათ შორის აღსანიშნავია გენი - GSTP1, რომელიც კოდირებს გლუტათიონ-ტრანსფერაზას  $\pi$

იზოზიმს. ცნობილია, რომ ჰიპერმეთილირება იწვევს აღნიშნული გენის ექსპრესიის დათრგუნვასა და ფერმენტ გლუტათიონ-ტრანსფერაზას დეფიციტს პროსტატის ავთვისებიან უჯრედებში (Jeronimo et al., 2001).

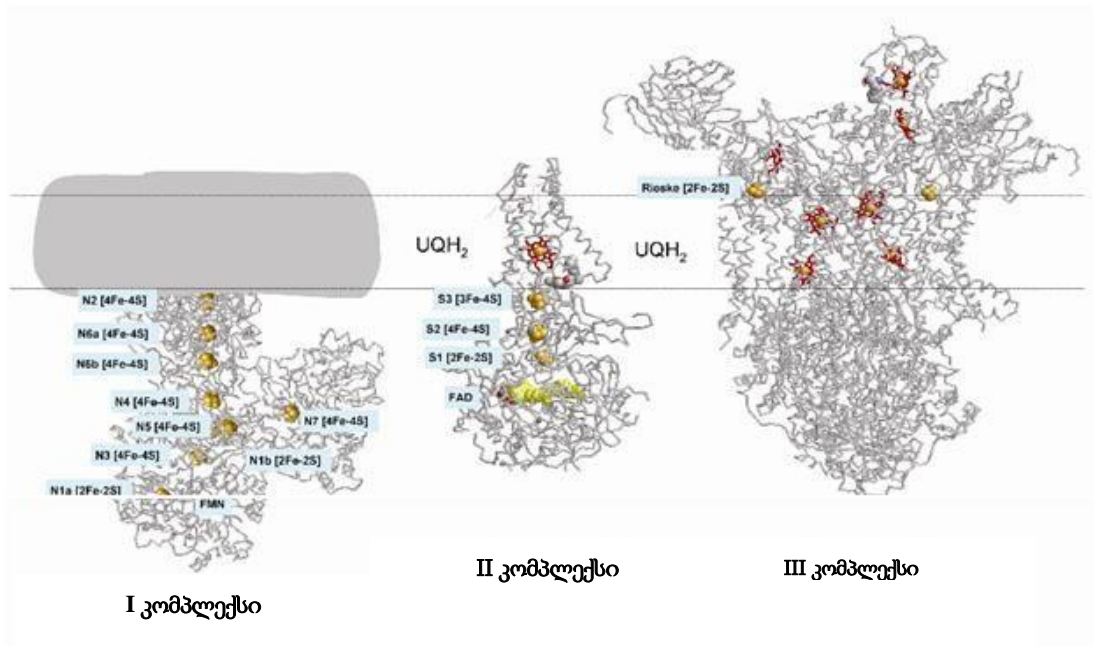
პარადოქსულია, მაგრამ როდესაც დნმ მეთილირების ხარისხი გაზრდილია გენომის სპეციფიკურ უბნებში, მეთილციტოზინის დიდი რაოდენობის შემცველ განმეორებად თანმიმდევრობებში (რაც ნორმალური უჯრედებისთვისაა დამახასიათებელი) მეთილირების ხარისხი მცირდება (Schulz et al., 2003). როგორც ჩანს პროსტატის კარცინომის შემთხვევაში აღნიშნული “გლობალური ჰიპომეთილირება”, მჭიდროდაა დაკავშირებული სიმსივნის პროგრესირებასთან (Santourlidis et al., 1999). აღნიშნულ ფაქტს უფრო ხშირი ხასიათი აქვს პროსტატის კიბოს ბოლო სტადიის - ლიმფურ-კვანძებში გავრცელების შემთხვევაში, ასევე ანდროგენების დამთრგუნველი თერაპიის შედეგად განვითარებული მეორადი მეტასტაზური კარცინომების შემთხვევაში (Ehrlich, 2002). ჰიპერმეთილირების გამომწვევი მიზეზები ჯერ კიდევ უცნობია, თუმცა განმეორებად თანმიმდევრობებში მეთილირების შემცირებით გამოწვეული ქრომატინის დეკონდენსაცია სავარაუდოდ მნიშვნელოვან როლს უნდა ასრულებდეს ქრომოსომულ არასტაბილურობაში, რაც დამახასიათებელია კიბოს პროგრესიის სტადიისათვის. შესაბამისად, პროსტატის კიბოს უჯრედებში დაფიქსირებული “გლობალური ჰიპერმეთილირება” კარგად კორელირებს ქრომოსომული უბნების დაკარგვასა და პირიქით ზომაში მომატებასთან, ასევე იმ ცვლილებებთან, რაც დადგენილია მე-8 ქრომოსომისათვის (Schulz et al., 2003).

## 1.5. რკინა-გოგირდოვანი (Fe-S) ცილები

როგორც უკვე ზემოთ აღვნიშნეთ, პროსტატის ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის დროს ჯირკვალის პერიფერიული ზონის ეპითელიურ უჯრედებისათვის დამახასიათებელი ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილება აღნიშნულ უჯრედებსა და განსაკუთრებით მიტოქონდრიებში თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციის მიზეზს უნდა წარმოადგენდეს (Chen et al., 2003). თუ გავითვალისწინებთ იმ ფაქტს, რომ პროსტატის ეპითელიუმის უჯრედები ნორმაში არ არიან შეგუებულნი ჟანგბადის რეაქტიურ ფორმებს და შესაბამისად თავისუფალ რადიკალებს, ცხადია რომ პროსტატის ავთვისებიანი ტრანსფორმაციისას ეპითელიურ უჯრედებში მიმდინარე თავისუფალ-რადიკალურ პროცესებს გაცილებით დიდი მნიშვნელობა ენიჭება, ვიდრე სხვა სიმსივნური ტრანსფორმაციების დროს. მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ ორგანიზმში პათოლოგიური პროცესის მიმდინარეობისას თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციას თან ახლავს პარამაგნიტური მეტალის კომპლექსების წარმოქმნა (Cammack and MacMillan, 2010).

ცნობილია მთელი რიგი კვლევები, რომელიც ჩატარებულია ელექტრონ-პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) მეთოდით ელექტრონების მატრანსპორტირებელი (ET) ცილების შესასწავლად. აღნიშნული კვლევების შედეგად დადგინდა, რომ რკინა-გოგირდოვანი ცილები მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის, ფოტოსინთეზის ელექტრომატრანსპორტირებელი ჯაჭვის და სხვა მემბრანული ბიოენერგეტიკული სისტემების აუცილებელ შემადგენელ ნაწილს წარმოადგენს (Beinert et al., 1997). ოპტიკურმა სპექტროსკოპიამ უჩვენა, რომ აღნიშნულ სისტემებში ციტოქრომები ასრულებდნენ ელექტრონების გადამტანების როლს. ეპრ-ის მეთოდის საშუალებით (77K), დადგენილ იქნა, რომ რკინა-გოგირდოვანი ცილები უფრო დიდი რაოდენობით არის წარმოდგენილი ვიდრე ვარაუდობდნენ (Cammack and MacMillan, 2010). ეპრ მეთოდის საშუალებით ასევე შესაძლებელი გახდა შესწავლილიყო რთული მაკრომოლეკულური კომპლექსები, ასევე ორგანოები (მიტოქონდრიები და ქლოროპლასტები). აღნიშნულ სისტემებში რკინა-გოგირდოვანი (Fe-S) კლასტერების შემცველი ცილები იდენტიფიცირებულ იქნა მათი ეპრ სპექტრის მიხედვით. ცნობილია, რომ თითოეული კლასტერი განსხვავებულ სპექტრს იძლევა დაჟანგულ და აღდგენილ მდგომარეობაში (ცხრ. 1.5.1). კომპლექსების იზოლირებისას აღმოჩნდა, რომ ერთ ცილაში შესაძლოა რამდენიმე ტიპის Fe-S კლასტერი ყოფილიყო. სუნთქვით კომპლექსებში რკინა-გოგირდოვანი ცილების სიმრავლე იხსნება იმ ფაქტით, რომ 1.2-1.4ნმ-ით დაშორებული კლასტერები ხშირად მოქმედებენ როგორც ელექტრონების გადამტანები მემბრანის ერთი შრიდან მეორეზე (სურ.1.5.1) (Page et al., 1999).

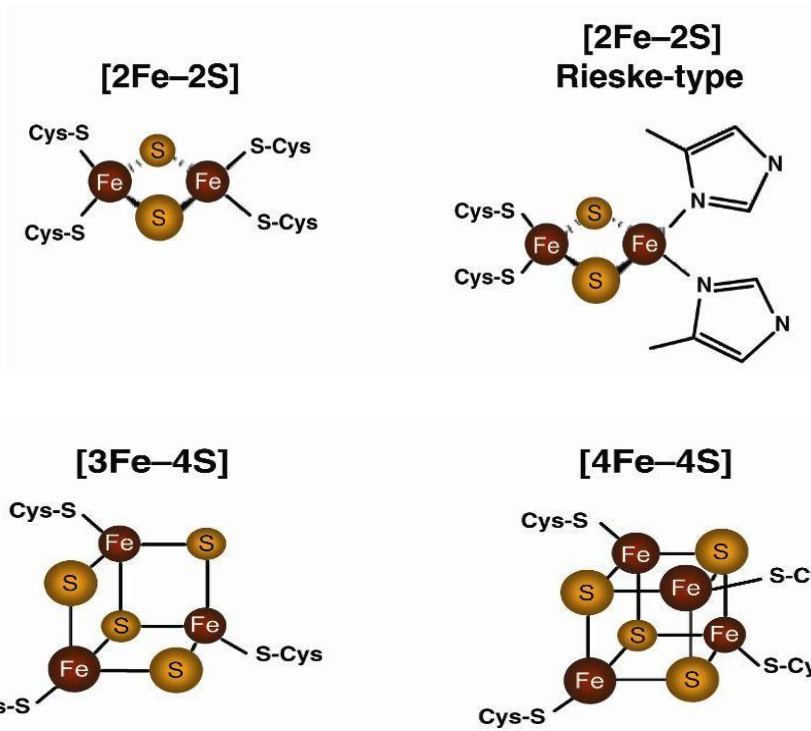
აღნიშნული ცილების მნიშვნელობაზე მიუთითებს მემკვიდრული ნევროლოგიური დაავადებები, რომელთაც საფუძვლად უდევს მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის რკინა-გოგირდოვანი ცილების დეფიციტი (Svistunenko et al., 2006). ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ Fe-S კლასტერები მონაწილეობენ ჟანგბადის რადიკალების და აზოტის ოქსიდის ტოქსიკური ეფექტების განხორციელებაში (Atamna et al., 2002).



სურ. 1.5.1 სუნთქვითი ჯაჭვის შემადგენელი რკინა-გოგირდოვანი (Fe-S) კლასტერების სტრუქტურული გამოსახულება (კომპლექსი I, II, III). (Cammack and MacMillan, 2010).

Fe-S ცილები წარმოადგენენ ფართოდ გავრცელებულ მეტალოპროტეინებს, რომლებიც გვხვდება Fe-S კლასტერების შემცველ ყველა ორგანიზმში (Beinert et al., 1997). მათი მრავალი ფუნქციიდან აღსანიშნავია ფერმენტული კატალიზი, რეგულატორული ფუნქცია და ცილის სტრუქტურის ფორმირება, თუმცა ყველაზე ხშირად Fe-S ცილები მონაწილეობენ ელექტრონების ტრანსპორტში. (Atamna et al., 2002; Cammack and MacMillan, 2010).

1.5.2 სურათზე მოცემულია ელექტრონ-სატრანსპორტო ჯაჭვის შემადგენელი Fe-S კლასტერების სტრუქტურები. აღნიშნულ კლასტერებში რკინისა და გოგირდის ატომები სპეციფიურადაა განლაგებული და ხშირად კოორდინირებულია ამინომჟავურ ნაშთებთან, ძირითადად ცისტეინთან (თუმცა შეიძლება უკავშირდებოდეს ასევე ჰისტიდინს, ასპარტატს, სერინსა და სხვა). ყველაზე ხშირად გვხვდება [2Fe-2S], [3Fe-4S] და [4Fe-4S] ტიპის კლასტერები, რომელთა მახასიათებლები მოცემულია 1.5.1 ცხრილში. ცნობილია, რომ თითო კლასტერს შეუძლია ერთი ელექტრონის გადატანა, შესაბამისად ეპრ მეთოდით მათი აღმოჩენა შესაძლებელია აღდგენილ ან დაჟანგულ მდგომარეობაში. Fe-S კლასტერების უმრავლესობა პარამაგნიტურია აღდგენილ ან დაჟანგულ მდგომარეობაში ( $S=1/2$ ). ხშირად გვხვდება უფრო მაღალი სპინიც ( $S=3/2$  ან  $S=2$ ). კლასტერების ეპრ სპექტრს აკვირდებიან კრიოგენულ ტემპერატურაზე ( $T < 100K$ ) და მათ ხშირად აქვთ რომბული ან აქსიალური მოხაზულობა (Cammack and MacMillan, 2010).



სურ.1.5. 2 Fe-S კლასტერების გავრცელებული სტრუქტურების სქემატური გამოსახულება (Cammack and MacMillan, 2010)

ეპრ მეთოდით ელექტრონ-მატრანსპორტირებელი ცილოვანი კომპლექსების სტრუქტურების შესწავლამ უჩვენა, რომ მათ ხშირად გააჩნიათ მოდულარული (მულტი-დომენური) აგებულება, სადაც კლასტერ-დამაკავშირებელი დომენები ფერედოქსინების დომენების მსგავსია. მაგ. [4Fe-4S] კლასტერები ხშირად წყვილების სახით გვხვდება. აღნიშნულ შემთხვევაში მათი პოლიპეპტიდური ჯაჭვი ემსგავსება 8 რკინის ატომის შემცველ ფერედოქსინებს (Cammack and MacMillan, 2010).

განარჩევნ კლასტერ-დამაკავშირებელი დომენების რამდენიმე ძირითად ტიპს (Cammack and MacMillan, 2010):

- ფოტოსინთეზში მონაწილე და ციტოქრომ P-450 მონოოქსიგენაზებში შემავალი ფერედოქსინები.
- მოლიბდენ-ჰიდროქსილაზებში (ქსანტინოქსიდაზა) აღმოჩენილი კლასტერები;
- აზოტფიქსაციის ბაქტერიებში (*Clostridium pasteurianum*) არსებული 2Fe-2S ფერედოქსინები;
- სუნთქვითი და ფოტოსინთეზის ელექტრონ-სატრანსპორტო ჯაჭვების შემადგენლობაში შემავალი რისკეს (rieske) ცილები და არაჰემური რკინის შემცველი ოქსიგენაზების მსგავსი კლასტერები.

2Fe-2S კლასტერების სტრუქტურის თავდაპირველი მოდელი (Gibson et al., 1966) დადასტურებულ იქნა Mossbauer და სხვა ეპრ ტექნოლოგიების გამოყენებით. აღმოჩნდა, რომ დაქანგულ მდგომარეობაში რკინის (Fe(III), S=5/2) ორივე ატომი ანტიფერომაგნიტურად იყო შეწყვილებული. გარდა აღნიშნულისა რკინის ერთი ატომი აღდგებოდა Fe(II)-მდე,

## Fe-S კლასტერების ტიპები (Cammack and MacMillan, 2010)

#	კლასტერის ტიპი	დიამაგნიტური მდგომარეობა *	ეპრ გაზომვადი მდგომარეობები	g- ფაქტორი
1	[2Fe-2S],	დაჟანგული (2 <sup>+</sup> )	აღდგენილი (1 <sup>+</sup> )	g=1.94
2	[2Fe-2S] Rieske	დაჟანგული (2 <sup>+</sup> )	აღდგენილი (1 <sup>+</sup> )	g =1.90
3	[3Fe-4S]	აღდგენილი (0)	დაჟანგული (1 <sup>+</sup> )	g=2.01
4	[4Fe-4S]	დაჟანგული (2 <sup>+</sup> )	დაჟანგული (2 <sup>+</sup> )	g=1.94
5	[3Fe-4S] HiPiP	დაჟანგული (2 <sup>+</sup> )	აღდგენილი (2 <sup>+</sup> )	g=2.01

\*-კლასტერის მუხტი გამოითვლება ჯამურად: რკინის იონის მუხტს (3<sup>+</sup> ან 2<sup>+</sup>) დამატებული გოგირდის იონის მუხტი

შედეგად 100K-ზე დაბალ ტემპერატურაზე ჯამური სპინური რიცხვი უტოლდებოდა S=1/2, ხოლო ეპრ სპექტრში g-ფაქტორი g<2.00 (Tsibris and Woody, 1970).

ცნობილია, რომ ცილების უმეტესობაში [4Fe-4S] კლასტერები დაჟანგულ მდგომარეობაში ([4Fe-4S]<sup>2+</sup>) ხასიათდება S=0 მდგომარეობით. ერთი ელექტრონით აღდგენის შემთხვევაში კი მიიღება [4Fe-4S]<sup>+</sup>-ს, რომლის S=1/2 (Cammack and MacMillan, 2010). რაც შეეხება მაღალი პოტენციალის რკინა-გოგირდოვანი ცილებს (HiPiPs), ეს უკანასკნელნი ასევე წარმოადგენენ [4Fe-4S]<sup>2+</sup> კლასტერების შემცველ ფერედოქსინებს, რომლებიც იშვიათად ფიქსირდება ბიოლოგიურ სისტემებში და იჟანგებიან [4Fe-4S]<sup>2+</sup>-მდე. აღნიშნულ შემთხვევაში S=1/2. HiPiPs ცილებს, [4Fe-4S]<sup>2+/1+</sup> ცილებთან შედარებით გააჩნიათ პოტენციალის უფრო მაღალი შუაწერტილი. ისინი ასევე განსხვავდებიან ცილოვანი სტრუქტურით. აღმოჩნდა, რომ დაჟანგულ [4Fe-4S] ცილებში [3Fe-4S] კლასტერები თავდაპირველად დაიკვირვებოდა, როგორც ვიწრო ეპრ სიგნალი (g=2.01), შესაბამისად მათ მიაკუთვნებდნენ HiPiPs ტიპს. მოგვიანებით აღმოჩნდა, რომ მათ რკინის სამი ატომი გააჩნდათ (Beinert and Thomson, 1983). აღნიშნული შრომის ავტორები ვარაუდობენ, რომ [3Fe-4S] კლასტერები მიიღებოდა [4Fe-4S] კლასტერების ოქსიდაციური დაზიანების შედეგად ისეთ ფერმენტებში, როგორიცაა აკონიტაზა (მიტოქონდრიული ფერმენტი), რომელიც არ შედის სუნთქვითი ჯაჭვის შემადგენლობაში (Thomson et al., 1981; Cammack and MacMillan, 2010). მოგვიანებით დადგენილ იქნა, რომ [3Fe-4S] კლასტერები ყოველთვის არ წარმოადგენენ ოქსიდაციური დაზიანების შედეგს და ხშირად გვხვდებიან სხვადასხვა ელექტრონ-გადამტანი ცილების შემადგენლობაში, როგორიცაა მაგ: მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის II კომპლექსი და ნიტრატ-რედუქტაზა (Meyer, 2001).

## თავი II

### კვლევის ობიექტი და მეთოდები

#### 2.1 კვლევის მასალა

კვლევებისათვის გამოიყენებოდა პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით (BHP), მაღალი ხარისხის PIN უბნებიანი (HGPI) კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიითა და პროსტატის ადენოკარცინომით (CaP) დაავადებული მამაკაცების სისხლი და სიმსივნური ქსოვილი.

გამოკვლევები უტარდებოდათ ავადმყოფებს (საშუალო ასაკი 60\_75წ) სიმსივნის პირველადი გამოვლინებისას. დაავადების კლინიკურ სტადიას ადგენდნენ ა.წულუკიძის სახ. უროლოგიის ეროვნულ ცენტრში შემდეგი გამოკვლევების საფუძველზე: წინამდებარე ჯირკვლის დიგიტალურ რექტალური (DRE) და ულტრასონოგრაფიული კვლევა, სისხლში PSA დონის განსაზღვრა და ბიოფსიის მასალის ჰისტო-მორფოლოგიური ანალიზი (გლისონის შკალის მიხედვით). საკონტროლო ჯგუფში წარმოდგენილი იყო შესაბამისი ასაკის, პრაქტიკულად ჯანმრთელი მამაკაცების სისხლი.

აღნიშნულ კვლევებზე გაცემულია ბიოეთიკის ეროვნული საბჭოს დასკვნა (28/05/08, 57-ე საბჭო, სხდომა მე-3). ყველა ავადმყოფისგან მიღებული იქნა ინფორმირებული თანხმობა.

**სისხლიდან ერთროციტების გამოყოფა** ხორციელდებოდა ცენტრიფუგირების საშუალებით 3000 ბრ/წთ, 15 წთ-ის განმავლობაში. ანტიკოაგულანტად ვიყენებდით ნატრიუმის ციტრატის 3.8% -იან ხსნარს.

#### **ქსოვილის ანათლების მომზადება სპექტროსკოპული გაზომვებისათვის:**

ფლუორესცენციული და ელექტრონ-პარამაგნიტური გაზომვებისათვის გამოიყენებოდა პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის სხვადასხვა უბნებიდან მიღებული ანათლები.

სპექტროსკოპული გაზომვებისათვის გამოყენებული კონკრეტული ქსოვილის უბნის ჰისტო-მორფოლოგიური ანალიზი (გლისონის შკალის მიხედვით) ხორციელდებოდა უროლოგიის ეროვნული ცენტრის პათო-მორფოლოგის მიერ.

**ცილის საერთო რაოდენობის განსაზღვრა** სისხლში და მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში ხორციელდებოდა ლოურის მეთოდით (Lowry et al., 1951).

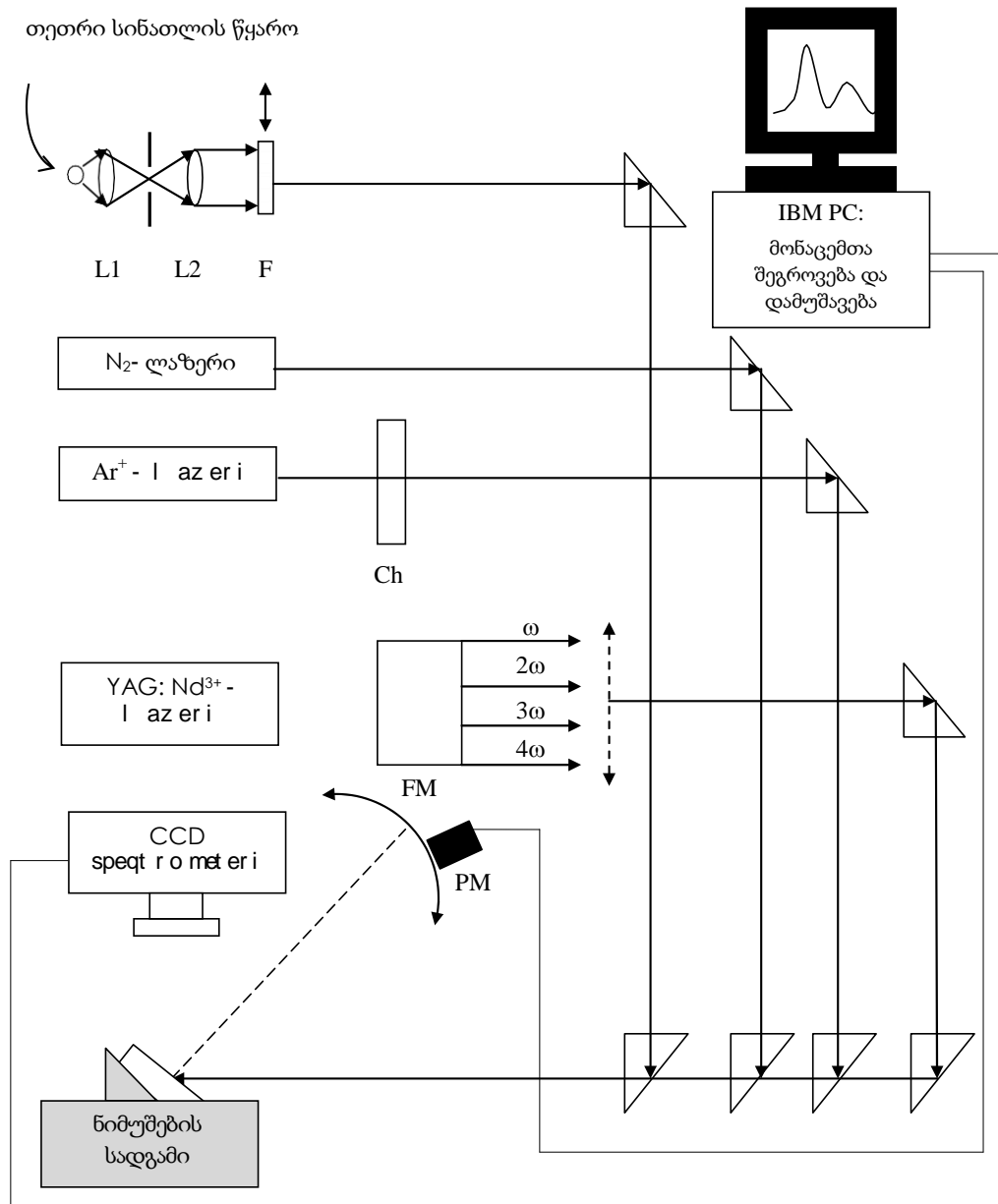
#### 2.2 კვლევის მეთოდები

##### 2.2.1 ლაზერით ინდუცირებული ფლუორესცენციის მეთოდი

(Giorgadze et al., 2006; Jaliashvili et al., 2008)

ფლუოროსცენციული გაზომვისათვის გამოიყენებოდა პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის სხვადასხვა უბნებიდან მიღებული ანათლები. ლაზერით ინდუცირებული ფლუორესცენციაზე დასაკვირვებლად კვლევები ტარდებოდა დანადგარზე - „ლაზერული კანცეროსკოპი“ (სურ.2.1).





სურ. 2.1 ლაზერული კანცეროსკოპის სქემატური გამოსახულება (Jaliashvili et al., 2008)

**დანადგარი ოთხი ძირითადი ბლოკისაგან შედგება:**

- სინათლის წყაროს ბლოკი;
- ნიმუშის განთავსების ბლოკი;
- რეგისტრაციის ბლოკი;
- მონაცემთა შეგროვებისა და დამუშავების ბლოკი;

*L1, L2 – ლინზები; F – ოპტიკური ფილტრი; Ch – მწყვეტარა; FM – სიხშირის გამამრავლებელი არაწრფივი კრისტალები; PM – ფოტოელექტრონული გამამრავლებელი. ნიმუშები მაგრდებოდა მოძრავ სადგამზე.*

დამზადებული ანათალი თავსდებოდა კვარცის მინიკიუვეტაში. ამგვარად მომზადებული საკვლევი ნიმუში მაგრდებოდა დანადგარის სპეციალურ სანიმუშე მაგიდაზე, სადაც ნიმუშს ეცემოდა აზოტის (N<sub>2</sub>) ლაზერის იმპულსური გამოსხივება. აგზნების ტალღის სიგრძე -  $\lambda=3375\text{მ}$ . ლაზერის სხივი ფოკუსირდებოდა ნიმუშის ზედაპირზე 100 მიკრომეტრი დიამეტრის მქონე ლაქის სახით.

სპექტრომეტრად გამოიყენებოდა ფირმა “Spectra Physics”-ის Oriel Line Spec CCD სპექტრომეტრი, MS125<sup>TM</sup> სპექტროგრაფით და მონაცემთა შეკრების, მართვისა და დამუშავების პროგრამული პაკეტით.

ფლუორესცენციის სპექტრების ჩაწერა ხდებოდა 300-560ნმ ტალღის სიგრძის დიაპაზონში და აისახებოდა IBM PC ტიპის კომპიუტერის მონიტორზე და ინახებოდა ASCII ფაილების სახით. თითოეული ექსპერიმენტი მოიცავდა 2000-მდე გაზომვას ყოველი ნიმუშის ყოველ წერტილში. სპექტრების შემდგომი ციფრული დამუშავება და სხვა სპექტრებთან შედარება ხორციელდებოდა “Origin Software” პროგრამული პაკეტით. CCD-სპექტრომეტრის სამუშაო რეჟიმში გაყვანის შემდგომ კომპიუტერის მონიტორის ეკრანზე ხორციელდებოდა ქსოვილის ლაზერით ინდუცირებული ფლუორესცენციის სპექტრებზე დაკვირვება. CCD დეტექტორით ფლუორესცენციის სპექტრის ჩაწერა შესაძლებელი ხდებოდა ტალღის სიგრძეთა მთელ დიაპაზონში ერთდროულად, ერთი გაზომვის პირობებში.

## 2.2.2 ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) მეთოდი (Блюменфельд, 1962)

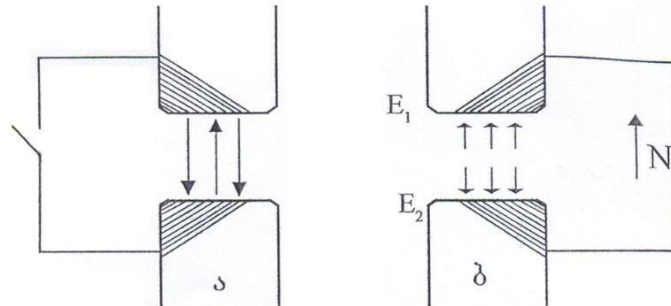
ეპრ-მეთოდი დამყარებულია გაუწყვილებელი ელექტრონების მაგნიტური მომენტების ურთიერთქმედებაზე მაგნიტურ ველთან. ცნობილია, რომ ატომებში ელექტრონები მოძრაობენ ბირთვის გარშემო გარკვეულ ორბიტაზე. ამ დროს ელექტრონი თავის გარშემო წარმოქმნის მაგნიტურ ველს, ე.ი. ორბიტაზე ელექტრონის მოძრაობა იწვევს ორბიტალური მაგნიტიზმის გამოვლინებას. ბირთვის გარშემო ორბიტალური მოძრაობის გარდა, ელექტრონებს ახასიათებთ საკუთარი ღერძის გარშემო მექანიკური ბრუნვა, რომელსაც სპინი ეწოდება. ამ დროს წარმოქმნილ მაგნიტურ მომენტს კი სპინური მაგნიტური მომენტი ეწოდება. გარეგანი მაგნიტური ველის არარსებობის შემთხვევაში გაუწყვილებელი ელექტრონების მაგნიტური მომენტები ქაოსურად არიან ორიენტირებულნი და გააჩნიათ ერთნაირი ენერგია. ამ დროს ადგილი აქვს ენერგეტიკული დონის ჩაქრობას (სურ. 2.2.ა). იმ შემთხვევაში თუ ნიმუშს მოვათავსებთ მუდმივ მაგნიტურ ველში, წარმოიქმნება ენერგეტიკული დონეები, რაც ელექტრონების განსაზღვრულ ორიენტაციასთან არის დაკავშირებული (სურ. 2.2.ბ).

ამგვარად, გარეგანი მაგნიტური ველის მოქმედებისას ელექტრონული დონეები იხლიჩებიან ორ ქვედონედ ქვანტური რიცხვით  $+\Delta m$ ;  $-\Delta m$ . ორ დონეს შორის ენერგეტიკული სხვაობა გამოისახება ფორმულით:  $\Delta E = g\beta H$ ,

სადაც:

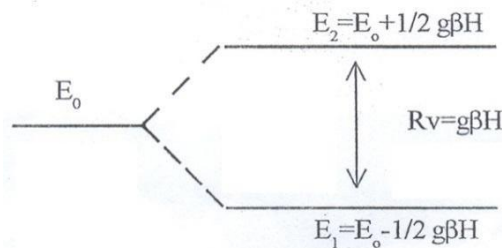
- $H$ -მაგნიტური ველის დამაბულობაა;
- $\beta = eh/4gmec$  - ბორის მაგნიტონია და ტოლია  $9,274 \times 10^{-24}$  ჯ ტლ<sup>-1</sup>;

- $e^-$  -ელექტრონის მუხტია და ტოლია  $1,6 \times 10^{-19}$  კლ;
- $m_e$  - ელექტრონის მასაა და ტოლია  $9,1 \times 10^{-31}$  კლ;
- $h$  - კაპლანის მუდმივა
- $c$  – სინათლის სიჩქარე
- $g$  - სპექტროსკოპული გახლეჩვის ფაქტორი



სურ. 2.2. ელექტრონების მაგნიტური მომენტების ორიენტაციის სქემა გარეგანი მაგნიტური ველის მოქმედების გარეშე (ა) და ნიმუშის მუდმივ მაგნიტურ ველში მოთავსებისას (ბ).

2.3 სურათზე წარმოდგენილია სქემა, რომელიც ასახავს გაუწყვილებელი ელექტრონის ენერგეტიკული დონის გახლეჩვას (სისტემის სპინური ქვანტური რიცხვი  $S=1/2$ ) გარეგანი მაგნიტური ველის მოქმედებით.



სურ. 2.3. გაუწყვილებელი ელექტრონის ენერგეტიკული დონის გახლეჩვის სქემა, გარეგანი ველის მოქმედებისას.

იმ ნაწილაკების ენერგია, რომელთა სპინები ორიენტირებულია ველის მიმართულებით,  $1/2g\beta H$ -ით ნაკლებია იმ ნაწილაკების ენერგიაზე, რომლებიც გარე მაგნიტური ველის მოქმედებას არ განიცდიან ( $E_1 = E_0 - 1/2g\beta H$ ), შესაბამისად ენერგიების სხვაობა ქვედა  $E_1$  და ზედა  $E_0$  დონეებს შორის ტოლია  $g\beta H$ -ის. ენერგეტიკულ დონეებზე ელექტრონების გადანაწილება დამოკიდებულია ტემპერატურაზე და აღინიშნება ბოლცმანის განაწილებით, სადაც  $n_1$  და  $n_2$  ზემო და ქვემო დონეების დასახელებაა. ორ ენერგეტიკულ დონეს შორის შეიძლება განხორციელდეს ენერგეტიკული გადასვლები, რასაც თან სდევს სპინების ორიენტაციის ცვლილება საპირისპირო მიმართულებით. ქვანტური მექანიკის ძირითადი პრინციპების თანახმად, ასეთი გადასვლები შეიძლება განხორციელდეს ქვანტის ( $h\nu$ ) შთანთქმით. იმ შემთხვევაში თუ მუდმივ მაგნიტურ ველში მყოფ სისტემაზე ვიმოქმედებთ ცვალებადი ზემადალი სიხშირის ელექტრო-მაგნიტური ველით, რომლის ქვანტური სიხშირეა  $\nu$  და ენერგია  $h\nu$ , მაშინ რეზონანსის

პირობებში  $\Delta E = h\nu = g\beta H$  ხორციელდება მითითებულ დონეებს შორის გადასვლა. ქვედა  $E_1$  დონიდან ზედა  $E_2$  დონეზე გადასვლისას ადგილი აქვს ელექტრომაგნიტური ველის ენერჯის შთანთქმას, ხოლო  $E_2$ -დან  $E_1$ -ზე ენერჯის გამოსხივებას. ქვედა დონიდან ზედა დონეზე და პირიქით გადასვლების თეორიული ალბათობა თანაბარია. იქიდან გამომდინარე, რომ ქვედა ენერგეტიკული დონე მეტადაა დასახლებული ოთახის ტემპერატურეს პირობებში, რეალურად ქვემოთა და ზემოთ გადასვლების რაოდენობა მეტია ზემოთა და ქვემოთ გადასვლების რიცხვზე.

ეპრ-სპექტრის ძირითადი მახასიათებელი პარამეტრია სპექტროსკოპული გახლეჩვის ფაქტორი ( $g$ ), შთანთქმის ზოლის ინტენსივობა (ნიმუშის გაუწყვილებელი ელექტრონების რაოდენობა), ეპრ-სპექტრის ხაზის ფორმა და სიგანე, ეპრ-სპექტრის ზენატიფი სტრუქტურა (ზნს).

გ-სპექტროსკოპული გახლეჩვის ფაქტორი განსაზღვრავს, თუ რამდენად ახლოს დგას თავისი თვისებებით გაუწყვილებელი ელექტრონი თავისუფალ ელექტრონთან (რომლის მაგნიტიზმი გამოწვეულია მხოლოდ სპინით და ტოლია  $g=2,0023$ ). პარამაგნიტური ცენტრების დიდი უმრავლესობისათვის  $g$  ფაქტორი განსხვავდება თავისი მნიშვნელობით  $g=2,0023$ -ისაგან, ან მეტია მასზე ან ნაკლები. შთანთქმის ზოლის სიგანე დამოკიდებულია პარამაგნიტური ცენტრების კონცენტრაციაზე. მისი საშუალებით ვიღებთ ინფორმაციას როგორც გაუწყვილებელი ელექტრონების ურთიერთქმედებაზე, ასევე მათი ურთიერთქმედების მექანიზმზე მესერთან. ეპრ-სპექტრის სიგანე იზომება ერსტედებში და განისაზღვრება სტანდარტული ნიმუშის ზუსტად ცნობილ მნიშვნელობასთან შედარების საშუალებით. მაგნიტური ბირთვის შემცველი პარამაგნიტური ცენტრების ეპრ-სპექტრში შეიმჩნევა ზენატიფი სტრუქტურები. ისინი წარმოიქმნებიან გაუწყვილებელი ელექტრონების ურთიერთქმედების შედეგად ბირთვის მაგნიტურ მომენტთან, რაც თავის მხრივ, იწვევს თითოეული ენერგეტიკული დონის გახლეჩვას  $2J+1$  დონედ, რის შედეგადაც რეზონანსული შთანთქმაც იხლიჩება  $2J+1$  ერთი და იგივე ინტენსივობის ერთმანეთისაგან თანაბრად დაშორებულ ზოლად.

### ეპრ-ნიმუშის მომზადება

საკვლევ ობიექტს (~0.5 გრ პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის ანათალს) ვდებდით ეპრ-ის სპეციალურ კვარცის წკირში და ვყინავდით თხევად აზოტში. ეპრ-სპექტრების ჩაწერა ხორციელდებოდა 90-100 K პირობებში, სპექტრომეტრზე: Bruker ER 200D-SRC Spectrometer System.

### 2.2.3 მიტოქონდრიების გამოყოფის მეთოდი

(Martínez et al., 1997; Egorova and Afanasyev, 2011)

ტრანსურეთრალური რეზექციის შემდგომ მიღებულ სიმსივნურ ქსოვილს ვათავსებდით კოლბაში, რომელსაც ვამატებდით 30 მლ. ყინულოვან გამოყოფის არეს (0,001M EDTA (pH7,4); 0,25Mსაქაროზას) და ვრეცხავდით. 2-3 ჯერადი გარეცხვის შემდგომ პეტრის ჯამზე დანით ვკეპავდით, რომელიც იდგა ყინულზე. მიღებულ მასას ისევ ვათავსებდით კოლბაში და ვასხავდით ახალ გამოყოფის არეს, ისევ ვრეცხავდით,

ვაყოვნებდით. დაქუცმაცებული ქსოვილის ნაწილების დალექვის შემდგომ ხსნარს ვასხავდით ფრთხილად და რეცხვას ვიმეორებდით კიდევ 2-ჯერ. რამდენჯერადი გარეცხვის შემდგომ ქსოვილი გადაგვექონდა ჰომო-გენიზატორში, ვუმატებდით 40 მლ. გამომყოფ არეს და ვახდენდით ჰომოგენიზაციას 30-40წმ. მიღებულ ჰომოგენატს კვლავ ვუმატებდით ახალ 40 მლ. გამომყოფ არეს და მხოლოდ ამის შემდგომ ვაცენტრიფუგირებდით 3000 ბრ/წთ (~600g) 10წთ-ის განმავლობაში (0\_4°C-ზე) დაშლილი უჯრედული ნაწილაკების და ბირთვული ფრაქციის მოსაცილებლად. სუპერნატანტს ფრთხილად ვაცილებდით, ვინახავდით ყინულში. მიღებულ ნალექს ვაერთიანებდით და კვლავ ვახდენდით ჰომოგენიზაციას 20წმ-ის განმავლობაში 20 მლ. გამომყოფ არეში. ჰომოგენატს ვაცენტრიფუგირებდით 600g\_ზე, 10 წთ. მიღებულ სუპერნატანტს ვაერთიანებდით ადრე მიღებულ სუპერნატანტთან.

მიტოქონდრიების მისაღებად გაერთიანებულ სუპერნატანტს ვაცენტრიფუგირებდით 14000g\_ზე 10წთ. მიღებულ 1 მლ. ნალექს ვასუსპენდირებდით 0,5მლ გამომყოფის არეში. შემდგომ მთელ მასას ვუმატებდით 40 მლ. გამომყოფ არეს, მცირე პორციებით, ფრთხილი შენჯღრევით და ვაცენტრიფუგირებდით 14000g\_ზე 10წთ. მიღებულ მიტოქონდრიალურ ნალექს ვასუსპენდირებდით 0,25M საქაროზას ხსნარში, რომელიც არ შეიცავდა EDTA\_ს. ნალექს კვლავ ვაცენტრიფუგირებდით (14000g, 10წთ). მიღებულ ნალექს ფრთხილად ვუმატებდით 0,2\_0,3მლ 0,25M საქაროზას ხსნარს. ფრთხილი შენჯღრევით ვაცილებდით ნალექსედა შრეს. აღნიშნულ პროცედურას ვიმეორებდით 2-ჯერ. მიღებულ მიტოქონდრიულ ნალექს პიპეტის საშუალებით განმეორებით ვასუსპენდირებდით 0,4\_0,5 მლ 0,25 M საქაროზაში. ვიღებდით მიტოქონდრიულ სუსპენზიას. მიტოქონდრიული მკვრივი სუსპენზია გადაგვექონდა სინჯარაში და ვინახავდით ყინულში.

#### 2.2.4. სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის განსაზღვრა

(Brusque et al., 2002)

4 მლ მოცულობის სინჯარაში შეგვექონდა 0,3 მლ Na-ფოსფატური ბუფერი (pH7,4) რასაც ვუმატებდით 0,2 მლ Na-სუქცინატის (0,5M) ხსნარს, 0,2 მლ ფენა-ზინსულფატს (0,02M), 0,2 მლ კალიუმის ციანიდს (0,05M) და 0,2 მლ 2,6\_დიქლორფენოლინდოფენოლის (0,001M) ხსნარებს. სინჯარის შიგთავსს ვურევდით და ვათავსებდით 37°C წყლის აბაზანაზე 2\_3 წუთი. შემდგომ ეტაპზე სინჯარაში შეგვექონდა მიტოქონდრიული სუსპენზია (0,1\_0,20 მგ. ცილა 0,1\_0,2 მლ. ბუფერულ ხსნარში). ხსნარის ოპტიკურ სიმკვრივეს ვზომავდით 600 ნმ\_ზე ყოველ 15 წამში 2 წთ\_ის განმავლობაში. ანალოგიურად ვზომავდით ოპტიკურ სიმკვრივეს ნიმუშში, რომელიც არ შეიცავდა სუქცინატს.

სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის განსაზღვრისათვის ფერმენტის ენდოგენური აქტივობის სიდიდეს ვაკლებდით სიდიდეს, რომელიც ასახავდა სუქცინატ-დეჰიდროგენაზას აქტივობას ნიმუშში, რომელიც არ შეიცავდა სუქცინატს. საკონტროლო კიუვეტაში (რომლის მიმართაც ვსაზღვრავდით ყველა ნიმუშის ოპტიკურ სიმკვრივეს) შეგვექონდა ბუფერული ხსნარი. მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში ფერმენტის აქტივობას ვსაზღვრავდით მომენტალურად (2-3 წთ-ში).

სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობას ვსაზღვრავდით ოპტიკური სიმკვრივის ცვლილებით 1 წთ/1მგ ცილაზე. ფერმენტის აქტივობას გამოვსახავდით დაჟანგული სუქცინატის რაოდენობაზე გადაანგარიშებით ნანომოლებში. მხედველობაში ვიღებდით, რომ ოპტიკური სიმკვრივის 1,0 ერთეულით შემცირება ექვივალენტურია 60 ნანომოლი (6 მოლი) აღდგენილი 2,6-დიქლორფენოლინდოფენოლისა, ხოლო აღდგენილი საღებავის რაოდენობა პროპორციულია დაჟანგული სუქცინატის რაოდენობის, ერთეული-ნანომოლ/წთ.

### 2.2.5. ციტოქრომოქსიდაზას აქტივობის განსაზღვრა (Алейникова, 1988)

სინჯარაში შეგვქონდა 0,2\_0,3 მლ. მიტოქონდრიული სუსპენზია (0,4\_0,5 მგ. ცილაზე გადაანგარიშებით) რომელსაც ვუმატებდით 0,01M Na-K ფოსფატის ბუფერს (pH7,4) და 2 მლ. 0,04% ციტოქრომ C წყალხსნარს. მიღებული მასა მიგვყავდა დისტილირებული წყალით 1 მლ-მდე. ნიმუშს ვაინკუბირებდით 37°C-ზე 2 წთ-ის განმავლობაში, შემდგომ ვუმატებდით 0,1 მლ. დიმეთილ-*p*-ფენილ-ენდიამინის (0,4%) ხსნარს და ვაყოვნებდით წითელი შეფერილობის მიღებამდე (1-3წთ). ინკუბაციის შემდგომ ნიმუშს ვაცივებდით ყინულიან აბაზანაზე და ვახდენდით ექსტრაქციას მიღებულ შეფერილ პროდუქტს ვაექსტრაგირებდით (1:4) სპირტისა და ტეტრა-ქლორეთილენის (3:1) ნარევით. ექსტრაქციის წინ, ხსნარის დამატებამდე, ნიმუშის pH მიგვყავდა 5,6 - 6,0 მნიშვნელობამდე. შემდგომ ეტაპზე ნიმუშს ვაცენტრიფუგირებდით ნალექის მოსაცილებლათ. გამჭირვალე შეფერილობის სუპერნატანტი ფრთხილად გადაგვქონდა სინჯარაში და ვზომავდით ოპტიკურ სიმკვრივეს 510 ნმ-ზე მაექსტრაგირებელი ხსნარის საწინააღმდეგოდ. აქვე უნდა აღვნიშნოთ, რომ შეფერილობა მდგრადია მხოლოდ 10 წთ განმავლობაში.

საკონტროლო ნიმუშს ვამზადებდით ანალოგიურად, თუმცა მიტოქონდრიებზე ციტოქრომ-*C* დამატების შემდგომ ნიმუშში შეგვქონდა 1 მლ აბსოლუტური ეთილის სპირტი (96%) რეაქციის შესაჩერებლად.

#### საკალიბრო მრუდი:

რეაქტივები:

- 0,02% კალიუმის ბიქრომატი;
- Na-K ფოსფატური ბუფერი;
- 0,01% დიმეთილ-*p*-ფენილენდიამინის ხსნარი;

#### ცდის მსვლელობა:

ვამზადებდით სინჯარების რამდენიმე რიგს, რომლებშიც თითოეულში ცალ-ცალკე შეგვქონდა დაახლოებით 0,1-0,9 მლ-მდე 0,02% კალიუმის ბიქრომატი, 1 მლ Na-K ბუფერი და 1 მლ. 0,01% დიმეთილ-*p*-ფენილენდიამინის ხსნარი. მთლიანი მასა მიგვყავდა 4 მლ-ის ნიშნულამდე დისტილირებული წყლით.

სინჯარების პირველ რიგში შეგვქონდა 0,01% დიმეთილ-*p*-ფენილენდიამინის 0,15 მლ, მეორე რიგში 0,2 მლ, მესამეში 0,25 მლ, ხოლო მეოთხეში კი 0,3 მილი-ლიტრი. ვახდენდით მიღებული ნიმუშების ვაექსტრაგირებდით 4 მლ სპირტისა და ტეტრაქლორეთანის (3:1) ნარევით. ~3-5წუთში ვზომავდით ოპტიკურ სიმკვრივეს 510 ნმ-ზე. ციტოქრომოქსიდაზას აქტივობას გამოვსახავდით დაჟანგული დიმეთილ-*p*-

ფენილენდიამინის რაოდენობის ცვლილების მიხედვით, ნანომოლ/წთ- ში.

### **2.2.6 გლუტათიონპეროქსიდაზას (GSH-Px) აქტივობის განსაზღვრა** (Habig and Jacoby, 1981; Kanbagli et al., 2002)

ფერმენტ გლუტათიონპეროქსიდაზას (GSH-Px) აქტივობის განსაზღვრის მიზნით 0.2 მლ მიტოქონდრიულ სუსპენზიას ვუმატებდით საინკუბაციო სარეაქციო არეს შემდეგი შემადგენლობით: 1 მლ 0,3 M ფოსფატის ფოსფატური ბუფერი (pH7.4) რომელსაც დამატებული ჰქონდა 12 mM Na<sub>3</sub>N და 6m M EDTA; 0.5 მლ 2.5 mM GSH; 0.5 მლ 1.8 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ის დამატებიდან 2 წთ-ის შემდგომ ვუმატებდით 1 მლ 10%-იან ტრიქლორმარმჟავას და ვაცენტრიფუგირებდით 3000 ბრ/წთ-ზე 15 წთ-ის განმავლობაში.

დაჟანგული გლუტათიონის შთანთქმას ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრზე 260 ნმ-ზე. ფერმენტის აქტივობა გამოისახებოდა მიკრომოლი/წთ/1მგ ცილაზე გადაანგარიშებით.

### **2.2.7. გლუტათიონრედუქტაზას (GR) აქტივობის განსაზღვრა** (Habig and Jacoby, 1981; Kanbagli et al., 2002)

ფერმენტ გლუტათიონრედუქტაზას (GR) აქტივობის განსაზღვრის მიზნით 0.2 მლ მიტოქონდრიულ სუსპენზიას ვუმატებდით სარეაქციო არეს შემდეგი შემადგენლობით: 2 მლ 0.05M ფოსფატის ბუფერს (pH 8.0) რომელსაც დამატებული ჰქონდა 0.2 მლ 1mM EDTA, 0.5 მლ 7.5mM GSSG, 0.1 მლ 1.2mM NADPH. სარეაქციო არეს მიტოქონდრიულ სუსპენზიასთან ერთად ვაინკუბირებდით 37°C-ზე 10 წთ-ის განმავლობაში. ფერმენტის აქტივობას ვსაზღვრავდით 340 ნმ-ზე (შთანთქმის სპექტრი). აქტივობა გამოისახებოდა დაჟანგული სუბსტრატის რაოდენობაზე გაანგარიშებით, მიკრომოლი/წთ-ში, 1მგ ცილაზე.

### **2. 2.8. ალდგენილი გლუტათიონის (GSH) კონცენტრაციის განსაზღვრა** (Habig and Jacoby, 1981; Kanbagli et al., 2002)

ალდგენილი გლუტათიონის (GSH) კონცენტრაციის განსაზღვრის მიზნით 0.2 მლ მიტოქონდრიულ სუსპენზიას ვუმატებდით 1.8 მლ დისტილატს. მიღებულ ნარევს ვუმატებდით 0.2 მლ 0.6N ქლორის მჟავას. ნარევს ვაცენტრიფუგირებდით 3000 ბრ/წთ 10 წთ-ის განმავლობაში ნალექის მოსაცილებლად. ფრთხილად ვიღებდით სუპერნატანტს. სუპერნატანტის 1 მლ-ს ვუმატებდით 3.0 მლ 0.4M Tris·HCl ბუფერს (pH 9.2) და 0.05 მლ დითიონიტრობენზოის მჟავას (DTNB) (3.7 მგ – 1 მლ ეთანოლში). შედეგის

ინტენსივობას ვზომავდით სპექტროფოტომეტრზე 412 ნმ-ზე. GSH შემცველობა გამოისახებოდა მკმოლ/მგ ცილაზე.

### 2.2.9 ერთროციტების მემბრანის სორბციის უნარის განსაზღვრის მეთოდი (Dobrotyna et al., 2010)

ვენიდან აღებულ 4მლ სისხლს ვათავსებთ სინჯარაში, რომელშიც წინასწარ ესხა 1მლ 3,8% ნატრიუმის ციტრატის ხსნარი. ვურევდით და ვაცენტრიფუგირებდით 3000ბრ/წთ 10 წუთის განმავლობაში. პლაზმის მოცილების შემდეგ 1მლ ერთროცოტული მასა გადაგვქონდა სინჯარაში, რომელშიც მოთავსებული იყო 3მლ 0,0025% მეთილენის ლურჯი, ვურევდით და ინკუბაციას ვახდენდით 10-12წთ-ის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე. რის შემდეგაც ვაცენტრიფუგირებდით 3000ბრ/წთ 10 წთ-ის განმავლობაში. ნალექზედა სითხე გადაგვქონდა ფოტოელექტროკოლორიმეტრის კიუვეტაში და ვსაზღვრავდით საწყისი ხსნარის და ნალექზედა სითხის ოპტიკურ სიმკვრივეს ფიზიოლოგიური ხსნარის მიმართ, 630ნმ ტალღის სიგრძეზე. შთანთქმული საღებავის რაოდენობას ვითვლიდით ფორმულით:

$$A\% = 100 - C \cdot 100 / B,$$

სადაც:

A - შთანთქმული საღებავის რაოდენობა %-ში;

B - საღებავის საწყისი ხსნარის ოპტიკური სიმკვრივე;

C - ერთროციტებთან ინკუბირებული საღებავის ოპტიკური სიმკვრივე.

### 2.2.10 ერთროციტების განვლადობის განსაზღვრის მეთოდი (Musselius, 2008)

ციტრატით სტაბილიზებულ სისხლს ვაცენტრიფუგირებდით, ვიღებდით ერთროციტული მასის 0,5მლ-ს და ვანზავებდით ფიზიოლოგიური ხსნარით 1:2 თანაფარდობით. მიღებული ნარევიდან თანამიმდევრობით ვიღებდით 0,1 მლ და გადაგვქონდა 3 ცენტრიფუგის სინჯარაში. შემდეგ ცენტრიფუგის თითოეულ სინჯარას ვუმატებდით წინასწარ მომზადებულ სამუშაო ხსნარების (შარდოვანა+ფიზიოლ. ხსნარი) 5-5 მლ-ს, შარდოვანას მზარდი კონცენტრაციით (ცხრილში მოცემული თანაფარდობებით). 2-3 წთ-ის შემდეგ სინჯარებს ფრთხილად ვანჯღრევდით, ვაცენტრიფუგირებდით და ვსაზღვრავდით თითოეული სინჯის ნალექზედა სითხის ოპტიკურ სიმკვრივეს დისტილატის მიმართ ფოტოელექტროკოლორიმეტრზე მწვანე შუქფილტრით.

ერთროციტების მემბრანის განვლადობის ერთიანი მნიშვნელობის განსაზღვრა ხდება ფორმულით:

$$Y = (X/C - A) / B,$$

სადაც:

Y - განვლადობის მაჩვენებელია, რომელიც მიიღება შარდოვანას კონკრეტული კონცენტრაციის გამოყენების შედეგად (სამუშაო ხსნარში) ( $y_1$ ;  $y_2$ ;  $y_3$ );

X - ხსნარის ოპტიკური სიმკვრივე შარდოვანას ყოველი კონცენტრაციისათვის ( $x_1$ ;  $x_2$ ;  $x_3$ );

A და B - შარდოვანას თითოეული კონცენტრაციის შესაბამისი კოფიციენტი;

C - შარდოვანას კონცენტრაცია სამუშაო ხსნარში ( $c_1$ ;  $c_2$ ;  $c_3$ ).



	შარდოვანა+ფიზიოლ. (%)	შარდოვანა+ფიზიოლ. (%)	შარდოვანა+ფიზიოლ. (%)
კოეფიციენტი	45:55	50:50	55:45
<b>A</b>	-2,245182	- 0,9170523	-0,5556689
<b>B</b>	1,171146	0,535723	0,3056333

$$Y \text{ საერთო} = Y1 \cdot Y2 \cdot Y3$$

### 2.2.11. კრეატინინის განსაზღვრა სისხლის პლაზმაში (Orlowski, 1955)

კრეატინინის განსაზღვრის სტანდარტული მეთოდით სისხლს შრატში ან პლაზმაში, რომელიც შემოთავაზებულია პოპერის მიერ.

ვილებდით 2 მლ სისხლის პლაზმას ვუმატებდით 6 მლ პიკრინის მჟავას, ვაყოვნებდით 5 წუთს, ხსნარის მომზადების შემდგომ ვდგმდით ცხელი წყლის აბაზანაზე 15-20 წამი, ვაცენტრიფუგირებდით. ცენტრიფუგირების შემდეგ ვილებდით 4 მლ ნალექზედა ხსნარს ვუმატებდით 2,5 მოლ/ლ NaOH 0,2მლ. ხსნარს და ვავსებდით 10მლ-მდე გამოხდილი წყლით. 10 წუთის შემდეგ ვსაზღვრავდით ხსნარის ოპტიკურ სიმკვრივეს ფოტოელექტროკოლორიმეტრზე 500-560ნმ ტალღის სიგრძეზე. კრეატინინის რაოდენობას გამოვსახავდით მიკრომოლი/ლ -ში

საკონტროლო სინჯს ვამზადებდით შემდეგნაირად: 3მლ. პიკრინის მჟავას დამზადებულ ხსნარს ვუმატებდით 0.2 მლ 2.5 მოლარულ NaOH და ვავსებდით 10 მლ-მდე გამოხდილი წყლით.

### 2.2.12. საშუალო მოლეკულური მასის ნაერთების განსაზღვრა (Ermolov et al., 2001)

მეთოდი მოიცავს საშუალომოლეკულური მასის ნივთიერებების განსაზღვრას სისხლის პლაზმასა ერთროციტებში 15%-იანი ტრიქლორ მჟავით (TXY), ნალექზედა სითხის განსაზღვრა ხდება სპექტროფოტომეტრზე 242, 246, 254, 258, 266, 274, 282 და 298 ნმ ტალღის სიგრძეზე.

საშუალო მოლეკულური მასის ნაერთების განსაზღვრისათვის 1 მლ. ერთროციტულ მასას და პლაზმას ვუმატებდით 0.5მლ. 15%-იან TXY-ს ვურევდით მინის წკირით, ვახდენდით ინკუბაციას ოთახის ტემპერატურაზე 5-7 წუთი, შემდეგ ვაცენტრიფუგირებდით 30 წუთი 3000ბრ/წთ. ცენტრიფუგირების შემდეგ 0.5 მლ ნალექზედა ხსნარს ვუმატებდით 4.5 მლ დისტილატს, ვათავსებდით სპექტროფოტომეტრში. კონტროლად ვიყენებდით დისტილატს.

საშუალო მოლეკულური ნაერთების საერთო დონე გამოითვლება ფორმულით:

$$\text{სმმნ}_{\text{საერთო}} = (E_{242} + E_{246} + E_{254} + E_{258} + E_{266} + E_{274} + E_{282} + E_{298})$$

სინჯები ისაზღვრებოდა 242ნმ-დან 298ნმ ტალღის სიგრძეზე.

### 2.2.13. ენდოგენური ინტოქსიკაციის ხარისხის განსაზღვრა (Ermolov et al., 2001).

ენდოგენური ინტოქსიკაციის ხარისხი დამოკიდებულია საშუალო მოლეკულური მასის ნაერთების (სმმნ) გადანაწილებაზე პლაზმასა და ერითროციტებს შორის. აღნიშნულიდან გამომდინარე ორგანიზმის ინტოქსიკაციის შეფასების მიზნით გამოიყენება ენდოგენური ინტოქსიკაციის კოეფიციენტი (ეიკ), რომელიც დამოკიდებულია სმმნ-ის რაოდენობაზე პლაზმაში და ერითროციტების მემბრანაზე. ეიკ წარმოადგენს შეფარდებას პლაზმასა და ერითროციტებში სმმნ-ის რაოდენობას შორის.

$$\text{ეიკ} = \text{სმმნ პლაზმაში} / \text{სმმნ ერითროციტებში}$$

ეიკ-ის მნიშვნელობა დამოკიდებულია თავის მხრივ ერითროციტების სორბციულუნარიანობაზე, რადგან ერითროციტების მიერ ტოქსიური მეტაბოლიტების ადსორბირებისა და ტრანსპორტირების უნარი განსაზღვრავს ტოქსინების საერთო რაოდენობას სისხლის სისტემაში, ანუ ორგანიზმის რეალურ ტოქსიურ დატვირთვას. აღნიშნულთან დაკავშირებით შემოტანილია ენდოგენური ინტოქსიკაციის ხარისხი (ეიხ), რომელიც ასახავს დამოკიდებულებას სისხლის სისტემაში სმმნ-ის საერთო რაოდენობასა და ერითროციტებთან ადსორბირებულ სმმნ-ს შორის. ეიხ ასახავს ორგანიზმის რეალურ ტოქსიურ დატვირთვას და გამოითვლება როგორც:

$$\text{ეიხ} = (\text{სმმნ პლაზმაში} + \text{სმმნ ერითროციტებში}) \times \text{ეიკ}$$

### 2.2.14 მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება

მიღებული შედეგები გაანალიზირებული იქნა შესაბამისი სტატისტიკური მეთოდებით, საჭიროების მიხედვით:

- სტანდარტული პარამეტრული სტიუდენტის *t*-ტესტით;
- One way ANOVA

*P*-ს მნიშვნელობა <0.05 მიჩნეულ იქნა სტატისტიკურად მნიშვნელოვან და ღირებულ მაჩვენებლად.

მონაცემების სტატისტიკური დამუშავებისთვის და გრაფიკების აგებისთვის გამოყენებულ იქნა კომპიუტერული პროგრამა **Graphpad Prisma 6**.

## თავი III

### მიღებული შედეგების ანალიზი და განხილვა

#### 3.1 პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის ეპითელური უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი.

##### მიტოქონდრიული დეფექტები: სუნთქვითი ჯაჭვის ფერმენტები და მიტოქონდრიული ანტიოქსიდანტური სისტემა

ცნობილია, რომ ნებისმიერი სიმსივნის და მათ შორის პროსტატის კიბოს გენეზისი მნიშვნელოვნად არის დაკავშირებული მეტაბოლურ ტრანსფორმაციასთან (Dakubo et al., 2006; Khandrika et al., 2009), რაც უპირველეს ყოვლისა ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილებით არის განპირობებული. ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილება კი თავის მხრივ მჭიდროდაა დაკავშირებული მიტოქონდრიული ფერმენტების (სუნთქვითი ჯაჭვისა და კრებსის ციკლის) შეცვლილ აქტივობასთან.

ამგვარად, პროსტატის სიმსივნეების განვითარებაში მიტოქონდრიის როლის შესწავლა განსაკუთრებით აქტუალურია, ვინაიდან პროსტატის პერიფერიული ზონის ეპითელური უჯრედების (პერიფერიულ ზონა მოიცავს პროსტატის ჯირკვალის 70%, ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის 80% კი სწორედ აღნიშნულ უბანზე მოდის, McNeal et al., 1988) ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი სხვა ტიპის სიმსივნეებისაგან განსხვავებით, სპეციფიურია. ნორმაში აღნიშნულ უჯრედებს აქვთ კრებსის ციკლის არასრული აქტივობა, სუნთქვისა და ტერმინალური ჟანგვის დაბალი დონე, ისინი ენერგეტიკულად არაეფექტურები არიან და მხოლოდ უმნიშვნელო რაოდენობით ელექტრონების გენერირება შეუძლიათ სატრანსპორტო ჯაჭვისათვის (Dakubo et al., 2006). შესაბამისად, პროსტატის ეპითელურ უჯრედებში ადგილი აქვს ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების (ROS) პროდუცირებას ძალიან დაბალი ინტენსივობით, რაც ადვილად ექვემდებარება დეტოქსიფიკაციის უჯრედულ მექანიზმებს (Lim et al., 2005).

პროსტატის ჯირკვლოვანი ეპითელიუმის ავთვისებიან ტრანსფორმაციას, განსხვავებით სხვა სიმსივნეებისაგან, თან ახლავს კრებსის ციკლის აქტივობის ზრდა, რაც სავარაუდოდ, უნდა იწვევდეს ელექტრონების პროდუცირების მატებას მიტოქონდრიული ელექტრონმატრანსპორტირებელი ჯაჭვისათვის. აღნიშნულ პირობებში ელექტრონები შესაძლებელია მოხვდნენ უშუალოდ ჟანგბადზე, რაც თავის მხრივ გამოიწვევს ROS-ის პროდუქციის მნიშვნელოვან გაძლიერებას (Khandrika et al., 2009; Nijtmans and Smeitink, 2007). შედეგად მოსალოდნელია მუტაციების სწრაფი `აფეთქება` მიტოქონდრიულ გენომში და გენომური ცვლილებების კრიტიკულ დონემდე მიღწევა (Chen et al., 2003; Petros et al., 2005; Khandrika et al., 2009). ოქსიდაციური სტრესის პირობებში უჯრედის გენომის დაზიანება თავისთავად უნდა გახდეს ანტიოქსიდანტური სისტემის ფერმენტების მაკოდირებელი გენების დაზიანებისა და შესაბამისად აღნიშნული სისტემების აქტივობის ცვლილების მიზეზი. გარდა აღნიშნულისა გლიკოლიზიდან ოქსიდაციურ ფოსფორილირებაზე გადასვლა პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში უნდა იწვევდეს სიმსივნური ქსოვილის უჯრედების მიტოქონდრიუმში გარკვეულ

დარღვევებს და მიტოქონდრიული ფერმენტების აქტივობის ცვლილებას. კერძოდ კი, სუნთქვის ჯაჭვის ფერმენტების აქტივობის მნიშვნელოვან ცვლილებას (Gottlieb & Tomlinson, 2005; Dakubo et al., 2006).

ცნობილია, რომ მიტოქონდრიის ელექტრომატრანსპორტირებელი ჯაჭვის ფერმენტებს შორის სუქცინატდეჰიდროგენაზა და ციტოქრომოქსიდაზა იკავებენ მნიშვნელოვან ადგილს. სუქცინატდეჰიდროგენაზა აკატალიზებს სუქცინატის ჟანგვას კრების ციკლში, მონაწილეობს რა რეაქციაში როგორც წყალბადის აქცეპტორი (Gottlieb & Tomlinson, 2005). რაც შეეხება ციტოქრომებს, ეს უკანასკნელნი მონაწილეობას იღებენ ელექტრონის გადატანაში ორგანული სუბსტრატებიდან მოლეკულურ ჟანგბადზე. აღნიშნულ ჯაჭვში უკანასკნელ ციტოქრომს, რომელიც ურთიერთქმედებს ჟანგბადთან, წარმოადგენს ციტოქრომოქსიდაზა (Gottlieb & Tomlinson, 2005).

ამგვარად, ენერჯის ეფექტური გამომუშავება პროსტატის ეპითელიუმის ტრანსფორმირებულ უჯრედებში უნდა იწვევდეს სუნთქვითი ჯაჭვის ფერმენტების და ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის ცვლილებას, ჟანგბადის მოხმარებისა და ჟანგბადის რეაქტიური ფორმების წარმოქმნის ინტენსივობის ცვლილებას.

ყოველივე ზემოთთქმულიდან გამომდინარე კვლევის საწყის ეტაპზე მიზნად დავისახეთ შეგვესწავლა პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის ეპითელიური უჯრედების მიტოქონდრიული დეფექტები, კერძოდ კი სუნთქვითი ჯაჭვის ფერმენტების - (სუქცინატდეჰიდროგენაზასა და ციტოქრომოქსიდაზას) აქტივობის ცვლილება, რათა შეგვეფასებინა მიტოქონდრიის სუნთქვითი ჯაჭვის ფუნქციონირება მეტაბოლური ტრანსფორმაციის პირობებში.

პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული პაციენტების სიმსივნური ქსოვილის უჯრედების მიტოქონდრიული ფერმენტის სუქცინატდეჰიდროგენაზას (SDH) აქტივობის შესწავლამ გამოავლინა აღნიშნული ფერმენტის აქტივობის მატება HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნითა და მკვეთრი მატება პროსტატის ადენოკარცინომით (CaP) დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში კეთილთვისებიანთან სიმსივნურ ქსოვილთან (BHP) შედარებით (ცხრ. 3.1.1, სურ. 3.1.1). HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნით დაავადებული პაციენტების სიმსივნურ ქსოვილში (სურ. 3.1.1-ბ) SDH-ს აქტივობა BHP (სურ. 3.1.1-ა) შედარებით იყო გაზრდილი (~1,4-ჯერ), მაშინ როდესაც CaP დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში (სურ. 3.1.1-გ) SDH-ს აქტივობა იყო გაზრდილი BHP -თან შედარებით ~2-ჯერ (ცხრ. 3.1.1, სურ. 3.1.1).

HGPIN უბნების მატარებელ კეთილთვისებიან სიმსივნესა (HG PIN უბნები წარმოადგენს პროსტატის მაღალი ხარისხის ინტრაეპითელიური ნეოპლაზიის უბნებს. ეს არის ერთგვარი გარდამავალ ფორმა, როდესაც კეთილთვისებიან სიმსივნეში ჩნდება ე.წ. "ავთვისებიანი" უბნები (Zynger and Yang, 2009) და CaP დაავადებული პაციენტების სიმსივნურ ქსოვილში SDH-ას აქტივობის მატება, კეთილთვისებიან სიმსივნესთან შედარებით, შესაძლებელია განპირობებული იყოს პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილში მიტოქონდრიის სუნთქვითი ჯაჭვისაკენ სუქცინატის ნაკადის გაძლიერებით (კრების ციკლის აქტივაციის ფონზე) რასაც შედეგად უნდა გამოეწვია ერთი მხრივ სუქცინატდეჰიდროგენაზას, როგორც კრების ციკლის ფერმენტის და მეორეს მხრივ როგორც ელექტრონმატრანსპორტირებელი ჯაჭვის II კომპლექსის ფერმენტის აქტივობის ზრდა (Dakubo et al., 2006), რასაც ჩვენი მონაცემებიც ადასტურებენ. SDH-ას

მკვეთრად გაზრდილი აქტივობა პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნის შემთხვევაში (ცხრ. 3.1.1) მიუთითებს, რომ პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში აქტიურად ხორციელდება წარმოქმნილი სუქცინატის ჟანგვა (კრებსის ციკლის სრულყოფილი ფუნქციონირების შედეგად) და აღდგენილი FADH<sub>2</sub>-იდან ელექტრონების გადაცემა უბიქინონზე (სუნთქვითი ჯაჭვის გადამტანზე).

სუნთქვითი ჯაჭვის მეორე ფერმენტის, ციტოქრომოქსიდაზას (COX) აქტივობის შესწავლამ გამოავლინა აღნიშნული ფერმენტის აქტივობის უმნიშვნელო ცვლილება პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში (ცხრ. 3.1.1; სურ. 3.1.2). ამგვარად, კრებსის ციკლის აქტივაციისა და მიტოქონდრიული ფერმენტის სუქცინატდეჰიდროგენაზას გაზრდილი აქტივობის ფონზე პროსტატის ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის დროს ციტოქრომოქსიდაზას აქტივობის უმნიშვნელო ცვლილება კეთილთვისებიან ჰიპერპლაზიასთან შედარებით, მიანიშნებს აღნიშნული ფერმენტის ფუნქციონირების რღვევაზე, რაც სავარაუდოდ განპირობებული უნდა იყოს რამოდენიმე ფაქტორით: მიტოქონდრიუმში განვითარებული ჟანგვითი სტრესი და ROS პროდუქტების მატება უარყოფით ზემოქმედებას უნდა ახდენდეს COX ფუნქციონირებაზე (ნახევრადაღდგენილ უბიქინონს გადააქვს რა ელექტრონი უშუალოდ ჟანგბადზე (Clark, 2000), იწვევს სუპეროქსიდის გენერაციას რაც თავის მხრივ უნდა იწვევდეს ელექტრონების ნაკადის შემცირებას სუნთქვითი ჯაჭვის IV კომპლექსისაკენ - ციტოქრომოქსიდაზასკენ), რაც კარგად აისახა ჩვენი კვლევის შედეგებზე (სურ. 3.1.2) და დაფიქსირდა ფერმენტის (COX) აქტივობის უმნიშვნელო ცვლილებით. გარდა აღნიშნულისა, ცნობილია რომ სუნთქვით ჯაჭვში სუპეროქსიდისა (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) და წყალბადის ზეჟანგის (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) გენერაციის ძირითად წყაროს წარმოადგენს I და III კომპლექსების სიახლოვეს მდებარე უბნები (Clark, 2000; Balaban et al., 2005). თუ გავითვალისწინებთ იმას, რომ III კომპლექსის სიახლოვეს მდებარე ერთ-ერთი უბანი - უბისემიქინონ-ციტოქრომ-b თავის მხრივ COX-ს უშუალო სიახლოვეზე იმყოფება, მაშინ დასაშვებია, რომ წარმოქმნილი რეაქტიული ფომები (O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) უარყოფით ზეგავლენას უნდა ახდენდეს ფერმენტ - COX აქტივობაზე, რაც კარგად აისახა ჩვენს მიერ მიღებულ შედეგებზე (COX აქტივობის უმნიშვნელო ცვლილება (სურ. 3.1.2)).

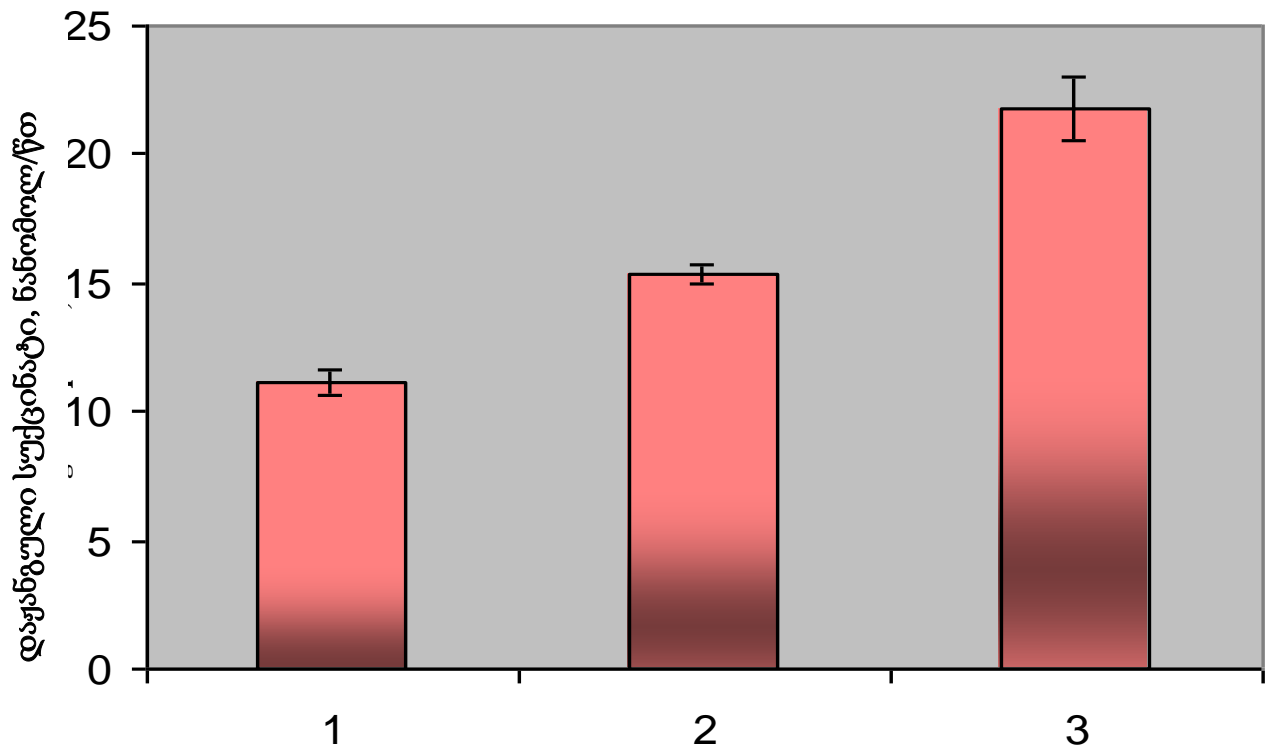
გასათვალისწინებელია ის ფაქტიც, რომ COX, SDH-საგან განსხვავებით მიტოქონდრიული გენებით კოდირდება (COI, COII, COIII) (Brandon et al., 2006). ბოლოდროინდელი კვლევები მიუთითებენ მიტოქონდრიულ გენომში არსებული COX-ას ერთ-ერთი გენის (COI) მუტაციების სიხშირის მკვეთრ ზრდაზე პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნის დროს, რაც დღესდღეობით განიხილება როგორც ერთ-ერთი რისკ ფაქტორი პროსტატის კიბოს განვითარებისათვის (Dakubo GD, 2006). COX გენის მუტაციამ პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში შესაძლოა განაპირობოს ფერმენტის დეფექტური ფორმების წარმოქმნა, რაც სავარაუდოდ

ცხრილი 3.1.1

მიტოქონდრიული ფერმენტების - სუქცინატდეჰიდროგენაზას და ციტოქრომოქსიდაზას აქტივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილში.

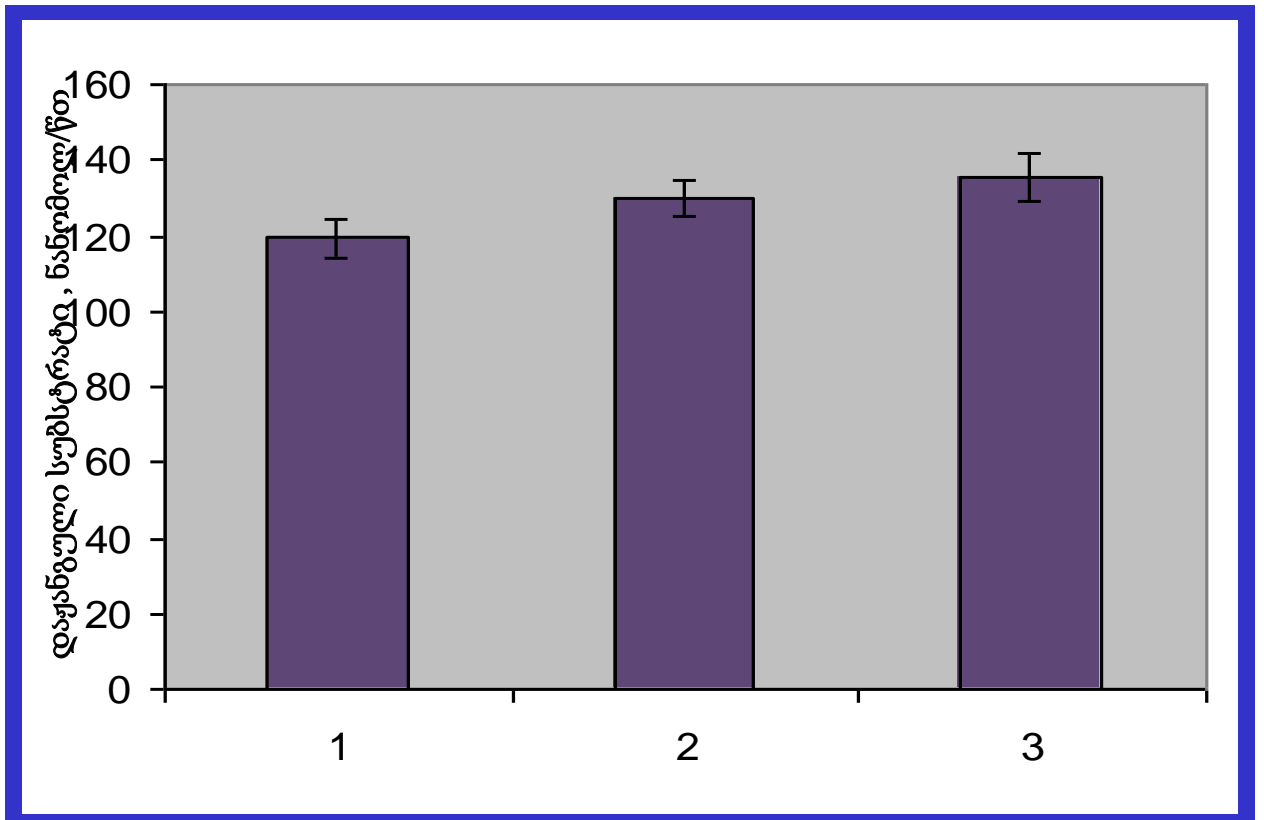
ობიექტი	სუქცინატ დეჰიდროგენაზას (SDH) აქტივობა (დაჟანგული სუქცინატის ნანომოლ/წთ)	ციტოქრომოქსიდაზას (COX) აქტივობა (დაჟანგული სუბსტრატის ნანომოლ/წთ)
პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია (BHP)	11,1 ± 0,48	119,4 ± 5,2
პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილ- თვისებიანი ჰიპერპლაზია	15,4 ± 0,37	130,2 ± 4,66
პროსტატის ადენოკარცინომა (CaP)	21,8 ± 1,21	135,7 ± 6,4

n=15; P< 0.05



სურ. 3.1.1 სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილში

1. პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია (BHP);
2. პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია;
3. პროსტატის ადენოკარცინომა (CaP);



სურ.3.1.2 ციკლოქრომოქსიდაზას აქტივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილში

1. პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია (BHP)
2. პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია
3. პროსტატის ადენოკარცინომა (CaP)



კიდევ ერთი ხელისშემშლელი ფაქტორი უნდა იყოს ფერმენტის სრულყოფილი ფუნქციონირებისათვის.

ამგვარად, პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის ეპითელური უჯრედების მიტოქონდრიუმში **SDH**-ას (კომპლექსი II) აქტივობის მკვეთრი მატება და **COX** (კომპლექსი IV) აქტივობის უმნიშვნელო ცვლილება მიუთითებს ერთი მხრივ აღნიშნული უჯრედების მიტოქონდრიუმში კრებსის ციკლის აქტივაციასა და სუნთქვით ჯაჭვში ელექტრონების ნაკადის გაძლიერებაზე, ხოლო მეორეს მხრივ ჩვენი მონაცემების მიხედვით ჟანგბადის ტერმინალური ჟანგვის შესუსტებაზე.

კვლევის შემდგომ ეტაპზე შესწავლილი იქნა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული პაციენტების სიმსივნური ქსოვილის ეპითელური უჯრედების მიტოქონდრიული ანტიოქსიდანტური სისტემის, კერძოდ კი **გლუტათიონ-რედოქს სისტემის** შემდეგი კომპონენტების: გლუტათიონ პეროქსიდაზას (**GSH-Px**) და გლუტათიონ რედუქტაზას (**GR**) აქტივობისა და აღდგენილი გლუტათიონის (**GSH**) რაოდენობის ცვლილება.

გამოკვლევებმა უჩვენა, რომ HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნით დაავადებული პაციენტების სიმსივნური ქსოვილის (სურ. 3.1.3-ბ) ეპითელური უჯრედების მიტოქონდრიუმში კეთილთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილთან (სურ. 3.1.3-ა) შედარებით ადგილი აქვს GSH-Px აქტივობის მკვეთრ მატებას (ცხრ. 3.1.2;). რაც შეეხება CaP-ით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის (სურ. 3.1.3-გ) ეპითელური უჯრედების მიტოქონდრიუმს, ამ უკანასკნელში GSH-Px აქტივობა ასევე მკვეთრად გაზრდილი: იგი ~4-ჯერ აღემატება BHP ქსოვილის მონაცემს და ~2-ჯერ HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში მიღებული მონაცემს (ცხრ. 3.1.2).

კვლევის შემდგომ ეტაპზე შესწავლილ იქნა პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილის ეპითელური უჯრედების მიტოქონდრიუმის ანტიოქსიდანტური სისტემის კიდევ ერთი ფერმენტის - გლუტათიონ რედუქტაზას (**GR**) აქტივობა (ცხრ. 3.1.2;

გამოკვლევებმა უჩვენა, რომ ადგილი აქვს აღნიშნული ფერმენტის აქტივობის მატებას HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნით (~2-ჯერ) (სურ. 3.1.4-ბ) და პროსტატის კიბოთი (~4-ჯერ) დაავადებულთა სიმსივნური ქსოვილის (სურ. 3.1.4-გ) უჯრედების მიტოქონდრიუმში კეთილთვისებიან სიმსივნესთან შედარებით (სურ. 3.1.4-ა).

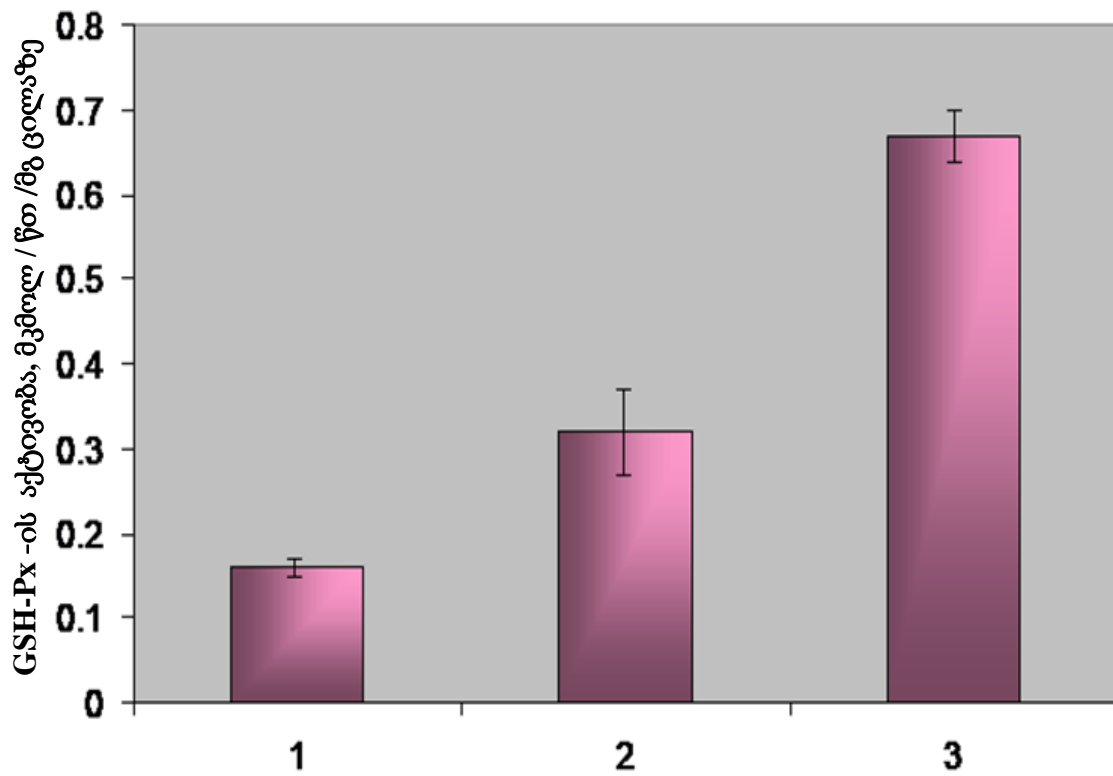
პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნით, HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნითა და CaP დაავადებული პაციენტების სიმსივნური ქსოვილის ეპითელური უჯრედების მიტოქონდრიუმში ანტიოქსიდანტური სისტემის კიდევ ერთი რგოლის, კერძოდ GSH რაოდენობის შესწავლამ უჩვენა, რომ HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნის შემთხვევაში (სურ. 3.1.5-ბ) ადგილი აქვს GSH რაოდენობის მატებას ~2-ჯერ, ხოლო CaP შემთხვევაში ~4-ჯერ (სურ. 3.1.5-გ) BHP-სთან შედარებით (სურ. 3.1.5-ა).

ცხრილი 3.1.2

გლუტათიონ-დამოკიდებული რედოქს სისტემის ცვლილება პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის ეპითელური უჯრედების მიტოქონდრიებში

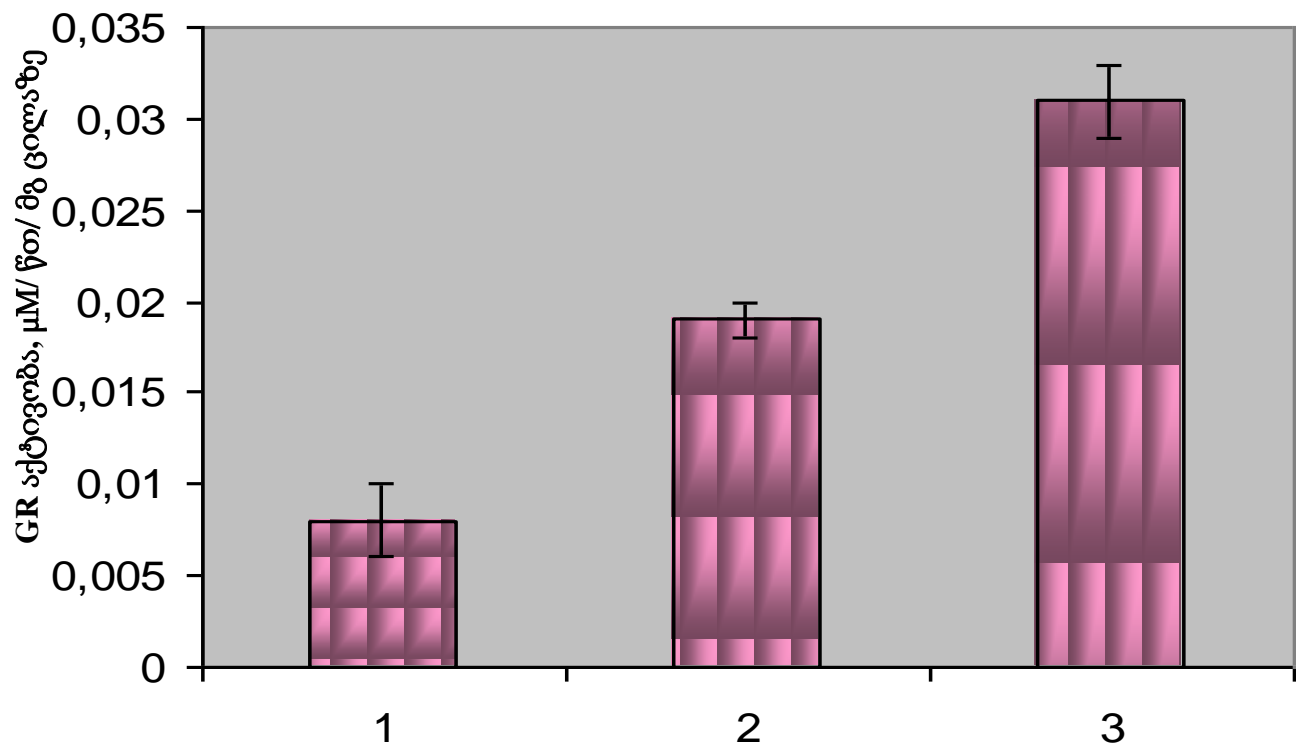
ობიექტი	გლუტათიონ პეროქსიდაზას (GSH-Px) აქტივობა ( $\mu\text{M}/\text{წთ}/\text{მგ}$ ცილაზე)	გლუტათიონ რედუქტაზას (GR) აქტივობა ( $\mu\text{M}/\text{წთ}/\text{მგ}$ ცილაზე)	აღდგენილი გლუტათიონის (GSH) რაოდენობა ( $\mu\text{M}/\text{მგ}$ ცილაზე)
პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია (BHP)	0,16 $\pm$ 0,01	0,008 $\pm$ 0,002	0,184 $\pm$ 0,02
პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილ- თვისებიანი ჰიპერპლაზია	0,32 $\pm$ 0,05	0,019 $\pm$ 0,001	0,336 $\pm$ 0,05
პროსტატის ადენოკარცინომა (CaP)	0,67 $\pm$ 0,03	0,031 $\pm$ 0,002	0,736 $\pm$ 0,07

n=15; P<0.05



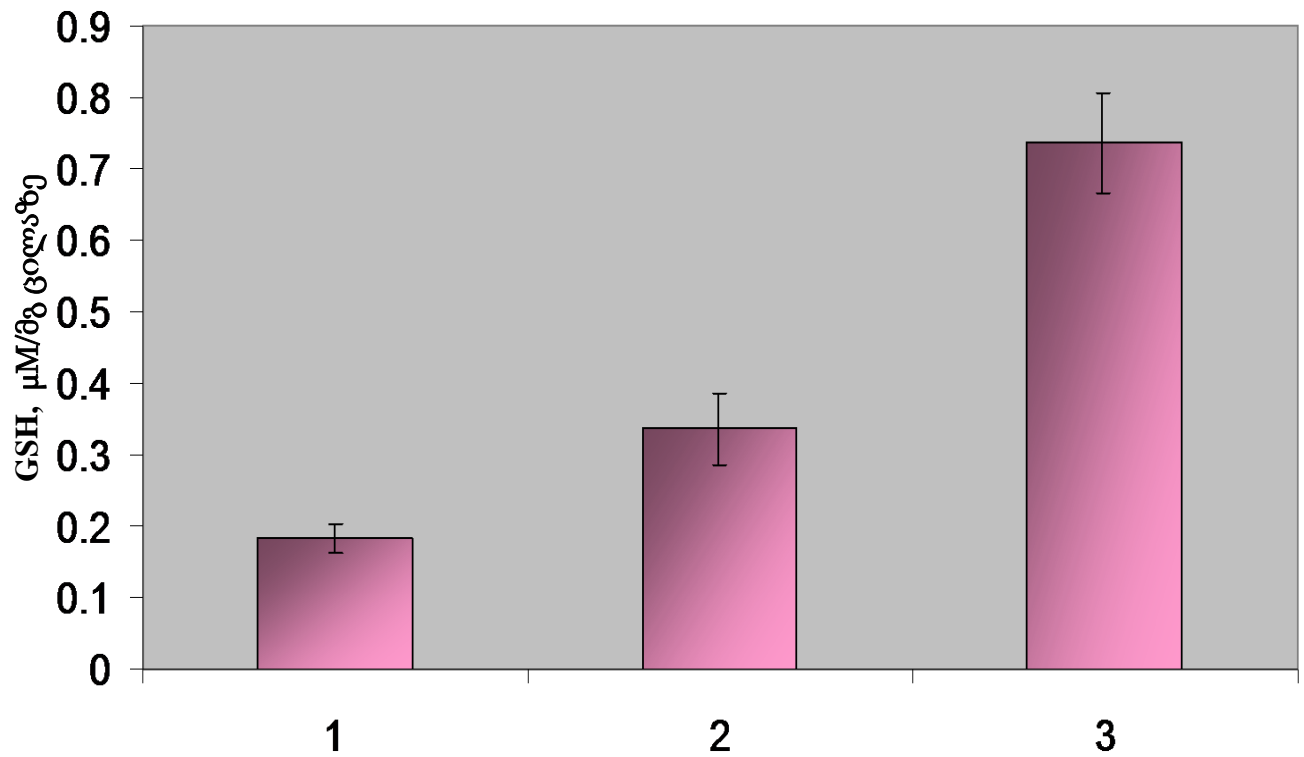
სურ. 3.1.3 გლუტათიონპეროქსიდაზას (GSH-Px) აქტივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის მიტოქონდრიებში

1. პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია (BHP)
2. პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია
3. პროსტატის ადენოკარცინომა (CaP)



სურ. 3.1.4. გლუტათიონრედუქტაზას (GR) აქტივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის მიტოქონდრებში

1. პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია (BHP);
2. პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია;
3. პროსტატის ადენოკარცინომა (CaP)



სურ. 3.1.5 აღდგენილი გლუტათიონის (GSH) რაოდენობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის მიტოქონდრებში

1. პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია (BHP);
2. პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია;
3. პროსტატის ადენოკარცინომა (CaP).

ამგვარად, გამოკვლევებმა გამოავლინა, პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნის და პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის ეპითელიურ უჯრედებში მიტოქონდრიული ანტიოქსიდანტური სისტემის (GSH-Px, GR) მკვეთრი აქტივაცია. აღნიშნული მიუთითებს განვითარებული ოქსიდაციური სტრესის პირობებში პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური უჯრედების, ასევე ავთვისებიანი უბნების (HGPIN) მატარებელი კეთილთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის უჯრედების თავდაცვის უნარის გაძლიერებაზე (შეეწინააღმდეგოს თავისუფალი რადიკალებით ინიცირებული აპოპტოზის მიტოქონდრიალური გზის ჩართვას) (Della Rovere et al., 2000).

### 3.2 პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის ეპითელიური უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილების ზოგიერთი ასპექტი

#### (ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის სავარაუდო სქემა)

კვლევის შემდგომ ეტაპზე მიზნად დავისახეთ გაგველო გარკვეული პარალელები პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის ეპითელიური უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ზოგიერთი ასპექტსა და კრებსის ციკლის, სუნთქვითი ჯაჭვის ფერმენტების (SDH, COX) და მიტოქონდრიული ანტიოქსიდანტური სისტემის (GSH დამოკიდებული სისტემა) აქტივობის ცვლილებას შორის.

როგორც ზემოთ ავღნიშნეთ, პროსტატის ავთვისებიანი ქსოვილის ეპითელიურ უჯრედებს (პროსტატის ნორმალური ეპითელიუმის უჯრედებისა და სხვა სიმსივნეებისაგან განსხვავებით) ახასიათებთ კრებსის ციკლის აქტივაცია (Khandrika et al, 2009; Dakubo et al, 2006). ცნობილია, რომ კრებსის ციკლის ჩართვა პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნური ქსოვილის უჯრედების მიტოქონდრიუმში გამოწვეულია თუთიის კონცენტრაციის მკვეთრი შემცირებითა და ამ ფონზე კრებსის ციკლის ფერმენტის m-აკონიტაზას აქტივაციით (Singh et al., 2006; Costello and Franklin, 2006). ფერმენტი m-აკონიტაზა ახორციელებს რა ციტრატის ჟანგვას იზოციტრატამდე, თავის მხრივ განაპირობებს იზოციტრატდეჰიდროგენაზას აქტივაციას. იზოციტრატდეჰიდროგენაზა კი თავის მხრივ ჟანგავს რა იზოციტრატს, იწვევს NADP(H) წარმოქმნას (სურ. 3.2.1).

ამგვარად, პროსტატის ავთვისებიანი ქსოვილის ეპითელიუმში კრებსის ციკლის აქტივაციამ უნდა გამოიწვიოს მთელი რიგი რეაქციების კასკადის ჩართვა, რაც თავის მხრივ უნდა იწვევდეს იზოციტრატდეჰიდროგენაზას აქტივაციას და შესაბამისად არეში დიდი რაოდენობით NADP(H)-ის დაგროვებას, რაც მნიშვნელოვან ზეგავლენას უნდა ახდენდეს GSH დამოკიდებული სისტემის ფუნქციონირებაზე (ცხრ. 3.1.2). აქვე უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ იზოციტრატდეჰიდროგენაზას აქტივაცია თავის მხრივ უნდა იწვევდეს კრებსის ციკლისა და სუნთქვითი ჯაჭვის შემდგომი ფერმენტის სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივაციას, რაც ჩვენმა გამოკვლევებმაც უჩვენა. ვვარაუდობთ, რომ აღნიშნული ფერმენტის აქტივობის მატება სუნთქვით ჯაჭვში განაპირობებს ელექტრონების ნაკადის ზრდას სუნთქვითი ჯაჭვის III კომპლექსისაკენ (სურ. 3.2.1) (რომელიც თავის მხრივ

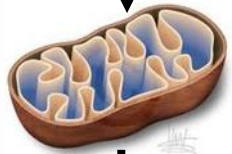
წარმოადგენს თავისუფალი რადიკალების გენერირების მნიშვნელოვან უბანს). აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ნორმალური მიტოქონდრიების შემთხვევაში შემდგომ ეტაპზე ადგილი აქვს ელექტრონების გადატანას ციტოქრომოქსიდაზასკენ (IV კომპლექსი) და საბოლოოდ ჟანგბადის მოხმარების შედეგად მეტაბოლური წყლის წარმოქმნას (Clark, 2000). ჩვენი გამოკვლევები კი მიუთითებენ, რომ პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილში (HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია და CaP) აღნიშნული პროცესი განსხვავებული მექანიზმით წარიმართება. კერძოდ, SDH მკვეთრი აქტივაციის ფონზე ადგილი არა აქვს COX-ის სათანადო აქტივაციას (ცხრ. 3.1.1). თუ დავუშვებთ, რომ პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის (HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია და CaP) ეპითელურ უჯრედებში ადგილი აქვს  $H_2O_2$  დაგროვებას, მაშინ სავარაუდოდ იზოციტრატდეჰიდროგენაზას აქტივაციის ფონზე ადგილი უნდა ქონდეს ასევე ანტიოქსიდანტური ფერმენტის - გლუტათიონ პეროქსიდაზას აქტივაციასაც, რასაც ჩვენი გამოკვლევები ადასტურებენ. (ცხრ. 3.1.2, სურ. 3.1.3).

ამგვარად, მიტოქონდრიებში GSH-ის გაძლიერებული ბიოსინთეზი შესაძლებელია წარმოადგენდეს პასუხს ავთვისებიანი უჯრედების მოთხოვნაზე დააგროვოს რაც შეიძლება მეტი რაოდენობით გლუტათიონის აღდგენილი ფორმა (GSH) (რომელიც მას ესაჭიროება, როგორც აპოპტოზისა და პროლიფერაციის პროცესების მარეგულირებელი რგოლი) და შეამციროს დაჟანგული გლუტათიონის (GSSG) რაოდენობა (Balendiran et al, 2004), რამეთუ GSSG-ის რაოდენობის გაზრდა გამოიწვევდა პროლიფერაციის დამუხრუჭებას და უჯრედების დაღუპვას (აპოპტოზს), როგორც p53 ცილის სინთეზის ინდუქციის ხარჯზე, ასევე Ras-სასიგნალო გზის ფოსფოპროტეინკინაზურ კასკადზე მოქმედების გზით (Balendiran et al, 2004). ყოველივე ზემოთ აღნიშნული კი კიდევ ერთხელ მიუთითებს პროსტატის ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის დროს სიმსივნური ქსოვილის უჯრედების მიტოქონდრიების და ასევე მთლიანად პროსტატის ავთვისებიანი ქსოვილის უჯრედების თავდაცვითი მექანიზმის გაძლიერებაზე.

პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის ეპითელურ უჯრედებში SDH-ს აქტივობის ზრდა და COX-ს ფუნქციონირების შეფერხება უნდა იწვევდეს იზოციტრატდეჰიდროგენაზას მკვეთრ აქტივაციას და შესაბამისად NADP(H)-ის დიდი რაოდენობით დაგროვებას. აღნიშნული კი უნდა განაპირობებდეს გლუტათიონ-დამოკიდებული სისტემის მკვეთრ აქტივაციას, რასაც ჩვენი გამოკვლევებიც ადასტურებენ. GSH-დამოკიდებული სისტემის აქტივაცია (GSH-Px, GR) ერთი მხრივ უნდა განაპირობებდეს სიმსივნური უჯრედების მდგრადობას განვითარებული ოქსიდაციური სტრესის საპასუხოდ, მეორეს მხრივ კი უნდა უზრუნველყოფდეს ავთვისებიანი უჯრედების უნარს შეეწინააღმდეგოს თავისუფალი რადიკალებით ინიცირებული აპოპტოზის მიტოქონდრიალური გზის ჩართვას (GSH).

პროსტატის სიმსივნური ტრანსფორმაციის დროს მიტოქონდრიის სუნთქვითი ჯაჭვის II და IV კომპლექსების ფერმენტებისა და ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის ცვლილება გარკვეულწილად ასახავს მიტოქონდრიის ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილებას, რაც თავის მხრივ მიუთითებს პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური უჯრედების რეზისტენტობაზე და შესაბამისად პროლიფერაციული პროცესების გაძლიერებაზე.

პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის (HGPIN, CaP) ეპითელიური უჯრედები



კრებსის ციკლი  
 ↓ ააქტივებს  
 m-აკონიტაზა

↓ ჟანგავს  
 ციტრატი

↓ მიიღება  
 იზოციტრატი

იზოციტრატდეჰიდროგენაზას აქტივაცია (NADP<sup>+</sup>)

გაპლიერებული წარმოქმნა

NADP<sup>+</sup>

NADPH

გლუტათიონ რედუქტაზა

GSH

გლუტათიონ პეროქსიდაზა

GSSG

H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub>

O<sub>2</sub><sup>-</sup>

O<sub>2</sub>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

ააქტივებს

NADH-დეჰიდროგენაზა (I კომპლექსი)

სუქცინატდეჰიდროგენაზა (SDH) (II კომპლექსი)

უბიქინონ/ციტოქრომ b (III კომპლექსი)

ციტოქრომოქსიდაზა (COX) (IV კომპლექსი)

2H<sup>+</sup> + 1/2O<sub>2</sub>  
 H<sub>2</sub>O

გაპლიერებული ელექტრონების ნაკადი

შემცირებული ელექტრონების ნაკადი

სურ. 3.2.1 პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის (HGPIN, CaP) ეპითელიური უჯრედების მიტოქონდრიუმში მიმდინარე ბიოენერგეტიკული ცვლილებების სავარაუდო სქემა





### 3.3 პროსტატის სიმსივნური ქსოვილსა და მიტოქონდრიებში თავისუფალრადიკალური პროცესებისა და რკინა-გოგირდოვანი ცილების შესწავლა ელექტრონ-პარამაგნიტური რეზონანსის მეთოდით

ცნობილია, რომ ორგანიზმში პათოლოგიური პროცესის მიმდინარეობისას თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციას თან ახლავს პარამაგნიტური მეტალის კომპლექსების წარმოქმნა (Cammack and MacMillan, 2010). აღნიშნულ შემთხვევაში ელექტრონ-პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) მეთოდის გამოყენება მნიშვნელოვან ინფორმაციას იძლევა ბიოლოგიურ სისტემაში თავისუფალი რადიკალების დაგროვების და პარამაგნიტური ცენტრების მდგომარეობის შესახებ. პარამაგნიტური ცენტრების შესწავლა კი საშუალებას იძლევა მივიღოთ ზუსტი ინფორმაცია შიდაუჯრედული სტრუქტურების ფუნქციონირებაზე, რაც საბოლოო ჯამში მთელი ორგანიზმის ფუნქციურ მდგომარეობაზე აისახება.

წინა წლების გამოკვლევებმა გვიჩვენა, რომ პროსტატის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სისხლში გაზრდილი იყო რკინა-გოგირდოვანი ცენტრებისათვის დამახასიათებელი სიგნალი ( $g=2.01$ ) (Kotrikadze et al., 2011.). აქედან გამომდინარე მნიშვნელოვანი იყო დავეკვირვებოდით რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების ცვლილებებს პროსტატის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების ქსოვილსა და ქსოვილიდან გამოყოფილ მიტოქონდრიებში. ცნობილია, რომ რკინა-გოგირდოვანი ცენტრები წარმოდგენილია სუნთქვითი ჯაჭვის პირველი სამი კომპლექსის სტრუქტურის შემადგენლობაში და შესაბამისად აქტიურად არიან ჩართული მათ ფუნქციონირებაში (Cammack and MacMillan, 2010). რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების შესწავლა საშუალებას მოგვცემს შეძლებისდაგვარად ვიმსჯელოთ თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციაზე და ამ ფონზე მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის კომპლექსების ფუნქციონირებაზე.

კვლევის აღნიშნულ ეტაპზე ჩვენს მიზანს წარმოადგენდა ერთი მხრივ რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების შესწავლა და მეორეს მხრივ თავისუფალი რადიკალების (ჟანგბადის აქტიური ფორმები –  $O^{\cdot-}$ ,  $OH^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$ ; ფლავოპროტეინების სემიქინონური რადიკალები) შესწავლა ( $g=2.003$ ) პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიითა და პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილსა და სიმსივნური ქსოვილიდან მიღებულ მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში ეპრ მეთოდით.

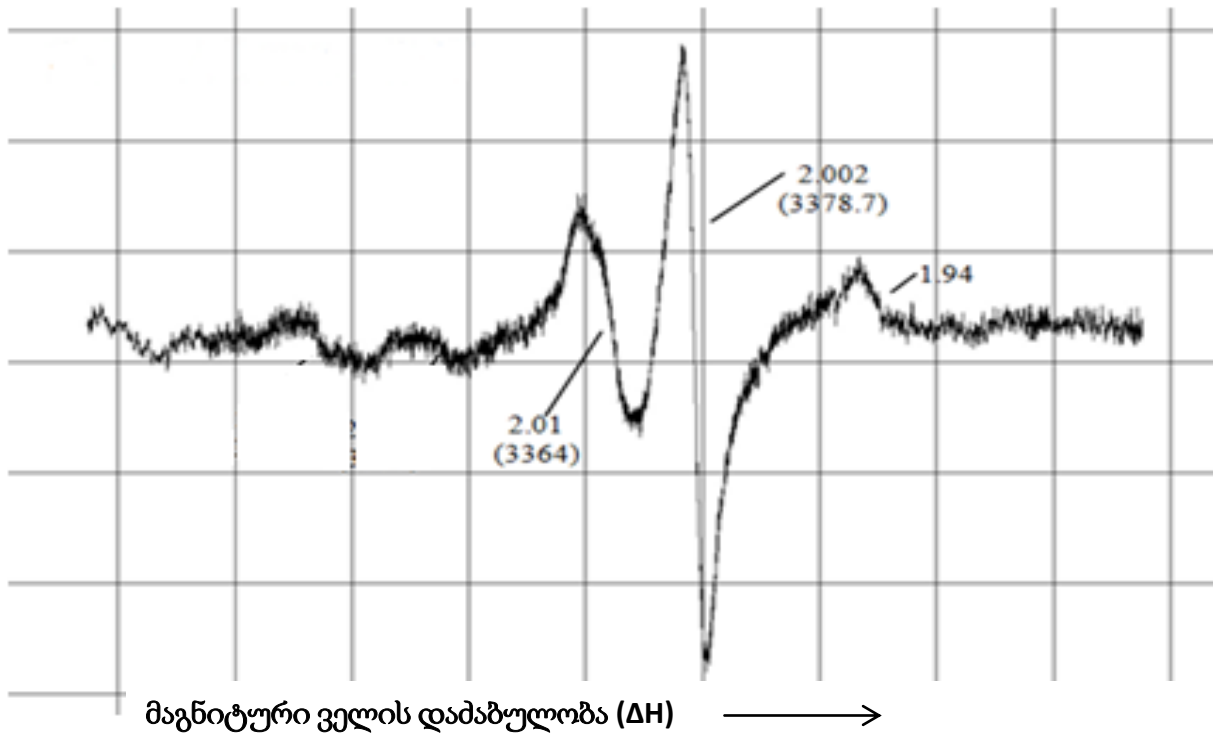
გამოკვლევებმა გამოავლინა BHP სიმსივნური ქსოვილის ეპრ სპექტრზე სხვადასხვა  $g$  ფაქტორის მატარებელი სიგნალის არსებობა: მათ შორის ყველაზე გამოხატული პიკები აღინიშნა  $g=1.94$ ,  $g=2.00$ ,  $g=2.01$  მნიშვნელობებზე (სურ.3.3.1; ცხრ. 3.3.1). ცნობილია, რომ ეპრ სიგნალი -  $g=1.94$  დამახასიათებელია როგორც აღდგენილი  $2Fe-2S$ , ასევე დაქანგული  $4Fe-4S$  რკინა-გოგირდოვანი კლასტერებისათვის (Cammack and MacMillan, 2010). კვლევის ამ ეტაპზე შეუძლებელია დადგენილ იქნას აღნიშნული ორი კლასტერიდან თითოეულს რა წილი შეეძებს მოცემული სიგნალის ფორმირებაში. რაც შეეხება  $g=2.01$  სიგნალს, ცნობილია, რომ იგი შეესაბამება მესამე ტიპის ანუ  $3Fe-4S$  რკინა-გოგირდოვან კლასტერს (Stehling and Lill, 2013). BHP სიმსივნური ქსოვილის ეპრ სპექტრზე  $3Fe-4S$  სიგნალი ( $g=2.01$ ) უფრო მაღალი ინტენსივობით დაფიქსირდა, ვიდრე

$g=1.94$  სიგნალი, რაც ამტკიცებს ჩვენს ვარაუდს თავისუფალ-რადიკალურ რეაქციებში რკინის იონების შესაძლო ჩართულობის შესახებ. ცნობილია, რომ ჟანგბადის აქტიურ ფორმებს შეუძლიათ Fe-S ცენტრების დაზიანება ან მათი მოდიფიცირება, რა დროსაც ხშირად ადგილი აქვს 4Fe-4S კლასტერის გარდაქმნას 3Fe-4S კლასტერად (Ruzicka and Beinert, 1978). აღნიშნული უნდა იწვევდეს ერთი მხრივ 3Fe-4S სიგნალის და მეორეს მხრივ პათოლოგიის პროგრესირების ეტაპზე თავისუფალ-რადიკალური პროცესების (რკინის იონების ჩართვა ფენტონის რეაქციაში) ინტენსივობის ზრდას (Beinert et al., 1983; Cammack and MacMillan, 2010) რასაც ჩვენი მონაცემებიც ამტკიცებენ.

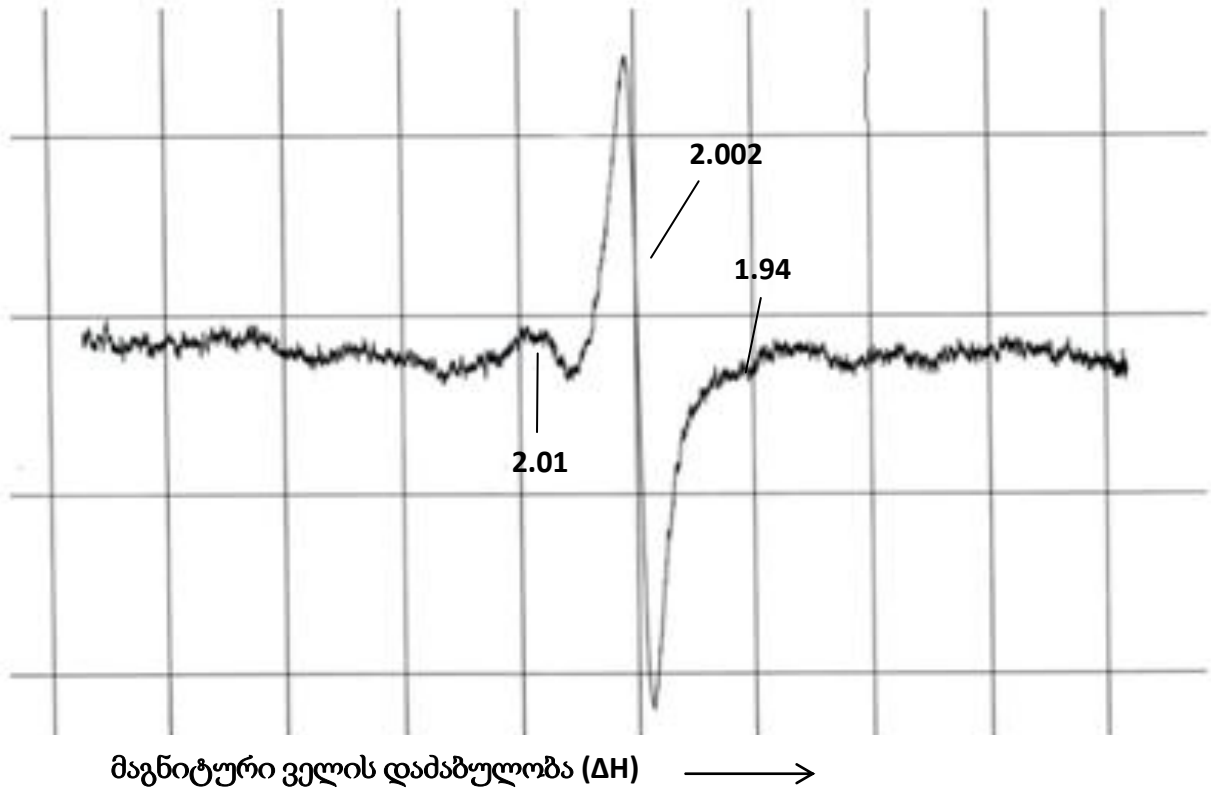
ცნობილია, რომ  $g=2.00$  სიგნალი წარმოადგენს თავისუფალი რადიკალებით (ჟანგბადის აქტიური ფორმები, ფლავოპროტეინებისა და უბიქინონის სემიქინონური რადიკალები) განპირობებულ სიგნალს (Levêque et al., 2008).

გამოკვლევებმა გამოავლინა BHP ქსოვილის ეპრ სპექტრზე როგორც თავისუფალი რადიკალების ( $g=2.00$ ), ასევე რკინა-გოგირდოვანი კლასტერების ეპრ სიგნალები ( $g=1.94$ ,  $g=2.01$ ) (სურ. 3.3.2). ეპრ სიგნალების ინტენსივობაში სხვაობები დაფიქსირებულ იქნა BHP და CaP სიმსივნურ ქსოვილებს შორისაც (სურ.3.3.1; სურ. 3.3.2; ცხრ.3.3.1).

პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის ეპრ სპექტრში რკინა-გოგირდოვანი ცენტრებისათვის დამახასიათებელი ეპრ-სიგნალების -  $g=1.94$ ,  $g=2.01$  შემცირება და თავისუფალი რადიკალებით გამოწვეული ეპრ-სიგნალის ( $g=2.00$ ) მომატება შესაძლებელია გამოწვეული იყოს ერთი მხრივ 4Fe-4S-ის გარდაქმნით 3Fe-4S-ად, (რაც თავის მხრივ განპირობებული უნდა იყოს ჟანგბადის აქტიური ფორმების გაძლიერებული წარმოქმნით და მათი ზემოქმედებით Fe-S კლასტერებზე) მეორეს მხრივ კი თავისუფალ-რადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაცია განპირობებს Fe-S კლასტერებიდან რკინის იონების მოცილებას და მათ ჩართვას ფენტონის რეაქციაში, რაც თავის მხრივ ხელს უნდა უწყობს და აძლიერებდეს თავისუფალ-რადიკალურ პროცესებს (Cammack and MacMillan, 2010). პროსტატის კიბოს შემთხვევაში სიმსივნური ქსოვილის ეპრ-სპექტრზე, პროსტატის კეთილთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილთან შედარებით, მკვეთრადაა შემცირებული რკინა-გოგირდოვანი ცენტრებისათვის დამახასიათებელი სიგნალები, რაც უკვე აღვნიშნეთ, განპირობებული უნდა იყოს რკინის იონების ჩართვით თავისუფალ-რადიკალურ პროცესებში. აღნიშნული სავარაუდოდ უნდა განაპირობებდეს ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების ინტენსიურ წარმოქმნას (ფენტონის რეაქცია) და სუნთქვით ჯაჭვში ელექტრონების გადაცემის ნორმალური პროცესის შეფერხებას.



სურ. 3.3.1 პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის ეპრ სპექტრი. სპექტრი ჩაწერილია <math>< 100\text{ K}</math> ტემპერატურის პირობებში



სურ. 3.3.2 პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის ეპრ სპექტრი. სპექტრი ჩაწერილია <math><100\text{ K}</math> ტემპერატურის პირობებში.

ცხრილი 3.3.1

პროსტატის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილსა და მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში ეპრ სიგნალების ინტენსივობების ცვლილება (ფარდ. ერთეული)

ეპრ სიგნალი (g)	პროსტატის სიმსივნური ქსოვილი	
	კეთილთვისებიანი (BHP)	ავთვისებიანი (CaP)
g = 1.94 2Fe-2S; 4Fe-4S	1.4	0.5
g = 2.01 3Fe-4S	4	1
(g = 2.002) თავისუფალი რადიკალები	11.4	13
<b>მიტოქონდრიული სუსპენზია</b>		
ეპრ სიგნალი (g)	კეთილთვისებიანი ქსოვილი (BHP)	ავთვისებიანი ქსოვილი (CaP)
g = 2.25 (ციტოქრომ P450)	6.9	10.7
g = 2.14 (სუპეროქსიდდისმუტაზა)	4.1	1.5

n=10 (პაციენტთა რაოდენობა თითოეულ ჯგუფში);

პაციენტთა საშუალო ასაკი 60-75 წ.

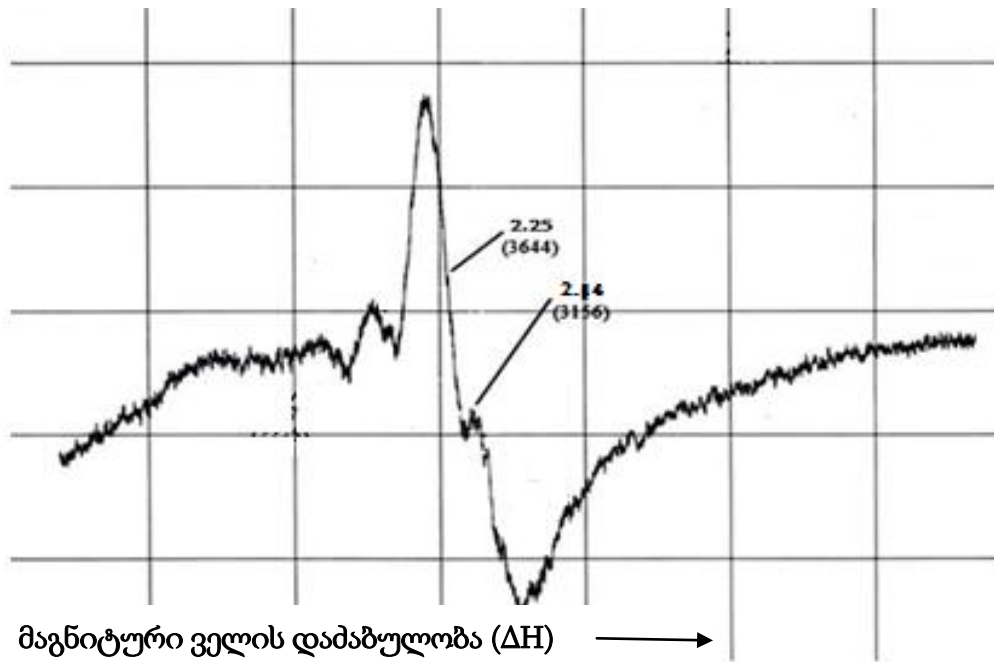
გამოკვლევებმა გამოავლინა CaP სიმსივნური ქსოვილის ეპრ სპექტრზე, BHP სიმსივნურ ქსოვილთან შედარებით, თავისუფალი რადიკალებით განპირობებული სიგნალის ( $g=2.00$ ) უფრო მაღალი ინტენსივობა. ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ აღნიშნული სიგნალი გამოწვეულია სემიქინონის მსგავსი ნაერთებით /ან წარმოებულებით (ჰიდროქინონი, იონ-ჰიდროქინონი, რადიკალი, ქინონი) (Levêque et al., 2008). ცნობილია ასევე ისიც, რომ თავისუფალი რადიკალების ძირითად წყაროს მიტოქონდრიებში წარმოადგენენ ფლავინშემცველი ფერმენტები ანუ ფლავოპროტეიდები და ასევე ელექტრონების ერთ-ერთი გადამტანი - კოფერმენტი Q (უბიქინონი), რომელიც სხვა გადამტანებთან შედარებით დიდი რაოდენობითაა წარმოდგენილი მიტოქონდრიებში (Clark, 2000).

რაც შეეხება ფლავოპროტეიდებს, ეს უკანასკელნი გარდა იმისა, რომ შედიან მიტოქონდრიის ელექტრონ-გადამტანი ჯაჭვის სუნთქვითი კომპლექსების შემადგენლობაში, ასევე წარმოდგენილი არიან მიტოქონდრიის გარეთ არაერთ ჟანგვით ფერმენტში კოფაქტორის სახით. კვლევის შედეგად დადგენილია, რომ ბიოლოგიურ სისტემებში, კერძოდ კი, მიტოქონდრიებში თავისუფალი რადიკალების ერთ-ერთ წყაროს სწორედ ფლავინებისა და ფლავოპროტეიდების სემიქინონური ფორმები წარმოადგენენ, რომელთა ეპრ სიგნალი ხასიათდება შემდეგი პარამეტრებით:  $g=2.00$   $\Delta H=14-20\text{K}$  (Cammack and MacMillan, 2010). გარდა ამისა, ცნობილია რომ, ელექტრონების დონორის (NADPH) არსებობის პირობებში, ჟანგბადისა და ციტოქრომ P450-ის ურთიერთქმედება იწვევს თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნას, ციტოქრომის ცილოვანი ნაწილის ამინომჟავური ნაშთების მოდიფიკაციის გზით. აღნიშნული რეაქციისათვის კი საჭიროა პირველ ეტაპზე ჟანგბადისაგან წარმოიქმნას რეაქტიული ფორმები - სუპეროქსიდი ( $O_2^-$ ) ან ჰიდროქსილის რადიკალი (OH $\cdot$ ), რომლებიც იძლევიან მათთვის დამახასიათებელ სიგნალს ( $g=2.007$ ) (Cammack and MacMillan, 2010). არ არის გამორიცხული რომ  $g=2.00$  ფაქტორის მატარებელ სიგნალში ზემოთ აღნიშნულ რადიკალებსაც ( $O_2^-$ , OH $\cdot$ ) შეჰქონდეთ თავიანთი წვლილი.

ამგვარად, პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის ეპრ მეთოდით კვლევისას BHP სიმსივნურ ქსოვილში დაფიქსირებულ იქნა 2Fe-2S, 4Fe-4S ( $g=1.94$ ) და 3Fe-4S ( $g=2.01$ ) კლასტერებისათვის დამახასიათებელი კარგად გამოხატული სიგნალები, მაშინ როდესაც CaP სიმსივნური ქსოვილის სპექტრში ადგილი აქვს აღნიშნული სიგნალების ინტენსივობის მკვეთრ შემცირებას. რაც შეეხება თავისუფალი რადიკალებით განპირობებულ სიგნალს ( $g=2.00$ ) შესამჩნევ მატებას, აღნიშნული დაავადების პროგრესირების პარალელურად დაფიქსირდა.

გამომდინარე იქედან, რომ სუნთქვითი ჯაჭვის კომპლექსები განლაგებულია მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე, კვლევის შემდგომ ეტაპზე ეპრ მეთოდის გამოყენებით შესწავლილ იქნა BHP და CaP სიმსივნური ქსოვილებიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული სუსპენზიის ეპრ სპექტრები.

პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილიდან მიღებული მიტოქონდრიების ეპრ სპექტრზე დაფიქსირებულ იქნა ციტოქრომ P450-ისათვის დამახასიათებელი მაღალი ინტენსივობის პიკი ( $g=2.25$ ) და ასევე Mn $^{2+}$  შემცველი კომპლექსების სიგნალი ( $g=2.14$ ) (სურ. 3.3.3).



სურ. 3.3.3. პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული სუსპენზიის ეპრ სპექტრი.  
 სპექტრი ჩაწერილია  $<100$  K ტემპერატურის პირობებში



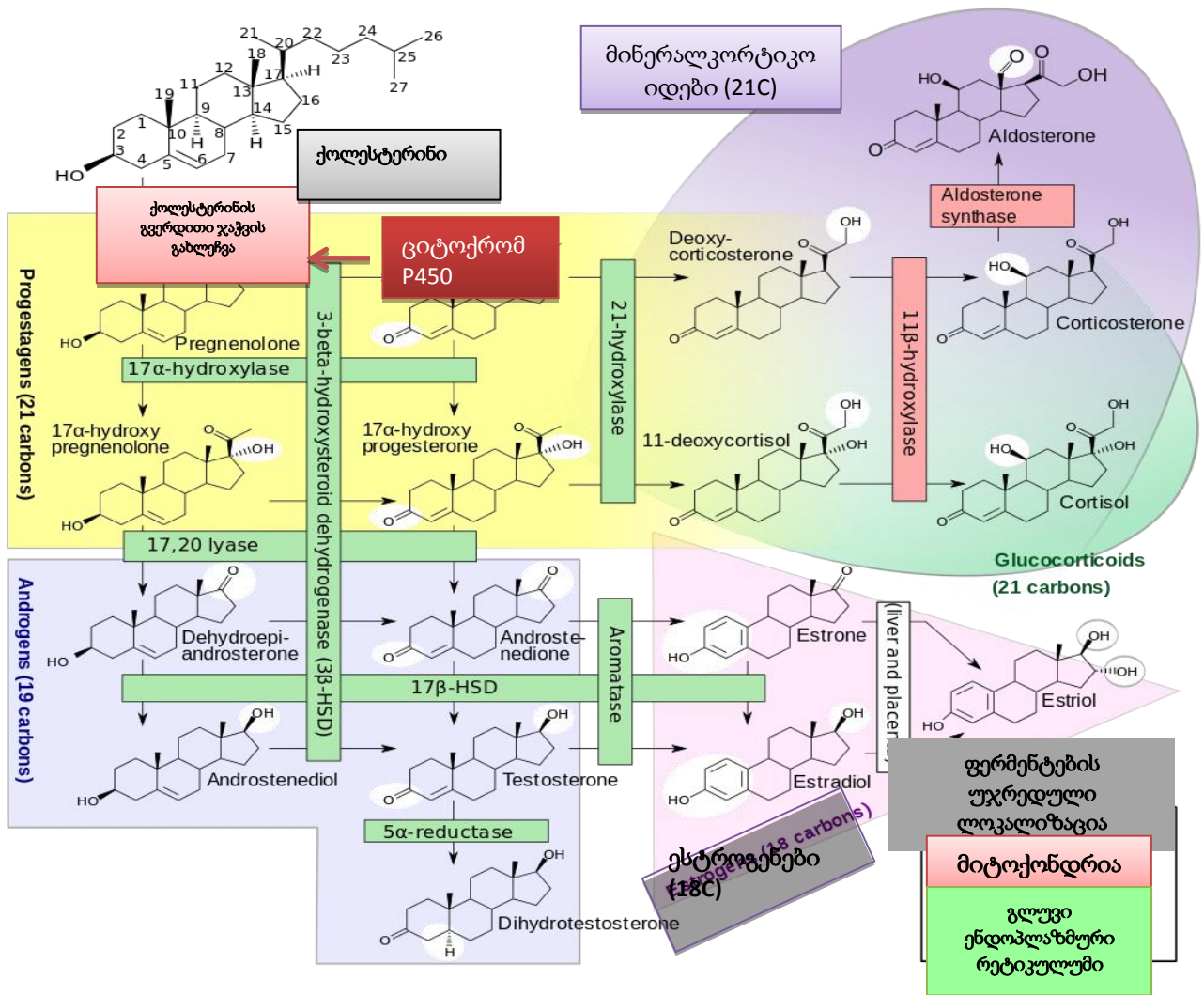
პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილიდან მიღებული მიტოქონდრიების ეპრ სპექტრზე დაფიქსირებული სიგნალი  $g=2.25$  განპირობებული უნდა იყოს მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე ლოკალიზებული დიდი ფერმენტული კომპლექსით - ციტოქრომ P450-ით (Buck, 1997). ცნობილია, რომ მიტოქონდრიული ციტოქრომ P450 შედგება სამი სუბერთეულისაგან: FAD შემცველი ფლავოპროტეიდის (NADPH ან NADH- დამოკიდებული რედუქტაზა), რკინა გოგირდოვანი ცილისა და ჰემის შემცველი P-450 დომენისაგან (Buck, 1997). მიტოქონდრიული ციტოქრომ P450 აკატალიზებს რა ჰიდროქსილირებისა და ოქსიგენაციის რეაქციებს, უზრუნველყოფს სტეროიდული ჰორმონების სინთეზის ერთ-ერთ ყველაზე მნიშვნელოვანი საფეხურის წარმართვას (ცნობილია, რომ ყველა სტეროიდული ჰორმონის სინთეზის პირველ ეტაპს ქოლესტეროლიდან პრეგნენოლონის წარმოქმნა წარმოადგენს, რასაც სწორედ მიტოქონდრიული ციტოქრომ P-450 ახორციელებს (სურ 3.3.4) (McLean et al., 2005) . აღნიშნული ფუნქციის შესასრულებლად საჭირო ელექტრონებს ციტოქრომ P-450 ადრენოდოქსინისაგან ანუ მიტოქონდრიული ფერედოქსინისაგან იღებს, რომელიც თავის მხრივ ელექტრონებს NADPH-ს ართმევს (Munro et al., 2007) ).

გამოკვლევებმა გამოავლინა პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიების ეპრ სპექტრზე ციტოქრომ P450-ისათვის დამახასიათებელი სიგნალის მკვეთრად გაზრდილი (~2-ჯერ) ინტენსივობა კეთილთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის მიტოქონდრიების სპექტრთან შედარებით (სურ. 3.3.5; ცხრ.3.3.1).

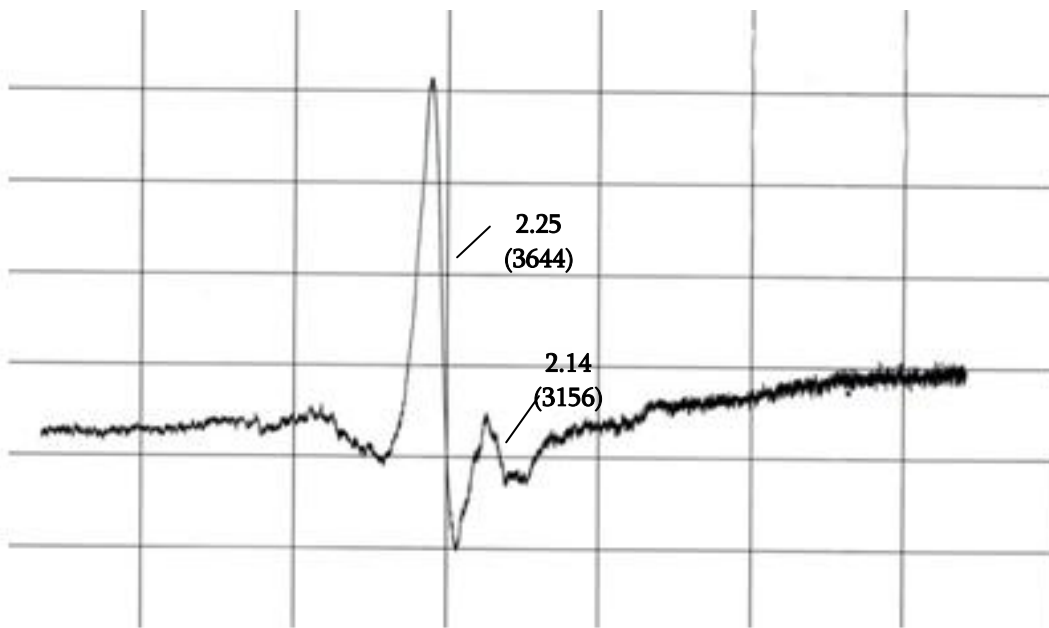
ცნობილია რომ ციტოქრომ P450 ეპრ-სიგნალს იძლევა დაქანგულ მდგომარეობაში (Munro et al., 2007). აღნიშნულ ეპრ სპექტრზე ფერმენტის (ციტოქრომ P450) მაღალი ინტენსივობის მქონე სიგნალი არაპირდაპირ უნდა მიუთითებდეს სტეროიდოგენეზის პროცესის მკვეთრ შემცირებაზე პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში (ან სუნთქვით ჯაჭვში ელექტრონების სუსტ ნაკადზე). რაც შეეხება ეპრ სიგნალს  $g=2.14$ , CaP სიმსივნური ქსოვილიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული სუსპენზიის შემთხვევაში, იგი განპირობებული უნდა იყოს მიტოქონდრიული  $Mn^{2+}$ -შემცველი სუპეროქსიდდისმუტაზას (SOD) მიერ (Kotrikadze et al., 2011), რომელიც კარგად გამოკვეთილია და მაღალი ინტენსივობით ხასიათდება.

პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის მიტოქონდრიების ეპრ სპექტრზე  $g=2.14$  მატარებელი სიგნალი (სურ. 3.3.3) დაფიქსირდა გაცილებით მეტი ინტენსივობით ვიდრე CaP სიმსივნური ქსოვილის მიტოქონდრიების შემთხვევაში (სურ. 3.3.5).

ცნობილია, რომ მიტოქონდრიული სუპეროქსიდდისმუტაზა წარმოადგენს ერთ-ერთ ძლიერ ანტიოქსიდანტ ფერმენტს მიტოქონდრიის დაცვით სისტემაში, აკატალიზებს რა სუპეროქსიდანიონის ( $O_2^-$ ) დისმუტაციას ნაკლებ რეაქტიული წყალბადის პეროქსიდის წარმოქმნის გზით (Fukai and Ushio-Fukai, 2011). პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის მიტოქონდრიულ ეპრ სპექტრში (სურ. 3.3.5) სუპეროქსიდდისმუტაზას სიგნალის ინტენსივობის შემცირება პროსტატის კეთილთვისებიან სიმსივნური ქსოვილთან შედარებით (სურ. 3.3.3) მიუთითებს თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციის ფონზე SOD-ის, როგორც ანტიოქსიდანტური სისტემის, ფუნქციონირების შესუსტებაზე.



სურ. 3.3.4. სტეროიდოგენეზის პროცესის მიმდინარეობის სქემატური გამოსახულება (Richfield and Häggström, 2014).



მაგნიტური ველის დაძაბულობა ( $\Delta H$ )  $\longrightarrow$

სურ. 3.3.5. პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული სუსპენზიის ეპრ სპექტრი. სპექტრი ჩაწერილია  $<100$  K ტემპერატურის პირობებში

ამგვარად, პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული სუსპენზიის ეპრ სპექტრებზე ციტოქრომ P450-სათვის დამახასიათებელი სიგნალი დიდი ინტენსივობით (~2-ჯერ მეტი) გამოირჩეოდა პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილიდან მიღებული მიტოქონდრიების ეპრ სპექტრთან შედარებით. აღნიშნული ფაქტი მიუთითებს სტეროიდოგენეზის პროცესის მკვეთრ შემცირებაზე პროსტატის ავთვისებიანი ქსოვილის ეპითელურ უჯრედებში. რაც შეეხება სუპეროქსიდისმუტაზას შესაბამის სიგნალს, მისი ინტენსივობის შემცირება პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნის შემთხვევაში ცალსახად მიუთითებს თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციის ფონზე SOD-ის შეფერხებულ სინთეზზე ან ფუნქციის დაქვეითებაზე.

აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ პროსტატის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილებიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული სუსპენზიის ეპრ სპექტრებზე არ დაფიქსირდა Fe-S ცილებისათვის დამახასიათებელი სიგნალები ( $g=1.94$  და  $g=2.01$ ). ლიტერატურული წყაროებზე დაყრდნობით, ვვარაუდობთ რომ მიტოქონდრიული სუსპენზიის ეპრ სპექტრზე აღნიშნული კლასტერებისათვის დამახასიათებელი ეპრ სიგნალებზე დაკვირვება უფრო მაღალ კრიოგენულ ტემპერატურას მოითხოვს (20-30 K) რისი მიღწევაც ამ ეტაპზე (ხელსაწყოს ტექნიკური შესაძლებლობებიდან გამომდინარე) არ იყო შესაძლებელი.

### 3.4 პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის შესწავლა ლაზერით ინდუცირებული ფლუორესცენციის მეთოდით

დღეისათვის სიმსივნეების კვლევაში ფართოდ გამოიყენება ოპტიკური სპექტროსკოპიის მეთოდი (Dronova et al., 2008). ბოლო დროს განსაკუთრებულ ინტერეს იმსახურებს სტაციონალური მდგომარეობის ულტრაიისფერი/ხილული ფლუოროსცენციული სპექტროსკოპია, რომელიც შესაძლოა გამოყენებულ იქნას პრესიმსივნური და სიმსივნური პროცესების შეფასებისათვის *in vivo* (Arshakyan, 2007; Ramanujam, 2000). აღნიშნული მეთოდი გამოირჩევა არაინვაზიურობით, სისწრაფით და მაღალი ინფორმაციულობით. უფრო მეტიც, იგი შესაძლოა გამოყენებულ იქნას ქსოვილის ისეთი მახასიათებლების შეფასებისათვის, როგორცაა უჯრედული მეტაბოლიზმის დონე, ქსოვილის ვასკულარიზაცია, ჟანგბადით მომარაგება და ქსოვილის ჰისტო-მორფოლოგიური ცვლილებები (Ramanujam N, 2000).

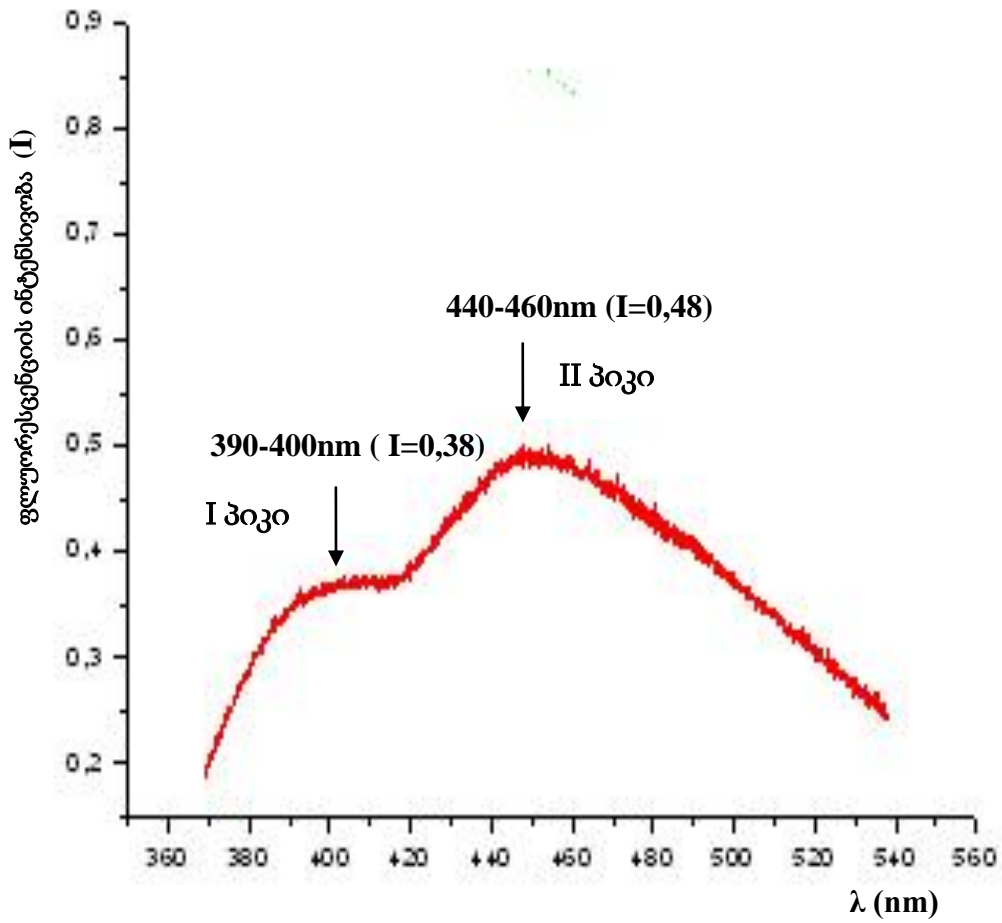
ყოველივე ზემოთაღნიშნულიდან გამომდინარე ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის შესწავლა ლაზერით ინდუცირებული ფლუორესცენციის მეთოდით. დაგვედგინა აისახებოდა თუ არა პროსტატის უჯრედებისათვის დამახასიათებელი სპეციფიური ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილება პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის ფლუორესცენციის გასაშუალოებულ სპექტრებზე.

შესწავლილ იქნა BHP სიმსივნით, ანთების ფონზე მიმდინარე BHP სიმსივნით, HGPIN უბნებიანი BHP სიმსივნით და პროსტატის ადენოკარცინომით (CaP) დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილი.

გამოკვლევებმა უჩვენა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული პაციენტების სიმსივნური ქსოვილის ფლუოროსცენტული სპექტრის ფორმისა და მაქსიმუმების, ასევე ფლუოროსცენციის ინტენსივობის (I) ცვლილება. ცნობილია, რომ სპექტრის I მაქსიმუმი (პიკი) შეესაბამება კოლაგენის ნათებას, ხოლო II მაქსიმუმი კი აღდგენილი ნიკოტინამიდური კოფერმენტების (NADH და NADPH) ფლუოროსცენციას (Arshakyan, 2007).

გამოკვლევებმა გამოავლინა პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნით დაავადებულ მამაკაცთა სიმსივნური ქსოვილის ფლუოროსცენციის სპექტრზე (სურ. 3.4.1) მხარი 390-400ნმ ტალღის სიგრძის დიაპაზონში (პიკის ინტენსივობა  $I=0,38$ ) და პიკი 440-460 ნმ ტალღის სიგრძის დიაპაზონში (პიკის ინტენსივობა  $I=0,48$ -ს) (ცხრ. 3.4.1).

ცნობილია, რომ კოლაგენი, როგორც სტრუქტურული ცილა და ექსტრაცელულარული მატრიქსის ძირითადი კომპონენტი, ფლუოროსცენცირებს 390-400ნმ-ის ტალღის სიგრძის უბანში (Arshakyan et al., 2007), ვვარაუდობთ, რომ მხარი 390-400ნმ დიაპაზონში, უნდა შეესაბამებოდეს კოლაგენის ნათებას. სპექტრის 440-460ნმ დიაპაზონში დაფიქსირებული პიკი კი უნდა წარმოადგენდეს აღდგენილი ნიკოტინამიდური კოფერმენტების (NADH და NADPH) ფლუოროსცენციას, რაც არაერთ მსგავს კვლევაშია დაფიქსირებული (Schomacker et al., 1992; Arshakyan et al., 2007; Kotrikadze et al., 2007). ზემოთქმულ ვარაუდს ამყარებს ის ფაქტიც, რომ ქსოვილის აუტოფლუორესცენცია ძირითადად სწორედ კოლაგენის, ელასტინისა და აღდგენილი ნიკოტინამიდური კოფერმენტების ნათებით არის გამოწვეული (Arshakyan et al., 2007; Chowdary et al, 2009).



სურათი 3.4.1. პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის ფლუორესცენციის სპექტრი.

აგზნების ტალღის სიგრძე  $\lambda=337$  ნმ;  
 სპექტრების ჩაწერა ხდებოდა 300-560nm ტალღის სიგრძის დიაპაზონში.

პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური  
ქსოვილის ფლუორესცენტული სპექტრების პარამეტრები

#	ობიექტი	კოლაგენი (ტალის სიგრძე-წმ)		ფლუორესცენციის ინტენსივობა (I)	აღდგენილი კოფერმენტები (NADH, NADPH) (ტალის სიგრძე-წმ)		ფლუორესცენციის ინტენსივობა (I)
		მხარი	პიკი		მხარი	პიკი	
1	პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია (BHP)	390-400	-	0.38	-	440-460	0.48
2	ანთების ფონზე მიმდინარე BHP	-	400- 410	0.55	-	440-460	0.87
3	HGPIN უბნებიანი პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია	400-410	-	0.65	-	440-460	0.9
4	პროსტატის ადენოკარცინომა (CaP)	400-410	-	0.45	-	460-470	0.8

ავადმყოფების რაოდენობა - n= 15 თითოეულ ჯგუფში;

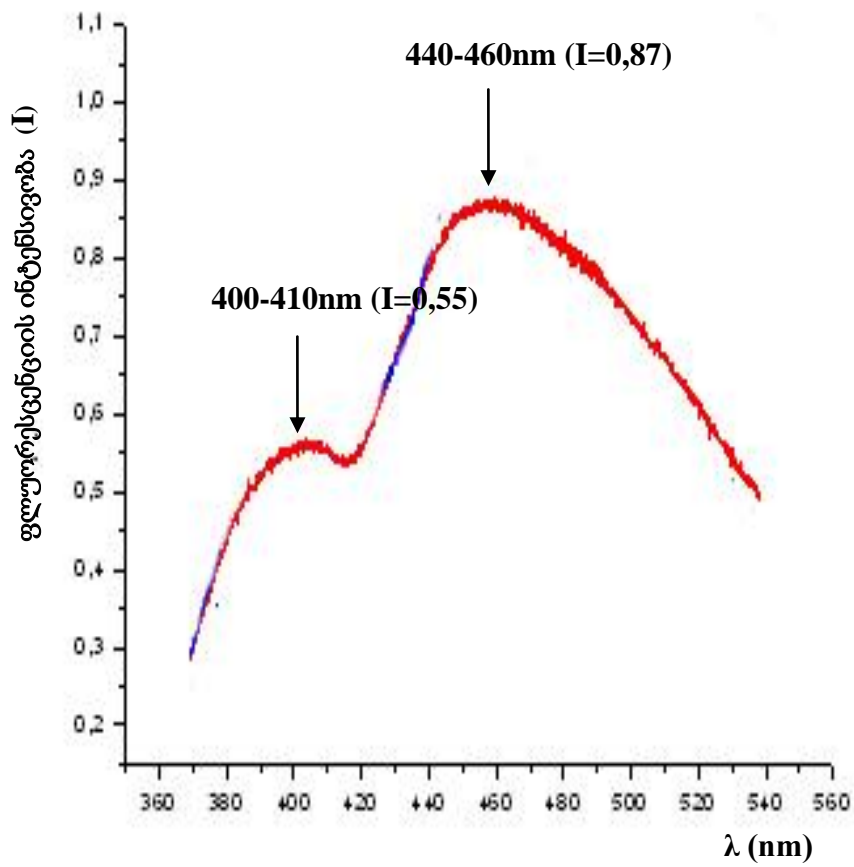
რაც შეეხება ანთების ფონზე მიმდინარე კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილს, აღნიშნულ შემთხვევაში ფლუორესცენ

ციის სპექტრზე დაფიქსირდა...მცირედ გამოხატული პიკი 400-410 ნმ ტალღის სიგრძის დიაპაზონში, ( $I=0,55$ ) და მკვეთრად გამოხატული პიკი 440-460 ნმ ტალღის სიგრძის დიაპაზონში ( $I=0,87$ ) (სურ. 3.4.2) (ცხრ.3.4.1). აღსანიშნავია, რომ ანთების ფონზე მიმდინარე პროსტატის კეთილთვისებიანი ქსოვილის შემთხვევაში ფლუორესცენციის ინტენსივობა 440-460ნმ ტალღის სიგრძის დიაპაზონში იყო 2-ჯერ გაზრდილი კეთილთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილთან შედარებით. გარდა ამისა პროსტატის კეთილთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში დაფიქსირებული მხარი (390-400 ნმ) ტალღის სიგრძის დიაპაზონში ოდნავ იყო გადანაცვლებული ანთების ფონზე მიმდინარე BHP ქსოვილის სპექტრში (400-410ნმ), გრძელი ტალღის სიგრძისაკენ, რაც მცირედ გამოხატული პიკის სახით გამოვლინდა. აღნიშნული პიკის ინტენსივობა უმნიშვნელოდ მაგრამ მაინც იყო გაზრდილი.

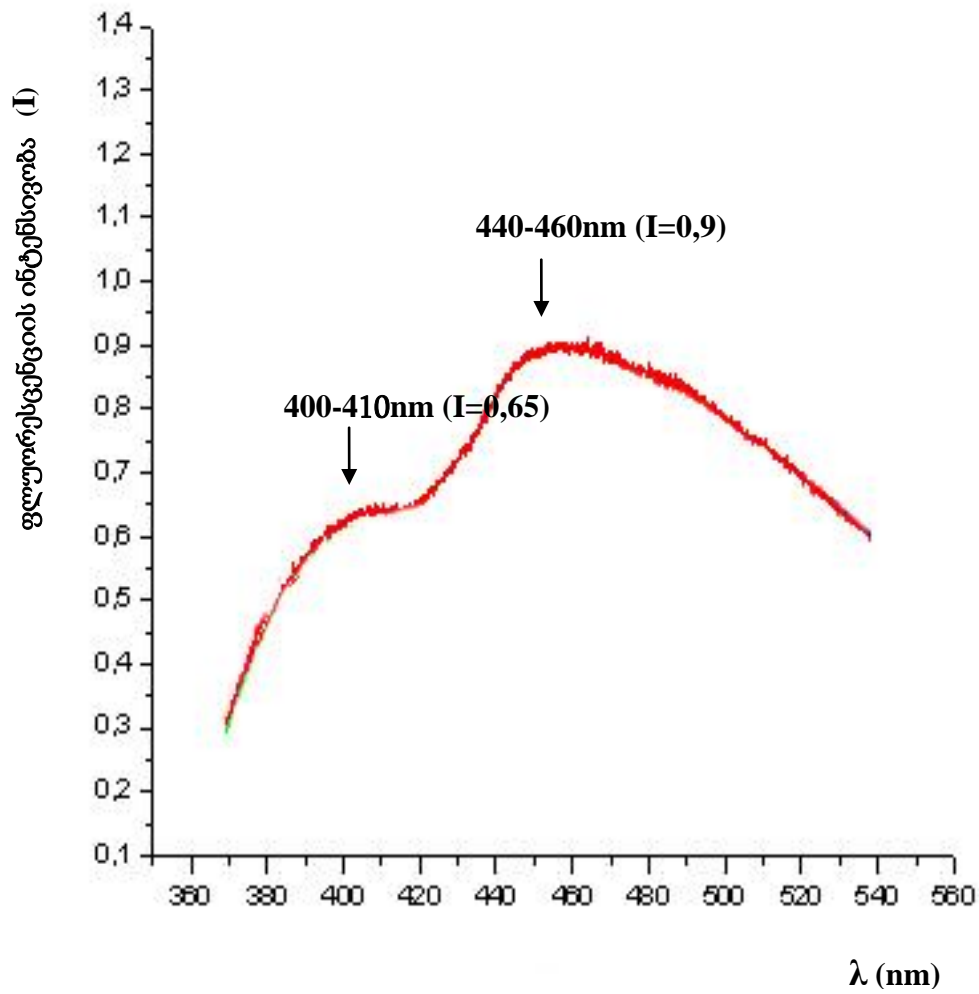
კვლევის შემდგომ ეტაპზე შესწავლილ იქნა HGPIN უბნებიანი BHP კეთილთვისებიან სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილი. აღნიშნულ შემთხვევაში გამოკვლევებმა ფლუორესცენციის სპექტრზე გამოავლინა ასევე კოლაგენით განპირობებული მხარი (390-400ნმ), რომელიც ოდნავ წანაცვლებული იყო 400-410 ნმ დიაპაზონისაკენ, და რომლის ინტენსივობაც შესამჩნევად გაზრდილი იყო კეთილთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილთან შედარებით ( $I=0,65$ ). ასევე დაფიქსირებულ იქნა პიკი სპექტრის 440-460ნმ დიაპაზონში ( $I=0,9$ ) (სურ. 3.4.3) (ცხრ. 3.4.1). აღსანიშნავია, რომ HGPIN უბნებიან კეთილთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში სპექტრის ფლუორესცენციის ინტენსივობა გაზრდილი იყო ~3-ჯერ კეთილთვისებიან ქსოვილთან შედარებით. რაც შეეხება პიკს 440-460ნმ ტალღის სიგრძის დიაპაზონში, როგორც აღვნიშნეთ იგი განპირობებული უნდა იყოს, აღდგენილი ნიკოტინამიდური კოფერმენტებით, რომლებიც ფლუორესცენცირებენ აღნიშნულ ტალღის სიგრძეზე, რასაც წინა წლების ჩვენი გამოკვლევებიც ადასტურებენ (Kotrikadze et al., 2007).

პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის სპექტრში დაფიქსირდა სუსტად გამოხატული მხარი 400-410ნმ დიაპაზონში (სურ. 3.4.4), ( $I=0,45$ ) და მკვეთრად გამოხატული პიკი, რომელიც წინა სპექტრებთან შედარებით წანაცვლებული იყო გრძელი ტალღის სიგრძისაკენ და რომელიც ფიქსირდებოდა 460-470 ნმ ტალღის სიგრძის დიაპაზონში ( $I=0,8$ ) (ცხრ.3.4.1). აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის შემთხვევაში კოლაგენით განპირობებული სუსტად გამოხატული მხარი 400-410 ნმ უბანში ასევე მეორდება, თუმცა ოდნავ წანაცვლებულია BHP ქსოვილის სპექტრთან (390-400 ნმ) შედარებით.

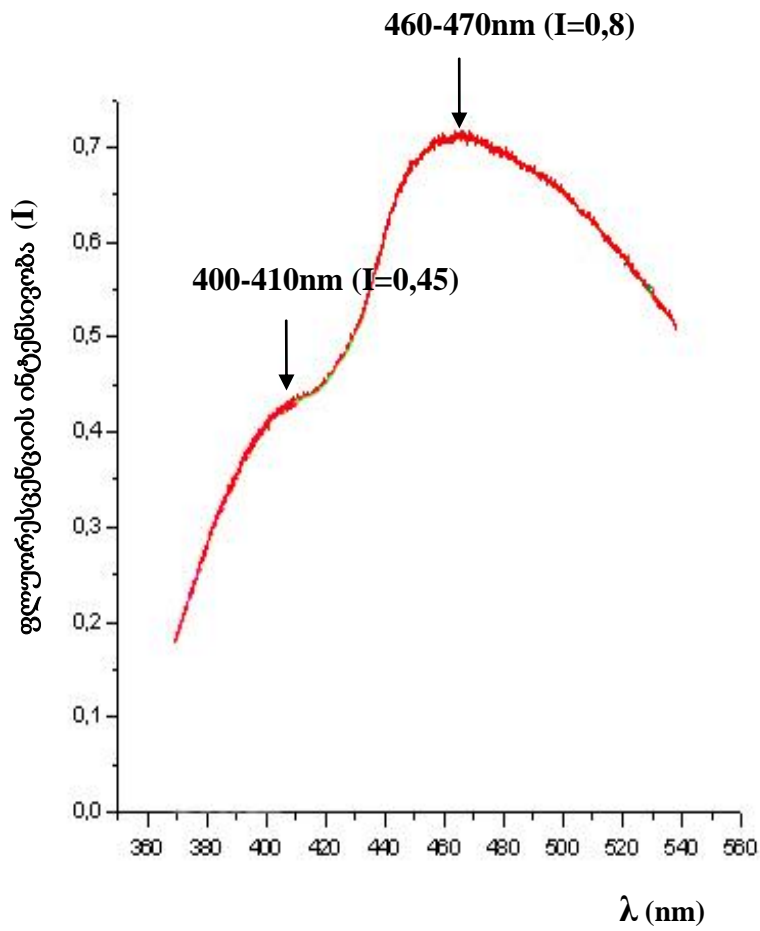




სურათი .3.4.2 ანთების ფონზე მიმდინარე პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის ფლუორესცენციის სპექტრი. აგზნების ტალღის სიგრძე  $\lambda=337$  ნმ; სპექტრების ჩაწერა ხდებოდა 300-560nm ტალღის სიგრძის დიაპაზონში.



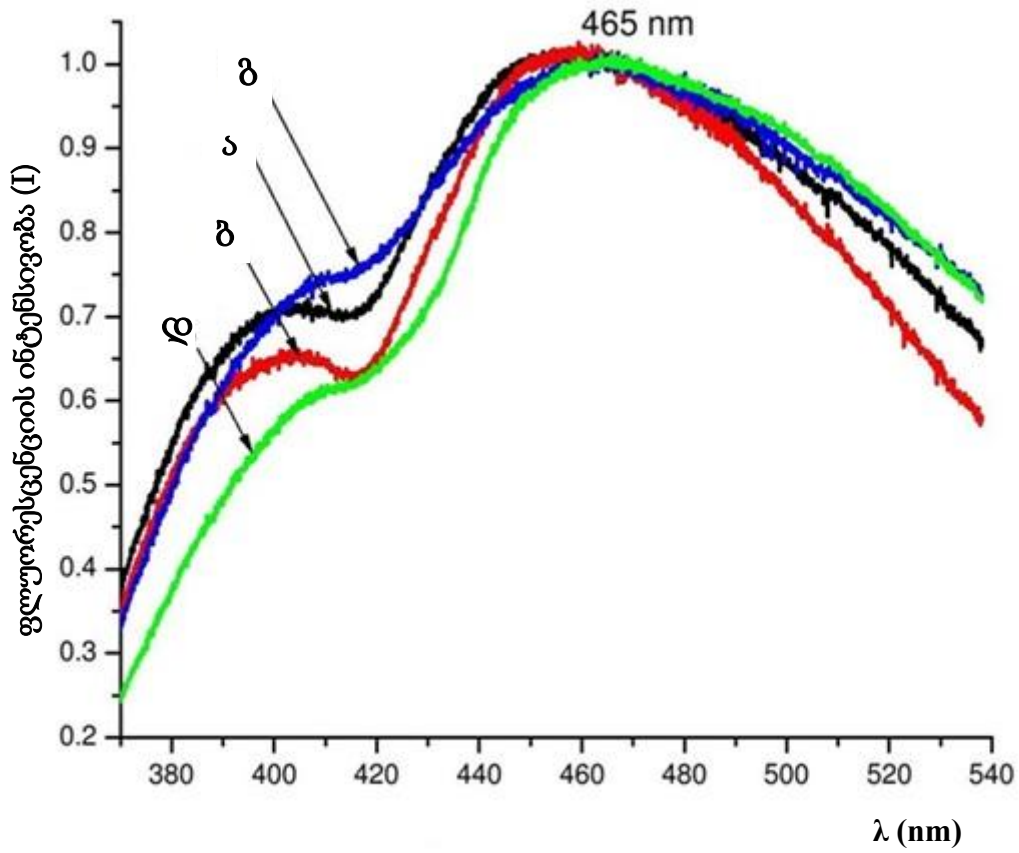
სურათი 3.4.3 HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის ფლუორესცენციის სპექტრი აგზნების ტალღის სიგრძე  $\lambda=337$  ნმ; სპექტრების ჩაწერა ხდებოდა 300-560nm ტალღის სიგრძის დიაპაზონში.



**სურათი 3.4.4** პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის ფლუოროსცენციის სპექტრი.

აგზნების ტალღის სიგრძე  $\lambda=337$  ნმ;

სპექტრების ჩაწერა ხდებოდა 300-560nm ტალღის სიგრძის დიაპაზონში.



სურათი 3.4.5 პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სხვადასხვა სიმსივნური ქსოვილის ფლუორესცენციის ნორმალიზებული სპექტრი. სპექტრების ნორმალიზება განხორციელდა 465 ნმ ტალღის სიგრძეზე.

- ა. პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია (BHP);
- ბ. ანთების ფონზე მიმდინარე BHP;
- გ. HGPIN უბნებიანი BHP;
- დ. პროსტატის ადენოკარცინომა (CaP).

ფლორესცენციის გასაშუალოებული სპექტრებიდან (ცხრ.3.4.1) ჩანს, რომ კოლაგენის შესაბამისი პიკის (სპექტრის I მაქსიმუმი) ინტენსივობა მატულობს გარკვეული დინამიკით:  $BHP \rightarrow CaP \rightarrow$  ანთების ფონზე მიმდინარე  $BHP \rightarrow HGPIN$  უბნებიანი BHP, და მაქსიმალურ მნიშვნელობას აღწევს HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით დაავადებულ მამაკაცებში. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ CaP შემთხვევაში კოლაგენის პიკის ინტენსივობა შედარებით ნაკლებია, ვიდრე ანთების ფონზე მიმდინარე BHP-სა და HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიის დროს.

თუ დავუშვებთ, რომ HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნურ ქსოვილში გაჩენილი ავთვისებიანი უბნები მოითხოვს კოლაგენის გაძლიერებულ ბიოსინთეზს, მაშინ სრულიად დასაშვებია, რომ HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიის შემთხვევაში კოლაგენისათვის დამახასიათებელი მხარის (390-400ნმ) წანაცვლება 400-410ნმ ტალღის სიგრძეზე და ფლორესცენციის ინტენსივობის მატება ( $I=0.65$ ) კოლაგენის გაძლიერებულ ბიოსინთეზზე მიუთითებს (Chisso et al., 2003). იქიდან გამომდინარე, რომ HGPIN უბნებს ავთვისებიანად გარდაქმნის ტენდენცია გააჩნიათ (Zynger and Yang, 2009) (~2-3 წლამდე) სრულიად შესაძლებელია, რომ კოლაგენის დიდი რაოდენობით დაგროვება აღნიშნულ შემთხვევაში სწორედ ერთგვარი მოსამზადებელი ეტაპია ავთვისებიანი ტრანსფორმაციისათვის, ავთვისებიანი სიმსივნური უჯრედებისათვის დამახასიათებელი სტრომის ჩამოსაყალიბებლად (Zhang et al., 2014).

ნიკოტინამიდური კოფერმენტებით გამოწვეული პიკის ინტენსივობის მატება 440-460 ნმ ტალღის სიგრძის დიაპაზონში ყველა საკვლევი ობიექტისათვის BHP სიმსივნურ ქსოვილთან შედარებით (ცხრ.3.4.1) აღნიშნული კოფერმენტების რაოდენობის მატებაზე უნდა მიუთითებდეს. რაც შეეხება ნიკოტინამიდური კოფერმენტების რაოდენობის მატებას HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ქსოვილში, ეს უკანასკნელი შესაძლოა განპირობებული იყოს პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნურ ქსოვილში ავთვისებიანი უბნების გაჩებით და შესაბამისად სიმსივნურ ქსოვილის უჯრედებში უკვე მიმდინარე მეტაბოლური ცვლილებებით. როგორც უკვე აღვნიშნეთ პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური უჯრედებისათვის დამახასიათებელია მეტაბოლიზმის სპეციფიური ტიპი, რაც გულისხმობს კრებსის ციკლის არასრული ფუნქციონირებიდან სრულ ფუნქციონირებაზე გადასვლა (Dakubo et al., 2006) .

ნიკოტინამიდური კოფერმენტების რაოდენობის მატებაზე ასევე მეტყველებს მიტოქონდრიული გლუტათიონ-დამოკიდებული სისტემის ფერმენტების (GSH-Px, GR, GSH) შესამჩნევი აქტივაციაც (ცხრ. 3.1.2) ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის დროს (Kotrikadze et al., 2012). ცნობილია, რომ აღნიშნული ფერმენტული სისტემის ფუნქციონირება მთლიანად დამოკიდებულია არეში ნიკოტინამიდური კოფერმენტების კონცენტრაციაზე (Lu, 2009).

პროსტატის ადენოკარცინომის შემთხვევაში ნიკოტინამიდური კოფერმენტების პიკის წანაცვლება (460-470ნმ ტალღის სიგრძის დიაპაზონში) და პიკის ინტენსივობის უმნიშვნელო შემცირება HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნურ ქსოვილთან შედარებით, შესაძლოა გამოწვეული იყოს გლუტათიონ-დამოკიდებული სისტემის ფერმენტების კიდევ უფრო გაზრდილი აქტივობის ფონზე (ცხრ.3.1.2) ნიკოტინამიდური კოფერმენტების გაძლიერებული მოხმარებით და შესაბამისად მათი რაოდენობის

შემცირებით. თუ მხედველობაში მივიღებთ, რომ პროსტატის ადენოკარცინომისაგან განსხვავებით (კრებსის ციკლისა და სუნთქვითი ჯაჭვის სრულყოფილი ფუნქციონირება) პროსტატის ნორმალური და კეთილთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის შემთხვევაში ეპითელურ უჯრედებში კრებსის ციკლი სრულყოფილად არ ფუნქციონირებს, მაშინ სავარაუდოა, რომ ნიკოტინამიდური კოფერმენტები მხოლოდ უმნიშვნელო რაოდენობით უნდა წარმოქმნებოდეს პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნის დროს, რაც ჩვენს შემთხვევაში აისახა კიდევ კოფერმენტებისათვის დამახასიათებელი პიკის ინტენსივობის მინიმალური დონით (ცხრ.3.4.1).

ამგვარად, შეიძლება ითქვას რომ, პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის ფლუორესცენტულ სპექტრებში აღდგენილი ნიკოტინამიდური კოფერმენტების პიკის არსებობა და მისი ინტენსივობის ცვლილება კარგად ასახავს და შესაბამისობაშია ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის იმ ტიპთან, რომელიც სპეციფიურია ერთი მხრივ პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნისათვის და მეორეს მხრივ კი პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური უჯრედებისათვის.

აქვე უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ სიმსივნური ქსოვილების ყველა ნიმუშის ფლუორესცენციის სპექტრის ნორმალიზაციის შედეგად 465 ნმ-ზე (სურ. 3.4.5) ცხადად გამოჩნდა, რომ ქსოვილის თითოეული ტიპისათვის დამახასიათებელია სპექტრის გარკვეული ფორმა და პიკების ინტენსივობების ცვლილება.

### 3.5 ენდოგენური ინტოქსიკაციის კრიტერიუმები და პროსტატის სიმსივნეები

(აღნიშნული კრიტერიუმების შეფასება და მათი როგორც დამხმარე სადიაგნოსტიკო ტესტ - მეთოდით გამოყენების პერსპექტივა)

ცნობილია, რომ სიმსივნური ტრანსფორმაცია არის ერთ-ერთი იმ პათოლოგიათა შორის, რომელთა ფონზე ფორმირდება ენდოგენური ინტოქსიკაცია (Afanaseva et al., 2005; Perederiy et al., 2013). არცთუ იშვიათად, ენდოგენური ინტოქსიკაციის ხარისხი იზრდება ონკოლოგიური ავადმყოფის თერაპიის პროცესშიც, როდესაც პაციენტი იღებს ციტოსტატიკებს ან მკურნალობს მაიონიზებული გამოსხივებით (Robinson, 2009). თანამედროვე შეხედულების თანახმად ენდოგენური ინტოქსიკაციის (ეი) პათოგენეზში წამყვანი როლი მემბრანოდესტრუქციულ პროცესებს ეკუთვნის. ცნობილია, რომ ენდოტოქსინების დიდ უმრავლესობას მემბრანოდესტრუქციული მოქმედების გამოხატული უნარი გააჩნია (Douvliis, 2002; Корякина и др., 2006). სწორედ უჯრედულ მემბრანებში მიმდინარე დესტრუქციული პროცესები წარმოადგენს ორგანიზმში ენდოტოქსიკოზის კლინიკური გამოვლინების საფუძველს (Parakhonsky et al., 2006).

*ენდოგენური ინტოქსიკაციის კვლევის აქტუალობა განპირობებულია შემდეგი ფაქტორებით:*

- ეი-ის განსაზღვრა შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას სკრინინგის მიზნით მეთოდის ინფორმატიულობის, სიმარტივის და ხელმისაწვდომობის გამო.
- ეი-ის შეფასება შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას დაავადების მიმდინარეობის პროგნოზირების მიზნით;
- ეი-ის ხარისხის შეფასებამ შესაძლოა განსაზღვროს მკურნალობის განსხვავებული სტრატეგია კონკრეტული დაავადებების შემთხვევაში.
- ეი-ის შეფასება შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას ოპერაციამდელი და ოპერაციის შემდგომი პერიოდების შედარების თვალსაზრისით;

ცნობილია, რომ ენდოგენურ ინტოქსიკაცია ორგანიზმში აისახება განსაზღვრული ბიოქიმიური მახასიათებლების ცვლილებით, როგორცაა კრეატინინი და შარდოვანა – ინტოქსიკაციის კლასიკური მარკერები. ენდოგენური ინტოქსიკაციის ფორმირებას თან ახლავს აგრეთვე ქსოვილური დესტრუქციის ორი ძირითადი პროცესი – ცილების პროტეოლიზი და ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის (ლზჟ) პროდუქტების დაგროვება სისხლის სისტემაში. ცილების პროტეოლიზის შედეგად პლაზმასა და ერითროციტებში გროვდება საშუალო მოლეკულური მასის ნაერთები (სმმნ); ლზჟ-ის გააქტივების შედეგად კი ადგილი აქვს შუალედური და საბოლოო პროდუქტების დაგროვებას (დიენური კონიუგატები, ჰიდროზეჟანგები, მალონის დიალდეჰიდი და სხვა). აღნიშნული თავის მხრივ განაპირობებს ანტიოქსიდანტური სისტემის ცვლილებებსაც (Kotrikadze et al., 2008).

ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, კვლევის მიზანს წარმოადგენდა შეგვესწავლა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების ერითროციტებში მიმდინარე მემბრანოდესტრუქციული პროცესები, ენდოგენური ინტოქსიკაციის ფორმირების პარალელურად, შემდეგი კრიტერიუმების გათვალისწინებით:

- ერთროციტების მემბრანის სორბციის უნარი;
- ერთროციტების მემრანის განვლადობა;
- სისხლის პლაზმაში კრეატინინის კონცენტრაციის ცვლილება;
- სისხლის პლაზმასა და ერთროციტებში საშუალო მოლეკულური მასის ნაერთების რაოდენობრივი ცვლილება;

მემბრანოდესტრუქციული პროცესების კვლევამ პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნეებით დაავადებულთა სისხლის ერთროციტებში გამოავლინა სორბციულ-უნარიანობის მიხედვით ორი ჯგუფი, რომელთა საშუალო მაჩვენებელი მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა ერთმანეთისაგან. კერძოდ, ერთმანეთს გაემიჯნა პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნე და მაღალი ხარისხის PIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნე. როგორც უკვე აღვნიშნეთ, პროსტატის კეთილთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში PIN უბნების არსებობა მიუთითებს პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნის ავთვისებიან სიმსივნეში გადაზრდის მაღალ რისკზე, რაც ზოგადად დაავადების მიმდინარეობის არაკეთილსაიმედო პროგნოზს უსვამს ხაზს (Zynger DL and Yang, 2009).

გამოკვლევებმა უჩვენა, რომ BHP სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების **ერთროციტების სორბციულუნარიანობა** მხოლოდ უმნიშვნელოდ აღემატებოდა საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებელს ან რჩებოდა ნორმის ფარგლებში. აღნიშნული ჯგუფის საშუალო მაჩვენებელი შეადგენდა ~38,53%-ს (ცხრ.3.5.1). რაც შეეხება HG PIN კეთილთვისებიან ჰიპერპლაზიით დაავადებულთა ერთროციტების სორბციულუნარიანობას, აღნიშნული მაჩვენებელი მკვეთრად იყო გაზრდილი და შეადგენდა 59.40%, რაც ~1,6-ჯერ აღემატებოდა საკონტროლო ჯგუფის იგივე მაჩვენებელს (ცხრ.3.5.1) და ~1,5-ჯერ BHP პაციენტების ერთროციტების საშუალო მაჩვენებელს.

რაც შეეხება პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების ერთროციტებს, მათი სორბციულუნარიანობის საშუალო მაჩვენებელი მკვეთრად იყო გაზრდილი და შეადგენდა 67,6%, რაც ~1,8-ჯერ აღემატებოდა საკონტროლო ჯგუფის მამაკაცების საშუალო მაჩვენებელს და ~1,7-ჯერ პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების ერთროციტების საშუალო მაჩვენებელს. პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების ერთროციტების სორბციულუნარიანობის საშუალო მაჩვენებელი უმნიშვნელოდ იყო გაზრდილი (~1.13-ჯერ) HG PIN უბნებიანი კეთილთვისებიან ჰიპერპლაზიასთან შედარებით.

ამგვარად, ერთროციტების მემბრანის სორბციულუნარიანობის მატება HG PIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი და პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების შემთხვევაში უნდა მიუთითებდეს ცირკულირებადი ერთროციტების მემბრანული ორგანიზაციის ცვლილებაზე სიმსივნური ინტოქსიკაციის დროს.

კვლევის შემდგომ ეტაპზე შესწავლილ იქნა მემბრანოდესტრუქციული პროცესების კიდევ ერთი ინდიკატორი - **ერთროციტების განვლადობა** (ცხრ.3.5.1).

გამოკვლევებმა უჩვენა, რომ ერთროციტების განვლადობის საშუალო მაჩვენებელი BHP სიმსივნის, HG PIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიისა და CaP



ცხრილი 3.5.1

ერიტროციტის მემბრანის სორბციული უნარის და განვლადობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სისხლში

ობიექტი	ერიტროციტების სორბციულ უნარიანობა (%)	ერიტროციტის მემბრანის განვლადობა (ფარდ.ერთ)
საკონტროლო ჯგუფი	37.12 ± 1.43	18.0 ± 0.41
პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია (BHP)	38.53 ± 1.72	16.74 ± 0.28
პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია	59.40 ± 2.01	16.53 ± 0.22
პროსტატის კიბო (CaP)	67.60 ± 2.83	15.08 ± 0.20

n=15 (თითოეული ჯგუფისათვის);

P≤0.05 ერიტროციტების სორბციულუნარიანობისათვის;

P>0.05 ერიტროციტების მემბრანის განვლადობის შემთხვევაში.

სიმსივნეებით დაავადებულ მამაკაცთა ერთროციტებში თითქმის არ განსხვავდება ერთმანეთისაგან თუმცა დაფიქსირდა უმნიშვნელო კლება CaP შემთხვევაში (ცხრ.3.5.1).

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ ენდოგენური ინტოქსიკაციის მოქმედება ერთროციტების მემბრანაზე ხორციელდება რამოდენიმე თანმიმდევრული სტადიის გავლით.

პირველ სტადიაზე ტოქსინების ადსორბციისა და მათი ტრანსპორტირების ხარჯზე ადგილი აქვს დეტოქსიკაციას. მეორე ეტაპზე ხდება ერთროციტების მემბრანების გაჯერება ტოქსიკური პროდუქტებით და ამ უკანასკნელთა დაგროვება სისხლის პლაზმაშიც. რაც შეეხება მესამე ეტაპს ტოქსინების კონცენტრაცია ერთროციტების მემბრანაზე და პლაზმაში აღწევს მაქსიმუმს. მეოთხე ეტაპზე კი ტოქსიკური ნაერთების კონცენტრაცია მატულობს პლაზმაში და კლებულობს ერთროციტების მემბრანაზე, რადგან ამ უკანასკნელთა სატრანსპორტო-ადსორბციული ფუნქცია მემბრანაში მიმდინარე დეზორგანიზაციული პროცესების შედეგად ქვეითდება (Petrosian et al., 2001). ენდოტოქსინების ხანგრძლივი ზემოქმედების შედეგად ადგილი უნდა ჰქონდეს ცილების და ფოსფოლიპიდების კონფორმაციულ ცვლილებებს, მემბრანის სიბლანტის მატებას, რის შედეგადაც წარმოიქმნება ე.წ. „ხისტი მემბრანა“ (Petrosian et al., 2001).

ჩვენი ვარაუდით, ერთროციტული მემბრანის განვლადობის საშუალო მაჩვენებლის კლება CaP სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების ერთროციტებში საკონტროლო ჯგუფის მამაკაცებთან შედარებით, გამოწვეული უნდა იყოს ერთროციტის მემბრანული სტრუქტურის დეზორგანიზაციით. როგორც ჩანს, ენდოტოქსინებისა და შესაბამისად ენდოტოქსიკოზის მატების შედეგად ადგილი აქვს ე.წ. „ხისტი მემბრანის“ წარმოქმნას და ამის ხარჯზე განვლადობის შემცირებას. ერთროციტის გადატვირთვა ადსორბირებული ორგანული ნაერთებით უნდა იწვევდეს მემბრანის შეუქცევად დაზიანებას და ნორმალური შერჩევითი განვლადობის პრინციპის მოშლასაც (Douvliis, 2002). ავთვისებიანი სიმსივნური ზრდის ფონზე ადგილი უნდა ჰქონდეს ერთროციტების მემბრანის ლიპიდურ შრეში ზეჟანგური პროცესების განვითარებას (Stemmer and Hermetter, 2012), მემბრანის ზედაპირული მუხტის ცვლილებას (ალიბეგაშვილი და სხვ., 2002), მემბრანის თავისუფალ-რადიკალურ დაზიანებას (Stemmer and Hermetter, 2012). ყოველივე აღნიშნული ზეგავლენას უნდა ახდენდეს ერთროციტის მემბრანის განვლადობაზე. აღნიშნული დასტურდება ჩვენი ადრეული კვლევების შედეგებითაც, რომელთა მიხედვით პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სისხლში ადგილი ჰქონდა სისხლის ლიპიდური სპექტრის (ფოსფოლიპიდების და ნეიტრალური ლიპიდების) და სისხლის ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროდუქტების (დიენური კონუგატების, კეტოდიენები, მალონის დიალდეჰიდი, შიფის ფუძეები) რაოდენობის ცვლილებას (ბოჭორიშვილი, 2004; Zibzibadze et al., 2009; Kotrikadze et al., 2008), ასევე ერთროციტული მემბრანის ლიპიდების, კერძოდ კი ფოსფოლიპიდების და ქოლესტეროლის საერთო რაოდენობის, ერთროციტის მემბრანის ამინომემცველი და ქოლინემცველი ფოსფოლიპიდების საერთო რაოდენობის, ერთროციტებში ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ინტენსივობის ცვლილებას (ალიბეგაშვილი, 2003).

ცნობილია, რომ ლუჟ პროცესების მიმდინარეობას ერთროციტების მემბრანაში ეწინააღმდეგება უჯრედის ანტოქსიდანტური ფერმენტული სისტემა-სუპეროქსიდისმუტაზა (SOD) და კატალაზა (CAT) (Kotrikadze et al., 2008). აღნიშნული სტატის ავტორები გამოთქვამენ ვარაუდს, რომ BHP სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების

ერიტროციტები აქტიურად ანხორციელებენ დეტოქსიკაციას და ადსორბირებული ტოქსინების ნეიტრალიზაციას, ხოლო CaP სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების ერიტროციტების ანტიოქსიდანტური სისტემის ფუნქციონირება დაქვეითებულია, ანუ მემბრანოდესტრუქციული პროცესები მკვეთრად გამოხატულია პროსტატის ადენოკარცინომის შემთხვევაში (ცხრ. 3.5.2).

ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა ასევე ეი-ის ერთ-ერთი კლასიკური მარკერი -**კრეატინინის** კონცენტრაცია პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სისხლის პლაზმაში (ცხრ.3.5.3).

გამოკვლევებმა გამოავლინა საკონტროლო ჯგუფის მამაკაცებთან შედარებით BHP სიმსივნით დაავადებულ მამაკაცებში კრეატინინის კონცენტრაციის (~3,6-ჯერ) მატება, ხოლო HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნის შემთხვევაში კი კრეატინინის ~10.5-ჯერ მატება. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ HGPIN უბნებიანი BHP სიმსივნის შემთხვევაში კრეატინინის კონცენტრაცია კეთილთვისებიან სიმსივნესთან შედარებით გაზრდილია (~2.9-ჯერ). რაც შეეხება პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების სისხლს, ამ უკანასკნელში აღინიშნებოდა კრეატინინის მკვეთრი მატება საკონტროლო ჯგუფის მამაკაცებთან შედარებით (~5,6-ჯერ), BHP სიმსივნით დაავადებულ მამაკაცებთან შედარებით ~1.5-ჯერ, ხოლო HGPIN კეთილთვისებიან ჰიპერპლაზიასთან შედარებით კრეატინინის კონცენტრაცია მცირდებოდა (~1.8-ჯერ), თუმცა რჩებოდა მაღალი საკონტროლო ჯგუფსა და BHP-თან შედარებით (ცხრ. 3.5.3).

ცნობილია, რომ კრეატინინი წარმოადგენს ცილების ცვლის ერთ-ერთ საბოლოო პროდუქტს. მისი ჭარბი რაოდენობა სისხლსა თუ შარდში მიუთითებს ცილების გაძლიერებულ დაშლაზე (Matveev et al., 2009). ცნობილია ისიც, რომ კრეატინინის შემცველობის ზრდა პლაზმაში 200 მკმოლ/ლ-ზე და მეტი მიუთითებს ენდოგენური ინტოქსიკაციის არსებობაზე ორგანიზმში (Matveev et al., 2009). აქედან გამომდინარე კრეატინინის მონაცემების მიხედვით ენდოგენურ ინტოქსიკაციას ადგილი აქვს ყველა საკვლევ ობიექტში (BHP, HGPIN უბნებიანი BHP, CaP), თუმცა ყველაზე მეტად გამოხატულია HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიის შემთხვევაში, რაც აღნიშნულ ობიექტში ცილების გაძლიერებულ დაშლაზე და ორგანიზმში მიმდინარე ენდოგენური ინტოქსიკაციის ყველაზე მაღალ ხარისხზე მიუთითებს. მნიშვნელოვანია აღინიშნოს ისიც, რომ ჩვენი გამოკვლევებით HGPIN უბნებიანი BHP სიმსივნის შემთხვევაში, გარდა კრეატინინისა, ასევე გაზრდილია მეორე კლასიკური მარკერი - საშუალო მოლეკულური მასის ნაერთების (სმმნ) კონცენტრაცია, როგორც სისხლის პლაზმაში, ასევე ერიტროციტებში, რაც კრეატინინთან ერთად ინტოქსიკაციის მაღალ კოეფიციენტზე მიუთითებს (ცხრ. 3.5.3).

ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა ენდოგენური ინტოქსიკაციის კიდევ ერთი კლასიკური მარკერი - **საშუალო მოლეკულური მასის ნაერთები** (სმმნ), როგორც სისხლის პლაზმაში, ასევე ერიტროციტებში (ცხრ. 3.5.3).

გამოკვლევებმა გამოავლინა სისხლის პლაზმაში სმმნ-ის ზრდა ყველა საკვლევ ობიექტში საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით. კერძოდ, სმმნ იზრდებოდა BHP სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების შემთხვევაში (~1,68-ჯერ), ~2,01-ჯერ იზრდებოდა

ცხრილი 3.5.2

ანტიოქსიდანტი ფერმენტების – სუპეროქსიდდისმუტაზას (SOD) და კატალაზას (CAT) აქტივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების

ერთროციტებში (Kotrikadze et al., 2008)

ობიექტი	პაციენტების რაოდენობა (n)	SOD U/ $\mu$ l	CAT mcat/ml
საკონტროლო ჯგუფი	5	1,83 $\pm$ 1,05	12,98 $\pm$ 1,02
პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია BHP	18	24,65 $\pm$ 1.20	12,41 $\pm$ 0,85
პროსტატის ადენოკარცინომა CaP	13	11,45 $\pm$ 0,89	9,52 $\pm$ 0,56

$P \leq 0.05$

ცხრილი 3.5.3

ენდოგენური ინტოქსიკაციის კოეფიციენტის, კრეატინინისა და საშუალო მოლეკულური მასის (სმმნ) ნაერთების კონცენტრაციის ცვლილება პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სისხლში

კვლევის ობიექტი	ინტოქსიკაციის სტანდარტული მარკერები			
	კრეატინინი μmol/L (Matveev et al., 2009)	სმმნ პლაზმაში (E total)	სმმნ ერიტროციტებში (E total)	ინტოქსიკაციის კოეფიციენტი (ფარდ. ერთ)
საკონტროლო ჯგუფი	61- 115	1.76 ± 0.32	5.25 ± 1.17	2.38 ± 0.48
პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია (BHP)	318 ± 66.9	2.97 ± 0.59	7.67 ± 1.67	4.15 ± 0.47
პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია HGPIN უბნებით	945 ± 201.4	3.69 ± 0.88	9.62 ± 2.01	7.06 ± 0.87
პროსტატის ადენოკარცინომა (CaP)	500 ± 103.2	3.31 ± 0.74	8.86 ± 1.84	5.50 ± 0.44

სმმნ- საშუალო მოლეკულური მასის ნაერთები;

n=15 (თითოეული ჯგუფისათვის);

P≤0.05

HGPIN კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით დაავადებული მამაკაცების შემთხვევაში, ხოლო ~1,88-ჯერ CaP სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების შემთხვევაში (ცხრ. 3.5.3). რაც შეეხება პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების ერთროციტებს, გამოკვლევებმა უჩვენა, რომ ერთროციტებში სმმნ-ის კონცენტრაცია საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით იზრდებოდა ~1,46-ჯერ BHP სიმსივნით დაავადებულ მამაკაცებში, ~1,65-ჯერ CaP სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების შემთხვევაში და ყველაზე მაღალ მაჩვენებელს აღწევდა HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით დაავადებული მამაკაცების ერთროციტებში (~1,83-ჯერ) (ცხრ. 3.5.3). ამგვარად, სმმნ-ის დაგროვება პლაზმასა და ერთროციტების მემბრანაზე განსაკუთრებით მკვეთრად გამოხატული იყო HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიის შემთხვევაში.

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია წარმოადგენს ერთგვარ გარდამავალ ფორმას კეთილ და ავთვისებიან სიმსივნეებს შორის და ბიოქიმიური მახასიათებლებით ძალიან ახლოს დგას CaP სიმსივნით დაავადებულ მამაკაცების მაჩვენებლებთან (Zynger and Yang, 2009). თუმცა არსებობს საპირისპირო მოსაზრებაც, რომ HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია წარმოადგენს დაავადების დამოუკიდებელ ფორმას, რომელიც ხასიათდება სიმძიმის მეტი ხარისხითა და დაავადების მიმდინარეობის მეტი აგრესიულობით, ვინაიდან აერთიანებს როგორც BHP-ის, ასევე CaP-ის მახასიათებლებს (Zynger and Yang, 2009).

ცნობილია, რომ ენდოგენური ინტოქსიკაციის რეალური ხარისხი დამოკიდებულია სმმნ-ის გადანაწილებაზე პლაზმასა და ერთროციტებს შორის. იმ შემთხვევაში თუ ტოქსინების უმრავლესობა ადსორბირებულია ერთროციტებზე, ინტოქსიკაციის ხარისხი არ არის მაღალი (უკუპროპორციული დამოკიდებულება) (Stephens et al., 2006). ასრულებენ რა თავიანთ ადსორბციულ-სატრანსპორტო ფუნქციას, ერთროციტები იკავშირებენ პლაზმაში ჭარბად ცირკულირებად მეტაბოლიტებს და აღადგენენ ამით პლაზმის ნორმალურ ქიმიურ შემადგენლობას (Gareyev, 2011). აღნიშნული კიდევ ერთხელ ადასტურებს ერთროციტების, როგორც ორგანიზმის ფუნქციონალური მდგომარეობის ამსახველი ერთ-ერთი რგოლის მნიშვნელობას და მის აქტიურ მონაწილეობას დეტოქსიკაციურ პროცესებში.

ცნობილია, რომ ენდოგენური ინტოქსიკაციის ხარისხის შეფასების მიზნით გამოიყენება კოეფიციენტი, რომელიც დამოკიდებულია სმმნ-ის რაოდენობაზე როგორც პლაზმაში, ასევე ერთროციტების მემბრანაზე. რეალურად სწორედ ეს კოეფიციენტი ასახავს ორგანიზმის ტოქსიურ დატვირთვას პათოლოგიის პირობებში და იძლევა ენდოგენური ინტოქსიკაციის ხარისხის დადგენის საშუალებას (Gareyev, 2011).

ჩვენმა გამოკვლევებმა უჩვენა, რომ ენდოგენური ინტოქსიკაციის ხარისხი საკონტროლო ჯგუფის მამაკაცების მაჩვენებლებთან შედარებით მკვეთრად იყო გაზრდილი (~2.12-ჯერ) HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიის შემთხვევაში, ხოლო CaP და BHP დაავადებული მამაკაცების შემთხვევაში აღნიშნული მაჩვენებელი მომატებული იყო (~1.7-ჯერ), თუმცა ნაკლები ხარისხით HGPIN კეთილთვისებიან ჰიპერპლაზიასთან შედარებით (ცხრ 3.5.3).

ამგვარად, პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში ენდოგენური ინტოქსიკაციის კრიტერიუმების შეფასება ამ უკანასკნელთა პრაქტიკული გამოყენების პერსპექტივის დასახვის საშუალებას იძლევა.

კერძოდ:

- ერთროციტების სორბციულუნარიანობა სარწმუნო კრიტერიუმს წარმოადგენს ენდოგენური ინტოქსიკაციის შესაფასებლად, რამეთუ აღნიშნული პარამეტრის ცვლილება სრულ შესაბამისობაშია, როგორც დაავადების მიმდინარეობასთან, ასევე ინტოქსიკაციის კოეფიციენტის და კრეატინინის ცვლილებასთან.
- ენდოგენური ინტოქსიკაციის მაღალი ხარისხი HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიის შემთხვევაში კიდევ ერთ, ძლიერ არგუმენტს წარმოადგენს დაავადების მოცემული ფორმის აგრესიულობისა და არასაიმედო პროგნოზის შესახებ არსებული ინფორმაციის სასარგებლოდ.
- მხედველობაში მისაღებია ის, რომ დღესდღეობით პროსტატის კეთილთვისებიანი და პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნის დიაგნოზი ისმება მხოლოდ ოპერაციის ჩატარებიდან 2 კვირის შემდგომ ჰისტო-მორფოლოგიური გამოკვლევების საფუძველზე.

პრაქტიკული გამოყენების პერსპექტივის თვალსაზრისით მნიშვნელოვანია ოპერაციამდე მოხდეს პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნეების დიფერენცირება და გამოიყოს მაღალი ხარისხის PIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების ცალკე ჯგუფი, რაც დაავადების აღნიშნული ფორმის მკურნალობის სწორი და ეფექტური ტაქტიკის შერჩევას შეუწყობს ხელს (განსხვავებული ქირურგიული და ფარმაკოლოგიური მკურნალობა).

ყოველივე ეს ავადმყოფის სიცოცხლის ხარისხზე, ხანგრძლივობაზე და ფინანსურ მდგომარეობაზე აისახება.

**რეკომენდაციები:**

- ოპერაციამდე პროსტატის სიმსივნეების დიფერენცირების შემთხვევაში HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიის შემთხვევაში, პაციენტებს ჩაუტარდეს არა **ტრანსურეთრალური რეზექცია** (ანუ **პროსტატის ტური**, რაც გულისხმობს მცირე ზომის კეთილთვისებიანი სიმსივნის მოცილებას რეზექტოსკოპის საშუალებით), არამედ **მარტივი (ღია) პროსტატექტომია**, რაც გულისხმობს პროსტატის ჯირკვალის სრულ ან ნაწილობრივ ამოღებას.
- HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნითა და პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებულ პაციენტებს დროულად დაენიშნოთ **ანტიოქსიდანტური თერაპია** ორგანიზმში მაღალი ხარისხის ინტოქსიკაციის ფონზე განვითარებული ტოქსემიის ნორმალიზებისათვის, რაც თავის მხრივ სხვა ორგანოების (ღვიძლი, თირკვლები, ფილტვები და ა.შ.) დაზიანების პრევენციას მოახდენს.

## თავი IV

### დასკვნები

პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილისა და სისხლის უჯრედების მეტაბოლიზმის ზოგიერთი ასპექტის შესწავლის შედეგად:

- დადგენილია პროსტატის ავთვისებისნი სიმსივნური ქსოვილის უჯრედების მიტოქონდრიებში კრებსის ციკლის აქტივაცია, სუნთქვით ჯაჭვში ელექტრონების ნაკადის გაძლიერება და ტერმინალური ჟანგვის შესუსტება, მეორეს მხრივ კი აღნიშნული უჯრედების თავდაცვის უნარის გაძლიერება;
- პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის უჯრედებში რკინა–გოგირდოვანი ცენტრების (კლასტერების) ეპრ–სიგნალის ინტენსივობის შემცირება სუნთქვითი ჯაჭვის კომპლექსების (I - III) ფუნქციონირების რღვევაზე მიუთითებს.
- პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილიდან მიღებულ მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში ციტოქრომ P450–ის ეპრ სიგნალის ინტენსივობის მკვეთრი მატება სტეროიდოგენეზის პროცესის დაქვეითებაზე (უკუკავშირის მექანიზმით), ხოლო სუპეროქსიდდისმუტაზას ეპრ სიგნალის ინტენსივობის შემცირება კი აღნიშნული ანტიოქსიდანტური ფერმენტის ფუნქციონირების შესუსტებაზე მიუთითებს.
- გამოვლენილ იქნა ფლუორესცენტულ სპექტრებში კოლაგენის პიკის ინტენსივობის მატება, რაც კარგად ასახავს პროსტატის ავთვისებიანი ტრანსფორმაციისათვის დამახასიათებელ სტრუქტურულ ცვლილებებს (ავთვისებიანი სიმსივნისათვის დამახასიათებელი სტრომის ჩამოყალიბება), ხოლო ნიკოტინამიდური კოფერმენტებისათვის დამახასიათებელი პიკის ინტენსივობის ცვლილება კი სრულ შესაბამისობაშია იმ სპეციფიურ ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმთან, რაც დამახასიათებელია ერთი მხრივ პროსტატის კეთილთვისებიანი (კრებსის ციკლის არასრული ფუნქციონირება) და მეორეს მხრივ პროსტატის ავთვისებიანი უჯრედებისათვის (კრებსის ციკლის აქტივაცია).
- დადგენილია, რომ პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში ერთროციტების სორბციულუნარიანობა წარმოადგენს სარწმუნო კრიტერიუმს ენდოგენური ინტოქსიკაციის შესაფასებლად. აღნიშნული პარამეტრის ცვლილება თავის მხრივ ერთროციტების მემბრანაში (HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიის და CaP შემთხვევაში) განვითარებულ მემბრანოდესტრუქციულ პროცესებზე მიუთითებს.
- ოპერაციამდე სისხლში ენდოგენური ინტოქსიკაციის სხვადასხვა კრიტერიუმის განსაზღვრამ PIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების ცალკე ჯგუფის გამოვლენის საშუალება მოგვცა, რაც მნიშვნელოვანია დაავადების აღნიშნული ფორმის მკურნალობის სწორი და ეფექტური ტაქტიკის შერჩევისათვის.



## თავი V

### გამოყენებული ლიტერატურა

- ალიბეგაშვილი მანანა. სისხლის ერითროციტების მემბრანული რეგულაციის ცვლილების შესწავლა სიმსივნური ზრდის დროს (წინამდებარე ჯირკვლის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზის, წინამდებარე ჯირკვლის ადენოკარცინომა). ბ.მ.კ. სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი დისერტაცია. თბილისი, 2003წ.
- ბოჭორიშვილი ირმა. პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სისხლის ლიპიდებისა და ცილების სტრუქტურული და ფიზიკურ-ქიმიური მახასიათებლების შესწავლა. ბ.მ.კ. სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი დისერტაცია. თბილისი, 2004წ.
- კაციტაძე ზ. „ადამიანის ანატომია“. ტ.4, გვ:134; 1992.
- ხუციშვილი ეკა. პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სისხლის ფიზიკურ-ქიმიური მახასიათებლების ცვლილების შესწავლა პლასტიკური ორქექტომიის შემდეგ. ბ.მ.კ. სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი დისერტაცია. თბილისი, 2006წ.
- Скулачев В.П. Эволюция, митохондрии и кислород. Сорос. Образ. Ж., 9:1–7; 1999.
- Скулачев В.П. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода. Сорос. Образ. Ж., 6 (7):4-10; 2001
- Реутов В.П. Сорокина Е.Г. и др. NO-синтезатная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота . Биохимия, 63: 1029-1040; 1998.
- Маеда Х., Акаите Т. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке. Биохимия., 63:1007-1019; 1998.
- Лобышева И.И, Сереженко В.А. Стукан Р.А, и др. Окислительно- Восстановительные реакции и стабильность динитрозильных комплексов железа стиолсодержащими лигандами. Биохимия. 62 (7): 934-942; 1997.
- Григорьев М.Ю. Кольтовер В.К. Усиление транскрипции в клетках печени мышей свободными радикалами окиси азота. Биохимия. 52(5): 758-760; 1987.
- Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах. Сорос. Образ. Ж, 6 (12): 13–19; 2000.
- Ванин А.Ф. Оксид азота в биологии: История, состояние и перспективы исследования. Биохимия, 63 (7):867-869; 1998.
- Блюменфельд Л.А. Воеводский В.В. Семенов А.Г. Применение ЭПР в химии. Изд. СОАН СССР. Новосибирск. 1962.
- Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В. Биохимия. Руководство к практическим занятиям по биологической химии. – М.: Высшая школа, 239с. 1988.
- Abate-Shen, C. and Shen, M.M. Molecular genetics of prostate cancer. Genes Dev., 14: 2410-2434; 2000.
- Abril J., de Heredia M.L., González L., et al. Altered expression of 12S/MT-RNR1, MT-CO2/COX2, and MT-ATP6 mitochondrial genes in prostate cancer. Prostate. 68:1086–1096; 2008.
- Akaike T., Anstey N, Bastian NR, Maeda H et al. Nitric Oxide in Infections (Fang FC, Ed.) Kluwer Academic publishers, N.Y., Boston, Dordrecht, London, Moscow, 2002.
- Alers, J.C., Rochat, J., Krijtenburg, P.J. et al. Identifcation of genetic markers for prostatic cancer progression. Lab. Invest., 80: 931-941; 2000.
- Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature. 290(5806):457-65; 1981.

- Anidjar M., Cussenot O., Blais J., Bourdon O., et al. Argon Laser Induced Autofluorescence may Distinguish Between Normal and Tumor Human Urothelial Cells: a Microspectrofluorimetric Study, *J. Urol.* 155(5): 1771–1774; 1996.
- Araldi EM., Dell'aica I., Sogno I. et al. Natural and synthetic agents targeting inflammation and angiogenesis for chemoprevention of prostate cancer. *Curr. Cancer Drug Targets*, 8:146–155; 2008.
- Arbiser J.L., Petros J., Klafter R., Govindajaran B et al. Reactive oxygen generated by Nox1 triggers the angiogenic switch, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 99: 715–720; 2002.
- Arnold WP. Mittal CK. Katsukis and Murad F. Nitric oxide activates guanilate cyclase and increases guanosine 3'5'- cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc. Natl. Acad. Sci, USA*, 74: 3203-3207; 1997.
- Arshakyan, Kh.A., Pushkarev, S.V., Polovnikov, E.S. and Meshalkin, Yu.P. Diagnostic Facilities of Laser-Induced Fluorescence of Cervix Uteri Swabs in Case of Oncology Diseases. *Bulletin of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, 1: 30-34; 2007.
- Atamna H, Walter PB, Ames BN. The role of heme and iron–sulfur clusters in mitochondrial biogenesis, maintenance, and decay with age. *Arch Biochem Biophys*, 397:345–353; 2002.
- Augenlicht, LH; Heerdt, BG. Mitochondria: integrators in tumorigenesis? *Nature Genetics*. 28:104–105; 2001.
- Bachmann L. Zzell DM , Ribeiro A C , Gomes L & Siuti Ito A. Fluorescence Spectroscopy of Biological Tissues—A Review. *Applied Spectroscopy Reviews*, 41: 575–590; 2006.
- Balaban RS, Nemoto S, Finkel T. Mitochondria, Oxidants and Aging. *Cell*, 120:483-495; 2005.
- Balendiran G.K., Dabur R, Fraser D. The role of glutathione in cancer. *J. Cell Biochem. Funct.*, 22: 43-52; 2004.
- Baltaci S., Orhan D., Gögüs C et al. Inducible nitric oxide synthase expression in benign prostatic hyperplasia, low- and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and prostatic carcinoma, *BJU Int.* 88 100–103; 2001.
- Banach-Petrosky W, Jessen WJ, Ouyang X, Gao H, Rao J, Quinn J, Aronow BJ & Abate-Shen C. Prolonged exposure to reduced levels of androgen accelerates prostate cancer progression in Nkx3.1; Pten mutant mice. *Cancer Research* 67: 9089–9096; 2007.
- Bardia A, Platz EA, Yegnasubramanian S, De Marzo AM & Nelson WG. Anti-inflammatory drugs, antioxidants, and prostate cancer prevention. *Current Opinion in Pharmacology* 9: 419–426; 2009.
- Barzilai A., Rotman G., Shiloh Y. ATM deficiency and oxidative stress: a new dimension of defective response to DNA damage, *DNA Repair* 22: 3–25; 2002.
- Beckman JS, Ye YZ, Anderson PG, Chen J et al. Extensive nitration of protein tyrosine in human atherosclerosis detected by immunohistochemistry. *Biol. Chem. Hoppe Seyler*, 375: 81-88; 1994.
- Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA and Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87 (4): 1620-1624; 1990.
- Beinert H, Holm RH, Münck E. Iron–sulfur clusters: nature's modular, multipurpose structures. *Science* 277:653–659; 1997.
- Beinert H, Thomson AJ. 3-iron clusters in iron–sulfur proteins. *Arch Biochem Biophys*, 222:333–361; 1983.
- BelAiba R.S., Djordjevic T., Bonello S., Flügel D., Hess J., Kietzmann T., Görlach A. Redox-sensitive regulation of the HIF pathway under non-hypoxic conditions in pulmonary artery smooth muscle cells, *Biol. Chem.* 385: 249–257; 2004.
- Birnbaum MJ. On the interaction between hexokinase and mitochondrion. *Developmental Cell*, 7: 781–782; 2004.
- Block K., Ricono JM., Lee DY., Bhandari B et al. Arachidonic acid-dependent activation of a p22 (phox)-based NAD(P)H oxidase mediates angiotensin II-induced mesangial cell protein synthesis and fibronectin expression via Akt/PKB, *Antioxid. Redox. Signal.* 8:1497–1508; 2006.
- Borras C, Sastre J, García-Sala D et al., Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene

- expression and lower oxidative damage than males. *Free Radic. Biol. Med.*, 34:546–552; 2003.
- Bosland MC & Mahmoud AM. Hormones and prostate carcinogenesis: androgens and estrogens. *Journal of Carcinogenesis* 10: 33; 2011.
- Bostwick DG, Alexander EE, Singh R, Shan A., et al. Antioxidant enzyme expression and reactive oxygen species damage in prostatic intraepithelial neoplasia and cancer. *Cancer*, 89 (1):123-134; 2000.
- Bottiroli G., Croce AC., Locatelli D., Marchesini R. et al. Natural Fluorescence of Normal and Neoplastic Human Colon: a Comprehensive “*ex vivo*” Study, *Lasers Surg. Med.*, 16 (1):48–60; 1995.
- Bourdeau-Heller J, and Oberley T.D. Prostate carcinoma cells selected by long-term exposure to reduced oxygen tension show remarkable biochemical plasticity via modulation of superoxide, HIF-1 $\alpha$  levels, and energy metabolism, *J. Cell Physiol.* 212:744–752; 2007.
- Brahimi-Horn M.C., Chiche J., Pouyssegur J., Hypoxia signaling controls metabolic demand, *Curr. Opin. Cell Biol.* 19: 223–229; 2007.
- Brandon M, Baldi P and Wallace DC. Mitochondrial mutations in cancer. *Oncogene.* 25: 4647–4662; 2006.
- Brar S.S., Corbin Z., Kennedy T.P., Hemendinger R. et al. NOX5 NAD(P)H oxidase regulates growth and apoptosis in DU 145 prostate cancer cells, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 285: C353–C369; 2003.
- Bratt, O. Hereditary prostate cancer: clinical aspects. *J. Urol.*, 168: 906-913; 2002.
- Breslin TM., Xu F, Palmer GM. et al. Autofluorescence and Diffuse Reflectance Properties of Malignant and Benign Breast Tissues. *Annals of Surgical Oncology*, 11(1):65–70; 2003.
- Brusque AM., Rosa RB., Schuck PF., Dalcin KB et al. Inhibition of the mitochondrial respiratory chain complex activities in rat cerebral cortex by methylmalonic acid. *Neurochemistry International*, 7: 593-601; 2002. (SDH)
- Buck ML. The Cytochrome P450 Enzyme System and Its Effect on Drug Metabolism. *Pediatric Pharmacotherap.* 3 (5); 1997.
- Cai C & Balk SP. Intratumoral androgen biosynthesis in prostate cancer pathogenesis and response to therapy. *Endocrine-Related Cancer*, 18: R175–R182; 2011.
- Cammack R and MacMillan F. *Electron Magnetic Resonance of Iron-Sulfur Proteins in Electron-Transfer Chains: Resolving Complexity*. In: *Metals in Biology. Biological Magnetic Resonance*, 29. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 11-44. 2010.
- Carew JS and Huang P. Mitochondrial defects in Cancer. *Molecular Cancer*, 1:9; 2002.
- Carpenter, J., Nupponen, N., Isaacs, S., et al. Germline mutations in the ribonuclease L gene in families showing linkage with HPC1. *Nat. Genet.*, 30: 181-184; 2002.
- Carter B.S., Carter H.B., Isaacs J.T. Epidemiologic evidence regarding predisposing factors to prostate cancer. *J. Prostate*, 16:187-197; 1990.
- Carter BS., Bova GS., Beaty TH., Steinberg GD., Childs B., Isaacs WB., Walsh PC. Hereditary prostate cancer: epidemiologic and clinical features. *J. Urol.*, 150:797-802; 1993.
- Caygill CPJ, Hill MJ, Braddick M and Sharp JCM. Cancer mortality in chronic typhoid and paratyphoid carriers. *Lancet*, 343 : 83-84; 1994.
- Clark D.G. Reference guide to the basic science aspects of the mitochondria . Section I –V. ©American Medical Research, LLC; Sarasota, Florida. 1-149; 2000.
- Clark RA, Activation of the neutrophil respiratory burst oxidase. *J. Infect. Dis.*, 179 (Suppl 2): S309-S317; 1999.
- Coffey D.S. Prostate cancer. An overview of an increasing dilemma. *Cancer.* , 71(3 Suppl):880-6; 1993.
- Correa-Cerro, L., Berthon, P., HaÈussler, J., et al., Vitamin D receptor polymorphisms as markers in prostate cancer. *Hum. Genet.*, 105: 281-287; 1999.

- Costello L.C., Liu Y., Zou J., Franklin R.B., Evidence for a zinc uptake transporter in human prostate cancer cells which is regulated by prolactin and testosterone, *J. Biol. Chem.* 274: 17499–17504; 1999.
- Costello LC and Franklin RB. The intermediary metabolism of the prostate: a key to understanding the pathogenesis and progression of prostate malignancy. *Oncology*. **59**:269–282; 2000.
- Costello LC, and Franklin, R B. The clinical relevance of the metabolism of prostate cancer; zinc and tumor suppression: connecting the dots. *Molecular Cancer*, 5:17; 2006.
- Costello LC; Feng P; Milon B. *et al* Role of zinc in the pathogenesis and treatment of prostate cancer: critical issues to resolve. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, **7**:111–117; 2004.
- Costello, L C; Liu, Y; Franklin, R B. Testosterone stimulates the biosynthesis of m-aconitase and citrate oxidation in prostate epithelial cells. *Mol Cell Endocrinol.* 112:45–51; 1995.
- Costello, L C; Liu, Y; Zou, J. *et al* Mitochondrial aconitase gene expression is regulated by testosterone and prolactin in prostate epithelial cells. *Prostate*, 42:196–202; 2000.
- Crescioli, C., Maggi, M., Luconi, M., et al. Vitamin D3 analogue inhibits keratinocyte growth factor signaling and induces apoptosis in human prostate cancer cells. *Prostate*, 50: 15-26; 2002.
- Cui H, Kong Y, Zhang H. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging. *J Signal Transduct.* 1-13. (Article ID :646354); 2012.
- Dakubo G D, Parr R L, Costello L C, Franklin R B, and R E Thayer. Altered metabolism and mitochondrial genome in prostate cancer. *J Clin Pathol.* 59 (1): 10–16; 2006.
- David Richfield and Mikael Häggström. "Diagram of the pathways of human steroidogenesis". *WikiJournal of Medicine* 1 (1). DOI:10.15347/wjm/2014.005. ISSN 20018762. [GFDL (<http://www.gnu.org/copyleft/fdl.html>); 2014.
- De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI, Nelson WG. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. *Am J Pathol*, 155:1985-92; 1999.
- De Marzo AM., Nakai Y., Nelson W.G. Inflammation, atrophy, and prostate carcinogenesis, *Urol. Oncol.* 25: 398–400; 2007.
- Della Rovere F. Granata A, Saija A, Broccio M, et al. SH groups and glutathione in cancer patients. *J. Anticancer Res.*, 20:1595-98; 2000.
- Dennis LK., Lynch C.F., Torner J.C. Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer, *Urology* 60:78–83; 2002.
- Deyl Z., Macek K., Adam M., VanCikova O., Studies on the Chemical Nature of Elastin Fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta*, 625: 248–254; 1980.
- Di Lorenzo, G., Tortora, G., D'Armiento, F.P., et al. Expression of epidermal growth factor receptor correlates with disease relapse and progression to androgen-independence in human prostate cancer. *Clin. Cancer Res.*, 8: 3438-3444; 2002.
- Djakiew, D. Dysregulated expression of growth factors and their receptors in the development of prostate cancer. *Prostate*, 42: 150-160; 2000.
- Dobrotyna NA, Kopytova TV, Shelchkova N.A. The erythrocyte membrane function characteristic in patients with severe generalized dermatoses about endogenous intoxication. *Fundamental Research*, 2: 39-43; 2010
- Dong, J.T. Chromosomal deletions and tumor suppressor genes in prostate cancer. *Cancer Metast. Rev.* 20:173-193; 2001.
- Dong, J.T., Suzuki, H., Pin, S.S., et al., Down-regulation of the KAI1 metastasis suppressor gene during the progression of human prostatic cancer infrequently involves gene mutation or allelic loss. *Cancer Res.*, 56: 4387-4390. 1996.
- Dronova OB, Tretyakov AA, Mishchenko AN, Bulgakova NN. Laser induced autofluorescence of normal and metaplastic epithelium of esophagogastric transition at gastroesophageal reflux disease, *The Siberian Journal of Oncology*, 4: 11-16; 2008.
- Ebadi M. Grand Forks, N. Dak. USA. Oxidative Stress in Mitochondria Disorders of Aging. *Biological Signals and Receptors*, 10 (1-2): 5-13; 2001.

- Eder, I.E., Hoffmann, J., Rogatsch, H., et al. Inhibition of LNCaP prostate tumor growth in vivo by an antisense oligonucleotide directed against the human androgen receptor. *Cancer Gene Ther.*, 9: 117-125; 2001.
- Edwards, S.M., Kote-Jarai, Z., Meitz, J., et al. Two percent of men with early-onset prostate cancer harbor germline mutations in the BRCA2 gene. *Am. J. Hum. Genet.*, 72: 1-12; 2003.
- Egorova MV., Afanasyev SA. Isolation of Mitochondria from cells and tissues of animals and human: modern methodical approaches. *Siberian Journal of Medicine*. 26 (1):22-28; 2011.
- Ehrlich, M. DNA methylation in cancer: too much, but also too little. *Oncogene*, 21:5400-5413; 2002.
- Eikenberry SE, Nagy JD & Kuang Y. The evolutionary impact of androgen levels on prostate cancer in a multi-scale mathematical model. *Biology Direct* 5: 24; 2010.
- Eng, C, Kiuru, M; Fernandez, MJ; Aaltonen, LA. A role for mitochondrial enzymes in inherited neoplasia and beyond. *Nat Rev Cancer*. 3:193–202; 2003.
- Ermolov AS, Smirnov SV, Spiridonova TG, et al. Endogenous intoxication as the leading cause of acute gastroduodenal heamorrhages in burn patients. *Annals of Burns and Fire Disasters*. 14 :119-122; 2001.
- Eyre DR., Paz MA. Cross-linking in Collagen and Elastin. *Annu. Rev. Biochem.*, 53: 717–748; 1984.
- Feldman, B.J. and Feldman, D. The development of androgenindependent prostate cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 1: 34-45; 2001.
- Finnila Saara. Phylogenetic Analysis of Mitochondrial DNA. Academic Dissertation, University of Oulu, Finland. 2000. <http://herkules.oulu.fi/isbn9514255674/html/x287.html>
- Fraenkel-Conrat, H. Chemical mutagens. *Sci. Am.*, 211: 47-54; 1964.
- Franklin RB, Milon B, Feng P, Costello LC. Zinc and Zinc transporters in normal prostate function and the pathogenesis of prostate cancer. *Frontiers in Bioscience*, 10: 2230-2239; 2005.
- Franklin RB, Milon B, Feng P, Costello LC. Zinc and Zinc transporters in normal prostate function and the pathogenesis of prostate cancer. *Frontiers in Bioscience*, 10:2230-2239. 2005.
- Fukai T., and Ushio-Fukai M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. *Antioxid Redox Signal*. 15(6): 1583–1606; 2011.
- Galanis B., Pappa A., Giannakakis A., Lanitis E., Dangaj D., Sandaltzopoulos R. Reactive oxygen species and HIF-1 signalling in cancer, *Cancer Lett*. 266: 12–20; 2008.
- Ganesan S., Sacks P.G., Yang Y., Katz A et al. Native Fluorescence Spectroscopy of Normal and Malignant Epithelial Cells, *Cancer Biochem. Biophys.*, 16: 365–373; 1998.
- Gao J & Isaacs JT. Development of an androgen receptor-null model for identifying the initiation site for androgen stimulation of proliferation and suppression of programmed (apoptotic) death of PC-82 human prostate cancer cells. *Cancer Research* 58: 3299–3306; 1998.
- Gao L, Schwartzman J, Gibbs A, Lisac R, et al. Androgen receptor promotes ligand-independent prostate cancer progression through c-Myc upregulation. *PLoS ONE*, 8: e63563; 2013.
- Gao, A.C., Wei, L., Dong, J.T. and Isaacs, J.T. CD44 is a metastasis suppressor gene for prostatic cancer located on human chromosome 11p13. *Cancer Res.*, 57: 846-849. 1997.
- Gardner WA Jr, Bennett BD. The prostate— overview: recent insights and speculations. In: Weinstein RS, Gardner WA Jr, eds. *Pathology and pathobiology of the urinary bladder and prostate*. Baltimore: Williams & Wilkins, 129-48; 1992.
- Gaude E and Frezza C. Defects in mitochondrial metabolism and cancer. *Cancer & Metabolism*, 2:10; 2014.
- Gerstein, A.V., Almeida, T.A., Zhao, G., et al. APC/ CTNNB1 (b-catenin) pathway alterations in human prostate cancers. *Genes Chromos. Cancer*, 34: 9-16; 2002.
- Gibson JF, Hall DO, Thornley JHM, Whatley FR. The iron complex in spinach ferredoxin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 56:987–990; 1966.
- Giorgadze, G.K., Jaliashvili, Z.V., Mardaleishvili, K.M., Medoidze, T.D. and Melikishvili, Z.G. Measurement of the Abnormality Degree in the Biological Tissue by the Laser Induced Fluorescence. *Laser Physics Letters*, 3: 89- 90; 2006.

- Glassman W.S., Steinberg M., Alfano R.R. Time Resolved and Steady State Fluorescence Spectroscopy from Normal and Malignant Cultured Human Breast Cell Lines, *Lasers Life Sci.*, **6** (2): 91–98; 1994.
- Gleason, D.F. Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother. Rep.*, 50:125-128. 1966.
- Goldstein AS, Huang J, Guo C, Garraway IP & Witte ON. Identification of a cell of origin for human prostate cancer. *Science* 329: 568–571; 2010.
- Gopinath SP., Robertson CS., Grossman RG., Chance B., Near-infrared Spectroscopic Localization of Intracranial Hematomas. *J. Neurosurg.*, 79: 43–47; 1993.
- Gormally E, Caboux E, Vineis P, Hainaut P. Circulating free DNA in plasma or serum as biomarker of carcinogenesis: practical aspects and biological significance. *Mutat Res.* 635:105-17; 2007.
- Gottlieb E and Tomlinson IP. Mitochondrial tumour suppressors: a genetic and biochemical update. *Nat Rev Cancer.* 5 (11):857-66; 2005.
- Grimberg, A. and Cohen, P. Role of insulin-like growth factors and their binding proteins in growth control and carcinogenesis. *J. Cell. Physiol.*, 183: 1-9; 2000.
- Guzy R.D. and Schumacker P.T., Oxygen sensing by mitochondria at complex III: the paradox of increased reactive oxygen species during hypoxia, *Exp. Physiol.* 91:807–819. 2006.
- Habig WH and Jacoby WB. *Methods in Enzymology*, 77:398-405; 1981.
- Haider A, Zitzmann M & Yassin A . Prostate cancer incidence in hypogonadal men on long-term treatment with testosterone undecanoate injections. *ASCO Meeting Abstracts* 32: e16041, 2014.
- Hanahan, D. and Weinberg, R.A. The hallmarks of cancer. *Cell*, 100: 57-70; 2000.
- Hanlon EB., Itzkan I., Dasari RR., Feld MS. et al. Nearinfrared Fluorescence Spectroscopy Detects Alzheimer's Disease InVitro, *Photochem. Photobiol.*, 70 (2): 236–242; 1999.
- Hartman PE. *Chemical Mutagens - Principles and methods for their detection*. N.Y. Plenum Press, 7: 211-294; 1982.
- Haverkamp J, Charbonneau B & Ratliff TL. Prostate inflammation and its potential impact on prostate cancer: a current review. *Journal of Cellular Biochemistry*, 103: 1344–1353; 2008.
- Hayward SW, Haughney PC, Rosen MA, Greulich KM, Weier HU, Dahiya R & Cunha GR. Interactions between adult human prostatic epithelium and rat urogenital sinus mesenchyme in a tissue recombination model. *Differentiation* 63: 131–140; 1998.
- Heidenberg, H.B., Sesterhenn, I.A., Gaddipati, J.P., Weghorst, C.M., et al. Alteration of the tumor suppressor gene P53 in a high fraction of hormone refractory prostate cancer. *J. Urol.*, 154: 414-421; 1995.
- Henze K, Martin W. Evolutionary biology: essence of mitochondria. *Nature*, 426 (6963):127–8; 2003.
- Higuchi M, Kudo T, Suzuki S, Evans TT. Mitochondrial DNA determines androgen dependence in prostate cancer cell lines. *Oncogene* 25: 1437–1445; 2006.
- Hill-Harmon RT, Murray MB, Thun T. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 51(1):15-36; 2001.
- Hrouda, D., Nicol, D.L. and Gardiner, R.A. The role of angiogenesis in prostate development and the pathogenesis of prostate cancer. *Urol. Res.*, 30: 347-355. 2003
- Hu J, Hsu J, Bergerot PG, Yuh BE, Stein CA & Pal SK. Preoperative therapy for localized prostate cancer: a comprehensive overview. *Maturitas* 74: 3–9; 2013.
- Huang ZH, Li LH, Hua D. Quantitative analysis of plasma circulating DNA at diagnosis and during follow-up of breast cancer patients. *Cancer Lett.* 243:64-70; 2006.
- Hyytinen, E.R., Frierson, H.F., Boyd, J.C., Chung, L.W.K. and Dong, J.T. Three distinct regions of allelic loss at 13q14, 13q21-22, and 13q33 in prostate cancer. *Genes Chromos. Cancer*, 25:108-114; 1999.
- Chan, J.M., Stampfer, M.J., Ma, J., et al. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding protein-3 as predictors of advanced-stage prostate cancer. *J. Natl Cancer Inst.*, 94: 1099-1106. 2002.
- Chance B., Cope M., Dugan B., Ramanujam N., Tromberg B. Phase Measurements of Absorbers and Scatterers in Tissue: Review', *Rev. Sci. Instrum.*, 69 (10): 3457–3481; 1998.
- Chang HW, Lee SM, Goodman SN, Singer G, Cho SK, Sokoll LJ, Assessment of plasma DNA levels,

- allelic imbalance, and CA 125 as diagnostic tests for cancer. *J Natl Cancer Inst.* 94:1697-703; 2002.
- Chen J.Z., et al. Simultaneous generation of multiple mitochondrial DNA mutations in human prostate tumors suggests mitochondrial hyper-mutagenesis. *J. Carcinogenesis*, 24: 1481–87; 2003.
- Chen J.Z., Gokden N., Greene G.F., et al. Extensive somatic mitochondrial mutations in primary prostate cancer using laser capture microdissection, *Cancer Res.* 62: 6470–6474; 2002
- Chen J.Z., Gokden N., Greene G.F., et al., Simultaneous generation of multiple mitochondrial DNA mutations in human prostate tumors suggests mitochondrial hyper-mutagenesis, *Carcinogenesis* 24: 1481–1487; 2003.
- Chen X, Rycaj K, Liu X & Tang DG. New insights into prostate cancer stem cells. *Cell Cycle* 12: 579–586; 2013.
- Chesire, D.R., Ewing, C.M., Sauvageot, J., Bova, G.S. and Isaacs, W.B. Detection and analysis of b-catenin mutations in prostate cancer. *Prostate*, 45: 323-334; 2000.
- Chowdary, M.V., Mahato, K.K., Kumar, K.K et al. Autofluorescence of Breast Tissues: Evaluation of Discriminating Algorithms for Diagnosis of Normal, Benign, and Malignant Conditions. *Photomedicine and Laser Surgery*, 27: 241-252; 2009.
- Ignarro L, Murad F. eds. Nitric Oxide: Biochemistry, molecular biology and therapeutic implications. *Adv Pharmacol.* 34 : 1-516; 1995.
- Imley JA and Linn S. DNA-damage and oxygen radical toxicity. *Science* 1988, 240:1302-9.
- Isaacs JT, Coffey DS. Etiology and disease process of benign prostatic hyperplasia. *Prostate*, 2:33-50; 1989.
- Isaacs JT. Testosterone and the prostate, in: Testosterone-Action, deficiency, substitution. Third edition. Edt: Nieschlag E., Behre HM, Nieschlag S. pp:347-375. Cambridge University Press, 2004.
- Jaliashvili, Z.V., Medoidze, T.D., Mardaleishvili, K.M., Ramsden, J.J. and Melikishvili, Z.G. Laser Induced Fluorescence Model of Human Goiter. *Laser Physics Letters*, 5, 217-219; 2008.
- Jarrard, D.F., Sarkar, S., Shi, Y., et al. p16/ pRb pathway alterations are required for bypassing senescence in human prostate epithelial cells. *Cancer Res.*, 59: 2957-2964; 1999.
- Jenkins, R., Takahashi, S., DeLacey, K., Bergstrahl, E. and Lieber, M. Prognostic significance of allelic imbalance of chromosome arms 7q and 8q in stage T3N0M0 prostate cancer. *Genes Chromos. Cancer*, 21: 131-143; 1998.
- Jenkins, R.B., Qian, J., Lieber, M.M. and Bostwick, D.G. Detection of c-myc oncogene amplification and chromosomal anomalies in metastatic prostatic carcinoma by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Res.*, 57: 524-531; 1997.
- Jerónimo C, Nomoto S, Caballero OL, et al. Mitochondrial mutations in early stage prostate cancer and bodily fluids *Oncogene*. 23; 20(37):5195-8; 2001.
- Jeronimo, C., Usadel, H., Henrique, R. et al. Quantitation of GSTP1 methylation in nonneoplastic prostatic tissue and organ-connected prostate adenocarcinoma. *J. Natl Cancer Inst.*, 93: 1747-1752. 2001.
- Jessie BC, Sun CQ, Irons HR, Marshall FF, Wallace DC, Petros JA. Accumulation of mitochondrial DNA deletions in the malignant prostate of patients of different ages. *Exp Gerontol.* 37:169–174; 2001.
- Juang H.H., Modulation of mitochondrial aconitase on the bioenergy of human prostate carcinoma cells, *Mol. Genet. Metab.*, 81: 244–252; 2004.
- Jung K, Stephan C, Lewandowski M, Klotzek S, Jung M, Increased cell-free DNA in plasma of patients with metastatic spread in prostate cancer. *Cancer Lett.* 205:173-80; 2004.
- Kanbagli O., Balkan J, Aykaç-Toker G, Uysal M. Hepatic Mitochondrial Prooxidant and Antioxidant Status in Ethanol-Induced Liver Injury in Rats. *Biol Pharm Bull.* 25 (11):1482-4. 2002.
- Kelleher SL, McCormick NH, Velasquez V and Lopez L. Zinc in Specialised Secretory Tissues: roles in the Pancreas, Prostate and Mammary Gland. *American Society for Nutrition. Adv. Nutr.*, 2:101-111; 2011.

- Khandrika L, Kumar B, Koul S et al. Oxidative Stress in Prostate cancer. *Cancer Letters*, 282:125–136; 2009.
- Kim, YI. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: a paradigm of gene±nutrient interactions in carcinogenesis. *Nutr. Rev.*, 58: 205-217; 2000.
- Kipp JL and Ramirez VD. Effect of estradiol, diethylstilbestrol, and resveratrol on F0F1-ATPase activity from mitochondrial preparations of rat heart, liver, and brain. *J. Endocrinology*, 15:165–175; 2001.
- Kluffinger AM., Davis NL., Quenville NF., et al. Detection of Squamous Cell Cancer and Pre-cancerous Lesions by Imaging Tissue Autofluorescence in the Hamster Cheek Pouch Model. *Surg. Oncol.* 1: 183–188; 1992.
- Koenig F., McGovern F.J., Enquist H., et al., Autofluorescence Guided Biopsy for the Early Diagnosis of Bladder Carcinoma, *J. Urol.*, 159 (6):1871–1875; 1998.
- Koerver W., Guevara, C., Chen, Y., et al. The product of the candidate prostate cancer susceptibility gene ELAC2 interacts with the gamma-tubulin complex. *Int. J. Cancer*, 104: 283-288; 2003.
- Kogelnik AM., Lott MT., Wallace DC. et al. MITOMAP: a human mitochondrial genome database, *Nucleic Acids Research*, 24 (1): 177–179; 1996.
- Kotrikadze N, Ramishvili L, Bochorishvili I, Alibegashvili M et al. Laser Induced Fluorescence Studies of Blood Plasma and Tumor Tissue of Men with Prostate Tumors. *Journal of Cancer Therapy*, 5: 1021-1030; 2014.
- Kotrikadze N. Khutsishvili E. Chelidze M, Alibegashvili M. et al., Investigation of Metabolic Paramagnetic Centers in the Blood of Patients with Prostate Adenocarcinoma prior to and after the Plastic Orchestomy. *Biophysics*, 56 (4): 717-721; 2011.
- Kotrikadze N., Artsivadze K., Bochiroshvili I., Ramishvili L., et al. Using of fluorescent method in the diagnosis of prostate tumors. *Urology*, 70: 294-295; 2007.
- Kotrikadze N., Alibegashvili M., Zibzivadze M., Abashidze N., Chigogidze T., Managadze L., Artsivadze K. Activity and content of antioxidant enzymes in prostate tumors. *Experimental Oncology*, 30 (3): 244-247; 2008.
- Kotrokadze N, Alibegashvili M, RamiShvili L. et al., Mitochondrial Defects and their Role in Development of Prostate Cancer. *European Medical, Health and Pharmaceutical Journal*, 3:17-20; 2012.
- Kraft P, Pharoah P, Chanock SJ, Albanes D et al. Genetic variation in the HSD17B1 gene and risk of prostate cancer. *PLoS Genetics* 1 e68; 2005.
- Kulawiec M, Salk JJ, Ericson NG, Wanagat J and Bielas JH. Generation, Function and Prognostic Utility of Somatic Mitochondrial DNA Mutations in Cancer. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 51: 427-439; 2010.
- Kulinsky VI and Kolesnichenko LS. Regulation of metabolic and energetic functions of mitochondria by hormones and signal transduction systems. *Biochemistry (Moscow) Supplemental Series B: Biomedical Chemistry*, 1:95-113; 2007.
- Kumar B., Koul S., Khandrika L., Meacham RB., Koul HK., Oxidative stress is inherent in prostate cancer cells and is required for aggressive phenotype, *Cancer Res.* 68:1777–1785. 2008.
- Kuper H., Adami H.O., Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer, *J. Int. Med.* 248: 171–183; 2000.
- Lagouge M and Larsson NG. The role of mitochondrial DNA mutations and free radicals in disease and ageing. *J. Intern Med*, 273:529-543; 2013.
- Lambeth J.D. Nox enzymes, ROS, and chronic disease: an example of antagonistic pleiotropy, *Free Radic. Biol. Med.* 43:332– 347; 2007.
- Lambeth JD. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nat. Rev. Immunol.*, 4:181-189; 2004.
- Latil, A., Bieche, I., Pesche, S. et al. Loss of heterozygosity at chromosome 13q and RB1 status in human prostate cancer. *Hum. Pathol.*, 30: 809-815; 1999.



- Latil, A., Cussenot, O., Fournier, G., Driouch, K. and Lidereau, R. Loss of heterozygosity at chromosome 16q in prostate adenocarcinoma: identification of three independent regions. *Cancer Res.*, 57: 1058-1062; 1997.
- Lemire B. Mitochondrial genetics. Department of Biochemistry, University of Alberta, ed. *The C. elegans Research Community, WormBook*. 2005.
- Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res.* 37:646-50; 1977.
- Leube, B., Drechsler, M., Mühlmann, K. et al. Redefined mapping of allele loss at chromosome 10q23-26 in prostate cancer. *Prostate*, 50: 135-144; 2002.
- Levêque P P, Godechal Q, Gallez B. EPR Spectroscopy and Imaging of Free Radicals in Food. *Israel Journal of Chemistry*, 48:19–26; 2008.
- Liehr JG. Is Estradiol a Genotoxic Mutagenic Carcinogen? *Endocrine Reviews*, 21 (1): 40-54; 2000.
- Lichtinghagen, R., Musholt, P.B., Lein, M., et al. Different mRNA and protein expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 in benign and malignant prostate tissue. *Eur. Urol.*, 42: 398-406; 2002.
- Lim SD., Sun C., Lambeth JD., Marshall F., et al. Increased Nox1 and hydrogen peroxide in prostate cancer, *Prostate*, 62: 200–207; 2005.
- Lin, X., Tascilar, M., Lee, W.H., et al. GSTP1 CpG island hypermethylation is responsible for the absence of GSTP1 expression in human prostate cancer cells. *Am. J. Pathol.*, 159: 1815-1826; 2001.
- Litvinov IV, De Marzo AM & Isaacs JT. Is the Achilles' heel for prostate cancer therapy a gain of function in androgen receptor signaling? *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88: 2972–2982; 2003.
- Liu W, Zhang XH, Liu KP, Zhang S & Duan Y. Laser-induced fluorescence: Progress and prospective for in vivo cancer diagnosis, *Chinese Science Bulletin*, 58 (17): 2003–2016; 2013.
- Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265-275; 1951.
- Lu SC. Regulation of Glutathione Synthesis, *Mol. Aspects Med.* 30:42-59; 2009.
- Lu W, Luo Y, Kan M & McKeehan WL. Fibroblast growth factor-10. A second candidate stromal to epithelial cell andromedin in prostate. *Journal of Biological Chemistry*, 274 :12827–12834; 1999.
- Mahadevan-Jansen A., Richards-Kortum R. Raman Spectroscopy of Pre-cancers and Cancers, *J. Biomed. Opt.*, 1(1): 31–70; 1996.
- Majewski N, Nogueira V, Bhaskar P et al. Hexokinase-mitochondria interaction mediated by Akt is required to inhibit apoptosis in the presence or absence of Bax and Bak. *Mol Cell*, 16: 819–830; 2004.
- Makridakis, N.M., Ross, R.K., Pike, M.C., Association of missense substitution in SRD5A2 gene with prostate cancer in African-American and hispanic men in Los Angeles, USA. *Lancet*, 354: 975-978; 1999.
- Mansfield K.D., Guzy R.D., Pan Y., Young R.M., et al., Mitochondrial dysfunction resulting from loss of cytochrome c impairs cellular oxygen sensing and hypoxic HIF- $\alpha$  activation, *Cell Metab.* 1: 393–399; 2005.
- Maroni P.D., Koul S., Meacham R.B., Koul H.K. Mitogen activated protein kinase signal transduction pathways in the prostate, *Cell Commun. Signal.* 2 (5); 2004.
- Martínez F., Kiriakidou M, Strauss JF 3rd. Structural and Functional Changes in Mitochondria Associated with Trophoblast Differentiation: Methods to Isolate Enriched Preparations of Syncytiotrophoblast Mitochondria. *Endocrinology*, 138 (5): 2172-2183; 1997.
- Maruyama, R., Toyooka, S., Toyooka, K.O., et al. Aberrant promoter methylation profile of prostate cancers and its relationship to clinicopathological features. *Clin. Cancer Res.*, 8: 514-519; 2002.
- Matveev SB, Davydov BV, Teselkin IuO, et al. Criteria for assesment of endogenous intoxication in patients with pelvic peritonitis. *Klin Lab Diagn* 4: 15-16; 2009.

- McDonald D.M. and Choyke P.L., Imaging of angiogenesis: from microscope to clinic, *Nat. Med.* 9: 713–725; 2003.
- McDonnell, T.J., Troncoso, P., Brisbay, S.M., Logothetis, C., et al. Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res.*, 52: 6940-6944; 1992.
- McLean KJ, Sabri M, Marshall KR, Lawson RJ, et al., Biodiversity of cytochrome P450 redox systems. *Biochem. Soc. Trans.* 33:796-801; 2005.
- McNeal JE; Redwine EA; Freiha F S. *et al* Zonal distribution of prostatic adenocarcinoma. Correlation with histologic pattern and direction of spread. *Am J Surg Pathol.* 12:897–906. 1988.
- Memarzadeh S., Cai H., Janzen D., Xin L et al., Role of autonomous androgen receptor signaling in prostate cancer initiation is dichotomous and depend on the oncogenic signal. *PNAS*, 108 (19): 7962-7967; 2011.
- Meyer J. Ferredoxins of the third kind. *FEBS Lett* 509:1–5; 2001.
- Morgentaler A, Bruning CO III & DeWolf WC. Occult prostate cancer in men with low serum testosterone levels. *Journal of the American Medical Association* 276: 1904–1906; 1996.
- Mostaghel EA & Plymate S. New hormonal therapies for castrationresistant prostate cancer. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 40: 625–642; 2011.
- Munro AW, Girvan HM, McLean KJ. Cytochrome P450--redox partner fusion enzymes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1770: 345-59; 2007.
- Musselius SG. Endogenous intoxication in emergency conditions (In Russian). 200 pp. Publisher: Binom Laboratoriya znaniy. 2008.
- Naber K.G., Weidner W. Chronic prostatitis – an infectious disease?, *J Antimicrob. Chemother.* 46: 157–161; 2000.
- Naka K., Muraguchi T., Hoshii T., Hirao A., Regulation of reactive oxygen species and genomic stability in hematopoietic stem cells, *Antioxid. Redox. Signal.* 10:1883–1894; 2008.
- Narla, G., Heath, K.E., Reeves, H.L., Li, D., et al. KLF6, a candidate tumor suppressor gene mutated in prostate cancer. *Science*, 294: 2563-2566; 2001.
- Nelson WG, De Marzo AM, and Isaacs WB. Mechanisms of Disease: Prostate Cancer. *N Engl J Med*, 349:366-381; 2003.
- Nijtmans LGJ and Smeitink LAM. Mitochondrial medicine. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk*, 32:188-191; 2007.
- Nunnari J and Suomalainen A. Mitochondria: in sickness and in health. *Cell*, 148:1145–1159; 2012.
- Nwosu, V., Carpten, J., Trent, J.M. and Sheridan, R. Heterogeneity of genetic alterations in prostate cancer: evidence of the complex nature of the disease. *Hum. Mol. Genet.*, 10: 2313- 2318; 2001.
- Warburg O., *The Metabolism of Tumors*, Constable, London, 1930.
- Ohshima H, Bandaletova TY, Brouet Y, et al. Increased nitrosamine and nitrate biosynthesis mediated by nitric oxide synthase induced in hamsters infected with liver fluke (*Opisthorchis viverrini*). *Carcinogenesis*, 15(2): 271-275; 1994.
- Olinski R., Gackowski D., Foksinski M., Rozalski R., et al. Oxidative DNA damage: assessment of the role in carcinogenesis, atherosclerosis, and acquired immunodeficiency syndrome, *Free Radic. Biol. Med.* 33: 192–200; 2002.
- Orlowski T. Determination of creatinine in biological fluids during Popper's, Mendel's and Mayer's methods. *Pol Arch Med Wewn*, 25 (4): 719-729; 1955.
- Ornstein, D.K., Cinquanta, M., Weiler, S., Duray, P.H., et al. Expression studies and mutational analysis of the androgen regulated homeobox gene NKX3.1 in benign and malignant prostate epithelium. *J. Urol.*, 165: 1329- 1334; 2001.
- Ott, M., Robertson, J.D., Gogvadze, V, Zhivotovsky, B., and Orrenius, S. Cytochrome c release from mitochondria proceeds by a two-step process. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99: 1259-1263; 2002.
- Page CC, Moser CC, Chen XX, Dutton PL. Natural engineering principles of electron tunnelling in biological oxidation-reduction. *Nature*, 402:47–52. 1999.

- Page ST, Lin DW, Mostaghel EA, Hess DL, et al. Persistent intraprostatic androgen concentrations after medical castration in healthy men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 91:3850–3856; 2006.
- Palapattu GS., Sutcliffe S., Bastian PJ, WG. Nelson et al , Prostate carcinogenesis and inflammation: emerging insights, *Carcinogenesis* 26: 1170–1181; 2005.
- Parr RL, Jakupciak JP, Birch-Machin MA & Dakubo GD. The mitochondrial genome: a biosensor for early cancer detection?. *Expert Opin. Med. Diagn.* 1(2):1-13; 2007.
- Parsons JK, Nelson CP, Gage WR, Nelson WG, Kensler TW, De Marzo AM. GSTA1 expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human prostate tissue. *Prostate*, 49:30-7. 2001.
- Petros J.A., Baumann A.K., Ruiz-Pesini E., Wallace D.C., et al. mtDNA mutations increase tumorigenicity in prostate cancer, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 102: 719–724; 2005.
- Pienta KJ., Esper PS. Risk factors for prostate cancer. *Ann. Intern. Med.* 118:793-803. 1993.
- Pradhan A., Pal P., Durocher G., Villeneuve L et al. Steady State and Time Resolved Fluorescence Properties of Metastatic and Non-metastatic Malignant Cells from Different Species, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 3(3): 101–112; 1995.
- Prehn R. On the prevention and therapy of prostate cancer by androgen administration. *Cancer Res.*, 59: 4161-4264; 1999.
- Putzi MJ, De Marzo AM. Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Urology*, 56:828-32; 2000.
- Quentin Felty and Deodutta Roy. Estrogen, mitochondria, and growth of cancer and non-cancer cells. *J. Carcinog*, 4:1-18; 2005.
- Radi R, Beckman M, Castro L, and Teller R. Inhibition of mitochondrial electron transport by peroxynitrite. *Arch. Biochem. Biophys.*, 308:89-95; 1994.
- Ramanujam N. “Fluorescence Spectroscopy *In Vivo*” *Encyclopedia of Analytical Chemistr.*, R.A. Meyers (Ed), pp.20-56. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2000.
- Rasmussen AK, Chatterjee A, Rasmussen LJ, and Singh KK. Mitochondria-mediated nuclear mutator phenotype in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic Acids Res.* 15; 31(14):3909–3917; 2003.
- Richards-Kortum R., Sevick-Muraca E. Quantitative Optical Spectroscopy for Tissue Diagnosis, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 47: 555–606; 1996.
- Richmond, P.J.M., Karayiannakis, A.J., Nagafuchi, A., Kaisary, A.V. and Pignatelli, M. Aberrant E-Cadherin and a-Catenin expression in prostate cancer: correlation with patient survival. *Cancer Res.*, 57: 3189-3193. 1997.
- Ripple MO., Henry WF, Rago RP, Wilding G. Prooxidant-antioxidant shift induced by androgen treatment of human prostate carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst*, 89(1):40-48. 1997.
- Romer T.J., Fitzmaurice M., Cothren R.M. et al. Laser-induced Fluorescence Microscopy of Normal Colon and Dysplasia in Colonic Adenomas: Implications for Spectroscopic Diagnosis, *Am. J. Gastroenterol.*, 90(1): 81–87; 1995.
- Ruska KM, Sauvageot J, Epstein JI. Histology and cellular kinetics of prostatic atrophy. *Am J Surg Pathol*, 22:1073-7; 1998.
- Ruzicka FJ, Beinert H. The soluble "high potential" type iron–sulfur protein from mitochondria is aconitase. *J Biol Chem*, 253:2514–2517; 1978.
- Santourlidis, S., Florl, A., Ackermann, R., Wirtz, H.C. and Schulz, W.A. High frequency of alterations in DNA methylation in adenocarcinoma of the prostate. *Prostate*, 39: 166-174; 1999.
- Saramaki, O., Willi, N., Bratt, O., et al., Amplification of EIF3S3 gene is associated with advanced stage in prostate cancer. *Am. J. Pathol.*, 159: 2089-2094; 2001.
- Sato K, Akaike T, Kojima Y, Ando M, Nagao M, and Maeda H. Evidence of direct generation of oxygen free radicals from heterocyclic amines by NADPH/cytochrome P-450 reductase in vitro. *Jpn. J. Cancer. Res.*, 83:1204-1209; 1992.
- Sauer H., Wartenberg M., Hescheler J. Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation, *Cell Physiol. Biochem.* 11:173–186; 2001.

- Selak, M A; Armour, S M; Mackenzie, E D. et al. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF- $\alpha$  prolyl hydroxylase. *Cancer Cell*, 7:77–85; 2005.
- Sell S, Pierce B. Maturation arrest of stem cell differentiation is a common pathway for the cellular origin of teratocarcinomas and epithelial cancer. *Lab . Invest.* 70:6-22; 1994.
- Setiawan VW, Schumacher FR, Haiman CA, et al. CYP17 genetic variation and risk of breast and prostate cancer from the National Cancer Institute Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium (BPC3). *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 16 : 2237–2246; 2007.
- Shah R, Mucci NR, Amin A, Macoska JA, Rubin MA. Postatrophic hyperplasia of the prostate gland: neoplastic precursor or innocent bystander? *Am J Pathol*, 158:1767-73;
- Shen MM & Abate-Shen C. Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. *Genes and Development* 24: 1967–2000; 2010.
- Shenk, J.L., Fisher, C.J., Chen, S.Y., Zhou, X.F., et al. p53 represses androgen-induced transactivation of prostate-specific antigen by disrupting hAR amino- to carboxyl-terminal interaction. *J. Biol. Chem.*, 276: 38472-38479; 2001.
- Shiota M, Yokomizo A, Fujimoto N & Naito S. Androgen receptor cofactors in prostate cancer: potential therapeutic targets of castrationresistant prostate cancer. *Current Cancer Drug Targets* 11: 870–881; 2011.
- Schatzl G, Madersbacher S, Thurnidl T, et al. High-grade prostate cancer is associated with low serum testosterone levels. *Prostate* 47: 52–58; 2001.
- Schmidt, U., Fiedler, U., Pilarsky, C.P., Ehlers, W. et al. Identification of a novel gene on chromosome 13 between BRCA-2 and RB-1. *Prostate*, 47: 91-101; 2001.
- Scholl SM., Pallud C., Beuvon F et al. Anti-colonystimulating factor-1 antibody staining in primary breast adenocarcinomas correlates with marked inflammatory cell infiltrates and prognosis, *J. Natl. Cancer Inst.* 86: 120–126; 1994.
- Schomacker KT, Frisoli JK, Compton CC, et al. Ultraviolet laser-induced fluorescence of colonic tissue: basic biology and diagnostic potential, *Lasers Surg Med.* 12: 63-78; 1992.
- Schulz WA., Burchardt M, Cronauer MV. Molecular Biology of Prostate Cancer. *Molecular Human Reproduction*, 9 (8): 437-448; 2003.
- Simard, J., Dumont, M., Soucy, P. and Labrie, F. Prostate cancer susceptibility genes. *Endocrinology*, 143: 2029-2040; 2002.
- Singh K K. Mitochondria damage checkpoint in apoptosis and genome stability. *FEMS Yeast Res.* 5:127–132; 2004.
- Singh KK, Desouki MM, Franklin RB, Costello LC. Mitochondrial aconitase and citrate metabolism in malignant and nonmalignant human prostate tissues. *Molecular Cancer*, 5:14; 2006.
- Skulachev VP. Mitochondria in the Programmed Death Phenomena; *A Principle of Biology: “It is better to Die than to be Wrong”*. *IUBMB Life*, 49:365-373; 2000.
- Sozzi G, Conte D, Mariani L, Lo Vullo S, Roz L, Lombardo C, Pierotti MA, Tavecchio L. Analysis of circulating tumor DNA in plasma at diagnosis and during follow-up of lung cancer patients. *Cancer Res.* 61:4675-8; 2001.
- Stanik S., Lüftenegger W., Klimpfinger M. et al. Effect of NIH-IV prostatitis on free and free-to-total PSA, *Eur. Urol.* 46: 760–764; 2004.
- Stattin P, Lumme S, Tenkanen L, et al. High levels of circulating testosterone are not associated with increased prostate cancer risk: a pooled prospective study. *International Journal of Cancer* 108: 418–424; 2004.
- Stehling O., and Lill R. The Role of Mitochondria in Cellular Iron–Sulfur Protein Biogenesis: Mechanisms, Connected Processes, and Diseases *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 5(8): a011312; 2013.
- Stryer Lubert., *Biochemistry 3 rd* , WH Freeman and Company, New York, 1988.

- Stuart GR, Holcroft J, de Boer JG, Glickman BW. Prostate mutations in rats induced by the suspected human carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine. *Cancer Res*, 60:266-8; 2000.
- Sutcliffe S., Zenilman J.M., Ghanem K.G. et al. Sexually transmitted infections and prostatic inflammation/cell damage as measured by serum prostate specific antigen concentration, *J. Urol.* 175: 1937–1942; 2006.
- Suzuki K, Nakazato H, Matsui H. et al. Association of the genetic polymorphism of the CYP19 intron 4[TTTA]<sub>n</sub> repeat with familial prostate cancer risk in a Japanese population. *Anticancer Research* 23: 4941–4946; 2003.
- Svistunenko DA, Davies N, Brealey D, Singer M, Cooper CE. Mitochondrial dysfunction in patients with severe sepsis: an EPR interrogation of individual respiratory chain components. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*, 1757:262–272; 2006.
- Szatrowski T.P. and Nathan C.F. Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells, *Cancer Res*. 51:794–798; 1991.
- Tam N.N., Gao Y., Leung Y.K., Ho S.M. Androgenic regulation of oxidative stress in the rat prostate: involvement of NAD(P)H oxidases and antioxidant defense machinery during prostatic involution and regrowth, *Am. J. Pathol.* 163: 2513–2522; 2003.
- Thomson AJ, Robinson AE, Johnson MK, et al. The 3-iron cluster in a ferredoxin from *Desulfovibrio gigas*: a low-temperature magnetic circular-dichroism study. *Biochim Biophys Acta*, 670:93–100; 1981.
- Tsibris JCM, Woody RW. Structural studies of iron–sulfur proteins. *Coord Chem Rev*, 5:417–458; 1970.
- Tu H, Gu J, Meng Q H. et al. Mitochondrial DNA copy number in peripheral blood leukocytes and the aggressiveness of localized prostate cancer. *Oncotarget*. 6(39): 41988–41996; 2015.
- Tunnell J W., Haka AS., McGee SA., Mirkovic J and Feld MS. Diagnostic Tissue Spectroscopy and Its Applications to Gastrointestinal Endoscopy. *Techniques in Gastrointestinal Endoscopy*, 5 (2) :65-73; 2003.
- Umetani N, Kim J, Hiramatsu S, Reber HA, Hines OJ, Bilchik AJ, Hoon DS. Increased integrity of free circulating DNA in sera of patients with colorectal or periampullary cancer: direct quantitative PCR for ALU repeats. *Clin Chem*. 52:1062-9; 2006.
- Van de Wetering, M., Sancho, E., Verweij, C., et al. The b-Catenin/TCF-4 complex imposes a crypt progenitor phenotype on colorectal cancer cells. *Cell*, 111: 241-250; 2002.
- Wagnieres GA., Star WM., Wilson BC. In Vivo Fluorescence Spectroscopy and Imaging for Oncological Applications. *Photochem. Photobiol.*, 68(5): 603–632; 1998.
- Wallace DC. A Mitochondrial Paradigm of Metabolic and Degenerative Diseases, Aging, and Cancer: A Dawn for Evolutionary Medicine. *Annu. Rev. Genet.* 39:359–407; 2005.
- Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science*. 1999, 283:1482-8.
- Wang H., Willis J., Canto M.J.F et al. Quantitative Laser Scanning Confocal Autofluorescence Microscopy of Normal, Premalignant, and Malignant Colonic Tissues', *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 46(10):1246–1252; 1999.
- Wang X, Kruithof-de Julio M, Economides KD, Walker D et al. A luminal epithelial stem cell that is a cell of origin for prostate cancer. *Nature*, 461:495–500; 2009.
- Wang ZA & Shen MM. Revisiting the concept of cancer stem cells in prostate cancer. *Oncogene* 30:1261–1271; 2011.
- Wesley Norman, PhD (1999) *Male Pelvis: The prostate gland*  
([http://www.hitachimed.com/self-learning\\_activity/docs/PelvisImagingModule/?WT.ac=med\\_mg\\_cussite\\_selflear\\_pelvim](http://www.hitachimed.com/self-learning_activity/docs/PelvisImagingModule/?WT.ac=med_mg_cussite_selflear_pelvim))
- West AP, Shadel GS, Ghosh S. Mitochondria in innate immune responses. *Nat. Rev. Immunology*, 11:389-402; 2011.

- Whang, Y.E., Wu, X., Suzuki, H. et al. Inactivation of the tumor suppressor PTEN/NMAC1 in advanced human prostate cancer through loss of expression. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 95: 5246-5250; 1998.
- Wikstrom P, Westin P, Stattin P, Damber JE & Bergh A. Early castration-induced upregulation of transforming growth factor b1 and its receptors is associated with tumor cell apoptosis and a major decline in serum prostate-specific antigen in prostate cancer patients. *Prostate*, 38: 268–277; 1999.
- Xu J, Zheng SL, Chang B, Smith JR, Carpten JD, Stine OC, Isaacs SD, Wiley KE, Henning L, Ewing C et al. Linkage of prostate cancer susceptibility loci to chromosome 1. *Human Genetics* 108: 335–345; 2001.
- Yang, R.M., Naitoh, J., Murphy, M., Wang, H.J., et al. Low P27 expression predicts poor disease-free survival in patients with prostate cancer. *J. Urol.*, 159: 941-945; 1998.
- Zamzami N. & Kroemer G. The mitochondrion in apoptosis: how Pandora's box opens. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2: 67-71; 2001.
- Zanssen S and Schon EA. Mitochondrial DNA mutations in cancer. *PloS Med*, 2 (11):e401; 2005.
- Zanssen, S; Gunawan, B; Fuzesi, L; Warburton, D; Schon, EA. Renal oncocytomas with rearrangements involving 11q13 contain breakpoints near CCND1. *Cancer Genet Cytogenet.* 149:120–124; 2004.
- Zha S, Gage WR, Sauvageot J, et al. Cyclooxygenase-2 is up-regulated in proliferative inflammatory atrophy of the prostate, but not in prostate carcinoma. *Cancer Res*; 61:8617-23; 2001.
- Zhou Q., Liu L.Z., Fu B., Hu X., Shi X., Fang J., Jiang B.H. Reactive oxygen species regulate insulin-induced VEGF and HIF-1alpha expression through the activation of p70S6K1 in human prostate cancer cells, *Carcinogenesis* 28: 28–37; 2007.
- Zhou Y, Bolton EC, Jones JO. Androgens and androgen receptor signaling in prostate tumorigenesis. *Journal of Molecular Endocrinology*, 54: R15-R29; 2015.
- Zhou Y, Otto-Duessel M, He M, Markel S, Synold T & Jones JO. Low systemic testosterone levels induce androgen maintenance in benign rat prostate tissue. *Journal of Molecular Endocrinology* 51: 143–153; 2013.
- Zynger DL and Yang X. High-grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia of the Prostate: The Precursor Lesion of Prostate Cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2: 327-338; 2009.  
<http://www.anticancer.net/ru/prostate/>