

ჰიპოთირეოზი და ნერვული უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი

ნათია ჯოჯუა

*სადისერტაციო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და საინჟინრო ფაკულტეტზე სიცოცხლის
შემსწავლელ მეცნიერებათა დოქტორის აკადემიური ხარისხის მინიჭების
მოთხოვნის შესაბამისად*

სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა სადოქტორო პროგრამა

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

დავით მიქელაძე - აკადემიკოსი, პროფესორი, ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი

ელენე ჟურავლიოვა - ასოცირებული პროფესორი, დოქტორი ბიოლოგიაში

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი 2015

განაცხადი

როგორც წარდგენილი სადისერტაციო ნაშრომის (ჰიპოთირეოზი და ნერვული უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი) ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.

ნათია ჯოჯუა

02.07. 2015

აბსტრაქტი

ჰიპოთირეოზი და ზოგადად ჰიპომეტაბოლური დაავადებები მსოფლიოს და საქართველოს ჯანდაცვის ერთ-ერთ ყველაზე სერიოზულ პრობლემას წარმოადგენს. ზრდასრულ ორგანიზმებში ჰიპოთირეოზი განაპირობებს ხასიათის არასტაბილურობას და დეპრესიას, დემენციას, მეხსიერების გაუარესებას და ფსიქომოტორულ პრობლემებს. ცნობილია, რომ ჰიპოკამპი წარმოადგენს თავის ტვინის მნიშვნელოვან უბანს, რომელიც მონაწილეობს დასწავლის, მეხსიერების და ხასიათის განსაზღვრის პროცესებში. ჰიპოკამპში დიდი რაოდენობით არის წარმოდგენილი თიროიდული ჰორმონების რეცეპტორები და სავარაუდოდ სწორედ ჰიპოკამპი წარმოადგენს თიროიდული ჰორმონების მნიშვნელოვან სამიზნეს თავის ტვინში.

რამდენადაც თავის ტვინი წარმოადგენს ენერგიის ყველაზე დიდ მომხმარებელს ადამიანის ორგანიზმში, და ნეირონების განვითარება და ფუნქციონირება ძლიერ არის დამოკიდებული ატფ-ის პროდუქციაზე, ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის უმნიშვნელო დარღვევასაც კი ძლიერი გავლენა აქვს თავის ტვინზე. ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი წარმოადგენს სამიზნეს, რომელსაც დიდი პოტენციალი გააჩნია თავის ტვინის დაავადებების ეფექტური მკურნალობისა და კოგნიტური ფუნქციების გასაძლიერებლად.

ჰიპოთირეოზის მკურნალობაში თიროქსინის ჩანაცვლებითი თერაპია მოითხოვს დოზის მუდმივ მონიტორინგს და კორექციას, რადგანაც აღნიშნულ მკურნალობას გვერდითი ეფექტების მთელი რიგი ახასიათებს. ზოგიერთი სამკურნალო მცენარის გამოყენება ჰიპოთირეოზის კომბინირებულ თერაპიაში მნიშვნელოვნად ზრდის მის ეფექტურობას. თიროიდულ სტატუსზე მოქმედ, მცენარეული წარმოშობის აგენტებს შორის განსაკუთრებულ პოტენციალს ფლავონოიდების ჯგუფს (მათ შორის ციტრუსის ფლავონოიდი - ნობილეტინი) მიაწერენ. მიუხედავად ლიტერატურაში არსებული გარკვეული ექსპერიმენტული მონაცემებისა, ნობილეტინის ეფექტი ჰიპოთიროიდული

სტატუსის მქონე თავის ტვინზე, ისევე როგორც მოლეკულური მექანიზმი, რომელიც საფუძვლად უდევს მიტოქონდრიულ ბიოენერგეტიკაზე ნობილეტინის გავლენას, უცნობია.

ყოველივე ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა :

1. შეგვესწავლა ჰიპოთირეოზის გავლენა ზრდასრული ვირთაგვების ჰიპოკამპის ძირითადი რეგულაციული ცილების უჯრედში გადანაწილება-ტრანსლოკაციაზე და მიტოქონდრიული ბიოენერგეტიკის ზოგიერთ პარამეტრზე სინაპსური და არასინაპსური მიტოქონდრიების ფრაქციებში.
2. შეგვესწავლა ციტრუსის ფლავონოიდის - ნობილეტინის ეფექტი ჰიპოთიროიდული ვირთაგვების ჰიპოკამპის რეგულაციული ცილების აქტივობა-ტრანსლოკაციის და შესაბამისი ბიოენერგეტიკული მაჩვენებლების ჰიპოთირეოზით გამოწვეულ ცვლილებებზე.

ჩვენს ექსპერიმენტებში საკვლევ ობიექტად ვიყენებდით Wistar ხაზის მამრ ვირთაგვებს, რომლებიც დაყოფილნი იყვნენ ოთხ ჯგუფად: კონტროლი, ჰიპოთიროიდული ჯგუფი; ჰიპოთიროიდული ჯგუფი, რომელსაც საკვებად ეძლეოდათ ნობილეტინი; ჰიპოთიროიდული ჯგუფი, რომელსაც ინექციებით უკეთებოდათ T4. დეკაპიტაციის შემდეგ ჰიპოკამპიდან ვყოფდით სინაპსური და არასინაპსური მიტოქონდრიების, ციტოპლაზმის, ენდოპლაზმური ბადისა და პლაზმური მემბრანების ფრაქციებს საფეხურებრივი ცენტრიფუგირების გზით. ექსპერიმენტებში ვიყენებდით სპექტროფოტომეტრულ, ფლოურომეტრულ, ლუმინომეტრულ, ელექტროფორეზის, იმუნოპრეციპიტაციისა და იმუნობლოტინგის მეთოდებს.

კვლევის შედეგებით დადგინდა, რომ ჰიპოთირეოზის შედეგად ადგილი აქვს სასიგნალო მაკრომოლეკულების აქტივობისა და შიდაუჯრედული გადანაწილების ცვლილებას, ხოლო მეორე მხრივ, მიტოქონდრიების შერწყმის პროცესების გაძლიერებას და პროაპოპტოზური ცილების სიჭარბეს.

ჰიპოკამპის ნერვული უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის სხვადასხვა პარამეტრის შესწავლის შედეგად გამოვლინდა, რომ ჰიპოთორეზის დროს ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების წარმოქმნის, ჟანგვითი ფოსფორილების დათრგუნვის, ATP-ის სინთეზის შემცირების და ჟანგბადის მოხმარების დაქვეითების ფონზე მიმდინარეობს ჰექსოკინაზას აქტივობის კომპენსატორული მატება, რაც დამახასიათებელი უნდა იყოს მხოლოდ გლიური უჯრედებისთვის.

ციტრუსების ფლავონოიდი - ნობილეტინი ნაწილობრივ აღადგენს ჰიპოთირეოზით დათრგუნულ მიტოქონდრიულ მეტაბოლიზმს ჰიპოკამპის უჯრედებში, რაც სავარაუდოდ მოიცავს მიტოქონდრიის მატრიქსში მიმდინარე სუბსტრატული ფოსფორილების გაძლიერებას, თავისუფალი რადიკალების პროდუქციის დათრგუნვას და მიტოქონდრიების მემბრანული პოტენციალის აღდგენას.

მიღებული მონაცემები ხსნიან ახალ პერსპექტივებს თიროიდული დისფუნქციების კვლევაში და შესაძლოა გამოყენებული იქნას ახალი თერაპიული მიდგომების განვითარებისათვის ზრდასრულ ორგანიზმებში ჰიპოთირეოზის მკურნალობის დაგეგმვის დროს.

ძირითადი საძიებო სიტყვები: თიროიდული ჰორმონები, ჰიპოთირეოზი, ჰიპოკამპი, ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი, მიტოქონდრია, ფლავონოიდები, ნობილეტინი.

Abstract

Hypothyroidism and diseases with hypometabolism generally are among the most serious problems facing Georgian and the World health organizations. In adults, hypothyroidism is associated with mood instability and depression, dementia, memory impairment and psychomotor problems. It is well known that the hippocampus is an important region in the brain strongly involved in the processes of learning, memory and mood. The hippocampus has a high density of thyroid hormone receptors, suggesting that it is an important target for thyroid hormones in the brain.

Given that the brain is the major energy consumer in the body, and neurons rely heavily on ATP production for development and function, even as light impairment in energy metabolism can have drastic effects on the brain. Brain oxidative energy metabolism is a target suspected to have a large potential for the implementation of effective treatments of brain diseases and for enhancing normal cognitive functions.

In the treatment of hypothyroidism thyroid hormone replacement therapy requires permanent monitoring and correction, as it is associated with a number of side effects. Involvement of some medical herbs in the combination therapy significantly increases its efficiency. The most potent natural plant-derived compounds that possibly affect thyroid status are the group of flavonoids, among which nobiletin attracts a special attention. However, the effect of nobiletin on the hypothyroid brain, as well as the mechanisms of its action on the mitochondrial bioenergetics is not revealed.

According to above mentioned the aim of our research was to:

1. Study the effect of hypothyroidism on the main regulatory proteins' redistribution-translocation and on some parameters of mitochondrial bioenergetics in synaptic and non-synaptic mitochondria of adult rats' hippocampus.

2. Study the effect of citrus flavonoid – nobiletin on the regulatory proteins' activity-translocation and on the changes of corresponding bioenergetic parameters caused by hypothyroidism in the hippocampus of hypothyroid rats.

The objects of our investigation were male Wister rats divided into four groups: control; hypothyroid; hypothyroid + nobiletin; hypothyroid + T4. After decapitation, fractions of cell and synaptic mitochondria, as well as cytoplasm, endoplasmic reticulum and plasma membranes were obtained from the hippocampus by differential centrifugation. In the experiments spectrophotometric, fluorometric, luminometric methods and electrophoresis, immunoprecipitation and immunoblotting were used.

Our results have shown that hypothyroidism induces changes in the activity and intracellular redistribution of signaling molecules, with the enhancing of mitochondrial fusion and increasing the level of pro-apoptotic proteins.

After the study of some parameters of nerve cells' energy metabolism it was revealed that hypothyroidism while increases the ROS production, inhibits the oxidative phosphorylation and decreases ATP synthesis, causes the compensatory elevation of hexokinase activity, which should be characteristic only for the glial cells.

Citrus flavonoid – nobiletin partially restores the reduced mitochondrial bioenergetics in the cells of hippocampus inhibited by the hypothyroidism. This effect is probably achieved through the enhancement of matrix substrate-level phosphorylation, inhibition of ROS production and elevation of mitochondrial membrane potential.

These findings open new perspectives in the research of thyroid dysfunctions and may lead to the development of new therapeutic avenues in the management adult-onset hypothyroidism.

Key Words: Thyroid hormones, hypothyroidism, hippocampus, energy metabolism, mitochondria, flavonoids, nobiletin.

მადლობა

წინამდებარე სადისერტაციო კვლევა შესრულებული იქნა ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტში. ნაშრომზე მუშაობის პერიოდში მუდმივად ვგრძნობდი ქიმიური ბიოლოგიის ინსტიტუტის თანამშრომლების ყურადღებას და თანადგომას ჩემი და ჩემი კვლევის მიმართ, რისთვისაც მსურს გულითადი მადლობა გადავუხადო თითოეულ მათგანს.

მადლობას ვუხდის ი. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრის ბიოქიმიის დეპარტამენტის თანამშრომლებს ექსპერიმენტული ცხოველური მოდელის შემუშავებაში გაწეული დახმარებისათვის.

განსაკუთრებული მადლიერება მინდა გამოვხატო ჩემი სამეცნიერო ხელმძღვანელების პროფ. დავით მიქელაძისა და ასოც. პროფ. ელენე ჟურავლიოვას მიმართ, რომელთა უშუალო მეთვალყურეობითაც განხორციელდა მოცემული კვლევა. მსურს მადლობა გადავუხადო მათ იმისთვის, რომ არ იშურებდნენ დროსა და ენერგიას საკუთარი გამოცდილების გასაზიარებლად.

მინდა მადლობა გადავუხადო შოთა რუსთაველის ეროვნულ სამეცნიერო ფონდს. ფონდისგან მიღებულმა დაფინანსებამ, დოქტორანტურის საგანმანათლებლო პროგრამების გრანტისა და ფუნდამენტური კვლევების გრანტის სახით, დიდად შეუწყო ხელი ჩემი კვლევის წარმატებით განხორციელებას. აღნიშნული დაფინანსების ფარგლებში მოხერხდა კვლევის შედეგების წარდგენა ევროპის ბიოქიმიური საზოგადოებების ფედერაციის (FEBS) 50-ე კონგრესზე, საფრანგეთში, ქალაქ პარიზში.

სარჩევი

სარჩევი	viii
ცხრილების ჩამონათვალი	xii
სქემების ჩამონათვალი	xii
სურათების ჩამონათვალი	xiii
აბრევიატურების ჩამონათვალი	xv
შესავალი	1
სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა	7
თავი 1. თიროიდული ჰორმონები	7
1.1 თიროიდული ჰორმონების ზოგადი მიმოხილვა	7
1.2 თიროიდული ჰორმონების გენომური მოქმედება	9
1.3 თიროიდული ჰორმონების არაგენომური მოქმედება	11
თავი 2. თიროიდული ჰორმონების გავლენა თავის ტვინის ფუნქციებზე	15
2.1 თიროიდული ჰორმონების დეფიციტი ნაყოფსა და ახალშობილებში	18
2.2 თიროიდული ჰორმონების დეფიციტი ზრდასრულებში	20
თავი 3. თიროიდული ჰორმონები და მიტოქონდრია	22
3.1 თიროიდული ჰორმონები და მიტოქონდრიის ენერგეტიკა	24
3.2 თიროიდული ჰორმონების გავლენა უჯრედის ოქსიდაციურ სტატუსსა და აპოპტოზზე	27
3.3 თიროიდული ჰორმონები და მიტოქონდრიული ბიოგენეზი	28
3.4 თიროიდული ჰორმონები ცვლიან მიტოქონდრიის შიდა მემბრანის ფიზიკურ მახასიათებლებსა და ლიპიდურ შემადგენლობას	29
თავი 4. თავის ტვინის ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი	30
4.1 სინაპსური და არასინაპსური მიტოქონდრიები	37
თავი 5. ფლავონოიდები	40
5.1 ფლავონოიდების ზოგადი დახასიათება	40

5.2 ნობილეტინი-----	47
მეთოდოლოგია -----	54
თავი 1. კვლევებში გამოყენებული მასალა -----	54
თავი 2. ექსპერიმენტული ჰიპოთირეოზის ცხოველური მოდელი -----	55
თავი 3. სუბუჯრედული ფრაქციონირება-----	56
3.1 უჯრედული და სინაპსური მიტოქონდრიების მიღება-----	56
3.2 ციტოპლაზმებისა და მიკროსომების მიღება -----	57
3.3 პლაზმური მემბრანის ფრაქციის მიღება-----	57
თავი 4. ფერმენტული აქტივობების განსაზღვრა -----	58
4.1 მიტოქონდრიული ჰექსოკინაზას აქტივობის განსაზღვრა -----	58
4.2 სუცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის განსაზღვრა-----	59
4.3 მიტოქონდრიული NOS-ს აქტივობის განსაზღვრა-----	59
4.4 აკონიტაზას აქტივობის განსაზღვრა -----	60
4.5 ფუმარაზას აქტივობის განსაზღვრა -----	60
4.6 ციტოქრომ c ოქსიდაზაში სპილენძის იონის დაჟანგულობის ხარისხის განსაზღვრა -----	60
4. 7 გლიკოლიზური აქტივობის განსაზღვრა -----	61
თავი 5. ატფ-ის სინთეზის განსაზღვრა -----	62
5.1 ჯამური ატფ-ის სინთეზი-----	62
5.2 ალფა-კეტოგლუტარატ-დამოკიდებული ატფ-ის სინთეზი-----	62
თავი 6. მიტოქონდრიების მიერ წყალბადის ზეჟანგის გენერაციის განსაზღვრა -----	63
თავი 7. მიტოქონდრიის მემბრანული პოტენციალის განსაზღვრა -----	64
თავი 8. ელექტროფორეზული ანალიზი აკრილამიდის გელზე -----	64
თავი 9. იმუნობლოტინგი -----	65
თავი10. IP3-რეცეპტორის იმუნოპრეციპიტაცია და მასთან დაკავშირებული BiP-ის განსაზღვრა იმუნობლოტინგის მეთოდით -----	66
თავი 11. ცილის რაოდენობის განსაზღვრა -----	67
შედეგები -----	68

თავი. 1 რეგულაციური ცილების დინამიკა ჰიპოთირეოზის დროს -----	68
1.1. ციტოპლაზმური Akt და ERK პროტეინკინაზების რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს -----	68
1.2. Ras ცილების რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს-----	69
1.3 მიკროსომული Rac ცილის რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს -----	72
1.4 BiP ცილის რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს-----	72
1.5 მიტოქონდრიების Bad ცილის რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს-----	73
1.6 Mitofusin-ისა და OPA-ს რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს-----	74
1.7 უჯრედული და სინაპსური მიტოქონდრიების სირტუინ-3-ის რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს-----	75
თავი 2. მიტოქონდრიის ბიოენერგეტიკის ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს და ნობილეტინის გავლენა აღნიშნულ ცვლილებებზე-----	77
2.1 აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) აქტივობისა და ფოსფორილებული ნეირონული NOS-ს (p-nNOS) შემცველობის ცვლილება CM-სა და SM ფრაქციებში ჰიპოთირეოზის დროს-----	77
2.2 წყალბადის ზეჟანგის წარმოქმნის ცვლილება უჯრედულ და სინაპსურ მიტოქონდრიებში ჰიპოთირეოზის დროს-----	78
2.3 ციტოქრომ c ოქსიდაზას სპირლენძის იონის დაჟანგულობის ხარისხის ცვლილება ჰიპოთირეოზის დროს -----	80
2.4 აკონიტაზასა და ფუმარაზას აქტივობის ცვლილება უჯრედულ და სინაპსურ მიტოქონდრიებში ჰიპოთირეოზის დროს -----	81
2.5 მიტოქონდრიების მემრანული პოტენციალის ცვლილება ჰიპოთირეოზის დროს-----	82
2.6 სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის ცვლილება უჯრედულ და სინაპსურ მიტოქონდრიებში ჰიპოთირეოზის დროს-----	84

2.7 ჯამური და სუბსტრატული ფოსფორილების შედეგად მიღებული მიტოქონდრიული ატფ-ის სინთეზის ცვლილება ჰიპოთირეოზის დროს----	85
2.8 ალფა-კეტოგლუტარატ დამოკიდებული ატფ-ის პროდუქციის ცვლილება ჰიპოთირეოზის დროს-----	87
2.9 ჰექსოკინაზას აქტივობის ცვლილება ჰიპოთირეოზის დროს -----	88
2.10 გლიკოლიზის დონის ცვლილება ჰიპოთირეოზის დროს-----	89
შედეგების განხილვა -----	91
დასკვნები -----	100
გამოყენებული ლიტერატურა -----	103

ცხრილების ჩამონათვალი

ცხრილი 1: ჰიპოთირეოზით განპირობებული ძირითადი ჰიპოკამპური

სტრუქტურული ცვლილებები ----- 19

ცხრილი 2: ჰიპოთირეოზით განპირობებული ჰიპოკამპის ძირითადი

ფუნქციური ცვლილებები ----- 19

ცხრილი 3: ფლავონოიდების ქვეკლასები და მათი საკვები წყაროები ----- 42

სქემების ჩამონათვალი

სქემა 1: ჰიპოთირეოზით გამოწვეული ცვლილებები ნერვული

უჯრედების მეტაბოლიზმსა და რეგულაციური ცილების დინამიკაში

და ნობილეტინის ეფექტი აღნიშნულ ცვლილებებზე -----102

სურათების ჩამონათვალი

სურათი 1: თიროიდული ჰორმონები : T4 და T3-----	7
სურათი 2: თიროიდული ჰორმონების მიერ გენის ინდუქცია არაკლასიკური გზით----	14
სურათი 3: თიროიდული ჰორმონების ტრანსპორტი ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში-	15
სურათი 4: ჰიპოკამპი -----	18
სურათი 5: მიტოქონდრიული ფუნქციების რეგულაცია თიროიდულ ჰორმონებზე დამოკიდებული ბირთვულ-მიტოქონდრიული მექანიზმების ურთიერთკავშირით -----	24
სურათი 6: თავის ტვინის უჯრედების ძირითადი ტიპები -----	30
სურათი 7: ასტროციტ-ნეირონული მეტაბოლიზმის შეუღლება -----	32
სურათი 8: ელექტრონების გადამტანი ჯაჭვი -----	33
სურათი 9: მიტოქონდრიების შერწყმა და დაყოფა -----	35
სურათი 10: ფლავონოიდების ზოგადი სტრუქტურა და მათი კლასიფიკაცია ქიმიური სტრუქტურის მიხედვით -----	41
სურათი 11: ფლავონოიდების მოლეკულური სამიზნეები კიბოს პრევენციაში -----	45
სურათი 12: ციტრუსის ძირითადი ფლავონოიდები -----	46
სურათი 13: ნობილეტინის ქიმიური სტრუქტურა -----	48
სურათი 14: ნობილეტინისა და მისი ძირითადი იდენტიფიცირებული მეტაბოლიტების სტრუქტურები -----	48
სურათი 15: ERK-ის რაოდენობრივი ცვლილება -----	69
სურათი 16: Akt-ის რაოდენობრივი ცვლილება -----	69
სურათი 17: K-Ras-ის რაოდენობრივი ცვლილება პლაზმურ მემბრანაში -----	70
სურათი 18: K-Ras-ის რაოდენობრივი ცვლილება მიტოქონდრებში -----	70
სურათი 19: K-Ras-ის რაოდენობრივი ცვლილება მიკროსომულ ფრაქციაში -----	71
სურათი 20: H-Ras-ის რაოდენობრივი ცვლილება -----	71
სურათი 21: Rac-ის რაოდენობრივი ცვლილება -----	72
სურათი 22: IP3R-თან დაკავშირებული BiP ცილის რაოდენობის ცვლილება -----	73

სურათი 23: Bad ცილის რაოდენობრივი ცვლილება -----	74
სურათი 24: მიტოფუზინ-2 (Mfn-2)-ის რაოდენობრივი ცვლილება -----	75
სურათი 25: ოპტიკური ატროფიის ცილა 1-ის (OPA-1) რაოდენობრივი ცვლილება ----	75
სურათი 26: სირტუინ 3-ის რაოდენობრივი ცვლილება -----	76
სურათი 27: (ა) აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) აქტივობის ცვლილება -----	77
(ბ) ფოსფორილებული ნეირონული NOS-ს (p-nNOS)	
რაოდენობრივი ცვლილება -----	78
სურათი 28: (ა) წყალბადის ზეჟანგის პროდუქციის ცვლილება	
I კომპლექსის სუბსტრატების თანაობისას -----	79
(ბ) წყალბადის ზეჟანგის პროდუქციის ცვლილება	
II კომპლექსის სუბსტრატის თანაობისას -----	79
სურათი 29: ციტოქრომ c ოქსიდაზას სპირლენძის იონის დაჟანგულობის	
ხარისხის ცვლილება -----	80
სურათი 30: (ა) აკონიტაზას აქტივობის ცვლილება -----	81
(ბ) ფუმარაზას აქტივობის ცვლილება -----	82
სურათი 31: მემბრანული პოტენციალის ცვლილება -----	83
სურათი 32: სუქცინატდეჰიდროგენაზას (SDH) აქტივობის ცვლილება -----	84
სურათი 33: (ა) ჯამური და სუბსტრატული ფოსფორილირებით მიღებული	
ატფ-ის სინთეზის ცვლილებები უჯრედულ (CM) მიტოქონდრიებში ----	86
(ბ) ჯამური და სუბსტრატული ფოსფორილირებით მიღებული	
ატფ-ის სინთეზის ცვლილებები სინაპსურ (SM) მიტოქონდრიებში -----	86
სურათი 34: ალფა-კეტოგლუტარატ დამოკიდებული ატფ-ის სინთეზის ცვლილებები -	88
სურათი 35: (ა) მიტოქონდრიული ჰექსოკინაზას (HK)-ას აქტივობის ცვლილება	
ატფ-ის ინტრამიტოქონდრიული გზით წარმოქმნის პირობებში -----	89
(ბ) მიტოქონდრიული ჰექსოკინაზას (HK)-ას აქტივობის ცვლილება	
ატფ-ის ეგზოგენურად დამატების (exo ATP) (ბ) პირობებში -----	89
სურათი 36: გლიკოლიზის დონის ცვლილება -----	90

აბრევიატურების ჩამონათვალი

- Akt** - სერინ-თრეონინ კინაზა ანუ პროტეინკინაზა B
- CM** - არასინაპსური (უჯრედული) მიტოქონდრიები
- CREB** - ციკლურ ამფ-ზე მოპასუხე ელემენტის დამაკავშირებელი ცილა
- EDTA** - ეთილენდიამინტეტრამმარმჟავა
- ERK** - ექსტრაუჯრედული სიგნალით რეგულირებადი კინაზა
- GLUT** - გლუკოზას ტრანსპორტერი
- HEPES** – 4-(2-ჰიდროქსიეთილ)-1-პიპერაზინეთანსულფომჟავა
- HK** - ჰექსოკინაზა
- MAPK** - მიტოგენ აქტივირებადი პროტეინკინაზა
- MCT** - მონოკარბოქსილური მჟავების ტრანსპორტერი
- NFκB** - ანთებითი ბირთვული ფაქტორი κB
- NOB** - ნობილეტინი
- PI3K**- ფოსფატიდილინოზიტოლ-3-კინაზა
- PMFs** - პოლიმეთოქსიფლავონები
- ROS** - ჟანგბადის აქტიური ფორმები
- rT3** - რევერსული ტრიოდთირონინი
- SDH** - სუქცინატდეჰიდროგენაზა
- SM**- სინაპსური მიტოქონდრიები
- T2** - დიოდთირონინი
- T3**- ტრიოდთირონინი
- T4**- ტეტრაოდთირონინი ანუ თიროქსინი
- TCA ციკლი** – სამნახშირბადიან მჟავათა (ლიმონჟავა) ციკლი
- TRE** - თიროიდული ჰორმონის საპასუხო ელემენტი
- TRs** - თიროიდული ჰორმონების ბირთვული რეცეპტორები
- UCP** - შეუღლების გამთიშავი ცილა
- თჰ** - თიროიდული ჰორმონები

შესავალი

ჰიპოთირეოზი და ზოგადად ჰიპომეტაბოლური დაავადებები მსოფლიოს ჯანდაცვის ერთ-ერთ ყველაზე სერიოზულ პრობლემას წარმოადგენს. აღნიშნული დაავადებები ქრონიკული ხასიათის გამო მნიშვნელოვნად აქვეითებენ ცხოვრების დონეს და ხშირად ადამიანთა არაქმედუნარიანობის მიზეზი ხდება. ენდოკრინული დაავადებების ავადობის მაჩვენებლის ზრდა, რომელიც ძირითადად განპირობებულია ფარისებრი ჯირკვლის გადიდების და დაუზუსტებელი ჩიყვის დიაგნოზით აღრიცხულ პაციენტთა მატებით, კვლავ რჩება საქართველოს ჯანდაცვის ორგანიზაციების ერთ-ერთ მთავარ პრობლემად.

თიროიდული ჰორმონები (თჰ) აუცილებელია მუცუპწოვრების ნორმალური განვითარების, ზრდის, ნერვული უჯრედების დიფერენციაციისა და მეტაბოლიზმის რეგულაციისათვის (Cheng SY et al; 2010; Williams GR. 2008; Tata JR. 2013). ზრდასრულ ორგანიზმებში თჰ-ის მოქმედება ვლინდება მეტაბოლიზმის ცვლილებით, მათ შორის ცვლილებები აღინიშნება ჟანგბადის მოხმარებაში, ცილების, ნახშირწყლების, ლიპიდებისა და ვიტამინების მეტაბოლიზმში (Moeller LC, Broecker-Preuss M. . 2011).

თიროიდული ჰორმონების ჰიპერმეტაბოლური გავლენა ფართოდაა აღიარებული. ცნობილია, რომ ჰიპერთირეოზის სიმპტომია მეტაბოლური დონის ზრდა. თიროიდექტომიის შედეგს კი წარმოადგენს ბაზალური მეტაბოლიზმის დონის 40%-მდე შემცირება. არსებობს პირდაპირი კავშირი ცირკულირებადი თიროიდული ჰორმონის დონესა და მეტაბოლიზმის სიჩქარეს შორის (Harper ME, Seifert EL. 2008). რის გამოც ჰიპოთირეოზის ზოგიერთი კლინიკური გამოვლინება, მაგალითად დაღლილობა, სისუსტე, ბრადიკარდია, სიცვიისადმი აუტანლობა და სხვა, დაკავშირებული უნდა იყოს ნივთიერებათა ცვლის დაქვეითებასთან და ჟანგბადის მოხმარების შემცირებასთან (Martí-Carbonell et al., 2012).

თიროიდული ჰორმონების ერთ-ერთ მთავარ სამიზნეს ცენტრალური ნერვული სისტემა წარმოადგენს. თჰ მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ არა მხოლოდ ნერვული

სისტემის ფეტური (პრენატალური) და პოსტნატალური განვითარების პროცესში, არამედ ზრდასრული ორგანიზმის ტვინის ფუნქციების შენარჩუნებაშიც (Bernal 2007; Wallis K., et al. 2010). მაშინ როდესაც განვითარების პროცესში ჰიპოთირეოზი იწვევს მძიმე და შეუქცევად დარღვევებს, ზრდასრულ ორგანიზმში თიროიდული დისფუნქცია კორელირებს ნევროლოგიურ და ქცევით დარღვევებთან (Dugbartey AT. 1998). ჰიპოთირეოზი ზრდასრულ ორგანიზმებში განაპირობებს ხასიათის არასტაბილურობას და დეპრესიას, დემენციას, მეხსიერების გაუარესებას და ფსიქომოტორულ პრობლემებს (Smith JW, et al. 2002). ზრდასრულ ორგანიზმში ჰიპოთირეოზით გამოწვეული დარღვევები მიუთითებენ იმაზე, რომ თიროიდული სტატუსის ცვლილება აღძრავს ცვლილებებს თავის ტვინის იმ უბნებში, რომლებიც პასუხისმგებელნი არიან კოგნიტურ ფუნქციებზე. ცნობილია, რომ ჰიპოკამპი წარმოადგენს თავის ტვინის მნიშვნელოვან უბანს, რომელიც მონაწილეობს დასწავლის, მეხსიერების და ხასიათის განსაზღვრის პროცესებში. გარდა ამისა, ჰიპოკამპში დიდი რაოდენობით არის წარმოდგენილი თიროიდული ჰორმონების რეცეპტორები, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ სწორედ ჰიპოკამპი წარმოადგენს თიროიდული ჰორმონების მნიშვნელოვან სამიზნეს თავის ტვინში (Lee et al. 2003; de Jong FJ 2006; Desouza LA, et al. 2005). ზრდასრულის ჰიპოკამპში ჰიპოთირეოზი განაპირობებს სინაპსური გადაცემისა და პლასტიურობის ცვლილებას (Gilbert 2004). მიუხედავად იმისა, რომ თიროიდული დისბალანსი ზრდასრულ ორგანიზმებში ძალიან ხშირია, მექანიზმები, რომლებიც საფუძვლად უდევს ჰიპოთირეოზით გამოწვეული დარღვევებს ნაკლებად შესწავლილია (Remaud S, et al. 2014).

რამდენადაც თავის ტვინი წარმოადგენს ენერგიის ყველაზე დიდ მომხმარებელს ადამიანის ორგანიზმში, და ნეირონების განვითარება და ფუნქციონირება ძლიერ არის დამოკიდებული ატფ-ის პროდუქციაზე, ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის უმნიშვნელო დარღვევასაც კი ძლიერი გავლენა აქვს თავის ტვინზე (Khatri N, Man HY 2013). დაბალი გლიკოლიზური აქტივობის გამო ნეირონების ენერგიით უზრუნველყოფა უმთავრესად მიტოქონდრიების საშუალებით ხდება (Herrero-Mendez A, et. al 2009). მიტოქონდრიების ძირითად ფუნქციას სწორედ ატფ-ის სინთეზი წარმოადგენს, რაც ელექტრონების

გადატანისა და ჟანგითი ფოსფორილების შეუღლებით ხორციელდება. აქედან გამომდინარე, ვარაუდობენ, რომ მიტოქონდრიული დეფექტები წარმოადგენენ მექანიზმს, რომელიც საფუძვლად უდევს ქრონიკულ ნეირონულ დისფუნქციებს და აღნიშნული ჰიპოთეზის დამადასტურებელი მონაცემები დღითიდღე იზრდება (Khatri N, Man HY 2013).

ვინაიდან თიროიდული რეცეპტორის გენომური ეფექტები ვერ ხსნის თიროიდული ჰორმონის მრავალმხრივ ეფექტებს, გამოითქვა მოსაზრება ამ ჰორმონის პირდაპირი, არაბირთვული მოქმედების შესახებ (Sen et al, 2002, Flamant et al 2007). ცნობილია, რომ თიროიდული ჰორმონები უშუალო გავლენას ახდენენ მიტოქონდრიების ბიოენერგეტიკაზე, რაც განაპირობებს თავის ტვინის სხვადასხვა უბნებში გარკვეულ მორფოლოგიურ და ბიოქიმიურ ცვლილებებს (Martí-Carbonell et al., 2012). თუმცა, თიროიდული ჰორმონების მიტოქონდრიებზე მოქმედების კომპლექსური მექანიზმი ჯერ კიდევ აქტიური კვლევის საგანს წარმოადგენს (Schmidt, O., et al; 2010).

ნერვული ქსოვილიდან შესაძლებელია მიტოქონდრიების ორი ფრაქციის - სინაპსური (SM) და არასინაპსური (უჯრედული) მიტოქონდრიების (CM) გამოყოფა. სინაპსური მიტოქონდრიები განსხვავდებიან არასინაპსური მიტოქონდრიებისაგან ზომით, მობილობით, სიცოცხლის ხანგრძლივობით და სხვა მახასიათებლებით. (Li Z, et al; 2004; Guo X, et al. 2005). ცნობილია, რომ განვითარებად თავის ტვინში თანდაყოლილი ჰიპოთირეოზი განაპირობებს TCA ციკლისა და უჯრედული სუნთქვის დაქვეითებას მხოლოდ უჯრედულ მიტოქონდრიებში (Martinez et al. 2009). თუმცა, თიროიდული ჰორმონების მოქმედების მექანიზმი ზრდასრული თავის ტვინის მიტოქონდრიების აღნიშნულ სუბპოპულაციებზე ნაკლებად შესწავლილია.

თავის ტვინის ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი წარმოადგენს სამიზნეს, რომელსაც დიდი პოტენციალი გააჩნია ეფექტური მკურნალობის მეთოდების შემუშავებისათვის თავის ტვინის დაავადებების მკურნალობისა და ნორმალური კოგნიტური ფუნქციების გასაძლიერებლად. თუ გავითვალისწინებთ თანამედროვე მზარდ სამეცნიერო მონაცემებს ამ მიმართულებით, მიტოქონდრიულ რესპირატორულ ფუნქციებზე მიმართული მანიპულაციები, როგორც ჩანს, წარმოადგენს მომდევნო ლოგიკურ

საფეხურს ნეიროდეგენერაციის წინააღმდეგ ეფექტური თერაპიული საშუალებების შემუშავებისათვის (Gonzalez-Lima F., et al, 2014).

აღსანიშნავია, რომ ჰიპოთირეოზის მკურნალობაში ჰორმონის ჩანაცვლებითი თერაპიის გარკვეული დადებითი შედეგის მიუხედავად, აღნიშნულ მკურნალობას გვერდითი ეფექტების მთელი რიგი ახასიათებს (მათ შორის სიმსივნის მეტასტაზირების ხელშეწყობა). უახლესმა გამოკვლევებმა აჩვენეს, რომ ზოგიერთი სამკურნალო მცენარის გამოყენება ჰიპოთირეოზის კომბინირებულ თერაპიაში მნიშვნელოვნად ზრდის მის ეფექტურობას (Wu JJ et al., 2012). თიროიდულ სტატუსზე მოქმედ, მცენარეული წარმოშობის აგენტებს შორის განსაკუთრებულ პოტენციალს ფლავონოიდების ჯგუფს მიაწერენ. ფლავონოიდები წარმოადგენენ მცენარეთა მეტაბოლიტების ჯგუფს, რომელშიც დღეისათვის აღმოჩენილი, 10 000-ზე მეტი ნაერთია გაერთიანებული, თუმცა მათგან მხოლოდ რამდენიმეა დეტალურად შესწავლილი (Pollastri S.,Tattini M.: 2011). ფლავონოიდების ეფექტურობას მნიშვნელოვნად ზრდის მათი ლიპოფილურობა და ქსოვილებსა და უჯრედებში გაადვილებული შეღწევადობა.

ლაბორატორიული კვლევების, ეპიდემიოლოგიური გამოკვლევებისა და ადამიანებზე ჩატარებული კლინიკური ცდების შედაგად მიღებული მონაცემები მიუთითებენ, რომ ფლავონოიდები მნიშვნელოვან გავლენას ახდენენ კიბოს ქიმიოპრევენციასა და ქიმიოთერაპიაზე. იდენტიფიცირებული იქნა ფლავონოიდების მოქმედების მრავალი მექანიზმი, მათ შორის კარცინოგენების ინაქტივაცია, პროლიფერაციის დათრგუნვა, უჯრედული ციკლის შეჩერება, აპოპტოზისა და დიფერენციაციის გამოწვევა, ანგიოგენეზის ინჰიბირება, ანტიოქსიდანტური მოქმედება და წამლების მულტირეზისტენტობის შეცვლა ან აღნიშნული მექანიზმების კომბინაციები (Ren W, et al., 2003).

უკანასკნელ წლებში ლიტერატურაში დაგროვდა მონაცემები ციტრუსის ფლავონოიდების ნეიროპროტექტორული და ანთებისსაწინააღმდეგო თვისებების შესახებ (Walle et al., 2007; Mazzio et al., 2011). ერთ-ერთი ყველაზე ფართოდ გავრცელებული ციტრუსის ფლავონოიდი არის ნობილეტინი (NOB) (Li et al., 2006 a; Li, Lo & Ho , 2006 b). არსებობს მრავალრიცხოვანი სამეცნიერო მონაცემები ნობილეტინის

დადებითი ბიოლოგიური მოქმედებების შესახებ. მათ შორისაა ანტიკანცეროგენული, ანთებისსაწინააღმდეგო და ნეიროპროტექტორული მოქმედება. გარდა ამისა, ნობილეტინი დადებით გავლენას ახდენს თავის ტვინის ფუნქციურ აქტივობაზე.

მიუხედავად ლიტერატურაში არსებული გარკვეული ექსპერიმენტული მონაცემებისა, ნობილეტინის ეფექტი ჰიპოთიროდული სტატუსის მქონე თავის ტვინზე, ისევე როგორც მოლეკულური მექანიზმი, რომელიც საფუძვლად უდევს მიტოქონდრიულ ბიოენერგეტიკაზე ნობილეტინის გავლენას უცნობია.

ყოველივე ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა:

1. შეგვესწავლა ჰიპოთირეოზის გავლენა ზრდასრული ვირთაგვების ჰიპოკამპის ძირითადი რეგულაციული ცილების უჯრედში გადანაწილება-ტრანსლოკაციაზე და მიტოქონდრიული ბიოენერგეტიკის ზოგიერთ პარამეტრზე სინაპსური და არასინაპსური მიტოქონდრიების ფრაქციებში.
2. შეგვესწავლა ციტრუსის ფლავონოიდის - ნობილეტინის ეფექტი ჰიპოთიროდული ვირთაგვების ჰიპოკამპის რეგულაციული ცილების აქტივობა-ტრანსლოკაციის და შესაბამისი ბიოენერგეტიკული მაჩვენებლების ჰიპოთირეოზით გამოწვეულ ცვლილებებზე.

დასახული ამოცანების წარმატებით დასრულების შემდეგ გამოვლინდება ჰიპოთირეოზის დროს მიმდინარე დარღვევები ჰიპოკამპის უჯრედული და სინაპსური მიტოქონდრიების ბიოენერგეტიკაში, რომელსაც საფუძვლად უდევს თიროიდული ჰორმონების არაგენომური მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების დისრეგულაცია. აღნიშნული შედეგები საშუალებას მოგვცემს შევაფასოთ ენერგეტიკული დისბალანსის მოლეკულური მექანიზმები, რამაც შესაძლოა გამოავლინოს ახალი სამიზნეები ფარმაკოლოგიური თერაპიისათვის. შესაძლებელია, რომ ენერგოდისბალანსი, რომელიც თან ახლავს მრავალ ნეირო- და სიმსივნურ დაავადებას, მიმდინარეობდეს მსგავსი სქემით, როგორითაც ჰიპოთირეოზით გამოწვეული მიტოქონდრიების ფუნქციონირების ცვლილებები. აღნიშნულ პროცესებზე ნობილეტინის გავლენის შესწავლა საშუალებას მოგვცემს დავადგინოთ მისი დადებითი ბიოლოგიური ეფექტის მოლეკულური მექანიზმის ზოგიერთი ასპექტი, რაც ერთის მხრივ გახსნის ნობილეტინის, როგორც

სამკურნალო პრეპარატის გამოყენების ახალ პერსპექტივებს, ხოლო მეორეს მხრივ, შეიძლება აისახოს კვებით რეკომენდაციებში სხვადასხვა დაავადებების პრევენციის მიზნით.

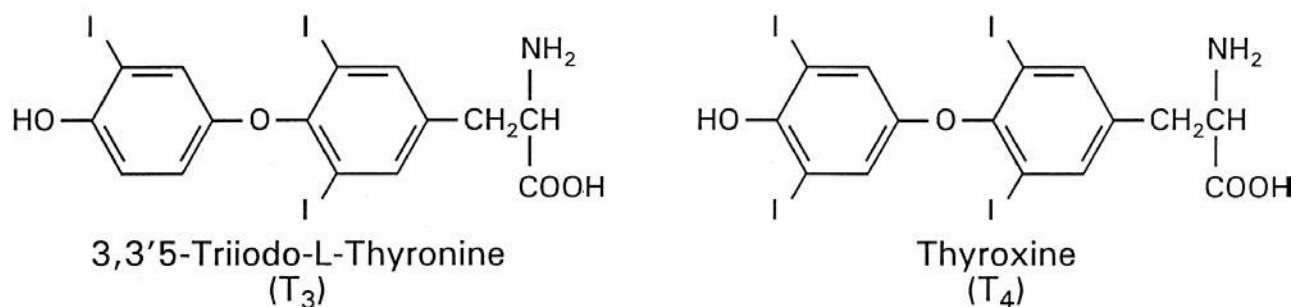
სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა

თავი 1. თიროიდული ჰორმონები

1.1 თიროიდული ჰორმონების ზოგადი მიმოხილვა

თიროიდული ჰორმონები (თჰ) აუცილებელია მუშაუმწოვრების ნორმალური განვითარების, ზრდის, ნერვული უჯრედების დიფერენციაციისა და მეტაბოლიზმის რეგულაციისათვის (Cheng SY et al; 2010; Williams GR. 2008; Tata JR. 2013). ზრდასრულ ორგანიზმში თჰ-ის მოქმედება ვლინდება მეტაბოლიზმის ცვლილებით, მათ შორის ცვლილებები აღინიშნება ქანგადაის მოხმარებაში, ცილების, ნახშირწყლების, ლიპიდებისა და ვიტამინების მეტაბოლიზმში (Moeller LC, Broecker-Preuss M. . 2011).

თიროიდული ჰორმონები სინთეზდებიან ფარისებრ ჯირკვალში. ფარისებრ ჯირკვალში შეიცავს ფოლიკულებს, სადაც თიროიდული ჰორმონების წარმოქმნა ხდება გლიკოპროტეინ თიროგლობულინის თიროზინის ნაშთების იოდირების შედეგად (Zimmermann MB. 2009; Rubio IG, Medeiros-Neto G. 2009). ფარისებრი ჯირკვალის წარმოქმნის ორ მთავარ იოდთირონინს: 3,5,3',5',- ტეტრაიოდთირონინს (თიროქსინი ანუ T4) და 3,5,3'-ტრიიოდ-L-თირონინს (T3) (იხ.სურ.1).



სურ.1 თიროიდული ჰორმონები : T4 და T3

სისხლში ცირკულირებადი T4-ისა და T3-ის უმეტესი ნაწილი დაკავშირებულია სატრანსპორტო ცილებთან (თიროქსინშემაკავშირებელ გლობულინი, თიროქსინშემაკავშირებელი პრეალბუმინი და ალბუმინი) და მხოლოდ მცირე ნაწილია თავისუფალი სახით პლაზმაში და შესაბამისად ბიოლოგიურად აქტიური. ცირკულაციაში მყოფი T4-ის ყველა მოლეკულა სინთეზირებულია ფარისებრი ჯირკვლის მიერ, მაშინ როდესაც T3-ის უმეტესი ნაწილი (დაახლოებით 80%) წარმოიქმნება პერიფერიულ ქსოვილებში T4-ის დეიოდირების შედეგად. T3 შემდგომში კვლავ დეიოდირდება და მიიღება 3,3'-T2 და სავარაუდოდ, ასევე 3,5-T2 (Cioffi F1, et al; 2013). თიროიდული ჰორმონების დეიოდირებას ახორციელებს სამი დეიოდინაზა: I ტიპის დეიოდინაზა (D1), რომელიც უპირატესად გვხვდება ღვიძლში, ასევე თირკმელში, ფარისებრ ჯირკვალში და ჰიპოფიზში; II ტიპის დეიოდინაზა (D2), გვხვდება ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში, ჰიპოფიზის წინა წილში, რუხ ცხიმოვან ქსოვილში და პლაცენტაში; III ტიპის დეიოდინაზა (D3), გვხვდება ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში, პლაცენტაში, კანში და ნაყოფის ქსოვილებში (Orozco et al., 2012; Dentice and Salvatore, 2011; Bianco, 2011).

თ3-ის ჰიდროფობური ბუნების მიუხედავად, მათ არ შეუძლიათ პლაზმურ მემბრანაში გასვლა მარტივი დიფუზიის გზით, ამიტომ პერიფერიული ქსოვილების მიერ თ3-ის შეთვისება გაშუალებულია სპეციფიკური მემბრანული სატრანსპორტო ცილებით (Schweizer U, et al; 2014). იდენტიფიცირებულია მემბრანული ტრანსპორტერების რამდენიმე ოჯახი, მათ შორის განსაკუთრებულ ყურადღებას იმსახურებს მონოკარბოქსილური მჟავების ტრანსპორტერების (MCT) ოჯახი. აღნიშნული ცილების ოჯახს მიაკუთვნებენ თოთხმეტ ცილას, თუმცა ლიგანდ-დამაკავშირებელი უბანი მათგან მხოლოდ ექვსისთვისაა იდენტიფიცირებული. MCT8 და MCT10 მიჩნეულია თ3-ს სპეციფიკურ ტრანსპორტერებად. ამასთან, MCT8-ს მაღალი სპეციფიკურობა ახასიათებს მხოლოდ თ3-ის მიმართ, ხოლო MCT10-ს სხვადასხვა ამინომჟავების გადატანის უნარიც გააჩნია (Friesema et al., 2003).

მიუხედავად იმისა, რომ ფარისებრი ჯირკვლის სეკრეციის მთავარ პროდუქტს თიროქსინი წარმოადგენს, ბიოლოგიური ეფექტების უმეტესობა, რომელთაც ფარისებრი

ჯირკვლის ჰორმონებს მიაწერენ, ტრიოდთირონინის მიერ ხორციელდება (Cini G, et al. 2009).

თიროიდული ჰორმონების მოქმედება დამოკიდებულია ქსოვილისა და უჯრედის ტიპზე და მოიცავს გენომურ და არაგენომურ მოქმედებას (Yehuda-Shnaidman E, et al; 2014)

1.2 თიროიდული ჰორმონების გენომური მოქმედება

თიროიდული ჰორმონების გენომური მოქმედება გულისხმობს თიროიდული ჰორმონების ასეულობით სამიზნე გენის ტრანსკრიფციის რეგულაციას (Weitzel JM, Iwen KA. 2011). თიროიდული ჰორმონები ახდენენ მათი სამიზნე გენების უმეტესობის გააქტივებას, ხოლო ზოგიერთი მათგანის სუპრესიას (Yen PM. 2001).

1960-იანი წლების დასაწყისში Tata და მისი კოლეგები იყვნენ პირველები, რომლებმაც აჩვენეს, რომ თიროიდული ჰორმონების შეყვანა ჰიპოთიროიდულ ვირთაგვებში იწვევდა ბაზალური მეტაბოლიზმის გაძლიერებას, მაშინ როცა აღნიშნული ეფექტი ითრგუნებოდა ტრანსკრიფციის ინჰიბიტორის (როგორცაა მაგალითად აქტინომიცინ-D) თანადროული შეყვანისას (Tata, J.R., et al; 1963). ეს მონაცემები მიუთითებდნენ იმაზე, რომ ზემოთაღწერილი მოქმედების ლოკუსს წარმოადგენდა ბირთვი. მართლაც აღმოჩნდა, რომ თ3-ის გენომური მოქმედება ხორციელდება თ3-ს დაკავშირებით თ3-ს ბირთვულ რეცეპტორებთან (TRs) (Weinberger C, et al; 1986). ამასთან, TRs გაცილებით მაღალი თვისობა გააჩნიათ T3-ის მიმართ, ვიდრე მისი წინამორბედი T4-ის მიმართ. TRs ყველა იზოფორმა ერთიანდება ბირთვული რეცეპტორების დიდ სუპეროჯახში, ისევე როგორც რეტინოის მჟავას, ვიტამინ D-ს და პეროქსისომების პროლიფერაციული აქტივატორების რეცეპტორები (Farach-Carson, M.C., Davis, P.J., 2003). TRs კოდირდება α და β c-erbA გენებით, რომლებიც მდებარეობენ მე-17 და მე-3 ქრომოსომებში, შესაბამისად, და გააჩნიათ სპლაისინგით მიღებული რამდენიმე იზოფორმა (Lazar MA. 1993. Brent GA. 1994). c-erbA α აკოდირებს ერთ T3-ის დამაკავშირებელ სპლაის პროდუქტს-TR α 1-ს, რომელიც უპირატესად თავის ტვინში,

გულსა და ჩონჩხის კუნთებში გვხვდება და ორ T3-ის არა-დამაკავშირებელ სპლაის-პროდუქტს - TR α 2-ს და TR α 3-ს. c-erbA β გენი აკოდირებს სამ T3-ის დამაკავშირებელ სპლაის პროდუქტს: TR β 1 ფართოდაა წარმოდგენილი სხვადასხვა ქსოვილში, TR β 2 ექსპრესირდება ძირითადად თავის ტვინში, ბადურასა და შიდა ყურში, ხოლო TR β 3 თირკმელებში, ღვიძლსა და ფილტვებში (Cheng SY, 2010; Pascual A, Aranda A.2013). აღნიშნული რეცეპტორები შეიცავენ ფუნქციურ დომენებს, კერძოდ, დნმ-დამაკავშირებელ დომენს (DBD) და ლიგანდ-დამაკავშირებელ დომენს (LBD). DBD შეიცავს დაახლოებით 70 ამინომჟავას და ურთიერთქმედებს დნმ-ის სპეციფიკურ უბანთან, ე.წ. "თიროიდული ჰორმონის საპასუხო ელემენტთან" (TREs)(Farach-Carson, M.C., Davis, P.J., 2003). TR α და TR β სტრუქტურულად ერთმანეთის მსგავსია (მათი დნმ-და ლიგანდ-დამაკავშირებელი დომენები მსგავსია) და ძირითადად მხოლოდ ამინო ბოლოზე არსებული უბნებით განსხვავდებიან (Hollenberg AN, et al; 1995).

თიროიდული ჰორმონების მიერ ტრანსკრიფციის რეგულაცია გულისხმობს შესაბამისი ბირთვული TRs-ის დაკავშირებას თიროიდული ჰორმონების სამიზნე გენების პრომოტორულ უბანში არსებულ TREs-თან. ბირთვული TRs შესაძლებელია TREs-ს უკავშირდებოდეს ჰომოდიმერის სახით, ან ჰეტეროდიმერის ფორმით, რომელსაც TR წარმოქმნის რეტინოიდის X რეცეპტორთან. ლიგანდის არარსებობის შემთხვევაში, TREs-თან დაკავშირებული TRs თრგუნავენ სამიზნე გენის ტრანსკრიფციას, რადგანაც აკავშირებენ ტრანსკრიფციულ კორეპრესორებს (როგორებიცაა NCoR, SMRT) ტრანსკრიფციის ინიციაციის უბანთან. TRs-თან თიროიდული ჰორმონების დაკავშირების შემთხვევაში, ადგილი აქვს კორეპრესორების ჩამოცილებას და მათ ჩანაცვლებას ტრანსკრიფციული კოაქტივატორებით (მაგ. SRC), რაც განაპირობებს შესაბამისი გენის ექსპრესიას. მსგავსი მექანიზმით რეგულირებად გენებს მიეკუთვნება : α -მიოზინის მძიმე ჯაჭვის, სარკოპლაზმური ბადის Ca²⁺-ატფ-აზას, β 1-ადრენერგული რეცეპტორების, გუანინ-ნუკლეოტიდური რეგულატორული ცილების, Na⁺/K⁺-ატფ-აზასა და გულის პოტენციალდამოკიდებული K⁺-ის იონური არხების გენები. გარდა აღნიშნული გენების ექსპრესიისა, TRE-ის საშუალებით, T3-ს ასევე შეუძლია β -მიოზინის მძიმე ჯაჭვის, ადენილატციკლაზის V და VI ტიპის, Na⁺/Ca²⁺ტრანსპორტერის და TR-ის

იზოფორიმის - TR α 1-ის გენების ექსპრესიის დათრგუნვა (Hiroi Y, et al; 2006; Cheng SY, et al; 2010; Yen PM. 2001).

აღსანიშნავია, რომ თიროიდული ჰორმონების სამიზნე გენების მხოლოდ შეზღუდულ რაოდენობას გააჩნიათ TRE თავის პრომოტორულ უბანში და ამდენად, პირდაპირ რეგულირდებიან თ3/TR-ით (Weitzel JM, et al. 2003).

1.3 თიროიდული ჰორმონების არაგენომური მოქმედება

აღწერილია თიროიდული ჰორმონების მრავალი ბიოლოგიური ეფექტი, რომელიც არ მოიცავს თ3-ის დაკავშირებას ბირთვულ რეცეპტორთან. ითვლება, რომ ამგვარი ეფექტები გულისხმობს თიროიდული ჰორმონების დამაკავშირებელი უბნების არსებობას ბირთვის გარეთ, უჯრედის სხვადასხვა კომპარტმენტზე (მათ შორის პლაზმურ მემბრანაზე, ციტოზონში, ციტოპლაზმაში და მიტოქონდრიაში) (Cheng et al., 2010).

გენომური მოქმედებისაგან განსხვავებით, არაგენომური მოქმედება: (i) არ არის დამოკიდებული თიროიდული ჰორმონების ბირთვულ რეცეპტორებზე, (ii) შესაძლოა განხორციელდეს დროის მოკლე მონაკვეთში (წამებსა და წუთებში) და (iii) შესაძლებელია გაშუალებული იყოს სიგნალის გადამცემი გზებით, მაგ. ციკლური ამფ-ითა და პროტეინკინაზებით (Bassett et al., 2003; Farach-Carson and Davis, 2003; Saelim et al., 2004; Axelband et al., 2011).

2005 წელს Davis და კოლეგების მიერ იდენტიფიცირებული იქნა თიროიდული ჰორმონების რეცეპტორი - პლაზმური მემბრანის სტრუქტურული ცილა, $\alpha\beta 3$ ინტეგრინი (Bergh JJ, et al; 2005). აღმოჩნდა, რომ $\alpha\beta 3$ ინტეგრინი წარმოადგენს ჰეტეროდიმერს, რომელიც ურთიერთქმედებს როგორც უჯრედგარე მატრიქსთან, ასევე თიროიდულ ჰორმონებთან (Bergh et al., 2005; Cody et al., 2007). შემდგომი კვლევებით შესაძლებელი გახდა $\alpha\beta 3$ -ის აქტივაციის მექანიზმების დადგენა და თ3-ის ორი განსხვავებული რეცეპტორული უბნის დახასიათება. კერძოდ, S1 და S2 უბანი, რომლებიც განსხვავდებიან თვისებებით და უჯრედის შიგნით ინიცირებული

მოქმედებებით (Davis PJ, et al; 2011). S1 უბანი იკავშირებს მხოლოდ T3-ს და განაპირობებს Src-ს ფოსფორილებასა და აქტივაციას, რაც იწვევს ფოსფატიდილინოზიტოლ 3-კინაზას სასიგნალო გზის ჩართვას, შედეგად ჰიპოქსიით ინდუცირებადი ფაქტორი-1 α (HIF1- α)-ს გენის ტრანსკრიფციას და პლაზმური მემბრანის Na⁺/K⁺ატფ-აზას გააქტივებას. α v β 3 ინტეგრინის თჰ-ს დამაკავშირებელი მეორე უბანი - S2 იკავშირებს როგორც T4-ს ისე T3-ს, თუმცა ამ უკანასკნელს შედარებით სუსტად. თჰ-ის დაკავშირება α v β 3/ S2-თან აქტივებს ERK1/2 სასიგნალო გზას და რთავს PKC, Ras, Raf1 და MEK ცილებს, რაც შედეგად განაპირობებს MAPK-ის ფოსფორილებას, გააქტივებას და ბირთვში ტრანსლოკაციას (Cheng SY, et al; 2010. Lin, H.Y., et al; 2009a. Lin, H.Y., et al; 2009b.). აღნიშნული გზით MAPK-ის გააქტივება იწვევს ბირთვული რეცეპტორების ფოსფორილებას და შესაძლოა მოახდინონ ანგიოგენეზისა და უჯრედების ზრდის ინიცირება (Bergh JJ. et al; 2005. Tang H.Y., et al; 2004). ის, რომ თიროიდულ ჰორმონებს გააჩნიათ ანგიოგენეზური მოქმედება დასტურდება რამდენიმე ლაბორატორიის კვლევის შედეგებით (Davis FB, et al; 2004; Tomanek RJ, Busch TL, 1998; Kuzman JA, et al; 2007). ამასთან, ითვლება რომ თჰ-ის მიერ ანგიოგენეზის ინიცირების მოლეკულურ საფუძველს მისი არაგენომური მოქმედება წარმოადგენს (Davis FB, et al; 2004; Mousa SA, et al; 2005; Mousa SA, et al; 2006).

ცნობილია, რომ α v β 3 ინტეგრინი ექსპრესირდება სიმსივნურ უჯრედებზე და აშუალებს თჰ-ის კიბოს უჯრედების პროლიფერაციის გამომწვევ მოქმედებას. ადამიანისა და ცხოველების კიბოს სხვადასხვა უჯრედულ ხაზებში ნაჩვენები იქნა პროლიფერაციის ინიცირება თიროიდული ჰორმონების ფიზიოლოგიური კონცენტრაციების საპასუხოდ. რაც ხორციელდება თჰ-ის უჯრედის ზედაპირზე არსებულ რეცეპტორთან დაკავშირებითა და ERK 1/2 გზის ჩართვით. უჯრედულ ხაზებს, რომლებზედაც თიროიდულ ჰორმონებს გააჩნიათ პროლიფერაციული ეფექტი მიეკუთვნება მკერდის კიბოს უჯრედები (Tang HY, et al; 2004), გლიომის უჯრედები (Davis FB, et al; 2006) და ფარისებრი ჯირკვლის კიბოს უჯრედები (Lin HY, et al; 2007).

Dietzel და კოლეგების მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ თჰ ცვლიან ნეირონულ აგზნებადობას Na⁺ დენების საშუალებით (Potthoff O, Dietzel ID., 1997. Hoffmann G, Dietzel

ID. 2004). შემდგომში კი გაირკვა, რომ ჰორმონის აღნიშნული მოქმედება არაგენომური მექანიზმისაა და ხორციელდება თჰ-ის $\alpha\beta 3$ რეცეპტორის საშუალებით.

Incerpi და კოლეგებმა დაადგინეს T3-ის არაგენომური მოქმედება Na^+/H^+ ანტიპორტერზე. ამ უკანასკნელის აქტივობა მნიშვნელოვანია კუნთის მიერ უჯრედშიდა pH-ის შენარჩუნებისათვის (ვარჯიშის ან იშემიის პირობებში წარმოქმნილი მჟავების გასაწეიტრალეზად). რაც, სავარაუდოდ, სწორედ T3-ის საშუალებით რეგულირდება (D'Arezzo S, et al; 2004. Incerci S, et al, 1999).

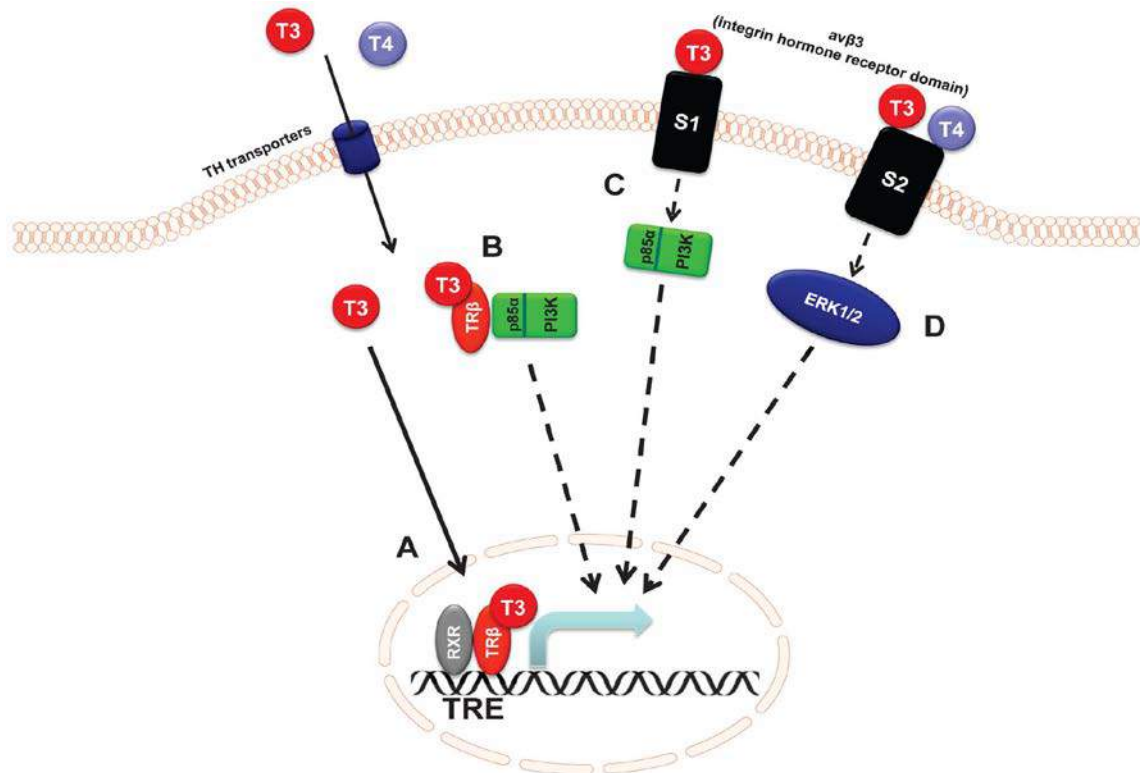
T3-ის არაგენომური მოქმედებით ხდება პლაზმური მემბრანის Na^+/K^+ ატფ-აზას აქტივობის სტიმულირება და ასევე ნატრიუმის ტუმბოს სუბერთეულების პლაზმურ მემბრანაში ჩართვის რეგულაცია (Lei J, et al; 2003. Lei J, et al, 2008; 39. Lei J, et al; 2004). T3-ის მიერ Na^+/K^+ ატფ-აზას აქტივობის კონტროლის მოლეკულური მექანიზმი მოიცავს Src კინაზას, ERK 1/2 -ისა და PI3K-ის გააქტივებას (Lei J, et al, 2008).

ცნობილია, რომ თიროიდული ჰორმონები ზემოქმედებენ კალციუმის უჯრედშიდა ჰომეოსტაზზე და სავარაუდოდ, ეს მოქმედებაც არაგენომური ხასიათისაა. T2 (3,5-დიიოდო-L-თირონინი) და T3 გავლენას ახდენენ უჯრედშიდა კალციუმის დონეზე პლაზმური მემბრანისა და მიტოქონდრიული სასიგნალო გზების ცვლილებით (Del Viscovo, A., et al; 2012).

გარდა ზემოთ ჩამოთვლილისა, თჰ-ს უნარი აქვთ არაგენომური მოქმედების გზით დაარეგულირონ ცილების შიდაუჯრედული ტრანსპორტი, ასევე პროტეინკინაზა C-ს აქტივობა (Davis and Davis, 2002; Davis et al., 2002).

ამგვარად, თჰ შესაძლებელია მოქმედებდნენ $\text{TR}\alpha$ -სა და $\text{TR}\beta$ -ს საშუალებით და იწვევდნენ სხვადასხვა გენების ექსპრესიის ცვლილებას (გენომური მოქმედება) ან დაუკავშირდნენ უჯრედის ზედაპირზე არსებული $\alpha\beta 3$ ინტეგრინის სხვადასხვა სასიგნალო გზების ჩართვით (არაგენომური მოქმედება). გარდა აღნიშნული გზებისა, T3-ს უნარი აქვს დაუკავშირდეს $\text{TR}\beta$ -ს ან $\text{TR}\alpha$ -ს ციტოპლაზმაში (Cao X, et al;2005; Cao X, et al;2009; Hiroi Y, et al;2006). წარმოქმნილი კომპლექსი ურთიერთქმედებს PI3K-თან და იწვევს ამ უკანასკნელის გააქტივებას, რასაც საბოლოო ჯამში შესაძლებელია სხვადასხვა გენის ექსპრესია მოყვეს. შესაბამისად, თჰ-ის ამგვარ მოქმედებას არაკლასიკურად

ინიცირებულ (არაპირდაპირ) გენომურ მოქმედებას მიაწერენ (იხ.სურ.2) (Moeller LC, Broecker-Preuss M. 2011).



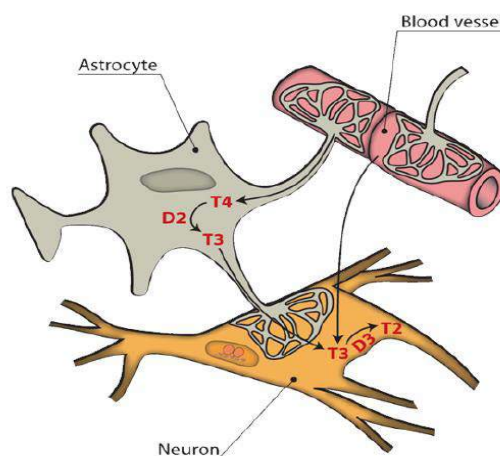
სურ.2 თჰ-ს მიერ გენის ინდუქცია არაკლასიკური გზით (Moeller LC, Broecker-Preuss M. 2011).

თჰ-ის გენომური და არაგენომური მოქმედებები შესაძლებელია ურთიერთკავშირში იყოს ერთმანეთთან. რის მაგალითსაც წარმოადგენს თჰ-ით გამოწვეული მიტოქონდრიების ბიოგენეზი, რომლის დროსაც ერთმანეთს ერწყმის თჰ-ის გენომური, არაგენომური და არაპირდაპირი მოქმედებები (Weitzel JM, Iwen KA.2011).

თავი. 2 თიროიდული ჰორმონების გავლენა თავის ტვინის ფუნქციებზე

თიროიდული ჰორმონების ერთ-ერთ მთავარ სამიზნეს ცენტრალური ნერვული სისტემა წარმოადგენს. თჰ მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ არა მხოლოდ ნერვული სისტემის ფეტური (პრენატალური) და პოსტნატალური განვითარების პროცესში, არამედ ზრდასრული ორგანიზმის ტვინის ფუნქციების შენარჩუნებაშიც (Bernal 2007; WallisK., et al. 2010).

სპეციფიკურ ტრანსპორტულ ცილებს, რომლებიც მიეკუთვნებიან მონოკარბოქსილური ტრანსპორტერებისა (MCT) და ორგანული ანიონ-მატრანსპორტირებელი პოლიპეპტიდების (OATP) ოჯახებს და უმეტესად ექსპრესირებული არიან სისხლძარღვებზე, ასტროციტებსა და ნეირონებზე, აქტიურად გადააქვთ T3 და T4 სისხლიდან თავის ტვინში (Williams, 2008; Bernal, 2011). გარდა ამისა, შესაძლებელია, რომ T4 და T3 უშუალოდ ტრანსპორტირდებოდეს ასტროციტებში ან უჯრედშორის სითხეში, რამდენადაც ცნობილია, რომ ასტროციტების დაბოლოებები, რომლებითაც გარშემორტყმულია ტვინის კაპილარები, მთლიანად ვერ ფარავს კაპილარების ზედაპირს, ტოვებს რა თავისუფალ ადგილებს კაპილარების კედლებზე, რომლებიც უშუალო კონტაქტშია უჯრედშორის სითხესთან (იხ. სურ.3)(Koromilas C, et al.2010).



სურ. 3. თიროიდული ჰორმონების ტრანსპორტი ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში (Koromilas C, et al.2010).

ცნობილია, რომ პერიფერიულ ორგანოებში, როგორებიცაა ღვიძლი და თირკმელები, T3-ის კონცენტრაცია სწრაფად წონასწორდება, თავის ტვინში კი ამისათვის, როგორც ჩანს, უფრო მეტი დროა საჭირო. ჩვეულებრივ, თჰ-ს კონცენტრაცია ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში პლაზმაში თჰ-ს კონცენტრაციის დაახლ. 20 %-ს შეადგენს (Dratman MB, et al. 1991) რაც სავარაუდოდ, განპირობებული უნდა იყოს ჰემატოენცეფალურ ბარიერში თჰ-ის ტრანსპორტის სირთულით. ფიქრობენ, რომ ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში უპირატესად ტრანსპორტირდება T4, რამდენადაც ჰემატოენცეფალური ბარიერის ტრანსპორტერებს უფრო მაღალი აფინობა გააჩნიათ T4-ის მიმართ, T3-თან შედარებით (Heuer H. 2007. Chatonnet F, et al. 2011).

უჯრედ-სპეციფიკური დეიოდინაზები მონოდეიოდირების შედეგად T4-ს გარდაქმნიან T3-ად (St Germain DL et al. 2009). თავის ტვინის უჯრედებში ამ პროცესს ძირითადად დეიოდინაზა 2 ახორციელებს (Bianco AC, Kim BW. 2006; Galton VA., Et al. 2009), რომელიც მხოლოდ გლიური წარმოშობის უჯრედებში - ასტროციტებსა და ტანიციტებში (ეპენდიმალურ უჯრედებში) გვხვდება (Tu HM et al. 1997; Guadano-Ferraz A. Et al., 1999). მეორე დეიოდინაზა, რომელიც ცენტრალურ ნერვულ სისტემაშია ექსპრესირებული არის დეიოდინაზა 3 და იგი მხოლოდ ნეირონებში გვხვდება. დეიოდინაზა 3 ახდენს T4-ის და T3-ის დეიოდირებას, შესაბამისად, rT3 (რევერსული T3) და T2-ად. რის შედეგადაც ამცირებს თჰ-ს ადგილობრივ კონცენტრაციას და იცავს ნეირონებს თჰ-ს ფიზიოლოგიურზე უფრო მაღალი დონისგან. დღეისათვის ითვლება, რომ ასტროციტები აწარმოებენ აქტიურ T3-ს ცირკულირებადი T4-ისაგან, მაშინ როდესაც ნეირონები ახდენენ T3-ის ინაქტივაციას, გარდაქმნიან რა T3-ს rT3 (რევერსული T3) და T2-ად და შესაბამისად არეგულირებენ თჰ-ს ლოკალურ რაოდენობას თავის ტვინში. როდესაც თჰ მცირდება, დეიოდინაზა 2-ის დონე თავის ტვინში იზრდება და პირიქით, თჰ-ს მომატებისას იმატებს დეიოდინაზა 3-ის დონე, რაც იცავს თავის ტვინს ჰიპო- და ჰიპერთირეოზის დამაზიანებელი მოქმედებისაგან (Heuer H. 2007; Guadano-Ferraz A, et al. 1999).

თიროიდული ჰორმონები თავიანთ მოქმედებას ახორციელებენ ბირთვულ რეცეპტორებთან დაკავშირების გზით. ცნობილია, რომ TRα1 წარმოადგენს

ხერხემლიანთა ზრდასრულ ტვინში ექსპრესირებული TR-ის 70-80 %-ს (Schwartz HL, et al. 1992). TR α 1 დომინირებს ასევე თავის ტვინის ადრეული ფეტური განვითარების პერიოდში. ცენტრალური ნერვული სისტემის განვითარებისას თჰ-ს მნიშვნელოვან ეფექტებს სწორედ TR α 1 აშუალებს, მათ შორის თჰ-ით განპირობებულ ოლიგოდენდროციტების დიფერენციაციასაც (Heuer H and Mason CA 2003).

T3-ის მიერ სამიზნე გენების ტრანსკრიფცია TR-ის აქტივაციის გზით ნელი პროცესია, რომლის საბოლოო შედეგიც საათებისა და დღეების შემდეგ მიიღწევა. თუმცა, გამოვლენილი იქნა თავის ტვინზე თჰ-ს მოქმედების სწრაფი ეფექტებიც (Davis et al., 2008). T4-ისა და მისი მეტაბოლიტების სწრაფი ფიზიოლოგიური მოქმედება ნანახი იქნა როგორც *in vitro* ისე *in vivo* კვლევებში. რაც მიუთითებს იმაზე, რომ თჰ ასევე უკავშირდება არაბირთვულ საიტებს და არაგენომური მოქმედების გზით ცვლიან პრენატალური, ნეონატალური და ზრდასრული ნერვული სისტემის განვითარების პროცესებსა და ფუნქციებს (Gilbert ME and Lasley SM 2013). თავის ტვინში თჰ-ის ერთ-ერთ ყველაზე კარგად შესწავლილ არაგენომურ მოქმედებას წარმოადგენს T4-ის მიერ ასტროციტებში აქტინის პოლიმერიზაცია *in vitro*, რომელიც აუცილებელია ნერვული სისტემის განვითარების პროცესისათვის (Farwell AP, et al. 2005).

თჰ-ის დეფიციტმა პრენატალურ და პოსტნატალურ პერიოდში შესაძლებელია გამოიწვიოს შეუქცევადი გონებრივი ჩამორჩენა და ნევროლოგიური დეფიციტი (Delange 2000; Glinoe 2007). მაშინ როდესაც, ზრდასრულებში ჰიპოთირეოზი დაკავშირებულია დასწავლისა და მეხსიერების დარღვევებთან, ასევე დეპრესიასთან (Lass et al. 2008). ნეონატალურ, პოსტნატალურ და ზრდასრულ ვირთაგვებზე ჩატარებული ცდებით გამოვლინდა ჰიპოთირეოზით გამოწვეული ნეირონული ცვლილებები, რომლებიც მოიცავდა თავის ტვინის სტრუქტურისა და ფუნქციების, ხანმოკლე და ხანგრძლივი მეხსიერების, გენების ექსპრესიის, უჯრედული სასიგნალო გზებისა და უჯრედების მიგრაციის ცვლილებებს (Alzoubi KH., et al. 2009; Gilbert ME 2004; Gerges NZ, et al. 2004 ; Gilbert ME, et al. 2012 ; Koromilas C, et al. 2010).

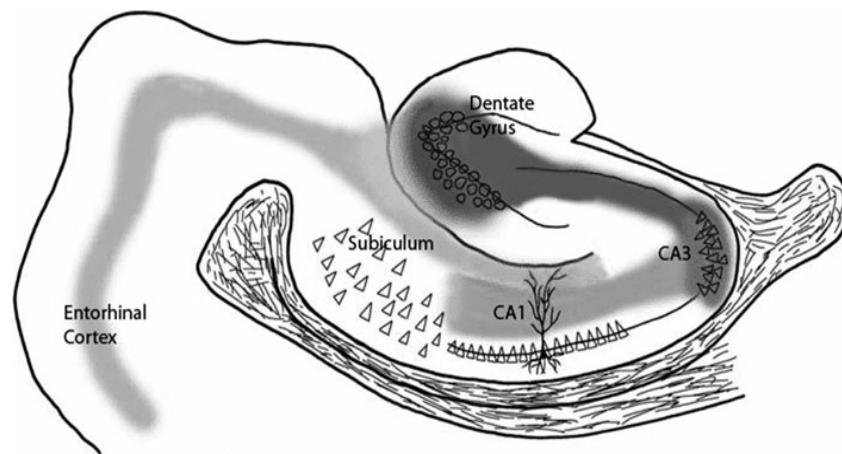
2.1 თიროიდული ჰორმონების დეფიციტი ნაყოფსა და ახალშობილებში

მუცლადყოფნის განვითარების პერიოდში ემბრიონული თიროიდული ჯირკვლების მომწიფებამდე თჰ ნაყოფს დედისგან მიეწოდება (Preau L., et al. 2015). თჰ-ის ტრანსპლაცენტური ტრანსპორტი აუცილებელია ცენტრალური ნერვული სისტემის ნორმალური განვითარებისათვის (de Escobar GM, et al. 2008). Haddow და კოლეგების მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ ორსულობის პერიოდში დედის ჰიპოთირეოზი კორელაციაშია მათი შვილების IQ-ს მონაცემის კლებასთან (Haddow J.E., et al. 1999).

განვითარების პერიოდში თჰ-ის დეფიციტი აფერხებს ნაყოფის ზრდას და საფრთხის ქვეშ აყენებს ახალშობილის სიცოცხლისადმი ადაპტაციას საშვილოსნოს გარეთ (Hillman et al., 2012; Sferruzzi-Perri et al., 2013; Forhead and Fowden, 2014). თჰ-ის მნიშვნელობა განვითარების პერიოდში ფართოდაა აღიარებული, რაც აისახება მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაციის რეკომენდაციებში (Ford and LaFranchi, 2014).

თჰ ჩართულნი არიან სინაპტოგენეზში, უჯრედების მიგრაციაში, უჯრედულ სასიგნალო გზებში, პლასტიურობასა და მიელინიზაციაში (Bernal, 2007). ჰიპოთიროიდულ მოდელებში აღწერილი იქნა თავის ტვინის მცირე ზომა და ქერქისა და ნათხემის არასწორი ციტოარქიტექტურა (Madeira MD. Et al. 1991).

თავის ტვინის ერთ-ერთ ძირითად უბანს, რომელიც ძლიერ მგრძნობიარეა თიროიდული ჰორმონების ნაკლებობის მიმართ ჰიპოკამპი წარმოადგენს (იხ.სურ.4) (Gerges and Alkadhi 2004; Gerges et al. 2004; Zhu et al. 2006).



სურ. 4 ჰიპოკამპი

ჰიპოთირიდიული მდგომარეობის არსებობა განვითარების პერიოდში იწვევს სტრუქტურულ (იხ. ცხრილი 1) და ფუნქციურ ნეირონულ დეფექტებს ჰიპოკამპში (იხ. ცხრილი 2). (Koromilas C, et al. 2010).

ჰიპოკამპის უბანი	ძირითადი სტრუქტურული ცვლილება
CA1	- უჯრედების კვდომა (უჯრედების რაოდენობის შემცირება)
CA3	- აქსონებისა და დენდრიტების ზრდის დარღვევები - უჯრედების რაოდენობაში ცვლილებები არ აღინიშნება
დაკბილულიხვეული	- დარღვევები დენდრიტების განტოტვაში - დარღვევები უჯრედების მიგრაციაში

ცხრილი 1. ჰიპოთირეოზით განპირობებული ძირითადი ჰიპოკამპური სტრუქტურული ცვლილებები (Koromilas C, et al. 2010).

- გენის ექსპრესიის ცვლილებები - ცვლილებები მიელინიზაციაში - მიტოქონდრიის სტრუქტურისა და ფუნქციის ცვლილებები - დარღვევები უჯრედების მიგრაციაში - ნეირონული დიფერენციაციის დარღვევები - ცვლილებები უჯრედულ სასიგნალო გზებში - გარკვეული ტრანსკრიფციული ფაქტორების დონის ცვლილებები - ცვლილებები ადგილობრივ სისხლით მომარაგებაში - ცვლილებები აქსონის ზრდასა და უჯრედული კავშირების წარმოქმნაში - მრავალსაფეხურიანი ცვლილებები ნეიროგადაცემასა და ნეირომოდულაციაში
--

ცხრილი 2. ჰიპოთირეოზით განპირობებული ჰიპოკამპის ძირითადი ფუნქციური ცვლილებები (Koromilas C, et al. 2010).

ადამიანის ორგანიზმში თავის ტვინის განვითარდება არ სრულდება საშვილოსნოში, არამედ გრძელდება დაბადების შემდგომაც. ამიტომ, თუ უკმარისობა ნეონატალურ პერიოდში ასევე განაპირობებს მძიმე ნევროლოგიურ დარღვევებს და

გონებრივ ჩამორჩენას. აღნიშნულ პერიოდში თჰ-ის ნაკლებობა შესაძლებელია განპირობებული იყოს იოდის დეფიციტით ან თიროიდული ჯირკვლების არასრულფასოვანი ფორმირებით (Deladoëy et al., 2007; Nilsson and Fagman, 2013; Szinnai, 2014).

2.2 თიროიდული ჰორმონების დეფიციტი ზრდასრულებში

მაშინ როდესაც განვითარების პროცესში ჰიპოთირეოზი იწვევს მძიმე და შეუქცევად დარღვევებს, ზრდასრულ ორგანიზმში თიროიდული დისფუნქცია კორელირებს ნევროლოგიურ და ქცევით დარღვევებთან (Dugbartey AT. 1998) და უმეტეს შემთხვევებში ჰიპოთირეოზით გამოწვეული დარღვევები იხსნება T4-ით მკურნალობის შედეგად (Joffe RT. 2002). არსებობს მრავალი ლიტერატურული მონაცემი, რომლებიც მიუთითებენ, რომ თიროიდული ჰორმონები კავშირშია ნეიროკოგნიტურ დისფუნქციებთან ადამიანის ორგანიზმში. ჰიპოთირეოზი ზრდასრულ ორგანიზმებში განაპირობებს ხასიათის არასტაბილურობას და დეპრესიას, დემენციას, მეხსიერების გაუარესებას და ფსიქომოტორულ პრობლემებს (Smith JW, et al. 2002).

ზრდასრულ ორგანიზმში ჰიპოთირეოზით გამოწვეული დარღვევები მიუთითებენ იმაზე, რომ თიროიდული სტატუსის ცვლილება აღძრავს ცვლილებებს თავის ტვინის იმ უბნებში, რომლებიც პასუხისმგებელი არიან კოგნიტურ ფუნქციებზე. ცნობილია, რომ ჰიპოკამპი წარმოადგენს თავის ტვინის მნიშვნელოვან უბანს, რომელიც მონაწილეობს დასწავლის, მეხსიერების და ხასიათის განსაზღვრის პროცესებში, გარდა ამისა ჰიპოკამპში დიდი რაოდენობით არის წარმოდგენილი თიროიდული ჰორმონების რეცეპტორები, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ სწორედ ჰიპოკამპი წარმოადგენს თიროიდული ჰორმონების მნიშვნელოვან სამიზნეს თავის ტვინში (Lee et al. 2003; de Jong FJ 2006; Desouza LA, et al. 2005).

ზრდასრულის ჰიპოკამპში ჰიპოთირეოზი განაპირობებს სინაპსური გადაცემისა და პლასტიურობის ცვლილებას (Gilbert 2004). სამეცნიერო მონაცემები მიუთითებენ, რომ TR α ურთიერთქმედებს გენებთან, რომლებიც აშუალებენ სინაპსურ პლასტიურობას და შესაბამისად, თჰ-ს შემცირებამ ან TR α -ს ნაკლებობამ შესაძლებელია გამოიწვიოს ისეთი

ცილების ექსპრესიის შემცირება ზრდასრულ ჰიპოკამპში, რომლებიც აუცილებელია სინაპსური პლასტიურობისათვის (Desouza LA, et al. 2005; Vallortigara J, et al. 2009; Zhu DF, et al. 2011). ანატომიურ დონეზე კი ნანახია, რომ ზრდასრული ჰიპოთიროიდული ვირთაგვების ჰიპოკამპში ადგილი აქვს დენტრიტული მორჩების სიხშირის ცვლილებას (Sala-Roca et al. 2008).

ცნობილია, რომ თჰ მონაწილეობენ თავის ტვინში გლუკოზას მეტაბოლიზმის რეგულაციაში (Jahagirdar V and McNay EC. 2012). კლინიკური მონაცემებით ნაჩვენებია, რომ ჰიპოთირეოზის დროს ნეირონული აქტივობა და გლუკოზას მეტაბოლიზმი თავის ტვინში შემცირებულია (Bauer et al. 2009). თჰ-ის მიერ გლუკოზას მეტაბოლიზმის რეგულაცია შესაძლოა რამდენიმე მექანიზმით ხორციელდებოდეს, მათ შორის სიმპათიკური ნერვული სისტემის გააქტივებით, გლუკოზას ტრანსპორტის ცვლილებით და გლუკოკორტიკოიდების სასიგნალო გზებთან ურთიერთქმედებით (Jahagirdar V and McNay EC. 2012). ცნობილია, რომ ჰიპოთიროიდული ვირთაგვების ჰიპოკამპში Na^+/K^+ ატფ-აზას (რომლის ფუნქციონირებაზეც იხარჯება გლიკოლიზური ატფ-ის ძირითადი ნაწილი) აქტივობა დაახლ. 45% არის შემცირებული, რაც მიუთითებს თჰ-ის შესაძლო როლზე ჰიპოკამპის მიერ გლუკოზას მოხმარებაში (Wyse et al. 2004; Carageorgiou et al. 2007). კვლევის შედეგები ასევე მიუთითებენ, რომ ჰიპოთირეოზის დროს იონური გრადიენტი შესაძლებელია დარღვეული იყოს თავის ტვინის გაზრდილი აქტივობის პერიოდში (მაგ. მეხსიერების ფორმირების გააქტივების დროს), რაც შესაძლოა წარმოადგენდეს დამაკავშირებელ რგოლს ჰიპომეტაბოლიზმსა და მეხსიერების გაუარესებას შორის შეცვლილი თიროიდული სტატუსის პირობებში (Carageorgiou et al. 2007).

მიუხედავად იმისა, რომ თიროიდული დისბალანსი ზრდასრულ ორგანიზმებში ძალიან ხშირია, მექანიზმები, რომლებიც საფუძვლად უდევს ჰიპოთირეოზით გამოწვეული დარღვევებს ნაკლებად შესწავლილია (Remaud S, et al. 2014).

თავი 3. თიროიდული ჰორმონები და მიტოქონდრია

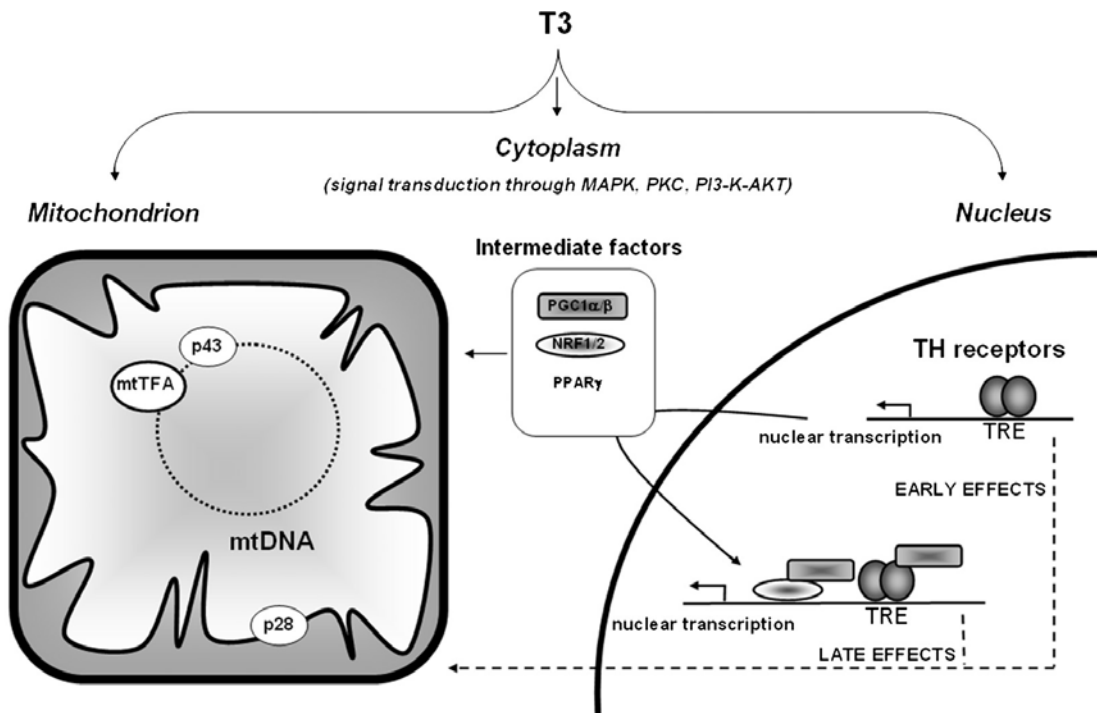
თიროიდული ჰორმონების სტატუსი ძლიერ გავლენას ახდენს მიტოქონდრიაზე (Harper ME, Seifert EL. 2008). ცნობილია, რომ თიროიდული ჰორმონები, განსაკუთრებით ტრიოდთირონინი და დიოდთირონინი, მნიშვნელოვნად ზემოქმედებენ მიტოქონდრიულ ენერგეტიკაზე და მიტოქონდრიის გენომზე (Cheng SY, et al; 2010) თუმცა, თიროიდული ჰორმონების მიტოქონდრიაზე მოქმედების კომპლექსური მექანიზმი ჯერ კიდევ აქტიური კვლევის საგანს წარმოადგენს (Schmidt, O., et al; 2010).

თიროიდული ჰორმონების მიერ მიტოქონდრიული აქტივობის ცვლილება შესაძლებელია პირდაპირი და არაპირდაპირი მოქმედებით განხორციელდეს. პირდაპირი გზა საჭიროებს თ3-ის დამაკავშირებელ სპეციფიკურ საიტებს მიტოქონდრიაში, ხოლო არაპირდაპირი გზა არ მოითხოვს მსგავსი საიტების არსებობას და შესაძლებელია გაშუალებული იყოს უჯრედის სხვადასხვა ნაწილში ინიცირებული სასიგნალო გზებით (Cioffi F, et al; 2013).

პირველად T3-ის დამაკავშირებელი უბნები მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე გამოავლინეს Sterling და Milch-მა 1975 წელს (Sterling, K., Milch, P.O., 1975). რის შემდეგაც ივარაუდეს, რომ მიტოქონდრიაში არსებული T3-ის დამაკავშირებელი უბნები შესაძლებელია მნიშვნელოვან ფიზიოლოგიურ როლს თამაშობდეს მიტოქონდრიის ტრანსკრიფციული აპარატის რეგულაციაში, რაც ბირთვულ გენომთან სინქრონულად მოქმედების შედეგად მიტოქონდრიული ბიოგენეზის კონტროლს განაპირობებს. მართლაც, ადრეული კვლევებით ნანახი იქნა, რომ T3 არეგულირებდა მიტოქონდრიაში და მიტოქონდრიული ნუკლეინის მჟავას რაოდენობას (Mutvei et al., 1989). გარდა ამისა, იზოლირებულ მიტოქონდრიაში ნაჩვენები იქნა T3-ის პირდაპირი მოქმედება მიტოქონდრიულ რნმ-პოლიმერაზაზე (Martino et al. 1986)., Wrutniak და კოლეგებმა კი ვირთაგვის ღვიძლის მიტოქონდრიულ ექსტრაქტში მოახდინეს T3-ის დამაკავშირებელი ორი ცილის იდენტიფიცირება: ერთი მათგანი (მოლეკულური მასით

43 kDa) მდებარეობდა მიტოქონდრიის მატრიქსში, ხოლო მეორე (მოლეულური მასით 28 kDa) მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე (Wrutniak et al. 1995). როგორც ცნობილია, ეს უკანასკნელები წარმოადგენენ TR α 1 და TR β 1-ის ჩამოჭრილ ფორმებს, რომელთაც უნარი აქვთ წარმოქმნან ჰეტეროდიმერები სხვა მიტოქონდრიულ ტრანსკრიფციის ფაქტორებთან (მაგ. რეტინოიდული X რეცეპტორი) და სპეციფიკურად დაუკავშირდნენ TRE პრომოტორულ უბანს მიტოქონდრიული გენომის D-მარყუჟში (მაგ. ციტოქრომ c ოქსიდაზას პრომოტერს)(Wrutniak C, et al; 1998. Sterling K, et al; 1984. Wrutniak-Cabello C, et al; 2001. Marin-Garcia J. 2010. Casas F, et al; 1999. Sheehan TE, et al ; 2004). რის შედეგადაც ასტიმულირებენ მიტოქონდრიული გენომის ტრანსკრიფციას, რაც უნდა წარმოადგენდეს მექანიზმს, რისი საშუალებითაც თიროიდულ ჰორმონებს შეუძლიათ პირდაპირი გავლენა მოახდინონ მიტოქონდრიების რეპლიკაციაზე (Cheng et al; 2010).

არსებული სამეცნიერო მონაცემებიდან გამომდინარე, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ თიროიდული ჰორმონები მიტოქონდრიებზე სულ მცირე სამი განსხვავებული, მაგრამ ურთიერთდაკავშირებული მექანიზმით მოქმედებენ. პირველი, როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, გულისხმობს თ3-ის მიერ მიტოქონდრიული ტრანსკრიფციის ცვლილებას უშუალოდ თ3-ის მიტოქონდრიულ რეცეპტორებთან დაკავშირების შედეგად. მეორე გულისხმობს თ3-ის დაკავშირებას ბირთვულ თ3-ის რეცეპტორთან და ბირთვული გენების ექსპრესიის ცვლილებას, მესამე კი - მედიატორების (როგორებიცაა ტრანსკრიფციის ფაქტორი NRF-1, NRF-2 და PPARc) და კოაქტივატორების (PGC-1 α და PGC-1 β) სინთეზს, მათ შესვლას ბირთვში და თ3-ის სამიზნე გენების რეგულაციას. გარდა ამისა, თ3-მა შესაძლებელია დამატებითი გავლენა მოახდინოს აღნიშნულ მექანიზმებზე სხვა არაგენომური მოქმედებებით, როგორიცაა პოსტტრანსლაციური მოდიფიკაციები, ან თ3-ის უშუალო დაკავშირება ზოგიერთ უჯრედულ სამიზნეზე (იხ. სურ. 5) (Cioffi F et al; 2013).



სურ. 5. მიტოქონდრიული ფუნქციების რეგულაცია თიროიდულ ჰორმონებზე დამოკიდებული ბირთვულ-მიტოქონდრიული მექანიზმების ურთიერთკავშირით (Cioffi F et al; 2013).

3.1 თიროიდული ჰორმონები და მიტოქონდრიის ენერგეტიკა

თიროიდული ჰორმონები წარმოადგენენ მეტაბოლიზმის სიჩქარის მთავარ ენდოკრინულ რეგულატორებს და მათი ჰიპერმეტაბოლური გავლენა ფართოდაა აღიარებული. ცნობილია, რომ ჰიპერთირეოზის სიმპტომია მეტაბოლური დონის ზრდა. თიროიდექტომიის შედეგს კი წარმოადგენს ბაზალური მეტაბოლიზმის დონის 40%-მდე შემცირება. არსებობს პირდაპირი კავშირი ცირკულირებადი თიროიდული ჰორმონის დონესა და მეტაბოლიზმის სიჩქარეს შორის (Harper ME, Seifert EL. 2008) თჰ-ის მაღალი დონე ზრდის ჟანგბადის მოხმარებასა და სითბოს წარმოქმნას, რაც განაპირობებს სხეულის მასის კლებას ენერგიის ჭარბად მიღების მიუხედავად, მაშინ როდესაც, თჰ-ის დაბალი დონე ასოცირებულია ენერგიის ხარჯვის შემცირებასთან და წონის მატებასთან (Tata JR, Ernster L, Lindberg O. 1962. Tata JR, et al; 1963. Krotkiewski M. 2002. Tata JR. 2013). მიუხედავად, იმისა, რომ აღნიშნული ფენომენი ჯერ კიდევ მე-19 საუკუნეში გახდა ცნობილი (Magnus-Levy, A., 1895) და მე-20 საუკუნეში მრავალი კვლევა ჩატარდა თჰ-ის

მიტოქონდრიული სამიზნეების გამოსავლენად, თიროიდული ჰორმონების ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმზე მოქმედების ზუსტი მექანიზმი ჯერ კიდევ არ არის ბოლომდე შესწავლილი (Harper ME. Et al; 2008. Harper ME, Seifert EL. 2008).

ცნობილია, რომ უჯრედში ენერგეტიკული წყაროების დაჟანგვა შეუღლებულია მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე ატფ-სინთაზას აქტივობასთან. საწვავი ნივთიერებების დაჟანგვა განაპირობებს მიტოქონდრიული ელექტრონების გადამტანი ჯაჭვის აქტივობას, რომელიც თავის მხრივ ქმნის პროტონმამოძრავებელ ძალას, ხოლო ეს უკანასკნელი უზრუნველყოფს ატფ-სინთაზას აქტივობას და შესაბამისად ატფ-ის წარმოქმნას. საწვავი ნივთიერებების დაჟანგვის შეუღლება ატფ-ის სინთეზთან ცვალებადია. შეუღლების გათიშვა უშუალოდ ზემოქმედებს ატფ-ის სახით შენახული და სითბოს სახით დაკარგული ენერგიების თანაფარდობაზე. ენერგეტიკული თვალსაზრისით არაშეუღლებული ჟანგვითი ფოსფორილების ერთადერთი გამოსავალი არის სითბო. სხვადასხვა კვლევებით ნაჩვენებია იქნა, რომ ჟანგვითი ფოსფორილების შეუღლების ეფექტურობა კორელაციაშია ბევრ ისეთ ფაქტორთან, რომლებიც გავლენას ახდენენ ბაზალური მეტაბოლიზმის სიჩქარეზე (BrandMD, 2005). ერთ-ერთი ასეთი ფაქტორია თიროიდული ჰორმონების სტატუსი.

რუხ ცხიმოვან ქსოვილში მიტოქონდრიული შეუღლების გამთიშავი ცილის (UCP1)-ის აღმოჩენის შემდეგ აქტიური კვლევები დაიწყო UCP-ოჯახის ცილების შესაძლო როლის გამოსავლენად, რომლებსაც ისინი უნდა ასრულებდნენ თჰ-ის თერმოგენული ეფექტის გამოვლენაში. აღმოჩნდა, რომ UCP-ს მაკოდირებელ გენებს გააჩნიათ TREs თავიანთ პრომოტორში და მათი ექსპრესიის დონე იზრდება თჰ-ით მკურნალობისას, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ სავარაუდოდ, სწორედ ისინი აშუალებენ თჰ-ით გამოწვეულ თერმოგენეზს (Barbe P. et al. 2001).

სხვადასხვა კვლევის შედეგები მიუთითებენ, რომ UCP-ის მიერ მიტოქონდრიული შეუღლების გათიშვა განპირობებული უნდა იყოს ან UCP-დაკავშირებული ანიონური კარბოქსილმჟავების მიერ (მაგ. თავისუფალი ცხ. მჟავები) წყალბადის პროტონების გადატანით პროტონული გრადიენტის მიმართულებით ან პროტონირებული კარბოქსილმჟავების ტრანპორტირებით მატრიქსში, რასაც თან უნდა სდევდეს UCP-ის

მიერ კატალიზებული კარბოქსილმჟავების ანიონების გადატანა საპირისპირო მიმართულებით (Azzu V, Brand MD. 2010. Robinson AJ. et al; 2008).

UCP-მოქმედების მექანიზმების კვლევებისადმი ყურადღების განახლება გამოიწვია იმის აღმოჩენამ, რომ შეუღლების გამთიშავი ცილები წარმოდგენილი არიან არა მხოლოდ რუხ ცხიმოვან ქსოვილში, არამედ ქსოვილებისა და უჯრედების უმეტესობაში. ამასთანავე დადგინდა ისიც, რომ მათი ექსპრესია იზრდება თჰ-ის მიერ (Lanni, A., et al; 1997. Lanni, A., et al; 1999. de Lange, P., et al; 2001).

დღეისათვის, ძუძუმწოვრებში იდენტიფიცირებულია შეუღლების გამთიშავი ხუთი ტიპის ცილა. UCP1 (თერმოგენინი) გვხვდება მხოლოდ რუხი ცხიმოვანი ქსოვილის შიდა მიტოქონდრიულ მემბრანაზე და მისი მთავარი ფუნქცია არის ადაპტურ თერმოგენეზში მონაწილეობა, რაც თჰ-ით სტიმულირდება (Brand MD, et al; 2004. Trumpower BL. 1990. Zaninovich AA. 2005). UCP2 და UCP3-ის ამინომჟავური თანმიმდევრობის 60%, როგორც აღმოჩნდა, UCP1-ის ჰომოლოგიურია. მათი კონცენტრაცია კი UCP1-თან შედარებით გაცილებით დაბალია. UCP2 ადამიანის თითქმის ყველა ქსოვილში გვხვდება და რეგულატორულ როლს თამაშობს ინსულინის გამოთავისუფლებაში, იმუნურ ფუნქციებსა და ნეიროპროტექციაში. UCP3 ექსპრესირებულია ჩონჩხის კუნთებში (Wolkow CA, Iser WB. 2006. Pecqueur C, et al. 2001). თავგებში UCP3-ის ჭარბი ექსპრესია იწვევს სხეულის მასის შემცირებას საკვების მიღების ზრდის მიუხედავად (Clapham JC, et al; 2000. Costford SR, et al; 2008). UCP2 და UCP3-ის სხვა ფუნქციებს მიეკუთვნება ადაპტური თერმოგენეზის კონტროლი, ოქსიდაციური სტრესისგან დაცვა, უჯრედის ენერგეტიკული ბალანსის კონტროლი, ცხიმოვანი მჟავების დაჟანგვისა და ატფ-ის სინთეზის რეგულაცია (Douette P, Sluse FE. 2006. Boss O, et al; 2000). UCP4 და UCP5 წარმოდგენილია ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში. ვარაუდობენ, რომ ისინი იცავენ ნეირონებს Ca^{2+} ის ჭარბი რაოდენობისა და/ან ოქსიდაციური სტრესისგან (Liu D, et al. 2006. Kwok KH, et al. 2010). გარდა ამისა, UCP4 ცვლის ნეირონულ ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმს, ზრდის გლუკოზას შეთვისებას და გლიკოლიზურ აქტივობას, ასევე არეგულირებს Ca^{2+} -ის ჰომეოსტაზს (Beck V, et al. 2007). ნეირონებს, რომლებშიც ექსპრესირებულია UCP4, გააჩნიათ შედარებით დაბალი $\Delta\psi/m$,

მიტოქონდრიაში აკუმულირებული Ca^{2+} -ის შემცირებული დონე და წარმოქმნიან ROS-ის ნაკლებ ოდენობას (Liu D, et al. 2006). UCP5-ს UCP4-ის მსგავსი თვისებები გააჩნია, თუმცა განსხვავდება მისგან იმით, რომ აძლიერებს მიტოქონდრიის ფუნქციებს. კერძოდ, UCP5-ის ჭარბი ექსპრესია იწარჩუნებს ატფ-ის დონეს, ჟანგვით ფოსფორილებას და თრგუნავს ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნას MPP+ ის ტოქსიკური მოქმედების პირობებში (Kwok KH, et al. 2010).

როგორც ჩანს, თიროიდული ჰორმონების ჰიპერმეტაბოლური ეფექტები ნაწილობრივ განპირობებულია ატფ-ზე გაზრდილი მოთხოვნოვნებით, რაც ნაწილობრივ გამოწვეულია შეუღლების გათიშვის ზრდით. მეორეს მხრივ, რამდენადაც თიროიდული ჰორმონები ააქტივებენ ატფ-ის მომხმარების პროცესებს, როგორცაა მაგ. Na^+/K^+ -ატფ-აზა და Ca^{++} -ატფ-აზა, იზრდება მოთხოვნა ატფ-ზე და მაშასადამე, შეუღლებულ ჟანგვით ფოსფორილირებაზე.

3.2 თიროიდული ჰორმონების გავლენა უჯრედის ოქსიდაციურ სტატუსსა და აპოპტოზზე

თჰ აკონტროლებენ უჯრედების დიფერენციაციას, ზრდას და სიკვდილს (Altucci L, Gronemeyer H. 2001. Oppenheimer J, et al; 1996). თჰ-ით ინდუცირებული აპოპტოზი ნაწილობრივ იქნა სხვადასხვა სისტემებში, მაგ. პრომიელოლეიკემურ HL-60 უჯრედებში (Hara M, et al. 2000) დიფერენცირებად ჰემატოპოეზურ უჯრედებში (Grymala K, et al; 2007) და ადამიანის T ლიმფოციტებში (Mihara S, et al. 1999). მექანიზმი, რომლითაც თჰ ასტიმულირებენ აპოპტოზს ბოლომდე გარკვეული არ არის. თუმცა, ნაჩვენებია იქნა, რომ T3-ით დამუშავება ზრდის პროაპოპტოზური Bax და Bak ცილების დონეს, ანტიაპოპტოზური ცილა Bcl-2-ის შემცირებასთან ერთად (Yehuda-Shnaidman E, et al; 2005). თიროიდული ჰორმონების მიერ Bcl-2 ცილების მიტოქონდრიული შემცველობის ცვლილება გამოწვეული უნდა იყოს მათი ტრანსლოკაციით მიტოქონდრიის შიგნით/გარეთ, ვიდრე მათი ექსპრესიის და საერთო უჯრედული შემცველობის ცვლილებით (Deng X, et al; 2001).

მიტოქონდრია წარმოქმნის ROS-ს როგორც ენერგიის მეტაბოლიზმის თანხმლებ პროდუქტს. უჯრედების მიერ მოხმარებული ჟანგბადის დაახლოებით 0.2-2% გარდაიქმნება სუპეროქსიდად და სხვა ჟანგბადის თავისუფალ ფორმებად (Hansford RG, et al; 1997). რამდენადაც თქვენთვის ცნობილია მიტოქონდრიულ ენერგეტიკაზე, გასაკვირი არ არის, რომ ისინი ასევე გავლენას ახდენენ ROS-ის წარმოქმნაზეც. მრავალ ასპექტში ჰიპო- და ჰიპერთირეოზის გავლენა ROS-ის წარმოქმნაზე, როგორც ჩანს, ქსოვილ სპეციფიკურია. საერთო ჯამში კი ჰიპერთირეოზი დაკავშირებულია ROS-ის პროდუქციის ზრდასთან და ჰიპოთირეოზი მის შემცირებასთან. თქვენთვის ცნობილია არამარტო ელექტრონების გადამტანი ჯაჭვის მიერ ROS-ის წარმოქმნას, არამედ გავლენას ახდენენ ROS-ისგან დამცავ მექანიზმებზეც (მაგალითად სუპეროქსიდ დისმუტაზასა და გლუტათიონ პეროქსიდაზას აქტივობაზე)(Harper ME, Seifert EL. 2008).

3.3 თიროიდული ჰორმონები და მიტოქონდრიული ბიოგენეზი

თიროიდული ჰორმონები იწვევენ მიტოქონდრიულ ბიოგენეზს, რაც გამოიხატება მიტოქონდრიების რიცხვის, მიტოქონდრიული მემბრანების, დნმ-ის, ცილების, ფერმენტული აქტივობის და ჟანგვითი ფოსფორილების ზრდაში (Weitzel JM, Iwen KA. 2011. Lee JY, et al. 2012).

მიტოქონდრიული დნმ შეიცავს 37 გენს, მაშინ როდესაც მიტოქონდრიაში დაახლოებით 1200-1500 გენის პროდუქტია ნანახი (DiMauro, S., Schon, E.A., 2003.; Schmidt O., et al; 2010). რამდენადაც მიტოქონდრიული დნმ მიტოქონდრიული ცილების მხოლოდ მცირე ნაწილს აკოდირებს, მიტოქონდრიების ბიოგენეზი თქვენთვის ცნობილია და ბირთვული გენომის კოოპერაციას მოითხოვს (Weitzel JM, Iwen KA. 2011). მართლაც, აღმოჩნდა, რომ თქვენთვის ცნობილია ბირთვული და მიტოქონდრიული დნმ-ით კოდირებული სუნთქვითი ჯაჭვის და ჟანგვითი ფოსფორილების კომპონენტების ექსპრესიას, როგორებიცაა მაგ. ციტოქრომ c ოქსიდაზა, ციტოქრომ c, ANT, F0/F1 სინთაზა (Lee JY, et al. 2012). გარდა ამისა, თქვენთვის ცნობილია ასტიმულირებს ბირთვული დნმ-ით კოდირებული ტრანსკრიფციული ფაქტორების ექსპრესიას, რომლებიც არეგულირებენ

მიტოქონდრიული დნმ-ის რეპლიკაციასა და ტრანსკრიფციას. ასეთ ტრანსკრიფციულ ფაქტორებს მიეკუთვნება PGC-1 α , NRF-1 და მიტოქონდრიული ტრანსკრიფციის ფაქტორი A (Lee JY, 2012. Patrushev MV, Patrusheva VE. 2011). იმავდროულად, თქ აინდუცირებს ცილების (მაგ . ციკლოფილინ D) იმპორტს მიტოქონდრიის მატრიქსში (Yehuda-Shnaidman E, et al; 2005. Craig EE, et al; 1998) მიტოქონდრიული ცილების გადამტანების (მაგ. სითბური შოკის ცილა 70) აღმავალი რეგულაციის გზით (Schneider JJ, Hood DA. 2000). გარდა ამისა, თქ გავლენას ახდენს მიტოქონდრიულ ბიოგენეზზე უშუალოდ, ბირთვისაგან დამოუკიდებლად. მიტოქონდრიული გენების ტრანსკრიფცია, ბირთვული TR-გან დამოუკიდებლად, გამოწვეულია თქ-ის მაღალი აფინობით თქ-ის მიტოქონდრიული რეცეპტორების მიმართ (Davis PJ, et al. 2011. Moreno M, et al; 2008).

3.4 თიროიდული ჰორმონები ცვლიან მიტოქონდრიის შიდა მემბრანის ფიზიკურ მახასიათებლებსა და ლიპიდურ შემადგენლობას

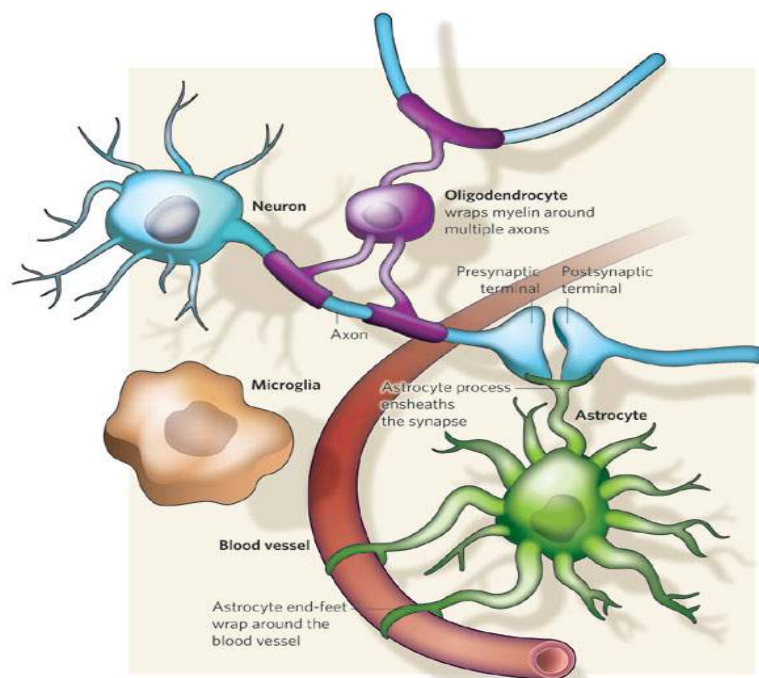
თიროიდული ჰორმონების სტატუსი გავლენას ახდენს მიტოქონდრიის შიდა მემბრანის ფიზიკურ მახასიათებლებსა და ცხიმოვანი მჟავების შემცველობაზე. სავარაუდოდ, ეს ცვლილებები უნდა წარმოადგენდნენ მექანიზმებს, რისი საშუალებითაც თიროიდული ჰორმონები ცვლიან ჟანგვით ფოსფორილირებას (Hulbert AJ. 2000). მექანიზმის (ბირთვული რეცეპტორის გზით ან თიროიდული ჰორმონების პირდაპირი კავშირი მიტოქონდრიულ მემბრანებთან) მიუხედავად, აშკარაა, რომ თიროიდულ სტატუსს გააჩნია ძლიერი გავლენა მემბრანის განვლადობასა და ლიპიდურ შემადგენლობაზე. ჰიპოთიროიდული ღვიძლიდან იზოლირებული მიტოქონდრიული მემბრანები, ისევე როგორც მიტოპლასტები (მიტოქონდრია, რომელსაც შენარჩუნებული აქვს შიდა მემბრანა და არ გააჩნია გარეთა მემბრანა), ხასიათდებიან მემბრანის რიგიდულობის შემცირებით, ხოლო ჰიპერთიროიდული ვირთაგვებისათვის მემბრანის რიგიდულობა გაზრდილია ეუთიროიდულ მიტოპლასტებთან შედარებით (Harper ME, Seifert EL. 2008).

თავი 4. თავის ტვინის ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი

მეტაბოლიზმის თვალსაზრისით ადამიანის თავის ტვინი განსაკუთრებული ორგანოა. ის ორგანიზმის საერთო ენერგიის დაახლ. 20-25% მოიხმარს, მაშინ როდესაც სხეულის წონის მხოლოდ 2%-ს შეადგენს (Belanger et al., 2011; Brooks et al., 2007; Schubert, 2005). ნერვული უჯრედის გადარჩენისა და ნორმალური ფუნქციონირებისათვის ატფ-ის მუდმივი მიწოდება აუცილებელია (Nicholls, D.G., and S.L. Budd. 2000). ცნობილია, რომ ადამიანის თავის ტვინის კორტიკალური ნეირონი სხვადასხვა ბიოლოგიური ფუნქციების განსახორციელებლად წამში დაახლ. ატფ-ის 4,7 მლრდ მოლეკულას მოიხმარს (Zhu, X.-H., et al; 2012).

უკანასკნელი წლების სამეცნიერო მონაცემები მიუთითებენ, რომ თავის ტვინის სხვადასხვა ტიპის უჯრედებს შორის არსებობს რთული ურთიერთკავშირი, რაც არეგულირებს მათ ფუნქციებს და ემყარება თითოეული ტიპის უჯრედის სპეციფიკურ მეტაბოლიზმს. თავის ტვინი შედგება სხვადასხვა ტიპის უჯრედებისაგან, მათ შორის ასტროციტების, ოლიგოდენდროციტებისა და მაღალდიფერენცირებული უჯრედების- ნეირონებისაგან (სურ. 6), რომლებიც ერთმანეთთან მეტაბოლური ინტერმედიატების

საშუალებით ურთიერთობენ (Currais A. 2015).



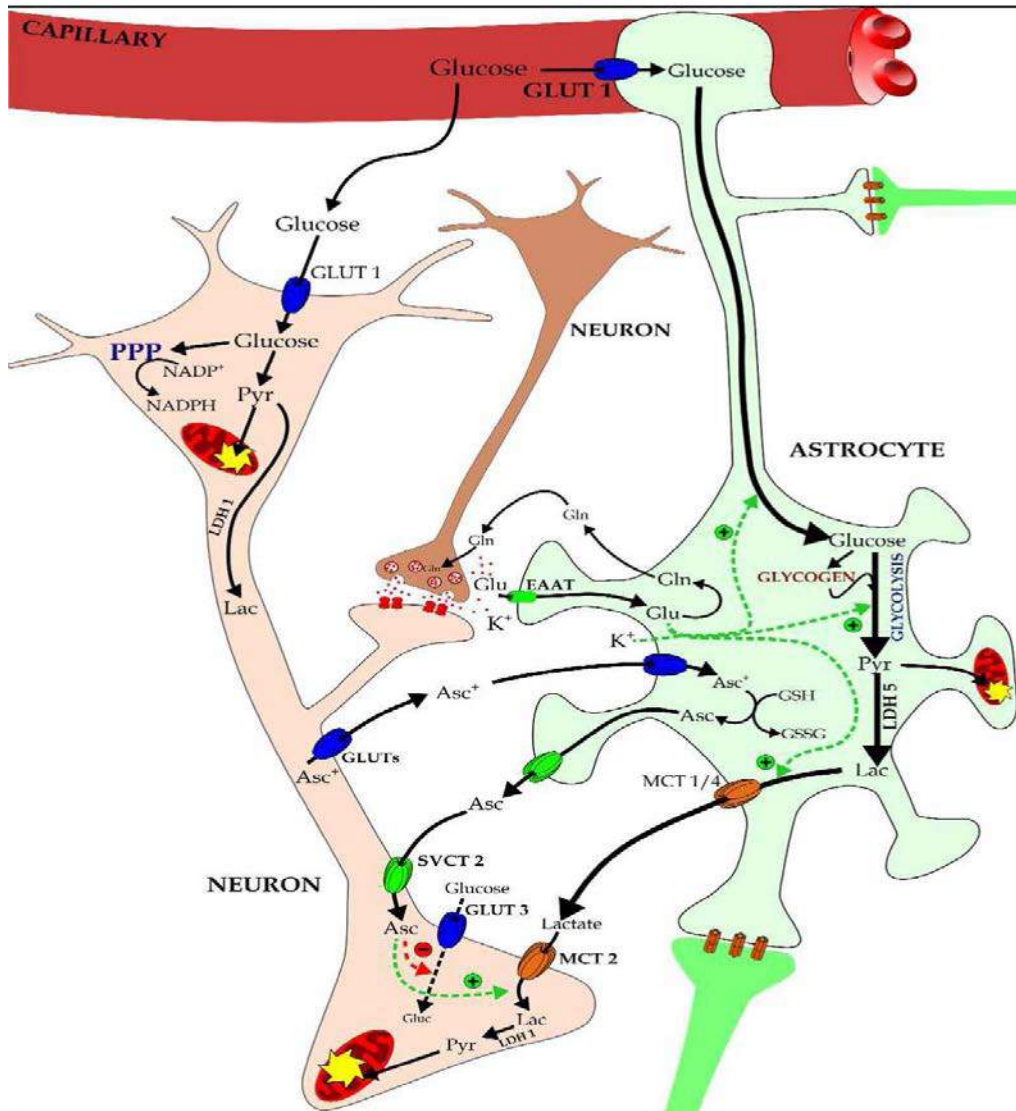
სურ 6: თავის ტვინის უჯრედების ძირითადი ტიპები (Allen N. and Barres B.2009).

ნეირონებს ახასიათებთ შედარებით დაბალი გლიკოლიზური აქტივობა, რაც განპირობებულია იმით, რომ ნეირონებში ფერმენტი 6-ფოსფოფრუქტოზა-2-კინაზა/ფრუქტოზა-2,6-ბიფოსფატაზა-3 (Pfkfb3) ფაქტიურად არ გვხვდება. აღნიშნული ფერმენტი პასუხისმგებელია ფრუქტოზა-2,6-ბიფოსფატის პროდუქციაზე, ეს უკანასკნელი კი წარმოადგენს გლიკოლიზის მარეგულირებელი ფერმენტის ფოსფოფრუქტოკინაზა-1-ის პოტენციურ აქტივატორს (Almeida et al., 2004; Herrero-Mendez et al., 2009). შესაბამისად, გლუკოზას ჭარბი შედინება ნეირონულ უჯრედში იწვევს მისი მეტაბოლიზმის გააქტივებას არა გლიკოლიზის, არამედ პენტოზაფოსფატური გზით (PPP) (Bolanos et al., 2010). PPP უზრუნველყოფს ნერვულ უჯრედებს NADPH-ით. NADPH კი აუცილებელია მიტოქონდრიებით წარმოებული ROS-ის დაგროვების თავიდან აცილებისათვის (Schubert, 2005) და ასევე ნეირონების უჯრედული ანტიოქსიდანტური სტატუსის შენარჩუნებისათვის (მაგ. აღდგენილი გლუტათიონის რეგენერაციისათვის)(Belanger et al., 2011; Rodriguez-Rodriguez et al., 2013).

ნეირონების დიდი ენერგეტიკული მოთხოვნილებებისა და ამავდროულად მკაცრად რეგულირებადი გლიკოლიზის გამო, ნეირონები ენერგიის წარმოსაქმნელად სხვადასხვა სუბსტრატებს იყენებენ. გარდა იმისა, რომ მათ გააჩნიათ გლუკოზას ტრანსპორტერები (ძირითადად GLUT 3) და იღებენ ატფ-ს გლიკოლიზის გზით, ასევე მოიხმარენ ლაქტატს, კეტონურ სხეულებს, პირუვატს, გლუტამატსა და გლუტამინს(Zielke et al., 2009). დღეისათვის გავრცელებული მოსაზრების თანახმად, ნეირონების მთავარ ენერგიის წყაროს მათ მიერ ლაქტატის შეთვისება და TCA ციკლში დაჟანგვა წარმოადგენს.

ნეირონებისათვის ლაქტატის მთავარ მომწოდებელს წარმოადგენენ ასტროციტები (ასტროციტ-ნეირონული ლაქტატის შათლი) (Pellerin and Magistretti, 2012), რომლებსაც ნეირონებთან შედარებით ჟანგვითი ფოსფორილების დაბალი და გლიკოლიზური მეტაბოლიზმის მაღალი დონე ახასიათებთ (იხ.სურ.7). ასტროციტების ამგვარ მეტაბოლიზმს რამდენიმე ფაქტორი განაპირობებს. კერძოდ, ფერმენტ Pfkfb3-ს ექსპრესიის მაღალი დონე, ციტოზოლიდან მიტოქონდრებში NADH-ის გადამტანი

მალატ-ასპარტატული მაქოს კომპონენტის - ასპარტატ/გლუტამატური გადამტანის დაბალი ექსპრესიის დონე (Berkich et al., 2007; Ramos et al., 2003) და ბოლოს, პირუვატდეჰიდროგენაზას ინაქტივირება ან/და მისი ექსპრესიის დაბალი დონე, რაც განაპირობებს პირუვატის უპირატესად ლაქტატად გარდაქმნას ასტროციტებში (Belanger, M., et al; 2011).

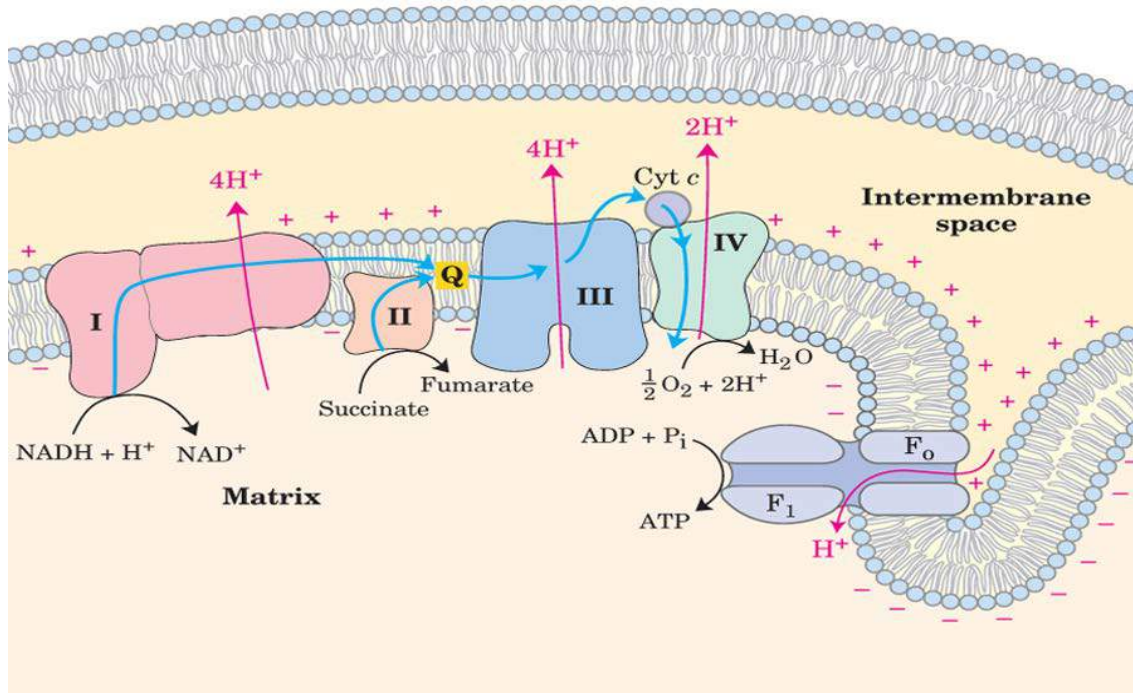


სურ.7 ასტროციტ-ნეირონული მეტაბოლიზმის შეუღლება (Beltrán Felipe A., et al; 2012).

თავის ტვინის უჯრედებიდან ოლიგოდენდროციტების მეტაბოლიზმი დღეისათვის ყველაზე ნაკლებად შესწავლილია. ოლიგოდენდროციტები გარს აკრიან აქსონებს და უზრუნველყოფენ ეფექტურ ნეიროგადაცემას, თუმცა, ასტროციტების

მსგავსად, მათ ასევე აქვთ უნარი გაცვალონ მეტაბოლური ინტერმედიატები ნეირონებთან (Amaral et al., 2013).

დაბალი გლიკოლიზური აქტივობის გამო ნეირონების ენერგიით უზრუნველყოფა უმთავრესად მიტოქონდრიების საშუალებით ხდება (Herrero-Mendez A, et. al 2009). მიტოქონდრიების ძირითად ფუნქციას სწორედ ატფ-ის სინთეზი წარმოადგენს, რაც ელექტრონების გადატანისა და ჟანგვითი ფოსფორილების შეუღლებით ხორციელდება. აღდგენილი კოფაქტორები - NADH და FADH_2 , რომლებიც მიიღებიან ენერგეტიკული სუბსტრატების (ნახშირწყლები, ცხიმები და ცილები) დაჟანგვის შედეგად, ელექტრონებს აწვდიან მიტოქონდრიების შიდა მემბრანაზე არსებულ ელექტრონების გადამტან ჯაჭვს (იხ.სურ.8). ელექტრონების გადამტან ჯაჭვში ელექტრონების გადატანასთან ახლავს წყალბადის პროტონების გადატუმბვა მიტოქონდრიული მატრიქსიდან მემბრანათშორის სივრცეში, რაც განაპირობებს პროტონმომძრავებელი ძალის წარმოქმნას. ამ უკანასკნელის ენერგია კი გამოიყენება ელექტრონების გადამტანი ჯაჭვის მეხუთე კომპლექსის - ატფ-სინთაზას მიერ ადფ-ის ფოსფორილებისათვის (Busiello RA, et al; 2015).



სურ. 8 ელექტრონების გადამტანი ჯაჭვი

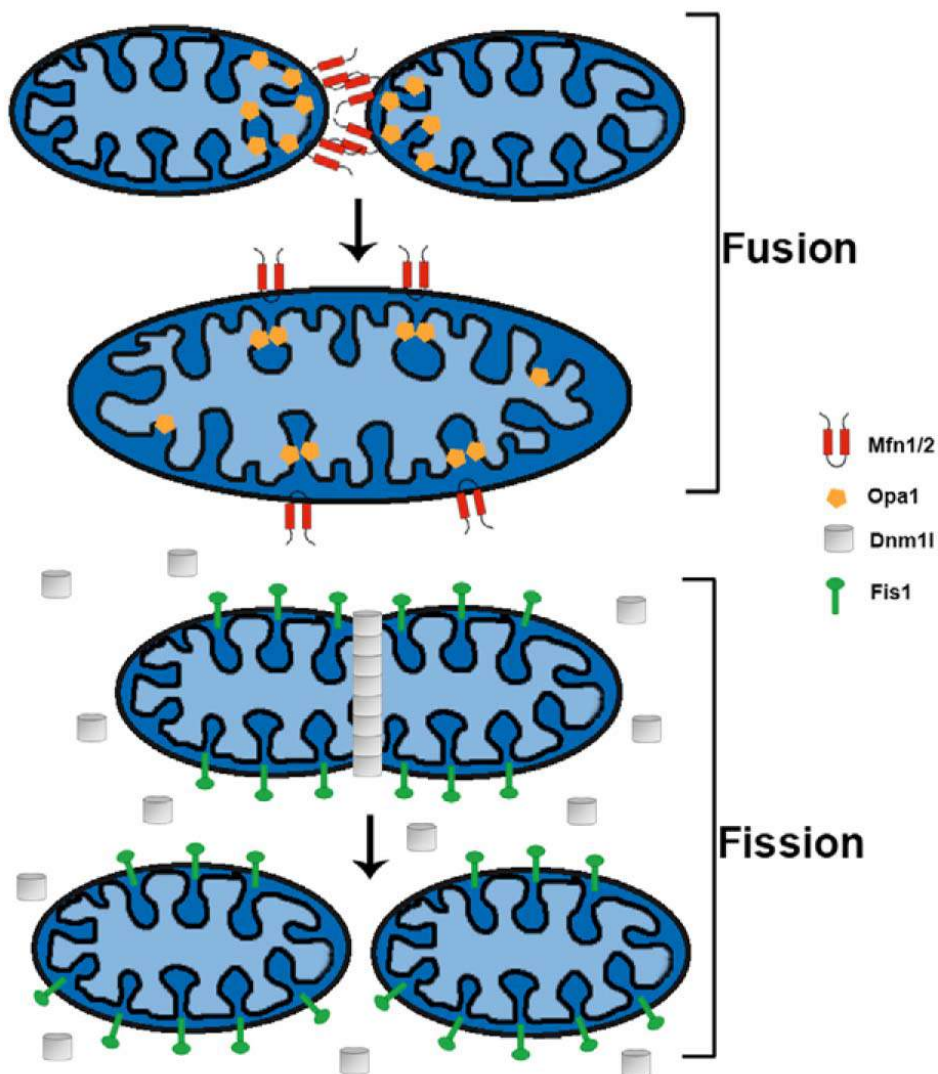
ნერვულ უჯრედებში გლიკოლიზსა და ჟანგით ფოსფორილებას შორის არსებული ნატიფი ბალანსი ცენტრალურ როლს უნდა ასრულებდეს დაბერებასა და ანთებითი პროცესებში, ასევე ნეიროდეგენერაციულ დაავადებებში (Currais A.2015).

რამდენადაც თავის ტვინი წარმოადგენს ენერგიის ყველაზე დიდ მომხმარებელს ადამიანის ორგანიზმში, და ნეირონების განვითარება და ფუნქციონირება ძლიერ არის დამოკიდებული ატფ-ის პროდუქციაზე, ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის უმნიშვნელო დარღვევასაც კი ძლიერი გავლენა აქვს თავის ტვინზე. აქედან გამომდინარე, ვარაუდობენ, რომ მიტოქონდრიული დეფექტები წარმოადგენენ მექანიზმს, რომელიც საფუძვლად უდევს ქრონიკულ ნეირონულ დისფუნქციებს და აღნიშნული ჰიპოთეზის დამადასტურებელი მონაცემები დღითიდღე იზრდება (Khattri N, Man HY 2013).

გარდა იმისა, რომ მიტოქონდრიები უზრუნველყოფენ ნერვულ უჯრედებს ატფ-ით, ისინი ასევე ჩართულნი არიან აპოპტოზისა და ჟანგბადის აქტიური ფორმების (ROS) მეტაბოლიზმის პროცესებში (Chen H, Chan DC. 2009), მონაწილეობენ Ca^{2+} -ის ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში, ნეიროტრანსმიტერების გამოთავისუფლებაში, ნეიროგენეზსა და ნეიროპლასტიურობაში. მიტოქონდრიები უზრუნველყოფენ უჯრედებს TCA (ლიმონმჟავა) ციკლის ინტერმედიატებით, რომლებიც გამოიყენებიან გაემ-ის (გამა-ამინოერბოსმჟავა) და გლუტამატის სინთეზისათვის (Sheng ZH and Cai Q. 2012; Sibson, N.R., et al., 1998).

მიტოქონდრიები, განსაკუთრებით კი ნეირონული უჯრედების მიტოქონდრიები, წარმოადგენენ დინამიურ ორგანოებს, რომლებიც მუდმივად მოძრაობენ, ერწყმიან ერთმანეთს და იყოფიან უჯრედული მოთხოვნილებების საპასუხოდ (Friedman JR. and Nunnari J. 2014, Lackner LL. 2013. Chen, H. and Chan, D.C. 2010). მათი შერწყმასა და გაყოფას შორის არსებული ბალანსით რეგულირდება მიტოქონდრიების ფორმა, ფუნქცია და უჯრედული ჰომეოსტაზი (Liesa, M., et al; 2009). ორივე პროცესი რეგულირდება უჯრედული და მიტოქონდრიული სასიგნალო გზებით და გარკვეულ ცილა-ცილოვან ურთიერთობებზეა დამოკიდებული (იხ.სურ.9). ასე მაგალითად, ოპტიკური ატროფიის ცილა 1 (OPA-1) ლოკალიზებულია მიტოქონდრიის შიგნითა მემბრანაზე და პასუხისმგებელია შიდა მემბრანის შერწყმაზე, მიტოფუზინ 1 (Mfn-1) და

მიტოფუზინ-2 (Mfn-2) ლოკალიზებული არიან მიტოქონდრიის გარეთა მემბრანაზე და მონაწილეობენ გარეთა მემბრანის შერწყმაში. ეს ცილები ახორციელებენ მიტოქონდრიების შერწყმას, ხოლო დინამინთან დაკავშირებული ცილა-1 (Drp-1) ურთიერთქმედებს რა შერწყმასთან დაკავშირებულ ცილა 1-თან (Fis-1) და მიტოქონდრიული გაყოფის ფაქტორთან (MFF) მონაწილეობს მიტოქონდრიების გაყოფაში (Campello S., Scorrano L (2010) ; Corrado M, et al; 2012; Liesa M, et al; 2009).



სურ. 9 მიტოქონდრიების შერწყმა და გაყოფა (Mandemakers W., et al. 2007).

როდესაც მიტოქონრიების გაყოფასა და შერწყმას შორის არსებული ნატიფი ბალანსი ირღვევა, იცვლება მიტოქონდრიების ფუნქციონირება, მეტაბოლიზმი და სასიგნალო გზები, რასთანაც დაკავშირებულია მრავალი პათოლოგიური მდგომარეობა, მათ შორის სიმსივნე, დაბერება, ნეიროდეგენერაცია და მეტაბოლური დარღვევები (Itoh K, et al;2013; Reddy PH, et al; 2012; Cho DH, et al;2010; Ong SB, et al;2013). იმას, რომ ცნს ძლიერ მგრძნობიარეა მიტოქონდრიული ფუნქციების დეფექტების მიმართ, ადასტურებს ნევროლოგიური დარღვევების გრძელი სია, რომელიც გამოწვეულია მტ-დნმ-ის და ძირითადი მიტოქონდრიული ცილების მავნებელი ბირთვული გენების გენეტიკური ცვლილებებით (DiMauro, S. et al. 2013).

მიტოქონდრიული დარღვევების ფართო სპექტრი და ამით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესი წარმოადგენს ისეთი ნეიროდეგენერაციული დაავადებების ძირითად მახასიათებლებს, როგორებიცაა მაგ. ალცჰაიმერის, პარკინსონისა და ჰანტინგტონის დაავადება (Beal, M.F. 1995).

უკანასკნელ წლებში დიდ ინტერესს იწვევს მიტოქონდრიის როლი უჯრედის სიცოცხლიუნარიანობის განსაზღვრაში და გარკვეული პათოლოგიების (მათ შორის გულსისხლძარღვთა დაავადებების, ნეიროდეგენერაციული დაავადებების და ავთვისებიანი სიმსივნეების) განვითარებაში (Cassis et al., 2010; de Cavanagh et al., 2009; Dikalova AE. et al., 2010).

თავის ტვინის ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი წარმოადგენს სამიზნეს, რომელსაც დიდი პოტენციალი გააჩნია ეფექტური თერაპიული მეთოდების შემუშავებისათვის თავის ტვინის დაავადებების მკურნალობისა და ნორმალური კოგნიტური ფუნქციების გასაძლიერებლად. თუ გავითვალისწინებთ თანამედროვე მზარდ სამეცნიერო მონაცემებს ამ მიმართულებით, მიტოქონდრიული რესპირატორული ფუნქციებზე მიმართული მანიპულაციები, როგორც ჩანს, წარმოადგენს მომდევნო ლოგიკურ საფეხურს ნეიროდეგენერაციის წინააღმდეგ ეფექტური თერაპიული საშუალებების შემუშავებისათვის (Gonzalez-Lima F., et al, 2014). მიტოქონდრიები წარმოადგენენ იდეალურ სამიზნეს თერაპიული ზემოქმედებისათვის, რამდენადაც სწორედ ისინი არიან ენერგიის პროდუქციის, ROS-ის გენერაციისა და აპოპტოზის მთავარი

რეგულატორები. მიტოქონდრიაზე მოქმედი სამკურნალო პრეპარატები არიან თერაპიული აგენტები, რომლებსაც შეუძლიათ პირდაპირი გავლენა მოახდინონ მიტოქონდრიების შეცვლილ ბიოენერგეტიკაზე, ოქსიდაციურ სტრესზე, მტ-დნმ-ის მუტირების ხარისხზე, Ca^{2+} -ის დეპონირების დარღვევებზე და მიტოქონდრიებით გაშუალებულ აპოპტოზის პროცესზე (Burchell VS, 2010; Serviddio G, 2011; Camara AK., et al; 2010).

4.1 სინაპსური და არასინაპსური მიტოქონდრიები

ნეირონების ნორმალური ფუნქციონირება ძლიერ არის დამოკიდებული იმ ენერგიაზე, რომელიც მიიღება მიტოქონდრიული სუნთქვის შედეგად. განსაკუთრებული ფუნქციებისა და ბიოენერგეტიკული მოთხოვნილებების გამო, ნეირონებს გააჩნიათ მიტოქონდრიების არათანაბარი უჯრედული განაწილება. მაღალი ენერგეტიკული საჭიროების მქონე უბნები შეიცავენ მიტოქონდრიების უფრო დიდ რაოდენობას უჯრედის სხვა ნაწილთან შედარებით (Shepherd GM and Harris KM. 1998). კერძოდ, ასეთ უბანს წარმოადგენს სინაპსი, სადაც დიდი ენერგია იხარჯება სინაპსური აქტივობის უზრუნველსაყოფად - სინაპსური გადაცემისა და მოქმედების პოტენციალის გენერაციისათვის (Attwell, D., and S.B. Laughlin. 2001; Verstreken, P., 2005), ასევე იონური ჰომეოსტაზისა და ფოსფორილების რეაქციების უზრუნველსაყოფად (Mattson MP. 2008). ნანახია, რომ სინაპსური აქტივობის დროს იზრდება GLUT3-ის ექსპრესია უჯრედის ზედაპირზე, რაც იწვევს გლუკოზას უჯრედშიდა კონცენტრაციის მატებას (FerreiraJM,2011). აღნიშნულ პროცესი მოიცავს nNOS ფოსფორილებას Akt-ს მიერ (MagiS,et al; 2012).

სინაპსური მიტოქონდრიები სინთეზდებიან ნეირონული უჯრედის სომაში და შემდგომ ტრანსპორტირდებიან ნერვულ დაბოლოებებში - აქსონსა და დენდრიტებში. ცნს-ში მიტოქონდრიების სიცოცხლის ხანგრძლივობა დაახლ. 1 თვეა. როდესაც მიტოქონდრიები ბერდება და ვეღარ ფუნქციონირებს საჭირო ხდება მათი მოშორება და ჩანაცვლება ახალი, ჯანმრთელი მიტოქონდრიებით. მიტოქონდრიების მოძრაობა და

განაწილება ასევე იცვლება სხვადასხვა სტრესული პირობების დროს (Miller and Sheetz, 2004; Chang and Reynolds, 2006; Cai et al., 2012). რეტროგრადული და ანტეროგრადული მიმართულებით გადაადგილებისათვის მიტოქონდრიები იყენებენ ცილებს - დინეინსა და კინეზინს, შესაბამისად (Brown MR., et al., 2006). ლიტერატურული მონაცემები მიუთითებენ, რომ მრავალი ექსტრაუჯრედული სიგნალი, მათ შორის ციტოზოლური კალციუმის, გლუკოზის, სინაპსური აქტივობის, ნეიროტრანსმიტერებისა და ზრდის ფაქტორების დონის ცვლილება, არეგულირებს მიტოქონდრიების ტრანსპორტს სინაპსის, დენდრიტული მორჩებისა და აქსონების მიმართულებით (Li Z, et al., 2004; Chada, S.R. and Hollenbeck, P.J. (2003). მიტოქონდრიების ტრანსპორტირების გამო, სინაპსური მიტოქონდრიები შესაძლოა უფრო “დაბერებულები” იყვნენ ვიდრე სომისა და გლიური უჯრედების მიტოქონდრიები და შესაბამისად, შესაძლოა უფრო დაზიანებული იყვნენ ოქსიდაციური სტრესით (Brown MR., et al., 2006).

სინაპსური მიტოქონდრიები განსხვავდებიან არასინაპსური მიტოქონდრიებისაგან ზომით, მობილობით, სიცოცხლის ხანგრძლივობით და სხვა მახასიათებლებით. (Li Z, et al; 2004; Guo X, et al. 2005). პრესინაპსური მიტოქონდრიები ჩვეულებრივ ცალკეული იზოლირებული ფორმით არიან, განსხვავებით მიტოქონდრიული მძივებისა და კლასტერებისა, რომლებიც გვხვდება ნეირონის სხვა უბნებსა და ასტროციტებში. (Muller, M., et al; 2005; Collins, T. J., et al; 2002).

თავის ტვინის ქერქიდან იზოლირებული სინაპსური და არასინაპსური მიტოქონდრიების შედარებისას დადგინდა, რომ ისინი არ განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან ჟანგბადის მოხმარების ხარისხით, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ ელექტრონების ტრანსპორტი ელექტრონების გადამტან ჯაჭვში ნორმაში კარგად არის შეუღლებული ჟანგვით ფოსფორილებასთან ორივე ტიპის მიტოქონდრიებში (Brown MR. Et al; 2006).

პროტეომიკის რაოდენობრივი ანალიზით გამოვლინდა, რომ სინაპსური და არასინაპსური მიტოქონდრიების საერთო ცილებიდან მრავალს მნიშვნელოვნად განსხვავებული ექსპრესია ახასიათებს. მათ შორის იმ ცილებს, რომლებიც მონაწილეობენ ჟანგვით ფოსფორილებაში, მიტოქონდრიების გაყოფასა და შერწყმაში,

კალციუმის ჰომეოსტაზსა და მიტოქონდრიული დნმ-ის რეპლიკაციაში. გარდა ამისა, სინაპსურ მიტოქონდრიებში, არასინაპსურ მიტოქონდრიებთან შედარებით მომატებულია ასაკობრივი (დაბერებასთან დაკავშირებული) დნმ-ის დელეციები და შემცირებულია ბიოენერგეტიკული ფუნქციები (Stauch KL., et al; 2014).

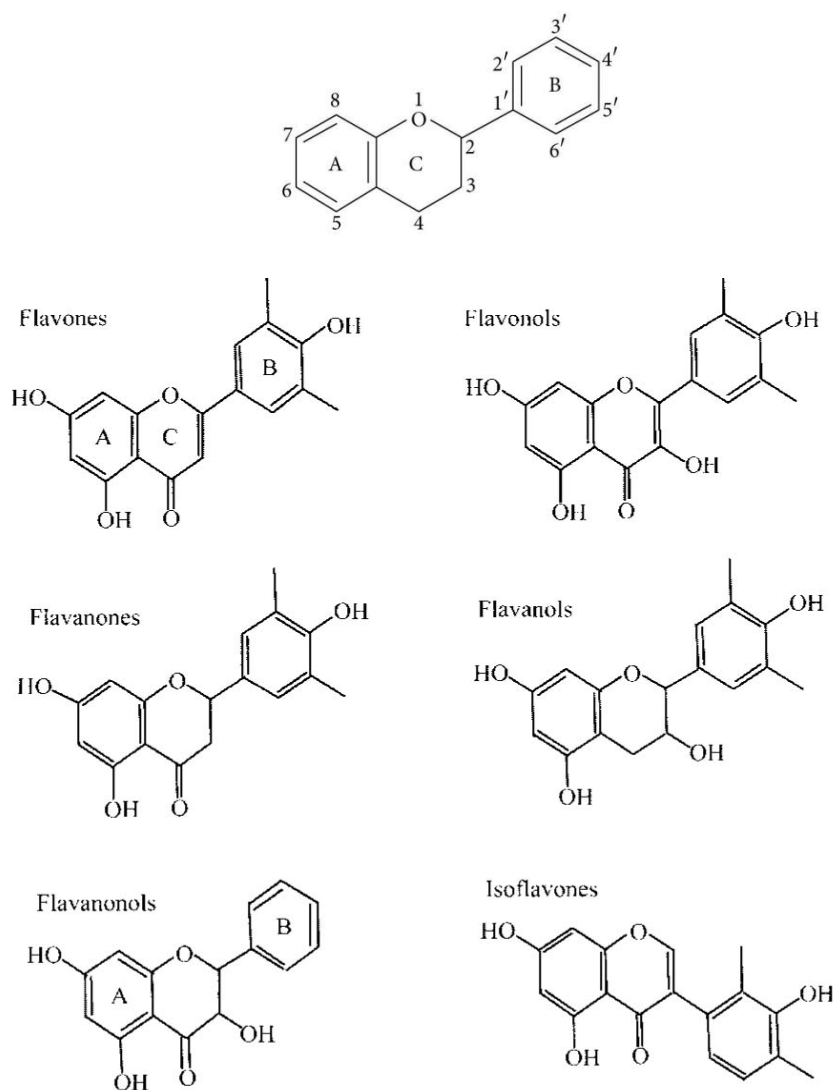
ცნობილია, რომ განვითარებად თავის ტვინში თანდაყოლილი ჰიპოთირეოზი განაპირობებს TCA ციკლისა და უჯრედული სუნთქვის დაქვეითებას მხოლოდ უჯრედულ მიტოქონდრიებში (Martinez et al. 2009) თუმცა, თიროიდული ჰორმონების მოქმედების მექანიზმი ზრდასრული თავის ტვინის მიტოქონდრიების აღნიშნულ სუბპოპულაციებზე ნაკლებად შესწავლილია.

თავი 5. ფლავონოიდები

5.1 ფლავონოიდების ზოგადი დახასიათება

ბუნებრივ წყაროებში შემავალი ბევრი ნაერთი ძლიერ იმედისმომცემია წამლების შემუშავებისათვის (Li JW, Vederas JC. 2009). უახლესმა გამოკვლევებმა აჩვენეს, რომ ზოგიერთი სამკურნალო მცენარის გამოყენება ჰიპოთირეოზის კომბინირებულ თერაპიაში მნიშვნელოვნად ზრდის მის ეფექტურობას (Wu JJ et al., 2012). თიროიდულ სტატუსზე მოქმედ, მცენარეული წარმოშობის აგენტებს შორის განსაკუთრებულ პოტენციალს ფლავონოიდების ჯგუფს მიაწერენ.

ფლავონოიდები წარმოადგენენ მცენარეთა მეტაბოლიტების ჯგუფს, რომელშიც დღეისათვის აღმოჩენილი, 10 000-ზე მეტი ნაერთია გაერთიანებული, თუმცა მათგან მხოლოდ რამდენიმეა დეტალურად შესწავლილი (Pollastri S., Tattini M.: 2011). აღნიშნული ნაერთებს გააჩნიათ საერთო ფენილბენზოპირონის სტრუქტურა (C6-C3-C6) და ცენტრალური პირანის რგოლის ნაჯერობის და გახსნის ხარისხის მიხედვით ძირითადად განასხვავებენ შემდეგ ჯგუფებს: ფლავონები, ფლავონოლები, იზოფლავონები, ფლავონოლები, ფლავონონები და ფლავანონოლები (იხ. სურ. 10) (Middleton E, Jr., Kandaswami C. 1994; Harborne JB, Williams CA. 2005).



სურ.10 ფლავონოიდების ზოგადი სტრუქტურა და მათი კლასიფიკაცია ქიმიური სტრუქტურის მიხედვით (Middleton E, Jr., Kandaswami C. 1994; Harborne JB, Williams CA. 2005).

ფლავონოიდები დიდი რაოდენობით გვხვდება ხილში, ბოსტნეულში, ჩაიში და ღვინოში (Ross JA, Kasum CM; 2002). მცენარეებში მათ რამდენიმე მნიშვნელოვან ფუნქცია გააჩნიათ, როგორიცაა მაგ. დამაზიანებელი ულტრაიისფერი გამოსხივებისაგან დაცვა, მცენარეთა პიგმენტაცია. (Pollastri S.,Tattini M.: 2011). ფლავონოიდების უმეტესობა განაპირობებს ყვავილის, ნაყოფისა და ფოთლების მომხიზვლელ შეფერილობას (de Groot H, Rauen U. 1998).

<i>ფლავონოიდების ქვეკლასი</i>	<i>წარმოდგენილი ფლავონოიდები</i>	<i>ძირითადი საკვები წყაროები</i>
ფლავონოლები	კემფეროლი, მირიცეტინი, კვერცეტინი, რუტინი	ხახვი, ალუბალი, ვაშლი, ბროკოლი, ფოთლოვანი კომბოსტო, პამიდორი, ჩაი, წითელი ღვინო, კენკრა
ფლავონები	აპიგენინი, ქრიზინი, ლუტეოლინი	ობრახუში, ბეგეონდარა
იზოფლავონები	დაიძეინი, გენისტეინი, გლიციტეინი, ფორმონეტინი	სოიო, პარკოსნები
ფლავანოლები	კატეჟინი, გალოკატეჟინი	ვაშლი, ჩაი
ფლავანონები	ერიოდიქტიოლი, ჰესპერიტინი, ნარინჯენინი	ფორთოხალი, გრეიფრუტი
ფლავანონოლები	ტაქსიფოლინი	ლიმონი

ცხრილი 3. ფლავონოიდების ქვეკლასები და მათი საკვები წყაროები (Ren W, et al; 2003)

მეოცე საუკუნის 60-იან წლებამდე ინფორმაცია ფლავონოიდების მოქმედების მექანიზმის შესახებ მწირი იყო. თუმცა, საუკუნეების განმავლობაში ფართოდ იყო აღიარებული, რომ მცენარეული წარმოშობის ნაერთებს გააჩნდათ ბიოლოგიური მოქმედების ფართო სპექტრი (Robak J, Gryglewski RJ. 1996).

1930 წელს ფორთოხლიდან გამოყოფილი იქნა ახალი ნაერთი, რომელიც მიიჩნიეს ვიტამინების ახალი კლასის წარმომადგენლად და უწოდეს ვიტამინი P. როდესაც გაირკვა, რომ აღნიშნული ნაერთი წარმოადგენდა ფლავონოიდს (რუტინს), დაიწყო მრავალი კვლევა სხვადასხვა ფლავონოიდების გამოყოფისა და მათი მოქმედების მექანიზმის შესასწავლად (Robert J Nijveldt, et al; 2001).

ფლავონოიდების კვლევას დამატებითი იმპულსი შესძინა ე.წ. ფრანგული პარადოქსის აღმოჩენამ. ხმელთაშუაზღვისპირა ქვეყნების მოსახლეობებში გამოვლინდა გულ-სისხლძარღვთა დაავადებებით განპირობებული სიკვდილიანობის შედარებით დაბალი მაჩვენებელი წითელი ღვინისა და მაღალნაჯერი ცხიმების ინტენსიური მოხმარების ფონზე. აღნიშნული ეფექტი, ნაწილობრივ მაინც, განპირობებულია წითელ ღვინოში არსებული ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებებით (Formica JV, Regelson W. 1995). ეპიდემიოლოგიური კვლევები მიუთითებენ, რომ საკვების ფლავონოიდებს დამცველობითი როლი გააჩნიათ გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების წინააღმდეგ (de Groot H, Rauen U. 1998). აღნიშნული შედეგის განმაპირობებელი მექანიზმი უცნობი რჩება, თუმცა თანამედროვე მონაცემებით თუ ვიმსჯელებთ, ფლავონოიდების ამგვარი გავლენა შესაძლოა განპირობებული იყოს გულ-სისხლძარღვოვან დაავადებების განვითარების რისკ-ფაქტორებზე ზემოქმედებით. ფლავონოიდები აუმჯობესებენ ენდოთელური უჯრედების ფუნქციურ მდგომარეობას, აინჰიბირებენ დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების დაჟანგვას, ამცირებენ სისხლის წნევას და აუმჯობესებენ დისლიპიდემიას (Mulvihill & Huff, 2010). გარდა ამისა, ნანახი იქნა, რომ ჩაიდან გამოყოფილი ფლავონოიდები აინჰიბირებენ ათეროსკლეროზის განვითარებას ცხოველურ მოდელებში (Hodgson & Croft, 2010).

ფლავონოიდების მოქმედების მნიშვნელოვან მექანიზმს წარმოადგენს ანტიოქსიდანტურ ფერმენტებთან მათი ურთიერთქმედება და თავისუფალი რადიკალებისაგან დაცვა. ვირთაგვის ჰეპატოციტების კულტურაში (BL-9) კვერცეტილებისა და კატეჩინების დამცველობითი მოქმედება წყალბადის ზეჟანგის ტოქსიკურობის წინააღმდეგ დაკავშირებულია მათ მიერ გლუტათიონ პეროქსიდაზას აქტივაციასთან (Nagata et al., 1999). გლუტათიონ პეროქსიდაზასა და გლუტათიონ რედუქტაზას აქტივაცია აღინიშნა ადამიანის ჰეპატოციტებშიც კაკაოს ფლავონოიდების მიერ (Martin et al., 2010). ლუტეონინის მიერ გამოწვეულ ადამიანის ფილტვის კიბოს უჯრედების აპოპტოზს თან ახლავს ანტიოქსიდანტური ფერმენტების, როგორებიცაა, სუპეროქსიდ დისმუტაზასა და კატალაზას გააქტივება (Leung et al., 2006). ფლავონოიდები აინჰიბირებენ ზეჟანგის პროდუქციის განმაპირობებელ ფერმენტებს,

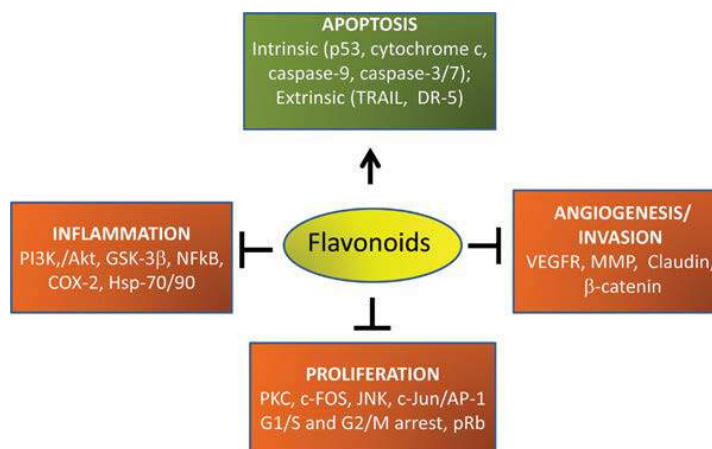
მაგ. ქსანტინოქსიდაზასა და პროტეინკინაზა C-ს. ასევე ციკლოოქსიგენაზას, ლიპოქსიგენაზას, მიკროსომულ სუქცინოქსიდაზას და NADH ოქსიდაზას აქტივობას. ნანახია, რომ ფლავონოიდები მაინჰიბირებელ მოქმედებას ავლენენ აზოტის ოქსიდის ინდუციბელური სინთაზას ექსპრესიაზე. ზოგიერთი ფლავონოიდი, და მათ შორის კვერცეტინი, ამცირებს იშემია-რეპერფუზიით გამოწვეულ დაზიანებას აზოტის ოქსიდის ინდუციბელური სინთაზას აქტივობაზე ზემოქმედების გზით (Prochazkova D, et al., 2011).

ფლავონოიდები წარმოადგენენ ნეიროდეგენერაციული დაავადებების სამკურნალო, ახალი თაობის თერაპიული აგენტების ძირითად კომპონენტებს. ფლავონოიდების რეგულარული მოხმარება დაკავშირებულია ნეიროდეგენერაციული დაავადებების რისკის შემცირებასთან. გარდა ანტიოქსიდანტური თვისებებისა, მოცემული პოლიფენოლური ნაერთები ავლენენ ნეიროპროტექტორულ თვისებებს, ურთიერთქმედებენ რა უჯრედულ სასიგნალო გზებთან და ზემოქმედებენ უჯრედულ ფუნქციებზე როგორც ნორმის, ისე პათოლოგიის პირობებში (Solanki I et al., 2015). ცნობილია, რომ მწვანე ჩაის კატექინებს გააჩნიათ ნეიროპროტექტორული/ნეირორეგენერაციული მოქმედება. რაც ერთი მხრივ განპირობებულია მათი, როგორც მეტალების ანტიოქსიდანტური ქელატორების მოქმედებით, ხოლო მეორეს მხრივ, ისინი ცვლიან ნეირონული სიგნალის უჯრედშიდა გადაცემასა და მეტაბოლიზმს და ასევე მიტოქონდრიულ ფუნქციებს (Mandel SA, et al., 2011).

მას შემდეგ რაც დადგენილი იქნა, რომ ზოგიერთი ფლავონოიდი წარმოადგენს გაემ-ის რეცეპტორების ლიგანდს ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში, წარმოიშვა ჰიპოთეზა, რომ ისინი მოქმედებენ ბენზოდიაზეპინის ტიპის მოლეკულების მსგავსად. აღმოჩნდა, რომ მრავალი ფლავონის ნაწარმი უკავშირდება ბენზოდიაზეპინის დამაკავშირებელ უბანს და იწვევენ დამამშვიდებელ მოქმედებას თაგვებში. ნანახია მათი სედატიური, ტრანკვილიზატორული და ანტიკონვულსატორული მოქმედებაც (Fernandez SP, et al, 2006).

ლაბორატორიული კვლევების, ეპიდემიოლოგიური გამოკვლევებისა და ადამიანებზე ჩატარებული კლინიკური ცდების შედაგად მიღებული მონაცემები მიუთითებენ, რომ ფლავონოიდები მნიშვნელოვან გავლენას ახდენენ კიბოს ქიმიოპრევენციასა და ქიმიოთერაპიაზე. იდენტიფიცირებული იქნა ფლავონოიდების მოქმედების მრავალი მექანიზმი, მათ შორის კარცინოგენების ინაქტივაცია, პროლიფერაციის დათრგუნვა, უჯრედული ციკლის შეჩერება, აპოპტოზისა და დიფერენციაციის გამოწვევა, ანგიოგენეზის ინჰიბირება, ანტიოქსიდანტური მოქმედება და წამლების მულტირეზისტენტობის შეცვლა ან აღნიშნული მექანიზმების კომბინაციები (Ren W, et al., 2003).

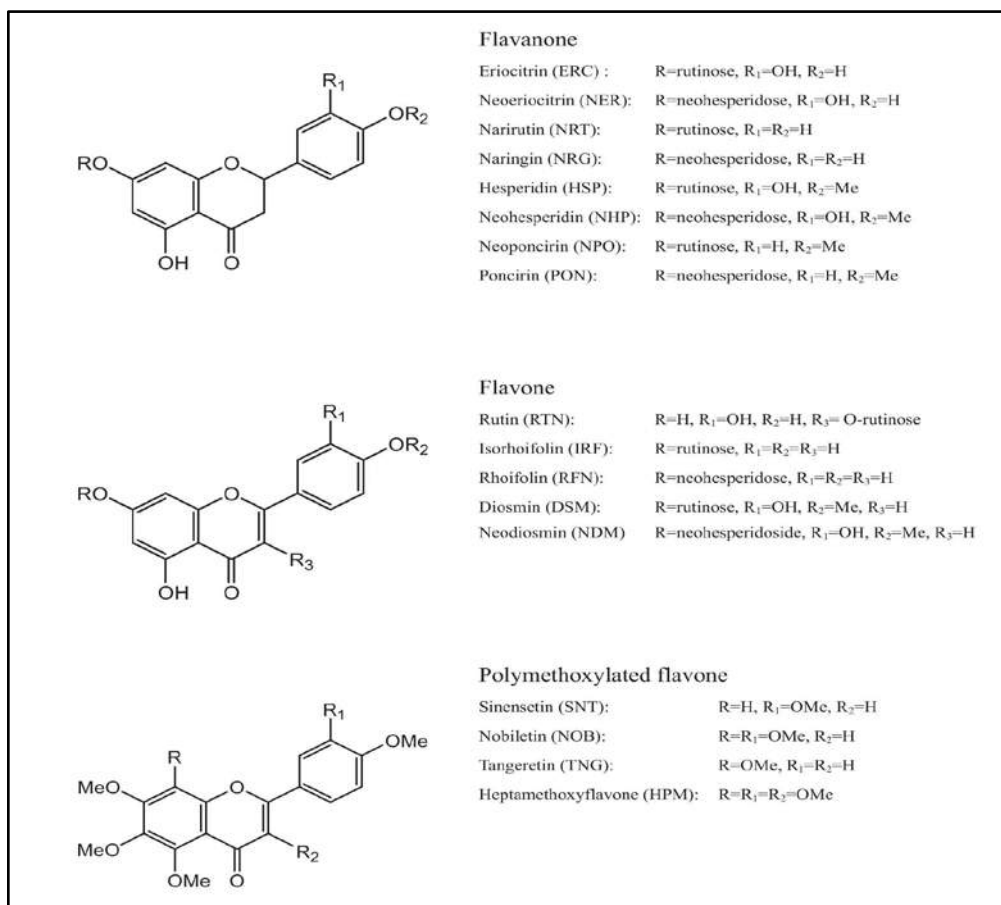
ფლავონოიდების მოლეკულური სამიზნეები მოიცავს მიტოგენ აქტივირებად პროტეინკინაზას (MAPK), პროტეინკინაზა C-ს, ფოსფატიდილინოზიტოლ-3-კინაზას (PI3K)/AKT და β -კატენინის გზას, რომლის აქტივობაც დაკავშირებულია ავთვისებიან ტრანსფორმაციასა და სიმსივნის განვითარებასთან. ფლავონოიდები, იწვევენ რა უჯრედის ციკლის შეჩერებასა და აპოპტოზს, შესაძლებელია მონაწილეობდნენ ანთებითი ბირთვული ფაქტორის κB (NF κB)-სა და სიმსივნის აქტივატორი ცილა-1 (AP-1) –ის გააქტივებაში (Surh YJ. 2003).



სურ.11 ფლავონოიდების მოლეკულური სამიზნეები კიბოს პრევენციაში. AP-1, აქტივატორი ცილა-1; EGCG, ეპიგალოკატეჰინ-3-გალატი; GSK-3 β , გლიკოგენ სინთაზას კინაზა-3 β ; JNK, c-Jun NH(2)-ტერმინალური კინაზა; MMP მატრიქსის მეტალოპროტეინაზა; NF κB , ბირთვული ფაქტორი κB ; PI3K, ფოსფატიდილინოზიტოლ-3-კინაზა; PKC, პროტეინკინაზა C; pRb, ფოსფორილებული რეტინობლასტომა; TRAIL, სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორთან დაკავშირებული აპოპტოზის მაინდუცირებელი ლიგანდი; VEGFR, სისხლძარღვთა ენდოთელური ზრდის ფაქტორის რეცეპტორი (Surh YJ. 2003; Kris-Etherton PM, et al., 2004; Shanmugam MK, et al., 2011; Yang et al., 2009).

ცნობილია, რომ ფლავონოიდები სინთეზდებიან მცენარეების მიერ მიკრობული ინფექციების საპასუხოდ. ამდენად, გასაკვირი არ არის, რომ *in vitro* ისინი აღმოჩნდნენ ეფექტური ანტიმიკრობული ნივთიერებები მიკროორგანიზმთა ფართო სპექტრის წინააღმდეგ (Mishra A et al ., 2013; Mishra A et al; 2011).

უკანასკნელ წლებში ლიტერატურაში დაგროვდა მონაცემები ციტრუსის ფლავონოიდების (იხ.სურ.12) ნეიროპროტექტორული და ანთების საწინააღმდეგო თვისებების შესახებ (Walle et al., 2007; Mazzio et al., 2011) და დღეისათვის აქტიური კვლევები მიმდინარეობს ციტრუსის ფლავონოიდების სხვადასხვა ბიოლოგიური მოქმედებების გამოსავლენად. ციტრუსები შეიცავენ ფლავონოიდების ფართო სპექტრს, რომელთაგანაც ზოგიერთი, მაგ.ჰესპერიდინი, ნარინჯინი და პოლიმეთოქსილებული ფლავონები (PMFs) (მათ შორის ნობილეტინიც), მხოლოდ ციტრუსებისთვისაა დამახასიათებელი, ხოლო სხვები, მაგ. რუტინი და კვერცეტინი გვხვდება სხვა მცენარეებშიც (Nogata Y. et al.,2006).



სურ. 12 ციტრუსის ძირითადი ფლავონოიდები (Nogata Y., et al; 2006).

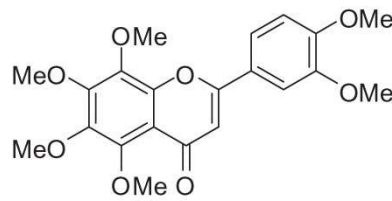
ნანახი იქნა, რომ ციტრუსის ფლავონოიდი ნარინჯინი ამცირებს საერთო ქოლესტეროლისა და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინის ქოლესტეროლის დონეს პლაზმაში (Jung U.J., et al; 2003), ხოლო ჰესპერიდინი და მისი მეტაბოლიტები მნიშვნელოვნად ამცირებენ პლაზმაში საერთო ქოლესტეროლისა და ტრიგლიცერიდების კონცენტრაციას (Kim H.K., et al; 2003). ჰესპერიდინი და დიოსმინი მოქმედებენ როგორც ქიმიოპრევენციული აგენტები აზოქსიმეტანით გამოწვეული მსხვილი ნაწლავის კიბოს წინააღმდეგ (Tanaka T., et al; 1997). ტანჯერეტინს დამთრგუნველი გავლენა გააჩნია ავთვისებიანი სიმსივნის ინვაზიასა და მეტასტაზირებაზე (Bracke M.E., et al; 1994).

უკანასკნელ წლებში აქტიური კვლევები მიმდინარეობს ციტრუსის პოლიმეთოქსილებული ფლავონების იდენტიფიცირებისა და მოქმედების მექანიზმების შესასწავლად. დღეისათვის ციტრუსების სხვადასხვა ქსოვილიდან ოცზე მეტი პოლიმეთოქსილებული ფლავონია გამოყოფილი და იდენტიფიცირებული, ამასთან მათ ყველაზე მდიდარ წყაროს ციტრუსის კანი წარმოადგენს (Shiming L., et al; 2014). მეთოქსილებულ ფლავონებს დიდი უპირატესობა გააჩნიათ არამეთოქსილებულ ფლავონებთან შედარებით მათი ორალური ბიოშელწევადობის გამო. ორალურად ბიოშელწევად მეთოქსიფლავონებს მნიშვნელოვნად დიდი უნარი გააჩნიათ მიაღწიონ სამიზნე ქსოვილს და გამოავლინონ ბიოლოგიური მოქმედება *in vivo* (Walle T. 2007).

5.2 ნობილეტინი

ერთ-ერთი ყველაზე ფართოდ გავრცელებულია ციტრუსის PMF არის ნობილეტინი (NOB) (Li et al., 2006 a; Li, Lo & Ho , 2006 b). მას გააჩნია ექვსი მეთოქსილის ჯგუფი, რომლებიც ჩანაცვლებულია A რგოლის 5,6,7,8- და B რგოლის 3',4'-მდგომარეობებში (იხ.სურ.13) აქედან გამომდინარე ნობილეტინის IUPAC სახელწოდება არის 2-(3,4-დიმეთოქსიფენილ)-5,6,7,8-ტეტრამეთოქსიქრომენ-4-ერთი, ასევე 2-(3,4-

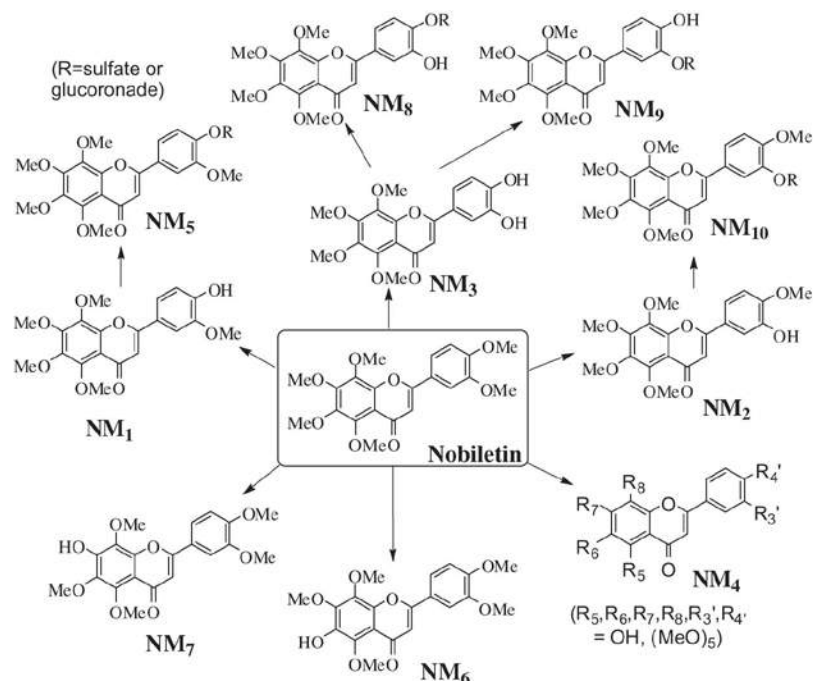
დიმეტოქსიფენილ)-5,6,7,8-ტეტრამეტოქსი-4H-1-ბენზოპირენ-4-ერთი და 5,6,7,8,3'4'-ჰექსამეტოქსიფლავონი (Shiming L., et al; 2014).



სურ.13 ნობილეს ქიმიური სტრუქტურა

ნობილეტინი ვირთაგვებში სწრაფად აბსორბირდება ორალურად მიღების ან კუჭში ზონდით შეყვანის შემთხვევაში და პლაზმაში მაქსიმალურ კონცენტრაციას აღწევს 0.25 და 0.5 საათის შემდეგ (Kumar et al; 2012. Manthey et al;2011).

ნანახი იქნა, რომ ნობილეტინი განიცდის *in vivo* ბიოტრანსფორმაციას და წარმოქმნის მეტაბოლიტებს, რომელთაც სხვადასხვაგვარი ბიოლოგიური აქტივობა და ფარმაკოლოგიური თვისებები გააჩნიათ (Koga N., et al; 2011. Li et al;2007. Lai et al; 2008; Oshitari et al;2011).



სურ.14 ნობილეტინისა და მისი ძირითადი იდენტიფიცირებული მეტაბოლიტების სტრუქტურები (Shiming L., et al; 2014)

არსებობს მრავალრიცხოვანი სამეცნიერო მონაცემები ნობილეტინის ბიოლოგიური მოქმედებების შესახებ. მათ შორისაა ანტიკანცეროგენული, ანთებისაწინააღმდეგო, ნეიროპროტექტორული და სხვ.

ბოლო დროს გამოქვეყნებული კვლევები მიუთითებენ, რომ NOB უნარი აქვს დაარეგულიროს ლიპიდებისა და გლუკოზას მეტაბოლიზმი. NOB ამცირებს სიმსუქნისადმი მიდრეკილებას, დისლიპიდემიას, ჰიპერგლიკემიას და ინსულინისადმი რეზისტენტობას. (Lee Young-Sil .,et al 2013). ნობილეტინის ჩართვა დასავლეთის დიეტაში (Western diet) აძლიერებს β -დაჟანგვას ღვიძლში, რაც ხელს უწყობს ღვიძლის მიერ ტრიაცილგლიცეროლებისა (TG) და ძალიან დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (VLDL) სეკრეციის შემცირებას და აკორექტირებს ინსულინისადმი რეზისტენტობას (Mulvihill E.E & Huff M.W. 2012). ნობილეტინი ამცირებს ცირკულირებადი ძალიან დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (VLDL) და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (LDL) კონცენტრაციას სისხლში და უშუალოდ აინჰიბირებს მაკროფაგებისაგან ქაფიანი უჯრედების წარმოქმნას სისხლძარღვის კედლის დაზიანების უბანში (Whitman S.C ., et al; 2005). NOB თრგუნავს ადიპოგენეზს და აძლიერებს ადიპოციტების დიფერენციაციას და ლიპოლიზს cAMP/CREB-ით გაშუალებული სასიგნალო კასკადის გააქტივებით (Saito T. Et al; 2007).

სამეცნიერო შედეგები მიუთითებენ, რომ შესაძლებელია ნობილეტინს დადებითი მოქმედება გააჩნდეს მეტაბოლური დარღვევებისა და ოსტეოპოროზის პრევენციისა და გაუმჯობესებისათვის პოსტმენოპაუზის ასაკის მქონე ქალებში. კვლევებით დადგინდა, რომ ნობილეტინი ამცირებს სხეულის მასის მატებას და თეთრი ცხიმოვანი ქსოვილის მასას ოვარექტომირებულ (OVX) თაგვებში. გარდა ამისა, ნობილეტინი იცავს OVX თაგვებს ძვლის სიმტკიცის დაკარგვისაგან (Lee Y-S., et al; 2014). ნობილეტინს უნარი აქვს დაარეგულიროს ძვლის მეტაბოლიზმი. იგი თრგუნავს ოსტეოკლასტების ფორმირებას და ძვლების რეზორბციას ბირთვული ფაქტორი-kB-დამოკიდებული პროსტაგლანდინ E-ს წარმოქმნის ინჰიბირებით ოსტეობლასტებში. გარდა ამისა ნობილეტინი ეწინააღმდეგება ძვლოვანი მასის დაკარგვას OVX თაგვებში (Harada S., et al; 2011).

ლიპიდურ ცვლაზე დადებითი ეფექტის გარდა ნანახი იქნა, რომ ნობილეტინი მნიშვნელოვნად აძლიერებს გლუკოზას მოხმარებასა და გლუკოკინაზურ აქტივობას, ასევე ზრდის გლიკოგენის კონცენტრაციას ღვიძლში, ხოლო ძლიერ ამცირებს გლუკოზა-6-ფოსფატაზას აქტივობას. გარდა ამისა, აინჰიბირებს სახამებლის მონელებას, აძლიერებს გლიკოლიზის პროცესს და ასუსტებს გლუკონეოგენეზს (Shen et al; 2012).

PMFs-ის ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი თვისება არის მათი ანთების საწინააღმდეგო აქტივობა. ანთების სხვადასხვა მოდელებში ნობილეტინი ანთების საწინააღმდეგო მოქმედებას ახდენს აზოტის ოქსიდის პროდუქციისა და პროანთებითი ციტოკინების (TNF- α , IL-6) ექსპრესიის დათრგუნვით, და ასევე NFkB, JNK და p38 მიტოგენ-აქტივირებადი პროტეინკინაზების გააქტივებით (Choi SY., et al; 2007. Cui Y., et al; 2010. Murakami A., et al; 2003). ნობილეტინი მნიშვნელოვნად აინჰიბირებს კანის ანთებას ანთებითი პარამეტრების შემცირების გზით. იგი თრგუნავს ციკლოოქსიგენაზა-2-ის ექსპრესიას და ინდუციბელური NO სინთაზას ცილებისა და პროსტაგლანდინ E2-ის გამოთავისუფლებას (Murakami A., et al; 2000).

In vitro და ასევე *in vivo* კვლევები მიუთითებენ, რომ პოლიმეთოქსიფლავონებს დამცველობითი მოქმედება გააჩნიათ კიბოს წინააღმდეგ. PMFs აინჰიბირებენ კარცინოგენეზს სხვადასხვა მექანიზმებით, მათ შორის ბლოკავენ მეტასტაზებს, აინჰიბირებენ კიბოს უჯრედების სისხლძარღვთა სისტემაში გადაადგილებას, იწვევენ აპოპტოზს და მოქმედებენ როგორც ანტიპროლიფერაციული აგენტები (Kunimasa et al; 2010. Li S. et al; 2009).

კვლევებით დადგენილია, რომ ნობილეტინი აინჰიბირებს ადამიანის პროსტატის, კანის, მკერდის და მსხვილი ნაწლავის კარცინომის უჯრედული ხაზების პროლიფერაციას და ზოგიერთი მატრიქსის მეტალოპროტეინაზას (MMPs) პროდუქციას (Kawabata et al; 2005. Murakami et al; 2002). 42 ფლავონოიდის გამოყენებით ჩატარებულმა კვლევამ აჩვენა, რომ ნობილეტინს ყველაზე ძლიერი ანტიპროლიფერაციული მოქმედება აქვს ადამიანის კიბოს ექვსი ხაზის წინააღმდეგ (Yoshimizu et al; 2004). ნობილეტინი თრგუნავს ჰეპატოციტების ზრდის ფაქტორით (HGF) გამოწვეულ ღვიძლის კიბოს უჯრედების მეტასტაზირებას, აინჰიბირებს რა ადჰეზიას, ინვაზიასა და

მიგრაციას ERK და PI3K/Akt სასიგნალო გზების ცვლილებით (Shi., et al; 2013). 15 კვირის განმავლობაში ნობილეტინის დამატება საკვებში აინჰიბირებს პროსტატის ადენოკარცინომის განვითარებას ვირთაგვის ტრანსგენურ მოდელში (Tang M., et al 2007). ნობილეტინი იწვევს თავის მიელოიდური ლეიკემიის უჯრედების დიფერენციაციას (Sugiyama S., et al 1993), ავლენს ანტიმუტაგენურ აქტივობას (Wall M.W., 1998) თრგუნავს მატრიქსის მეტალოპროტეინაზების (MMP-1, MMP-3 და MMP-9) გენების ექსპრესიასა და პროდუქციას ბოცვერის ქონდროციტებსა და სინოვიალურ ფიბრობლასტებში (Ishiva et al; 2000). ნობილეტინი ავლენს დოზა- და დრო-დამოკიდებულ ანტისიმსივნურ მოქმედებას ადამიანის მკერდის კიბოს უჯრედული ხაზის სამი ქვეტიპის წინააღმდეგ. იგი იწვევს უჯრედული ციკლის შეჩერებას G0/G1 ფაზაში ERK1/2 აქტივობის დათრგუნვითა და იმავდროულად ციკლინ D1-ის სუპრესიისა და p21-ის up-რეგულაციის გზით (Chen C., et al; 2014). ნობილეტინი შესაძლოა გამოყენებული იქნას როგორც დამატებითი ქიმიოთერაპიული აგენტი მწვავე მიელოიდური ლეიკემიის სამკურნალოდ (AML). იგი თრგუნავს უჯრედების პროლიფერაციას AML-ის სხვადასხვა ტიპის უჯრედულ ხაზებში. უფრო მეტიც, ნობილეტინი იწვევს აპოპტოზს AML-ის HL-60 ტიპის უჯრედებში კასპაზა 8-ის, კასპაზა 9-ისა და კასპაზა 3-ის გააქტივებითა და იმავდროულად p38 მიტოგენ აქტივირებადი პროტეინ კინაზას (MAPK) გააქტივებით (Pei-Ching Hsiao., et al ; 2014).

ანტიკანცეროგენული მოქმედების გარდა, ნობილეტინი დადებით გავლენას ახდენს თავის ტვინის ფუნქციურ აქტივობაზეც. ნობილეტინი აუმჯობესებს მეხსიერების დეფიციტს APP (ამილოიდური პრეკურსორი ცილა) ტრანსგენურ თაგვებში (Onozuka et al., 2008). ნობილეტინი დადებითად მოქმედებს β -ამილოიდური პეპტიდით ინდუცირებული მეხსიერების გაუარესებაზე ალცჰაიმერით დაავადებული ვირთაგვის მოდელში (Matsuzaki et al; 2006). ნობილეტინი ავლენს მეხსიერების გამაუმჯობესებელ გავლენას დემენციის სხვადასხვა ცხოველურ მოდელებში და დადებითი ზემოქმედების ფართე სპექტრს ალცჰაიმერის დაავადების (AD)-ს პათოლოგიურ მახასიათებლებზე, მათ შორის ამილოიდური- β პათოლოგიაზე, ტაუს ჰიპერფოსფორილებაზე, ჟანგით

სტრესზე, ქოლინერგულ ნეიროდეგენერაციაზე და სინაპსურ პლასტიურობასთან დაკავშირებული სიგნალის გადაცემის დისფუნქციაზე (Nakajima A., et al; 2014).

ნობილექტინი აღადგენს NMDA რეცეპტორის ანტაგონიზმით გაშუალებულ დასწავლის დარღვევებს ERK სასიგნალო გზის გააქტივებით ჰიპოკამპში (Nakajima A., et al; 2007).

ნობილექტინის სწორი დოზირებით გამოყენებისას შესაძლებელია პარკინსონის დაავადების(PD) დროს უჯრედების არსებული ნეიროდეგენერაციისაგან დაცვა. 10 მგ/კგ სხეულის მასაზე(და არა 1-20 მგ/კგ) ნობილექტინით მკურნალობა მნიშვნელოვნად იცავს 1-მეთილ-4-ფენილპირიდინიუმით ნამკურნალები ვირთაგვების (პარკინსონის დაავადების ნეიროტოქსიკური მოდელი) დოფამინერგულ ნეირონებს შავ სუბსტანციაში. ნეიროპროტექციის პარალელურად, 10მგ/კგ ნობილექტინით მკურნალობის შედეგად ინჰიბირდება მიკროგლიის გააქტივება და ნარჩუნდება გლიური უჯრედებში წარმოებული ნეიროტროფიკული ფაქტორის ექსპრესია. ეს უკანასკნელი წარმოადგენს პარკინსონის დაავადების თერაპიულ აგენტს შავ სუბსტანციაში (Jeong KH., et al; 2015). ნობილექტინი ეწინააღმდეგება მოტორული და კოგნიტური დისფუნქციების განვითარებას პარკინსონის დაავადების MPTP-ით ინდუცირებულ ექსპერიმენტული მოდელის თაგვებში, რაც ნაწილობრივ დოფამინის გამოყოფის გაძლიერებით არის განპირობებული (Yabuki Y. et al; 2014).

ნაჩვენებია, რომ ნობილექტინით მკურნალობა თრგუნავს თავის ტვინის იშემია/რეპერფუზიით გამოწვეულ უჯრედების კვდომას თავის ტვინში და აუმჯობესებს მოტორული ფუნქციების დეფიციტს (Yasuda N., et al; 2014). ნობილექტინით 7 დღიანი მკურნალობა თრგუნავს 20 წუთიანი იშემიით გამოწვეულ უჯრედების კვდომას თავის ჰიპოკამპში (Yamamoto Y., et al; 2009). უფრო მეტიც, 5 წუთიანი იშემიით განპირობებული დასწავლის დეფიციტი უმჯობესდება ნობილექტინის მკურნალობის შედეგად კალციუმ/კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II (CAMKII)-ისა და ციკლურ ამფ-ზე მოპასუხე ელემენტის დამაკავშირებელი ცილის (CREB) ფოსფორილების სტიმულირებით. სხვა კვლევამ აჩვენა, რომ ნობილექტინს გააჩნია ნეიროანთების საწინააღმდეგო მოქმედება, თრგუნავს რა მიკროგლიის გააქტივებას

მიკროგლიის უჯრედული კულტურის მოდელში (Cui Y., et al 2011). გარდა ამისა, ნობილეტინით წინასწარი დამუშავება ამცირებს წყალბადის ზეჟანგით გამოწვეულ ციტოტოქსიკურობას PC12 უჯრედებში სხვადასხვა მექანიზმით, მათ შორის ზრდის სუპეროქსიდის მუტაზასა და გლუტათიონის სისტემის აქტივობას (Lu Y.H., et al; 2010).

ნობილეტინი აინჰიბირებს cAMP-ს ჰიდროლიზის მაკატალიზებელი ფერმენტის - ფოსფოდიესტერაზას (PDE) აქტივობას და შესაბამისად ზრდის cAMP-ის უჯრედშიდა კონცენტრაციას და ააქტივებს პროტეინკინაზა A-ს PC12 უჯრედებში. ასევე აძლიერებს MEK-ისა და ERK-ის ფოსფორილებას ჰიპოკამპის უჯრედების კულტურასა და PC12 უჯრედებში (Nagase H., et al; 2005b).

ნობილეტინს გააჩნია ანტიდეპრესანტული მოქმედება და იწვევს ნეიროგენეზს ნეირონულ უჯრედშიდა სასიგნალო გზებთან ურთიერთქმედების გზით (YiL-T, et al; 2011). იგი ავლენს ანტიდეპრესანტულ მოქმედებას ქრონიკული არაპროგნოზირებადი მსუბუქი სტრესის (CUMS) დროს, რამდენადაც აუმჯობესებს CUMS-ით გამოწვეული ჰიპოკამპის BDNF-ის, TrkB-ისა და სინაპსინ I-ის ნაკლებობას (Li J., et al; 2013).

ნობილეტინი შესაძლებელია ზემოქმედებდეს მიტოქონდრიის ფუნქციებზე რეგულატორული პროტეინკინაზების მოდულაციის გზით, როგორცაა მაგ. პროტეინკინაზა A და ERK/MAPK პროტეინკინაზები (Nagase H., et al; 2005a). მეორეს მხრივ, ნობილეტინს შეუძლია უშუალო ზემოქმედება მოახდინოს მიტოქონდრიის ბიოენერგეტიკაზე შიდამიტოქონდრიული ცილების (ისეთები როგორცაა მაგ. სირტუინ 3) ცვლილებით (Folmer F., et al; 2010). მიტოქონდრიული ბიოენერგეტიკის გაუმჯობესება შეიძლება განიხილებოდეს როგორც ნეიროპროტექციის ერთ-ერთი მექანიზმი და მსგავსი მოქმედების ნაერთები გამოყენებული იყოს ნეიროდეგენერაციული დაავადებების პრევენციასა და მკურნალობაში.

მეთოდოლოგია

თავი 1. კვლევებში გამოყენებული მასალა

ნობილეტინის ფხვნილი შევისყიდეთ Shanghai Renyoung Pharmaceutical Co., Ltd-გან (China); მონოკლონური პირველადი ანტისხეულები K-Ras, H-Ras, p-Akt, p-ERK, Sirt3, nNOS, Rac და p-Bad წინააღმდეგ, შეძენილი იყო კომპანია Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA), პირველადი ანტისხეულები Mitofusin 2, OPA-1, BiP-ის წინააღმდეგ, აგრეთვე მეორადი ანტისხეულები შეძენილი იყო კომპანია Abcam-ისგან (USA), იმუნობლოტინგის დეტექციის სისტემა, მემბრანა და ფირი შეძენილი იყო კომპანია Amersham-ისგან. ექსპერიმენტებში გამოყენებული ყველა დანარჩენი რეაგენტი, თუ მითითებული არ არის სხვაგვარად, შევიძინეთ Sigma-Aldrich-გან (Sigma-Aldrich Inc., USA).

ხსნარებს ვამზადებდით დეიონიზებულ წყალზე, რომელსაც ვატარებდით „ Milli-Q Water System”-ის (Millipore, საფრანგეთი) აპარატზე.

თავი 2. ექსპერიმენტული ჰიპოთირეოზის ცხოველური მოდელი

ცხოველებთან დაკავშირებული ყველა პროცედურა შეთანხმებული იყო ილიას უნივერსიტეტის ბიოეთიკის კომიტეტთან და ი.ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრის ლაბორატორიულ ცხოველთა დაცვისა და გამოყენების კომიტეტთან და შესრულდა European Communities Council-ის ინსტრუქციების შესაბამისად, ბრძანება 86/609/EEC.

Wistar ხაზის მამრ ვირთაგვებს (250-300გ) ვამყოფებდით ოთახში, სადაც კონტროლდებოდა ჰაერის ტემპერატურა, საკვებსა და წყალს ცხოველები იღებდნენ ნებაყოფლობით. ვირთაგვები დაყოფილი იყო ოთხ ჯგუფად ($n=24$ /ჯგუფში): კონტროლი(ჯგუფი 1), ჰიპოთიროიდული ჯგუფი (0,02 % მეთიმაზოლი სასმელ წყალში 28 დღის განმავლობაში)(ჯგუფი 2); ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (მეთიმაზოლის მიღების დაწყებიდან 10 დღის შემდეგ საკვებთან ერთად იღებდნენ 40 მგ ნობილეტინს წონის ერთ კგ-ზე 20 დღის განმავლობაში)(ჯგუფი 3); ჰიპოთიროიდული + T_4 (მეთიმაზოლის მიღების დაწყებიდან 25 დღის შემდეგ იღებდნენ 15 მკგ T_4 -ს წონის ერთ კგ-ზე ინტრაპერიტონული ინექციით 3 დღის განმავლობაში(ჯგუფი 4).

დეკაპიტაციის შემდეგ თავის ტვინიდან ხდებოდა ჰიპოკამპის ამოღება.

თავი 3. სუბუჯრედული ფრაქციონირება

3.1 უჯრედული და სინაპსური მიტოქონდრიების მიღება

მიტოქონდრიები გამოვყავით თითოეული საკვლევი ჯგუფის 10 ვირთაგვიდან მიღებული ჰიპოკამპიდან. ჰიპოკამპის ჰომოგენიზებას ვახდენდით საჰომოგენიზაციო ბუფერის (0,32 M საქაროზა, 1mM ეთილენდიამინ ტეტრაამმარმჟა (EDTA), 10 mM Tris-HCl, pH 7,4 და 0.1 % BSA) წონის 5-ჯერად მოცულობაში, რის შემდეგაც ვაცენტრიფუგირებდით 2 000 x g - ზე 4 წუთის განმავლობაში. ნალექის მოცილების შემდეგ სუპერნატანტს კვლავ ვაცენტრიფუგირებდით 16 500 x g - ზე 30 წუთის განმავლობაში, რათა მიგვეღო უხეში მიტოქონდრიული (M) ფრაქცია. სუპერნატანტი გამოიყენებოდა, როგორც პოსტმიტოქონდრიული ფრაქცია (PMF). მეორე ცენტრიფუგირების შედეგად მიღებული ნალექის რესუსპენდირებას და მიტოქონდრიების გამოყოფას ვახდენდით შემდეგი პროცედურის მიხედვით (Lai et al. 1977): ვახდენდით მთლიანი მიტოქონდრიული ნალექის (M ფრაქცია) რესუსპენდირებას საჰომოგენიზაციო ბუფერში და მიღებული სუსპენზიის დაშრევებას სინჯარებში, რომლებიც შეიცავდა 7,5 % ფიკოლ-საქაროზას არეს (7,5 % ფიკოლი, 0,32 M საქაროზა, 50 μ M K⁺ - EDTA, 10 mM Tris-HCl, pH 7,4) და 10%-იან ფიკოლის არეს (10%-იანი ფიკოლი, 0,32 M საქაროზა, 50 μ M K⁺ - EDTA, 10 mM Tris-HCl, pH 7,4) და ვაცენტრიფუგირებდით 99 000 x g - ზე 30 წუთი. მიელინური და სინაპტოსომური ფრაქციები ლაგდებოდა პირველ და მეორე ინტერფაზაში, შესაბამისად, ხოლო „თავისუფალი“ (არასინაპსური, უჯრედული) მიტოქონდრიები (CM) ილექებოდა სინჯარის ფსკერზე. მიელინის ფრაქციას ვაშორებდით, ხოლო სინაპტოსომური ფრაქციის ლიზისი ხდებოდა 30 მლ 6 mM Tris-HCl-ში (pH 8,1) რესუსპენზირებით და ჰომოგენიზირებით Potter-ტიპის ჰომოგენიზატორში. შემდეგ ეტაპზე ლიზატს ვაცენტრიფუგირებდით 11 800 x g - ზე 10 წუთის განმავლობაში, ნალექის რესუსპენდირებას ვახდენდით 6 mM Tris-HCl -ში pH 8,1 და ვაცენტრიფუგირებდით 8300 x g - ზე 10 წუთი. ნალექის რესუსპენდირებას

ვახდენდით 3 %-იან ფიკოლის არეში (3% ფიკოლი, 0,12 M მანიტოლი, 30 mM საქაროზა, 25 μ M K^+ -EDTA, 5m MTris-HCl , pH 7,4) და ვაშრევდით სინჯარაში, რომელიც შეიცავდა 6%-იან ფიკოლის არეს (6% ფიკოლი, 0,24 M მანიტოლი, 60 mM საქაროზა, 50 μ M K^+ -EDTA, 10 mM Tris-HCl, pH 7,4) და ვაცენტრიფუგირებდით 11 300 x g - ზე 30 წუთი. ნალექს ვრეცხავდით BSA-ის არეში (10 მგ BSA 20 მლ საიზოლაციო არეში), ვაცენტრიფუგირებდით 9800 x g - ზე 10 წუთი და შემდეგ რესუსპენდირებას ვუკეთებდით მცირე მოცულობის ($\approx$ 1მლ) საჰომოგენიზაციო ბუფერში. აღნიშნული ფრაქცია შეესაბამებოდა სინაპტოსომებიდან მიღებული სინაპსური მიტოქონდრიების (SM) პოპულაციას. ექსპერიმენტებში ვიყენებდით CM (უჯრედული ანუ არასინაპსური მიტოქონდრიები) და SM (სინაპსური მიტოქონდრიები) ფრაქციებს.

3.2 ციტოპლაზმებისა და მიკროსომების მიღება

ქსოვილის ჰომოგენიზებას ვახდენდით 20 mM კალიუმის ფოსფატის ბუფერის (pH 7,4) (რომელიც შეიცავდა 0,1 mM EDTA - ს და 135 mM KCl-ს) სამჯერად მოცულობაში. ჰომოგენატს ვაცენტრიფუგებდით 10 000 x g-ზე 20 წუთის განმავლობაში. შემდეგ ვიღებდით სუპერნატანტს და ვაცენტრიფუგებდით 150 000 x g-ზე 1 საათის განმავლობაში. მიღებულ სუპერნატანტს ვინახავდით -70°C -ზე როგორც ციტოპლაზმურ ფრაქციას. ხოლო მიკროსომული ნალექის რესუსპენდირებას ვახდენდით 20 mM კალიუმის ფოსფატის ბუფერში (pH 7,4) (რომელიც შეიცავდა 1 mM KCl -ს და 10 mM EDTA - ს).

3.3 პლაზმური მემბრანის ფრაქციის მიღება

მემბრანების მიღება ხდებოდა უხეში მიტოქონდრიული ფრაქციის (M) დაცენტრიფუგირებით 12 000 x g-ზე 20 წუთის განმავლობაში. ნალექი ინახებოდა როგორც პლაზმური მემბრანა. ცილების სოლუბილიზაცია პლაზმური მემბრანიდან ხდებოდა 1%-იანი ნატრიუმის ქოლატის ხსნარში ერთსაათიანი ინკუბაციის შედეგად.

თავი 4. ფერმენტული აქტივობების განსაზღვრა

4.1 მიტოქონდრიული ჰექსოკინაზას აქტივობის განსაზღვრა

მიტოქონდრიული ჰექსოკინაზას აქტივობა განისაზღვრა NADPH-ის წარმოქმნის თანმდევი შთანთქმის მიხედვით 340 ნმ-ზე (da-Silva WS, et. al., 2004). საინკუბაციო არე შეიცავდა 0.1-0.15მგ/მლ მიტოქონდრიულ ცილას, 10 mM Tris-HCl, pH 7.4, რომელიც შეიცავდა 0.1mM Ap5A-ს (ადენილატკინაზას ინჰიბიტორი), 5mM D-გლუკოზას, 10mM MgCl₂-ს, 1mM ატფ-ს, 1mM NADP⁺ და 1 ერთეული/მლ გლუკოზა-6-ფოსფატდეჰიდროგენაზას (*Leuconostocme senteroides*). საინკუბაციო არეს მოცულობა შეადგენდა 1 მლ-ს. ოპტიკურ შთანქმას (OD) ვსაზღვრავდით 340 ნმ-ზე 2-5 წუთის განმავლობაში 30 წამიანი ინტერვალებით 25°C ტემპერატურის პირობებში. OD-ს მატება ასახავს NADPH - ის კონცენტრაციის მატებას. ჰექსოკინაზას აქტივობის გამოთვლას ვახდენდით მიღებული კინეტიკური მრუდის დახრის კუთხის მიხედვით.

ექსპერიმენტებში, როდესაც მიტოქონდრიული ჰექსოკინაზას აქტივობის განსაზღვრისათვის ვიყენებდით ჟანგვითი ფოსფორილების გზით მიტოქონდრიაში წარმოქმნილ ატფ-ს, საინკუბაციო არედ ვიღებდით სტანდარტულ ბუფერს - 10 mM Tris-HCl, pH 7.4, 0.32 M მანიტოლი, 8mM არაორგანული ფოსფატი, 4 mM MgCl₂, 0.08 mM EDTA, 1 Mm ეთილენგლიკოლ ტეტრამმარმჟავა (EGTA), 0.2 მგ/მლ ცხიმოვანი მჟავებისაგან თავისუფალი ხარის შრატის ალბუმინი, რომელშიც ემატებოდა 2 mM სუქცინატი და 0.1 mM ადფ. ჰექსოკინაზური აქტივობის 1 მილი ერთეული (mUnit) წარმოადგენს ფერმენტულ აქტივობას, რომელიც ახდენს 1 წუთში გლუკოზას 1 ნმოლის ფოსფორილებას 25°C ტემპერატურის პირობებში გადათვლილი საერთო ცილის ერთ მილიგრამზე.

4.2 სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის განსაზღვრა

სუქცინატდეჰიდროგენაზული აქტივობის განსაზღვრა იზოლირებულ მიტოქონდრიებში ხდებოდა უშუალოდ გამოყოფის შემდეგ (Rosen H, et al.1987) ამ მიზნით 50 მკგ მიტოქონდრია შეგვქონდა 0.65 მლ საინკუბაციო არეში, რომელიც შეიცავდა 50 mM კალიუმის ფოსფატს pH 7.4 , 4.2 mM ფენაზინმეთოსულფატს (PMS), 1 μ M როტენონს, 0.42 mM 2,6-დიქლოროფენოლინდოფენოლს (DCIP), 20 mM სუქცინატს და 0,1 მგ/მლ მიტოქონდრიულ ცილას. აქტივობის ხარისხს ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრულად 600 ნმ-ზე 5 წუთის განმავლობაში 30⁰ C ტემპერატურაზე. DCIP-ის აღდგენა იწყებოდა PMS-ის დამატებით და საწყისი შემცირების ხარისხს ვადგენდით 600 ნმ-ზე დაქანგული DCIP-ს ექსტინქციის კოეფიციენტის $\epsilon = 21,000$ გამოყენებით. აქტივობა გამოისახებოდა ერთეულებში, რომელიც შეესაბამება DCIP 1 მმოლ-ის აღდგენას 1 წუთში 25 ° C ტემპერატურაზე გადათვლილი საერთო ცილის ერთ მილიგრამზე.

4.3 მიტოქონდრიული NOS-ს აქტივობის განსაზღვრა

მიტოქონდრიული NOS-ს აქტივობა განვსაზღვრეთ 50 mM კალიუმის ფოსფატის ბუფერში pH 7,2, რომელიც შეიცავდა 120 μ M L-არგინინს, 100 μ M NADPH, 0,1 μ M კალმოდულინს, 0,3 mM CaCl₂, 1 μ M FAD, 1 μ M FMN, 10 μ M ტეტრაჰიდრობიოპტერინს და 100 მკგ მიტოქონდრიულ ცილას. NO-ს წარმოქმნას ვსაზღვრავდით ულტრამგრძნობიარე NOS-სანალიზის კიტ-ნაკრების (Oxford Biomedical Research) გამოყენებით მწარმოებლის პროტოკოლის მიხედვით. აღნიშნული კიტ-ნაკრების მგრძნობელობა შეადგენდა წარმოქმნილი NO-ს 1 პიკომოლს/მკლ წყალხსნარში ($\approx 1\mu$ M)

4.4 აკონიტაზას აქტივობის განსაზღვრა

აკონიტაზური აქტივობის განსაზღვრისათვის ახლად გამოყოფილი მიტოქონდრიები (50 მკგ) შეგვქონდა 0.5 მლ ბუფერში, რომელიც შეიცავდა 50 mM Tris-HCl (pH 7,4) და 0.6 mM $MnCl_2$ -ს და ვამუშავებდით ულტრაბგერით 2 წმ. აკონიტაზურ აქტივობას ვადგენდით სპექტროფოტომეტრულად, დამატებული იზოციტრატიდან (20 mM) ცის - აკონიტატის წარმოქმნის განსაზღვრით 240 ნმ-ზე 25°C-ზე (Pate M, et al . 2001). ერთი ერთეული (U) შეესაბამება ფერმენტის აქტივობას, რომელიც საჭიროა 1 წუთში 1 μM ცის-აკონიტატის წარმოქმნისათვის ($e_{240} = 3,6 \text{ mM}^{-1} \text{ სმ}^{-1}$).

4.5 ფუმარაზას აქტივობის განსაზღვრა

ფუმარაზული აქტივობის განსაზღვრისათვის ახლად გამოყოფილი მიტოქონდრიები (50 მკგ) შეგვქონდა 0.5 მლ ბუფერში, რომელიც შეიცავდა 50 mM Tris-HCl (pH 7,4) და 0.6 mM $MnCl_2$ -ს და ვამუშავებდით ულტრაბგერით 2 წმ. ფუმარაზულ აქტივობას ვსაზღვრავდით 25°C ტემპერატურის პირობებში 240 ნმ-ის სიგრძის ტალღაზე შთანთქმის მატების მიხედვით სარეაქციო არეში, რომელიც შეიცავდა 30 mM კალიუმის ფოსფატს (pH 7,4) და 0,1 mM L-მალატს (Pate M, et al . 2001). ერთი ერთეული შეესაბამება ფერმენტის აქტივობას, რომელიც საჭიროა 1 წუთში 1 μM ფუმარატის წარმოსაქმნელად ($e_{240} = 3,6 \text{ mM}^{-1} \text{ სმ}^{-1}$).

4.6 ციტოქრომ c ოქსიდაზაში სპილენძის დაჟანგულობის ხარისხის განსაზღვრა

ციტოქრომ c ოქსიდაზაში სპილენძის დაჟანგულობის ხარისხს ვსაზღვრავდით ერთდროულად და უწყვეტად თერმოსტატირებულ კიუვეტებში ორარხიანი ორმაგტალღიანი სპექტროფოტომეტრის საშუალებით (Cecil 7600, UK)(Sharpe and Cooper.1998). 10 წუთის განმავლობაში მიტოქონდრიებს (0,2 მგ/მლ) ვაინკუბირებდით 37°C-ზე 50 mM კალიუმის ფოსფატის ბუფერში (pH 7,2), რომელიც შეიცავდა 300 mM

საქაროზას, 20 mM სუქცინატს, 120 μ M L-არგინინს, 0,1 μ M კალმოდულინს, 0,3 mM CaCl_2 , 10 μ M ტეტრაჰიდრობიოტერინს და 100 მკგ მიტოქონდრიულ ცილას. ცვლილებებს ინფრაწითელ დიაპაზონთან ახლოს, რაც გამოწვეული იყო CuA-ს დაჟანგვით, ვაკვირდებოდით 830 ნმ-ზე, შესადარებლად ვიყენებდით 722 და 900 ნმ სიგრძის ტალღებს. დაჟანგულობის ხარისხი გამოითვლებოდა ფორმულით $\Delta\text{CuA} = \Delta A_{830 \text{ ნმ}} - (\Delta A_{722 \text{ ნმ}} + \Delta A_{900 \text{ ნმ}})/2$. აქტივირება/ინჰიბირების პროცენტული მაჩვენებელი (%) გამოითვლებოდა ფორმულით - (ცდის სინჯების ΔCuA /კონტროლის სინჯების ΔCuA) $\times$ 100.

4.7 გლიკოლიზური აქტივობის განსაზღვრა

გლიკოლიზური აქტივობა განესაზღვრეთ Bustamante და კოლეგების (1981) მიხედვით. 0,3 მლ საინკუბაციო არეში, რომელიც შეიცავდა 4 mM NaCl, 10 mM MgCl_2 , 10 mM KH_2PO_4 , 4 mM ატფ, 4 mM ადფ, 2,8 mM NAD^+ და 4mM გლუკოზას, pH 7,4, 37°C-ზე 30 წთ-ის შემდეგ წარმოქმნილი რძემჟავას რაოდენობის მიხედვით. რეაქცია იწყებოდა 0,07 მლ (5-10 მგ ცილა) სუბსტრედული ფრაქციის დამატებით. რეაქციას ვწყვეტდით 5% (w/v) ტრიქლორმმარჟავას დამატებით და ვაცენტრიფუგირებდით 10 000 $\times$ g - ზე 10 წთ 4°C-ზე. ვიღებდით სუპერნატანტს და pH მიგვყავდა 9-მდე 3,5 N NaOH-ის დამატებით. ამგზით მიღებულ სინჯში რძემჟავას ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრულად 340 ნმ სიგრძის ტალღაზე წარმოქმნილი NADH-ის რაოდენობის დადგენით 1 მლ სისტემაში, რომელიც შეიცავდა 42 mM ჰიდრაზინ სულფატს, 170 mM გლიცილგლიცინს, 0,4 mM EDTA-ს, 0,85 mM NAD^+ -ს და 20 ერთეულ ლაქტატ დეჰიდროგენაზას, pH 9 , 25°C ტემპერატურის პირობებში. საკვლევ არეში NADH-ის წარმოქმნა საბოლოო მაჩვენებელს აღწევდა დაახლოებით 30 წთ-ში.

ოპტიკური ხელსაწყოთა მაჩვენებლების სტანდარტიზაცია ხდებოდა 4,4 mM რძემჟავას სტანდარტის საკალიბრო მრუდის შესაბამისად.

თავი 5. ატფ-ის სინთეზის განსაზღვრა

5.1 ჯამური ატფ-ის სინთეზი

მიტოქონდრიების მიერ ატფ-ის სინთეზის განსაზღვრას ვახდენდით ლუმინომეტრული მეთოდით (Allemann N. and Schneider A. 2000., Drew B and Leeuwenburgh C. 2003). ჰიპოკამპიდან ახლად იზოლირებული მიტოქონდრიები კონცენტრაციით 0.1 მგ/მლ შეგვქონდა სტანდარტულ რესპირაციულ ბუფერში (10 mM Tris-HCl, pH 7.4, 0.32 M მანიტოლი, 8 mM არაორგანული ფოსფატი, 4 mM MgCl₂, 0.08 mM EDTA, 1mM EGTA, 0.1 mM Ap5A, 0.2 მგ/მლ ცხიმოვანი მჟავებისაგან თვისუფალი ხარის შრატის ალბუმინი). ატფ-ის სინთეზის სტიმულირებისათვის ვამატებდით 10 mM გლუტამატს, 5mM მალატს და 1 mM ადფ-ს. 25°C-ზე 10-30 წუთიანი ინკუბირების შემდეგ რეაქციას ვაჩერებდით 60%-იანი პერქლორის მჟავას დამატებით, ვტოვებდით ყინულზე 10 წუთით და ვაცენტრიფუგირებდით 20 000 x g-ზე 15 წუთი. ცენტრიფუგირების შემდეგ მიღებულ სუპერნატანტს ვანეიტრალბდით 1 მოლ KOH-ით. იმისათვის, რომ განგვესაზღვრა ჟანგვითი ფოსფორილების გზით წარმოქმნილი ატფ, პარალელურ სინჯებში ვამატებდით 2 მკგ/მლ ოლიგომიცინს. ატფ-ის რაოდენობას ვითვლიდით ლუციფერინ/ლუციფერაზას მეთოდით.

5.2 ალფა-კეტოგლუტარატ-დამოკიდებული ატფ-ის სინთეზი

ალფა-კეტოგლუტარატით განპირობებული ატფ-ის სინთეზი განვსაზღვრეთ საინკუბაციო არეში, რომელიც საბოლოო კონცენტრაციით შეიცავდა 0.1 მგ/მლ მიტოქონდრიულ ცილას, 0.3 mM თიამინპიროფოსფატს (TPP), 0.2 mM MgCl₂, 50 μM CaCl₂, 5 mM ალფა-კეტოგლუტარატს, 1 μM როტენონს, 0.1 mM Ap5A, 0,2 mM NAD⁺ და 100 μM 3-ნიტროპროპიონის მჟავას. რეაქცია იწყებოდა 0.14 mM CoASH-ის დამატებით. 25°C-ზე 5 წუთიანი ინკუბაციის შემდგომ რეაქციას ვაჩერებდით 7%-იანი

პერქლორმჟავით, 25 mM EDTA-თი. სინჯებს ვანეიტრალეზდით pH 6,5 -მდე 2 N KOH-ით, 0.3 M MOPS-ით. ატფ-ის რაოდენობას ვითვლიდით ლუციფერინ/ლუციფერაზას მეთოდით.

თავი 6. მიტოქონდრიების მიერ წყალბადის ზეჟანგის გენერაციის განსაზღვრა

მიტოქონდრიული H_2O_2 -ის წარმოქმნას ვსაზღვრავდით სკოპოლეტინის დაჟანგვის მეთოდით (Bovers et al 1977). მიტოქონდრიებს (0,2 მგ ცილა/მლ) ვაინკუბირებდით ბუფერში, რომელიც შეიცავდა 125 mM KCl-ს, 2 mM K_2HPO_4 -ს, 4 mM $MgCl_2$ -ს, 0.08 mM EDTA-ს, 1 mM EGTA-ს და 20 mM 4-(2-ჰიდროქსიეთილ)-1-პიპერაზინეთანსულფონმჟავას (HEPES), pH 7,4. საინკუბაციო არეში ვამატებდით სკოპოლეტინს საბოლოო კონცენტრაციით 10 μM და 1 ერთეული/მლ პირშუმხას პეროქსიდაზას (HRP) H_2O_2 -ის პროდუქციის ინიცირებისათვის ვამატებდით ან 6 mM სუქცინატს, ან 6mM მალატს და 6 mM გლუტამატს. ექსპერიმენტში სუქცინატის გამოყენების შემთხვევაში H_2O_2 -ის მაქსიმალური პროდუქციის გამოწვევისათვის ვამატებდით 0,5 μM როტენონს. რამდენადაც ჩვენს მეთოდში არ ვიყენებდით ხარის შრატის ალბუმინს, მიტოქონდრიულ პრეპარატში აღინიშნებოდა საშუალოზე დაბალი სუქცინატით გამოწვეული H_2O_2 -ის პროდუქცია (Tretter et al. 2007). ფლურესცენციის ხარისხის ცვლილებას ვაკვირდებოდით 10 წუთის განმავლობაში აგზნების და ემისიის ტალღებზე 365 და 450 ნმ-ზე, შესაბამისად. დასაკალიბრებელ მრუდს ვაგებდით H_2O_2 -ის ცნობილი რაოდენობების დამატებით. ყოველ ექსპერიმენტს ვიმეორებდით მინიმუმ სამჯერ განსხვავებული მიტოქონდრიული სინჯებისთვის.

თავი 7. მიტოქონდრიის მემბრანული პოტენციალის განსაზღვრა

მიტოქონდრიის მემბრანული პოტენციალი განვსაზღვრეთ კათიონური საღებავის საფრანინ O-ს ფლუორესცენციის სიგნალის მიხედვით (Wieckowski and Wojtczak 1998). მიტოქონდრიებს (0,2 მგ ცილა/მლ) ვაინკუბირებდით ბუფერში, რომელიც შეიცავდა 125 mM KCl-ს, 2 mM K_2HPO_4 , 4 mM $MgCl_2$, 0,08 mM EDTA, 1 mM EGTA და 20 mM HEPES, pH 7,4, რომელშიც ვამატებდით 10 μ M საფრანინს. ფლუორესცენციას ვზომავდით 495 ნმ აგზნების და 586 ნმ ემისიის ტალღის სიგრძეზე Jenway (England) 6300 სპექტროფლუორომეტრის გამოყენებით. რეაქცია იწყებოდა II კომპლექსის სუბსტრატის - სუქცინატის (საბოლოო კონცენტრაციით 6 mM) დამატებით, ხოლო მიტოქონდრიის ნორმალური ფუნქციონირებისათვის ვამატებდით 0,2 mM ადფ-ს. შედეგები ნაჩვენებია ფლუორესცენციის პირობით ერთეულებში (AFU). თითოეული ექსპერიმენტი სხვადასხვა მიტოქონდრიული სინჯებისათვის გავიმეორეთ ყველაზე მცირე სამჯერ.

თავი 8. ელექტროფორეზული ანალიზი აკრილამიდის გელზე

მიღებული ცილების ფრაქციების ანალიზი ხდებოდა BIO-RAD-ის ელექტროფორეზის ხელსაწყოთა საშუალებით. სინჯებს ვუმატებდით იგივე მოცულობის ელექტროფორეზის სინჯის ბუფერს (20% გლიცეროლი, 10% 2-მერკაპტოეთანოლი, 6% ნატრიუმის დოდეცილსულფატი, 0,02-0,04 % ბრომფენილ ლურჯი 250 mM Tris-HCl pH 6.7) და ვადუღებდით 7 წუთის განმავლობაში. ელექტროფორეზს ვუშვებდით 7.5-12% აკრილამიდ/ბისაკრილამიდის გელზე ცილების სრულ დაყოფამდე.

თავი 9. იმუნობლოტინგი

იმუნობლოტინგს ვატარებდით Western Blotting მეთოდით, როგორც აღწერილია ლიტერატურაში (Caughenour 1997).

ცილების ტრანსფერი აკრილამიდის გელიდან ხდებოდა ნიტროცელულოზას მემბრანაზე (Amersham, USA) 30-40 წუთის განმავლობაში BIO-RAD-ის ხელსაწყოთა გამოყენებით. ტრანსფერის დასრულების შემდეგ ტრანსფერის ეფექტურობის შესამოწმებლად მემბრანას ვღებავდით Ponco S-ით. არასპეციფიკური დაკავშირების თავიდან ასაცილებლად ვატარებდით მემბრანის ბლოტინგს Blotting Reagent-ში (Tris-HCl, NaCl – TBS ბუფერი, 5% უცხიმო მშრალი რძის ფხვნილი).

იმუნობლოტინგი ჩავატარეთ შემდეგი ანტიგენების აღმოჩენაზე: p-nNOS, K-Ras, H-Ras, Rac, p-Bad, Sirtuin-3, Mitofusin-2, OPA-1 და BiP, რისთვისაც გამოვიყენეთ შესაბამისი პირველადი ანტისხეულები მწარმოებლის მიერ მითითებული განზავების შესაბამისად. პირველად ანტისხეულთან ინკუბაციას ვახდენდით ერთი საათის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე. სამჯერადი გარეცხვით (TBS ბუფერი + 0.025% Tween 40) ვაცილებდით ანტისხეულის ზედმეტ რაოდენობას და ვაინკუბირებდით შესაბამის მეორად ანტისხეულთან 45 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე. მემბრანას ვრეცხავდით 3-ჯერ (TBS ბუფერი + 0.025 Tween 40) და ვახდენდით ცილის აღმოჩენას ქემილუმინესცენციით, რისთვისაც ვიყენებდით Western Blotting Luminol Reagent (Santa Cruz) 1:1 თანაფარდობით. აღნიშნულ ნარევეში მემბრანას ვაჩერებდით 3-5 წუთი, რის შემდეგაც ვაცილებდით ზედმეტ სითხეს, ვათავსებდით SaranWrap-ის ცელოფანში, ვაცილებდით ჰაერის ბუშტებს, ვდებდით რენტგენის კასეტაში, ვადებდით Hybond-ს ფირს და ვაჩერებდით 10 წუთი. ფირს ვამჟღავნებდით Kodak-ის ფირმის გამამჟღავნებელში და ფიქსატორში.

თავი 10. IP3-რეცეპტორის იმუნოპრეციპიტაცია და მასთან დაკავშირებული BiP-ის განსაზღვრა იმუნობლოტინგის მეთოდით

მიტოქონდრიების სინჯები დავაცენტრიფუგეთ 20 000 x g 4°C-ზე 20 წუთის განმავლობაში. მიღებულ ნალექს ვუკეთებდით რესუსპენდირებას 50 µl ლიზისის ბუფერში (220 mM Tris-HCl, pH 7.8, 137 mM NaCl, 10% გლიცეროლი, 1% Triton X-100, 2 mM EDTA) და გავაჩერეთ ინკუბაციისათვის 30 წუთი 4°C-ზე. ამის შემდეგ სინჯები დავაცენტრიფუგეთ 20 000 x g - ზე 4°C-ზე 1 საათის განმავლობაში. შემდეგ ეტაპზე მოვახდინეთ მიღებული სუპერნატანტის იმუნოპრეციპიტაცია ანტი IP3R-ანტისხეულთან.

იმუნოპრეციპიტაციისათვის 15µl IP3 რეცეპტორის მიმართ შემუშავებულ ანტისხეულს ვუმატებდით 75µl Protein A/G Plus აგაროზას და 250 µl იმუნოპრეციპიტაციის ბუფერს (1% Triton X-100, 200mM NaCl, 0.5% ნატრიუმის დეოქსიქოლატი, pH 7.9). მიღებულ სუსპენზიას ვაინკუბირებდით 2 სთ 4°C-ზე. შემდეგ ვაცენტრიფუგირებდით 10 000 x g - ზე 4°C-ზე 20 წუთის განმავლობაში. მიღებულ ნალექს ვამატებდით 50-50µl იმუნოპრეციპიტაციის ბუფერს და ვაცენტრიფუგირებდით 12 000 xg - ზე 4°C-ზე 20 წუთის განმავლობაში. ნალექს დავუმატეთ მიტოქონდრიული სინჯების სოლუბილიზაციის შედეგად მიღებული სუპერნატანტი და ვაინკუბირეთ 24 სთ 4°C-ზე. ინკუბაციის შემდეგ სინჯებს ვაცენტრიფუგირებდით 12 000 x g - ზე 4°C-ზე 20 წუთის განმავლობაში. ნალექს ვუმატებდით 50µl 100 mM გლიცინის ხსნარს (pH 3), ვუკეთებდით რესუსპენდირებას, ვამატებდით 3 µl 1M Tris (pH 9.5) და დავაცენტრიფუგეთ 1000 x g-ზე 12 წუთის განმავლობაში. მიღებული სუპერნატანტის ცილების დაყოფას და მასში BiP-ის აღმოჩენას ვახდენდით ზემოთაღწერილი ელექტროფორეზისა და იმუნობლოტინგის მეთოდით, შესაბამისად.

თავი 11. ცილის რაოდენობის განსაზღვრა

სინჯებში ცილის საერთო რაოდენობის განსაზღვრას ვახდენდით BCA Protein Assay. კიტ ნაკრების (SantaCruz, USA) საშუალებით მწარმოებლის პროტოკოლის მიხედვით. სინჯების AB რეაგენტთან 60°C -ზე 15 წუთიანი ინკუბაციის შემდეგ ცილის კონცენტრაციას ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრულად 562 ნმ-ზე.

შედეგები

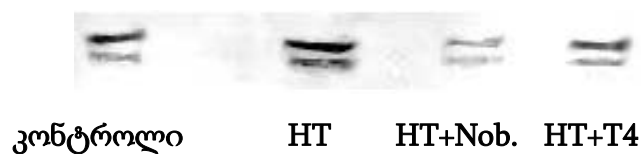
სადისერტაციო კვლევის მიზნებიდან გამომდინარე, საკვლევი ვირთაგვების ოთხივე ჯგუფის ჰიპოკამპის ნერვული უჯრედების სხვადასხვა კომპარტმენტში განვსაზღვრეთ ერთის მხრივ მიტოქონდრიების ფუნქციონირების მარეგულირებელი სასიგნალო მოლეკულების რაოდენობრივი ცვლილებები, ხოლო მეორეს მხრივ მიტოქონდრიული ბიოენერგეტიკის მნიშვნელოვანი პარამეტრების ცვლილება.

თავი. 1 რეგულაციური ცილების დინამიკა ჰიპოთირეოზის დროს

1.1 ციტოპლაზმური Akt და ERK პროტეინკინაზების რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს

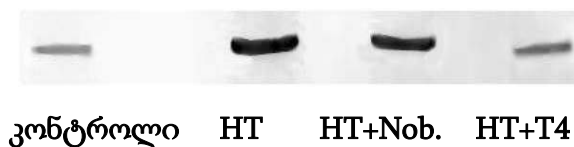
ცნობილია, რომ თიროიდული ჰორმონების არაგენომური მოქმედება გაშუალებულია Akt-სა და ERK-ის სასიგნალო გზებით. ცნობილია ისიც, რომ ნობილეტინი (ავლენს ანტისიმსივრე მოქმედებას) იწვევს უჯრედული ციკლის შეჩერებას G0/G1 ფაზაში ERK1/2 აქტივობის დათრგუნვითა და იმავდროულად ციკლინ D1-ის სუპრესიისა და p21-ის up-რეგულაციის გზით (Chen C ., et al; 2014). ამიტომ განვსაზღვრეთ აღნიშნული მოლეკულების ფოსფორილების დონე ოთხივე ჯგუფის ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედების ციტოპლაზმებში.

ა) აღმოჩნდა, რომ საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებელთან შედარებით ERK ცილის ფოსფორილების ხარისხი მცირედით იყო მომატებული ჰიპოთირეოზის დროს და მნიშვნელოვნად იყო შემცირებული იმ ვირთაგვების ჰიპოკამპის ციტოპლაზმებში, რომლებიც იღებდნენ ნობილეტინს (იხ.სურ. 15).



სურ.15 ERK-ის რაოდენობრივი ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T4) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედების ციტოპლაზმაში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.

ბ) კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ ჰიპოთირეოზის დროს იმატებს Akt ფოსფორილების ხარისხი საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებელთან შედარებით და აღნიშნული ზრდა უბრუნდება ნორმას თიროქსინით მკურნალობის შედეგად (იხ.სურ. 16).



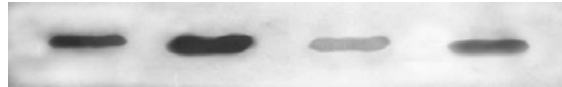
სურ. 16 Akt-ის რაოდენობრივი ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T4) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედების ციტოპლაზმაში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.

1.2 Ras ცილების რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს

ცნობილია, რომ პროტეინკინაზური სასიგნალო გზების ძირითად აღმავალ რეგულატორებს Ras ცილები წარმოადგენენ. გარკვეულ პირობებში შესაძლებელია ადგილი ჰქონდეს Ras ცილების უჯრედშიდა ლოკალიზაციის ცვლილებას, ამიტომ შემდგომ ექსპერიმენტებში განვსაზღვრეთ Ras ცილის კონცენტრაცია უჯრედის სხვადასხვა კომპარტმენტში.

ა) პლაზმურ მემბრანაში წარმოდგენილი K-Ras

აღმოჩნდა, რომ ჰიპოთირეოზის დროს ადგილი აქვს K-Ras-ის რაოდენობის ზრდას ჰიპოკამპის უჯრედების პლაზმურ მემბრანაში. თიროქსინით მკურნალობის შედეგად მისი კონცენტრაცია მცირედით, ხოლო ნობილეტინის საკვებში დამატების შედეგად მნიშვნელოვნად მცირდება (იხ.სურ. 17).



კონტროლი HT HT+Nob. HT+T4

სურ. 17 K-Ras-ის რაოდენობრივი ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედების პლაზმურ მემბრანაში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.

ბ) სინაპსური და უჯრედული მიტოქონდრიების K-Ras

აღმოჩნდა, რომ K-Ras-ის შემცველობა გაზრდილია მხოლოდ ჰიპოთიროიდული ვირთაგვების ჰიპოკამპის სინაპსურ მიტოქონდრიებში (SM). ხოლო უჯრედული მიტოქონდრიების ფრაქციაში (CM) აღნიშნული ცილის დონე არის უცვლელი (იხ.სურ. 18). ნობილეტინის საკვებში დამატების შედეგად აღნიშნული სასიგნალო მოლეკულის შემცველობა SM ფრაქციების მემბრანაში მნიშვნელოვნად შემცირებულია.

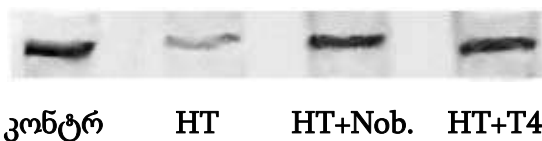


კონტროლი HT HT+Nob. HT+T4

სურ. 18 K-Ras-ის რაოდენობრივი ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის სინაპსურ (SM) და უჯრედულ (CM) მიტოქონდრიებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.

გ) ენდოპლაზმურ ბადეზე ლოკალიზებული (მიკროსომული) K-Ras

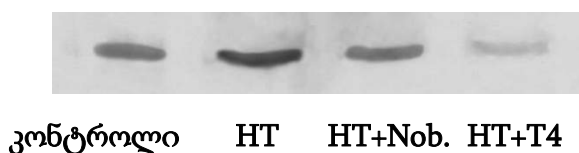
ჰიპოთირეოზის დროს გამოვლინდა მიკროსომული K-Ras-ის რაოდენობის კლება. აღნიშნული კლება დაუბრუნდა კონტროლის დონეს როგორც ნობილეტინის საკვებში დამატების, ისე თიროქსინით მკურნალობის შედეგად (იხ.სურ. 19).



სურ. 19 K-Ras-ის რაოდენობრივი ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T4) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედების მიკროსომულ ფრაქციაში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.

დ) ენდოპლაზმურ ბადეზე ლოკალიზებული (მიკროსომული) H-Ras

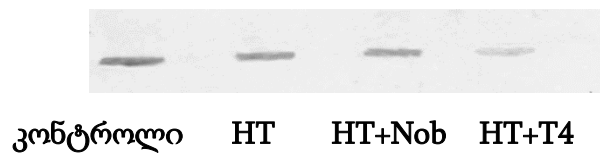
მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა, რომ ჰიპოთირეოზის დროს H-Ras-ის რაოდენობა მომატებულია, რაც უბრუნდება კონტროლის დონეს ნობილეტინის მიღების შედეგად. ხოლო თიროქსინით მკურნალობის შედეგად მოცემული ცილის რაოდენობა შემცირებულია როგორც ჰიპოთიროიდულ, ისე საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით(იხ.სურ. 20).



სურ. 20 H-Ras-ის რაოდენობრივი ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T4) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედების მიკროსომულ ფრაქციაში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.

1.3 მიკროსომული Rac ცილის რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს

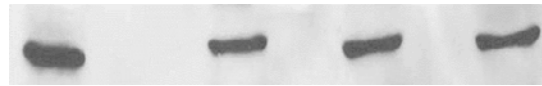
Ras ცილის ტრანსლოკაცია გულისხმობს ენდოპლაზმური ბადისა და მიტოქონდრიების ურთიერთკავშირს. აღნიშნულ ურთიერთობაში მნიშვნელოვან როლს თამაშობს Rac ცილა. ამიტომ განვსაზღვრეთ Rac ცილის კონცენტრაცია მიკროსომულ ფრაქციაში. ვნახეთ, რომ ჰიპოთირეოზის პირობებში, ისევე როგორც ნობილეტინით ზემოქმედების შედეგად აღნიშნული ცილის კონცენტრაცია არ იცვლება, ხოლო თიროქსინით მკურნალობის შემდეგ მნიშვნელოვნად არის შემცირებული (იხ.სურ.21).



სურ. 21 Rac-ის რაოდენობრივი ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T4) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედების მიკროსომულ ფრაქციაში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.

1.4 BiP ცილის რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს

ჰიპოთირეოზის დროს შესაძლებელია ადგილი ჰქონდეს ე.წ. ენდოპლაზმური ბადის სტრესს, რომლის ერთ-ერთ ძირითად მარკერს BiP (GRP78) ცილის რაოდენობრივი ცვლილებები წარმოადგენს. აღნიშნული ცილა ენდოპლაზმური ბადის შიდა ლუმენის შაპერონს წარმოადგენს, რომლის საშუალებითაც ხდება ინოზიტოლ-3-ფოსფატის რეცეპტორის (IP3R) აწყობა და მისი გააქტივება (Higo T, et al; 2010). ამიტომ, განვსაზღვრეთ სოლუბილიზირებულ უჯრედული მიტოქონდრიების ფრაქციაში IP3R-თან დაკავშირებული BiP ცილის რაოდენობა. გაირკვა, რომ ჰიპოთირეოზის დროს ადგილი აქვს IP3R-თან დაკავშირებული BiP-ის რაოდენობის კლებას. აღსანიშნავია, რომ BiP-ის რაოდენობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ იმატებს არც ნობილეტინის დამატებით და არც თიროქსინით მკურნალობის შედეგად (იხ.სურ.22).



კონტროლი HT HT+Nob HT+T4

სურ.22 IP3R-თან დაკავშირებული BiP ცილის რაოდენობის ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T4) ვირთაგვების ჰიპოკამპის სოლუბილიზირებულ უჯრედული მიტოქონდრიების (CM) ფრაქციაში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.

1.5 მიტოქონდრიების Bad ცილის რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს

ხშირ შემთხვევაში ენდოპლაზმურ ბადესა და მიტოქონდრიას შორის არსებული ურთიერთკავშირის ცვლილებებს, რაც გულისხმობს აღნიშნულ ურთიერთობაში ჩართული სხვადასხვა სასიგნალო მოლეკულების აქტივობის, კონცენტრაციის და ლოკალიზაციის ცვლილებას, თან სდევს მიტოქონდრიული Bcl-2 ჯგუფის ცილების კონცენტრაციის მატება ან კლება. ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი პროაპოპტოზური ცილა აღნიშნული ოჯახიდან, რომელიც პასუხისმგებელია აპოპტოზის ჩართვის ინიცირებაზე, არის Bad ცილა. ამიტომ კვლევის შემდეგ ეტაპზე განვსაზღვრეთ Bad ცილის რაოდენობა როგორც უჯრედულ ისე სინაპსურ მიტოქონდრიებში.

აღმოჩნდა, რომ ჰიპოთიროიდულ პირობებში პრო-აპოპტოზური ცილა Bad-ის შემცველობა გაზრდილია მხოლოდ ჰიპოკამპის სინაპსური მიტოქონდრიების ფრაქციაში(SM), რაც უბრუნდება კონტროლის დონეს როგორც ნობილეტინის მიღების, ისე თიროქსინით მკურნალობის შედეგად. ხოლო უჯრედულ მიტოქონდრიებში (CM) აღნიშნული ცილის დონე არის უცვლელი(იხ. სურ. 23).

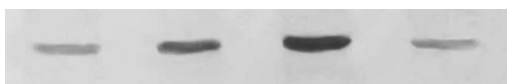


კონტროლი HT HT+Nob HT+T4

სურ. 23 Bad ცილის რაოდენობრივი ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T4) ვირთაგვების ჰიპოკამპის სინაპსურ (SM) და უჯრედულ (CM) მიტოქონდრიებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.

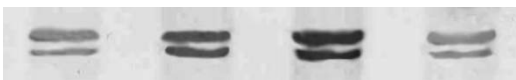
1.6 Mitofusin-ისა და OPA-ს რაოდენობრივი ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს

ცნობილია, რომ თიროიდული ჰორმონები იწვევენ მიტოქონდრიულ ბიოგენეზს, რაც გამოიხატება მიტოქონდრიების რიცხვის, მიტოქონდრიული მემბრანების, დნმ-ის, ცილების, ფერმენტული აქტივობის და ჟანგვითი ფოსფორილების ზრდაში (Weitzel JM, Iwen KA. 2011. Lee JY, et al. 2012). რამდენადაც ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევების შედეგად ჰიპოთირეოზის დროს პრო-აპოპტოზური ცილა Bad-ის მატება გამოვლინდა მხოლოდ სინაპსურ მიტოქონდრიებში და არა უჯრედულ მიტოქონდრიებში, კვლევის შემდეგ ეტაპზე განვსაზღვრეთ მიტოქონდრიების შერწყმაზე პასუხისმგებელი ცილების ოპტიკური ატროფიის ცილა 1 (OPA-1) და მიტოფუზინ-2 (Mfn-2)-ის კონცენტრაცია ოთხივე საკვლევი ჯგუფის უჯრედულ მიტოქონდრიებში. აღმოჩნდა, რომ ჰიპოთირეოზის დროს ორივე ცილის კონცენტრაცია იმატებს საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით და უბრუნდება ნორმას თიროქსინით მკურნალობის შემდეგ. ნობილეტინის მიღების შემთხვევაში კი Mfn-2 და OPA-1 ცილის რაოდენობა მიტოქონდრიაში აღემატება როგორც საკონტროლო, ისე ჰიპოთიროიდული ჯგუფის მაჩვენებელს (იხ. სურ. 24, 25).



კონტროლი HT HT+Nob HT+T4

სურ. 24 მიტოფუზინ-2 (Mfn-2)-ის რაოდენობრივი ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედულ (CM) მიტოქონდრებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.



კონტროლი HT HT+Nob HT+T4

სურ.25 ოპტიკური ატროფიის ცილა 1-ის (OPA-1) რაოდენობრივი ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედულ (CM) მიტოქონდრებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.

1.7 უჯრედული და სინაპსური მიტოქონდრიების სირტუინ-3-ის რაოდენობრივი

ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს

რამდენადაც ცნობილია, სირტუინ-3 (NAD-დამოკიდებული დეაციტილაზა) აშუალებს ზოგიერთი ფლავონოიდის, მაგ. რესვერატროლის მოქმედებას მიტოქონდრებზე. იმისათვის, რომ დაგვედგინა თუ რა გზით ახდენს ნობილეტინი გავლენას მიტოქონდრიების ფუნქციონირებაზე განვსაზღვრეთ - სირტუინ-3-ის რაოდენობა უჯრედულ და სინაპსურ მიტოქონდრებში (იხ. სურ.26). ჩატარებული გამოკვლევებით დადგინდა, რომ სირტუინ-3 კონცენტრაციის მხრივ მნიშვნელოვან ცვლილებას არ განიცდის.



კონტროლი HT HT+Nob HT+T4



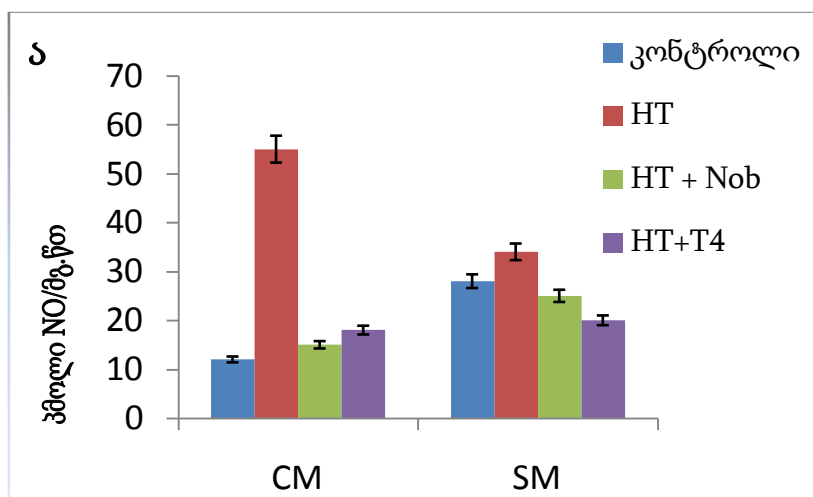
კონტროლი HT HT+Nob HT+T4

სურ. 26 სირტუინ-3-ის რაოდენობრივი ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედულ (CM) და სინაპსურ (SM) მიტოქონდრებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.

თავი 2. მიტოქონდრიის ბიოენერგეტიკის ცვლილებები ჰიპოთირეოზის დროს და ნობილეტინის გავლენა აღნიშნულ ცვლილებებზე

2.1. აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) აქტივობისა და ფოსფორილებული ნეირონული NOS-ს (p-nNOS) შემცველობის ცვლილება CM-სა და SM ფრაქციებში

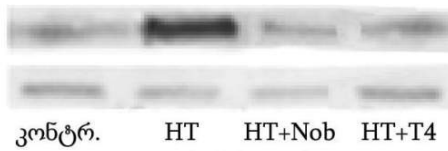
ცნობილია, რომ ქსოვილებში ნიტროზული სტრესი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს მიტოქონდრიული დარღვევების განვითარებაში (Riobo et al. 2001; Franco et al. 2006; Carreras and Poderoso 2007). ამიტომ განვსაზღვრეთ აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) აქტივობა (იხ.სურ. 27.ა) და ფოსფორილებული ნეირონული NOS-ს (p-nNOS) შემცველობა (იხ.სურ. 27.ბ) CM-სა და SM ფრაქციებში. ჩვენს მიერ მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა, რომ მიტოქონდრიული NOS-ს (mtNOS) აქტივობა მომატებულია მხოლოდ ჰიპოთირეოიდული ცხოველების CM-ში და აღნიშნული მატება უბრუნდება ნორმას როგორც ჰორმონით მკურნალობის, ისე ნობილეტინის მიღების შედეგად. Westernblotting-ის მეთოდის გამოყენებით დადასტურდა, რომ ჰიპოთირეოიდული ჯგუფის CM-ში გაზრდილია nNOS-ს ფოსფორილებული ფორმის შემცველობა. ჰიპოთირეოიდული ცხოველებისა და საკონტროლო ჯგუფის SM-ის mtNOS-ს აქტივობასა და ასევე, ფოსფორილებული mtNOS-ს შემცველობას შორის მნიშვნელოვანი ცვლილებები არ გამოვლინდა.



ბ

CM

SM



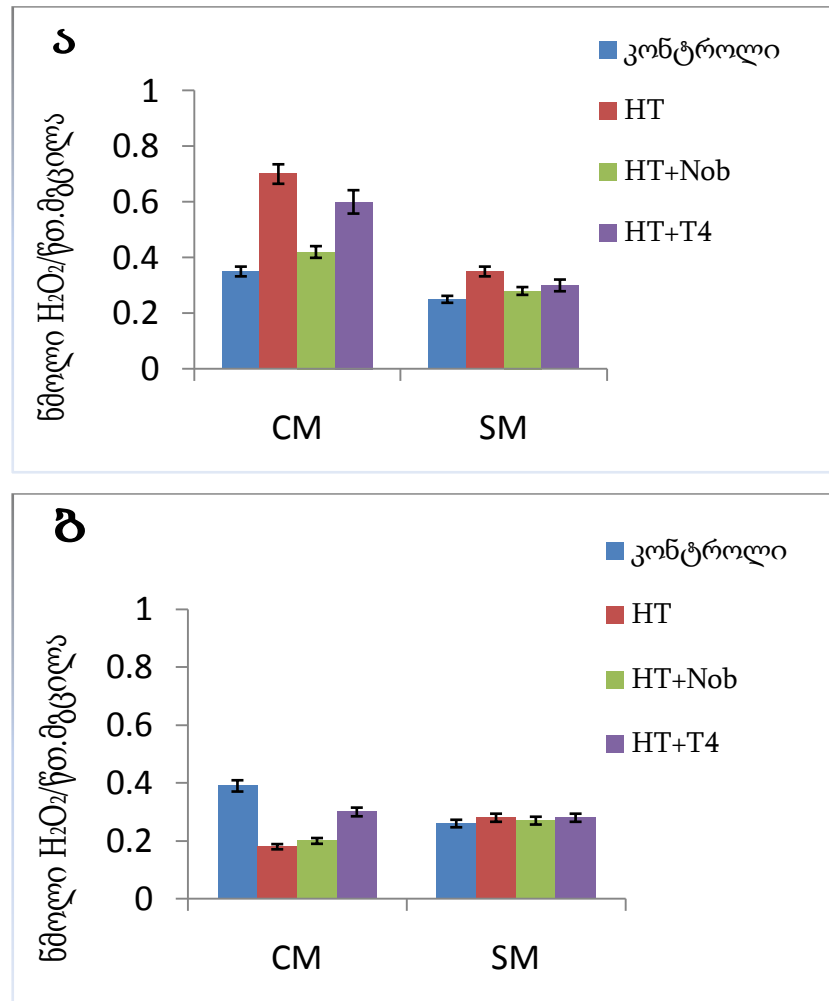
სურ. 27 ა) აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) აქტივობის ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის სინაპსურ (SM) და უჯრედულ მიტოქონდრიებში (CM). სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტის შედეგების საშუალო მაჩვენებელს. P<0.05

ბ) ფოსფორილებული ნეირონული NOS-ს (p-nNOS) რაოდენობრივი ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის სინაპსურ (SM) და უჯრედულ მიტოქონდრიებში (CM). სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტიდან ერთ-ერთის შედეგს.

2.2. წყალბადის ზეჟანგის წარმოქმნის ცვლილება უჯრედულ და სინაპსურ მიტოქონდრიებში ჰიპოთირეოზის დროს

ცნობილია, რომ ჰიპოთირეოზი ზრდის ROS-ის წარმოქმნას და ინიცირებს შერჩევით ოქსიდაციურ სტრესს ზრდასრული ვირთაგვების ჰიპოკამპში (Cano-Europa et al. 2008). გარდა ამისა, სხვადასხვა ქსოვილებში თიროიდული ჰორმონების ნაკლებობით გამოწვეული mtNOS-ს აქტივობა განაპირობებს წყალბადის ზეჟანგის ჭარბ პროდუქციას, რასაც თან ახლავს მიტოქონდრიული I კომპლექსის ცილების დაჟანგვა (Finocchietto et al. 2009). იმის გათვალისწინებით, რომ მიტოქონდრია წარმოადგენს ROS-ის მთავარ წყაროს, შემდგომ ექსპერიმენტებში განვსაზღვრეთ წყალბადის ზეჟანგის წარმოება SM-სა და CM-ის მიერ. აღმოჩნდა, რომ ზეჟანგის წარმოქმნა გაზრდილია მხოლოდ ჰიპოთიროიდული ცხოველების CM-ში I კომპლექსის სუბსტრატების (მალატი + გლუტამატი) დამატებისას (იხ. სურ. 28.ა), მაშინ, როდესაც სუქცინატის თანაობისას (II კომპლექსის დატვირთვისას) წყალბადის ზეჟანგის წარმოქმნა შემცირებულია (იხ.

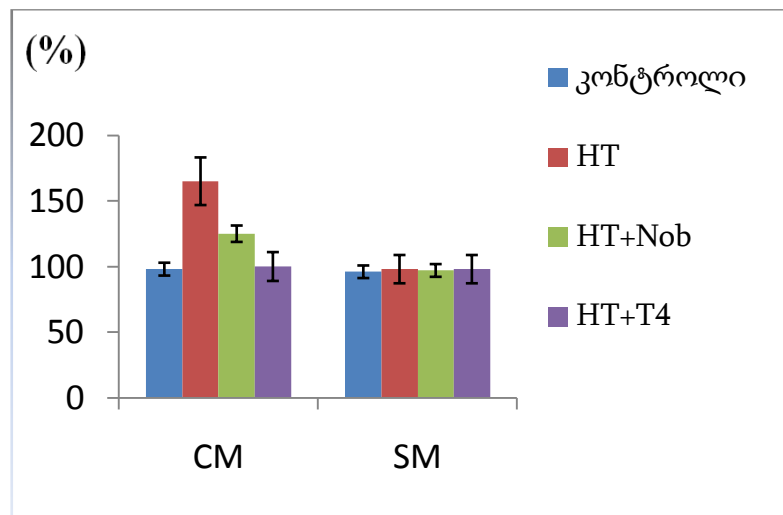
სურ.28.ბ). აღსანიშნავია, რომ I კომპლექსით გენერირებული ზეჟანგის წარმოქმნა უბრუნდება საკონტროლო დონეს ნობილეტინის მიღების შემთხვევაში და ნაწილობრივ მცირდება ჰორმონით თერაპიის შემთხვევაში (იხ. სურ. 28.ა). SM-ში აღნიშნული პარამეტრის მხრივ მნიშვნელოვანი ცვლილებები არ გამოვლინდა.



სურ.28 წყალბადის ზეჟანგის წარმოქმნის ცვლილება I კომპლექსის სუბსტრატების (მალატი + გლუტამატი) (ა) და II კომპლექსის სუბსტრატების (სუქცინატი) (ბ) თანაობისას ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედულ (CM) და სინაპსურ (SM) მიტოქონდრიებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტის შედეგების საშუალო მაჩვენებელს. P<0.05

2.3. ციტოქრომ c ოქსიდაზას სპირლენძის იონის დაჟანგულობის ხარისხის ცვლილება ჰიპოთიროიდის დროს

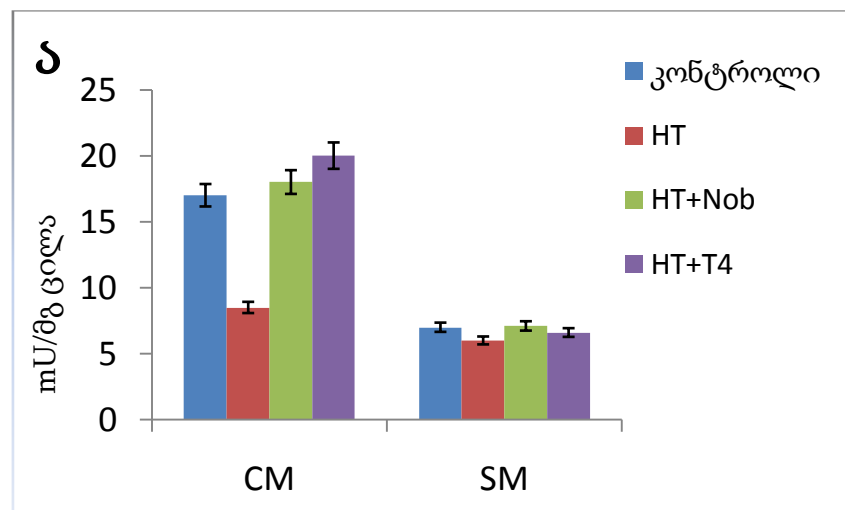
დაბალ კონცენტრაციებში მიტოქონდრიული NO ცვლის O_2 -ის მოხმარებას ციტოქრომ c ოქსიდაზას შექცევადი ინჰიბირებით, ახდენს რა ამ უკანასკნელის a-a3 სუბერთეულის ჰემის ჯგუფში არსებული რკინის იონის ნიტროზილირებას. ეს კი იწვევს სუპეროქსიდანიონისა ($O_2^{\bullet-}$) და წყალბადის ზეჟანგის წარმოქმნას (H_2O_2) (Poderoso et al. 1999). აქედან გამომდინარე, კვლევის შემდეგ ეტაპზე განვსაზღვრეთ ციტოქრომ c ოქსიდაზას სპირლენძის იონის დაჟანგულობის ხარისხი (იხ.სურ. 29). ვნახეთ, რომ სპირლენძის იონის დაჟანგულობის ხარისხი მნიშვნელოვნად არის მომატებული მხოლოდ ჰიპოთიროიდული ვირთაგვების CM-ში და აღნიშნული მაჩვენებელი მცირდება სკვებში ნობილეტინის დამატების შემდეგ და უბრუნდება ნორმას T_4 -ით მკურნალობის შემდეგ. ჰიპოთიროიდული და საკონტროლო ჯგუფის SM-ს შორის ცვლილება არ აღინიშნა.

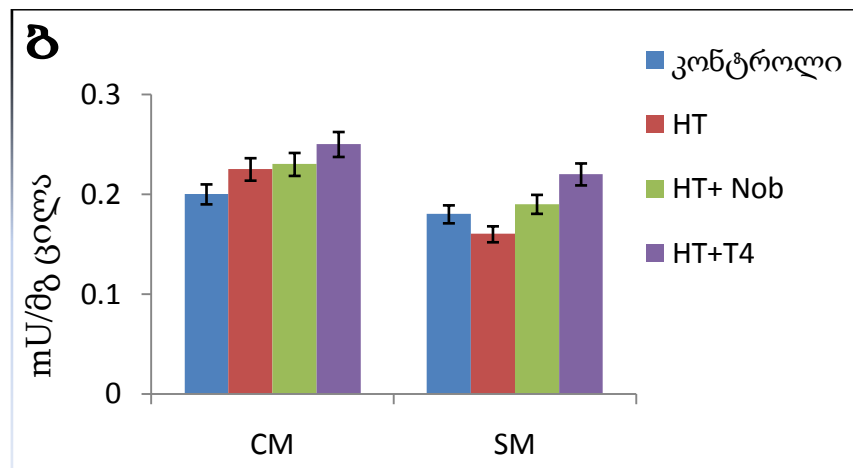


სურ.29 ციტოქრომ c ოქსიდაზას სპირლენძის იონის დაჟანგულობის ხარისხის ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T_4 (HT+T4) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედულ (CM) და სინაპსურ (SM) მიტოქონდრებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტის შედეგების საშუალო მაჩვენებელს. $P < 0.05$

2.4. აკონიტაზასა და ფუმარაზას აქტივობის ცვლილება უჯრედულ და სინაპსურ მიტოქონდრებში ჰიპოთირეოზის დროს

მიტოქონდრიულ ცილებს შორის, როგორც წესი, ლიმონმჟავა ციკლის ფერმენტი - აკონიტაზა, გამოიყენება როგორც ჟანგვითი სტრესის მგრძნობიარე და სფეციფიკური მარკერი. აღნიშნული ფერმენტი თავის აქტიურ ცენტრში შეიცავს რკინა-გოგირდოვან ცენტრს, რომელიც ინაქტივდება ჟანგვითი სტრესის დროს. აკონიტაზასაგან განსხვავებით, კრებსის ციკლის კიდევ ერთი ფერმენტი ფუმარაზა, არ ინაქტივდება ოქსიდანტების მიერ (Nulton-Persson and Szweda 2001). ამდენად, მიტოქონდრებზე ჟანგვითი სტრესის გავლენის შესაფასებლად, განვსაზღვრეთ აღნიშნული ორი ფერმენტის აქტივობა ეუთიროიდულ და ჰიპოთირეოიდულ ვირთაგვებში. ვნახეთ, რომ ჰიპოთირეოიდული ვირთაგვების ჰიპოკამპიდან მიღებულ CM-ში აკონიტაზური აქტივობა მნიშვნელოვნად დაბალია საკონტროლო ვირთაგვების CM-თან შედარებით და უბრუნდება საკონტროლო დონეს როგორც თიროქსინით მკურნალობის, ისე ნობილეტინის დამატების შემდეგ (იხ. სურ. 30ა). მაშინ როდესაც, ფუმარაზული აქტივობა ორივე ჯგუფის ცხოველების მიტოქონდრებში ერთნაირია (იხ. სურ. 30ბ). აღნიშნული პარამეტრის მხრივ არანაირი ცვლილება არ გამოვლინდა საკონტროლო და ჰიპოთირეოიდული ცხოველების ჰიპოკამპის SM-ს შორის (იხ. სურ. ა, ბ).



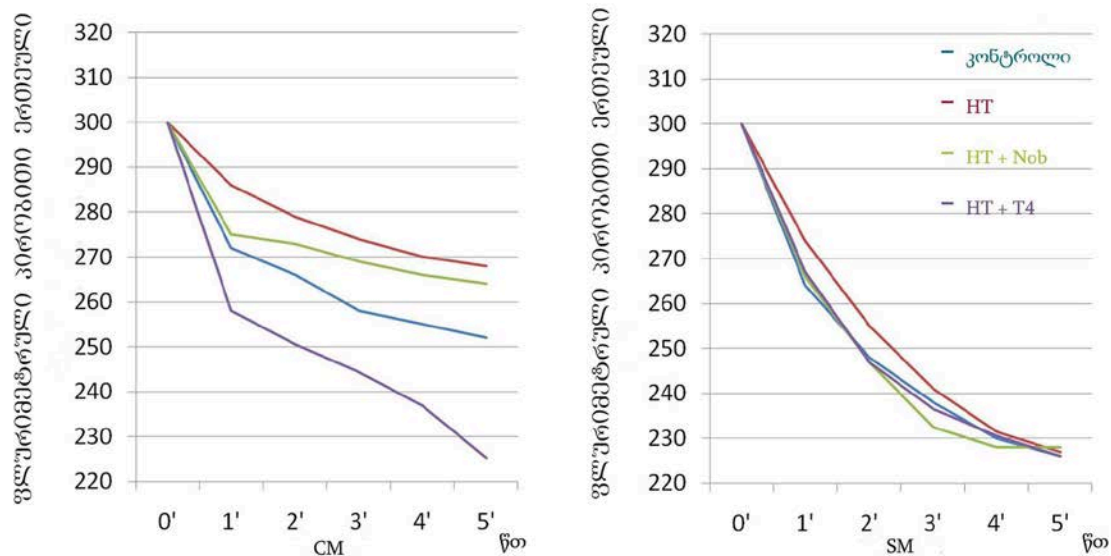


სურ. 30 აკონიტაზას (ა) და ფუმარაზას (ბ) აქტივობის ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედულ (CM) და სინაპსურ (SM) მიტოქონდრებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტის შედეგების საშუალო მაჩვენებელს. P<0.05

2.5. მიტოქონდრიების მემბრანული პოტენციალის ცვლილება ჰიპოთიროიზის დროს

ბოლო პერიოდში დაგროვდა ბევრი მონაცემი, რომლებიც მიუთითებენ, რომ ჰიპოთიროიდული ვირთაგვების მიტოქონდრებში პროტონების ბაზალური გაჟონვა არის მნიშვნელოვნად დაბალი ეუთიროიდულ კონტროლთან შედარებით (Harper and Seifert 2008). მომწიფებულ ნეირონებში მემბრანული პოტენციალის ვარდნა შესაძლოა აისახოს Ca²⁺-ის შეთვისებაში, ენერგიის დანაკლისში და ზოგიერთ შემთხვევაში მიტოქონდრიული გარდამავალი განვლადობის არხისგახსნაში (Brustovetsky and Dubinsky 2000; Kobayashi et al. 2003). ზოგჯერ ΔΨ_m-ის გაზრდა დამოკიდებულია მიტოქონდრებში NOS ექსპრესიაზე (Marks et al. 2005), რამდენადაც წარმოქმნილი NO შექცევადად კონკურირებს O₂-თან ციტოქრომოქსიდაზას Cu_B/a₃ რედოქს-ცენტრთან დასაკავშირებლად (Antunes et al. 2004). აქედან გამომდინარე, კვლევის შემდეგ ეტაპზე განვსაზღვრეთ მიტოქონდრიების მემბრანული პოტენციალი (ΔΨ_m)(იხ.სურ.31).

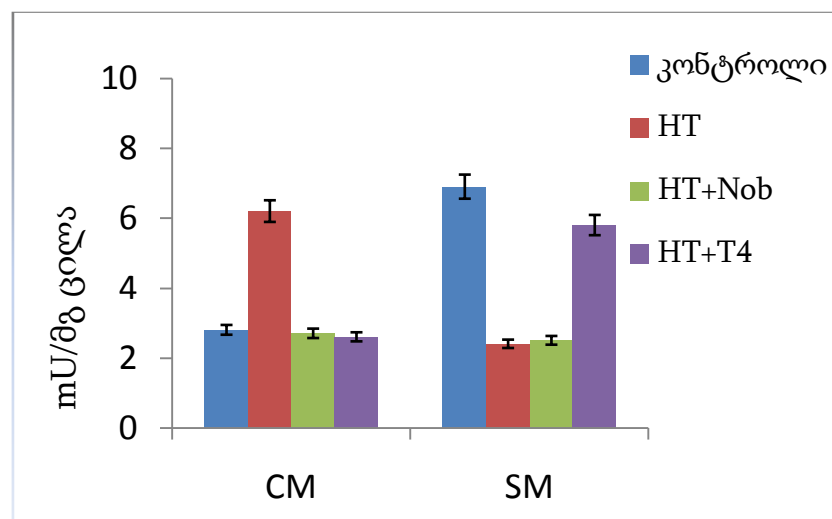
იმისათვის, რომ შეგვეფასებინა mtNOS აქტივობისა და სუქცინატ-დამოკიდებული H_2O_2 -ის პროდუქციის გავლენა $\Delta\Psi_m$ -ზე, CM და SM ვაინკუბირეთ სტანდარტულ რესპირაციულ ბუფერში, რომელშიც დამატებული იყო სუქცინატი და მემბრანული პოტენციალი გავზომეთ ფლუორომეტრულად კათიონური საღებავის საფრანინ O-ს გამოყენებით. როგორც სურათიდან ჩანს, საკონტროლო და ჰიპოთიროიდული ცხოველების სინაპსური მიტოქონდრიების $\Delta\Psi_m$ -ს შორის არანაირი განსხვავება არ გამოვლინდა. ამისგან განსხვავებით, ჰიპოთიროიდული ცხოველების CM-ში აღინიშნა მიტოქონდრიული მემბრანის ნაწილობრივი დეპოლარიზაცია. ნობილეტინის ზემოქმედების შედეგად ადგილი აქვს პოტენცილის მცირედით, ხოლო თიროქსინის მოქმედების შედეგად პოტენციალის ძლიერ მატებას.



სურ.31 მემბრანული პოტენციალის ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T_4 (HT+ T_4) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედულ (CM) (ა) და სინაპსურ (SM) (ბ) მიტოქონდრიებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტის შედეგების საშუალო მაჩვენებელს. $P < 0.05$

2.6. სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის ცვლილება უჯრედულ და სინაპსურ მიტოქონდრიებში ჰიპოთირეოზის დროს

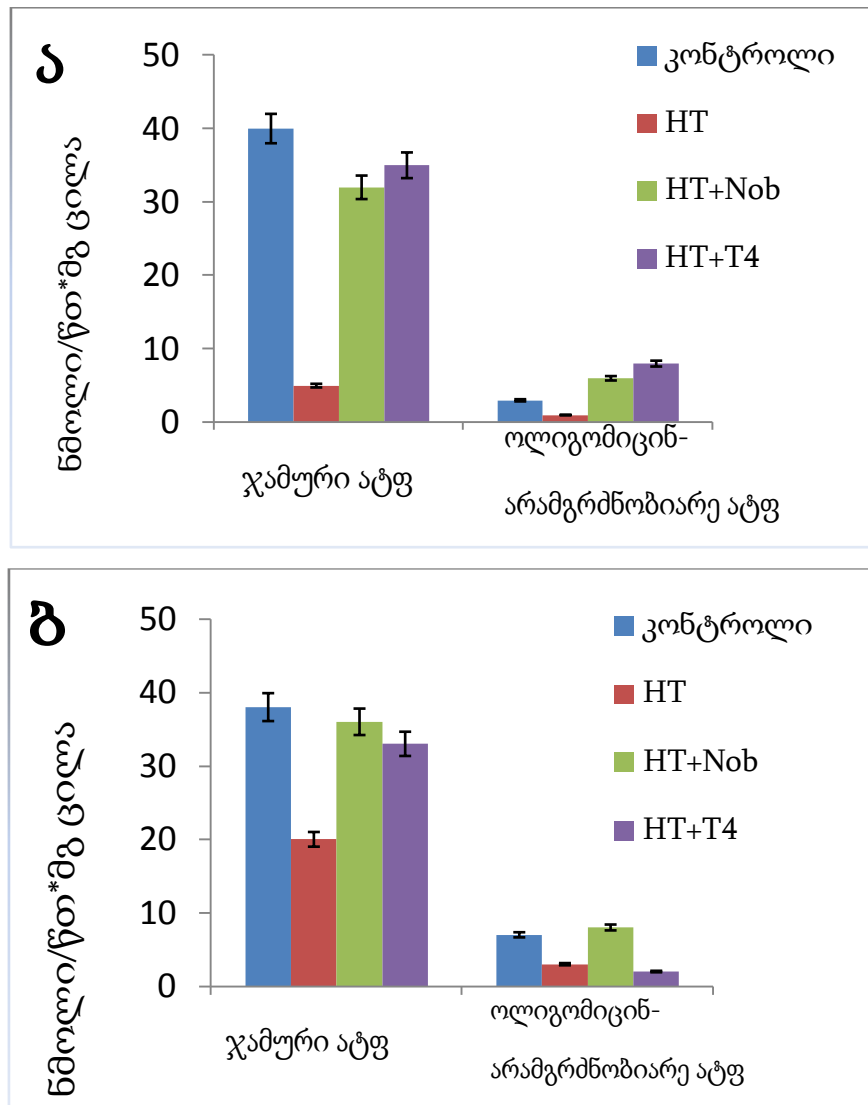
კვლევის შემდეგ ეტაპზე განვსაზღვრეთ სუქცინატდეჰიდროგენაზას (SDH) აქტივობა ჰიპოთიროიდული ცხოველების ჰიპოკამპის CM და SM ფრაქციებში (იხ.სურ. 32). ვნახეთ, რომ საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით ჰიპოთიროიდული ცხოველების SDH-ს აქტივობა შემცირებულია SM-ში, მაშინ როდესაც CM-ში აღემატება კონტროლის დონეს. CM-ში SDH-ს აქტივობა დაუბრუნდა ნორმას როგორც თიროქსინის, ასევე ნობილეტინის მიღების შემდეგ, ხოლო SM-ში SDH-ს აქტივობა გაიზარდა მხოლოდ T4-ით მკურნალობის შედეგად.



სურ.32 სუქცინატდეჰიდროგენაზას (SDH) აქტივობის ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედულ (CM) და სინაპსურ (SM) მიტოქონდრიებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტის შედეგების საშუალო მაჩვენებელს. $P < 0.05$

2.7 ჯამური და სუბსტრატული ფოსფორილების შედეგად მიღებული მიტოქონდრიული ატფ-ის სინთეზის ცვლილება ჰიპოთირეოზის დროს

სინაპსურ და უჯრედულ მიტოქონდრებში მატრიქსული სუბსტრატული ფოსფორილების ცვლილებები აქამდე არ იყო შესწავლილი, თუმცა არსებობს კვლევები, რომლებიც მიუთითებენ, რომ მრავალი პათოლოგიური პროცესების დროს TCA ციკლის სუბსტრატული ფოსფორილების შედეგად მიღებული ენერგია აკომპენსირებს ჟანგვითი ფოსფორილების დანაკლისს (Phillips D. Et al; 2009). იმისათვის, რომ დაგვედგინა მატრიქსის სუბსტრატული ფოსფორილების როლი ჰიპოთირეოზით განპირობებულ პროცესებში და ასევე ნობილეტინის გავლენა მიტოქონდრიულ ბიოენერგეტიკაზე, განვსაზღვრეთ მიტოქონდრიული ჟანგვითი ფოსფორილების ჯამური დონე FoF1-ატფ-აზას ინჰიბიტორის - ოლიგომიცინის თანაობისას და მის გარეშე (იხ. სურ. 33 ა, ბ). ჰიპოთირეოზის შემთხვევაში ორივე ტიპის მიტოქონდრიაში აღინიშნა ჯამური მიტოქონდრიული ატფ-ის რაოდენობის კლება და აღნიშნული კლება გამოსწორდა (ატფ-ის რაოდენობა მიუახლოვდა საკონტროლო დონეს) T4-ით მკურნალობის, ისევე როგორც ნობილეტინის საკვებში დამატების შემდეგ. ატფ-ის ოლიგომიცინ-არამგრძნობიარე პროდუქცია ასევე შემცირდა ჰიპოთირეოდიული ცხოველების ჰიპოკამპის როგორც CM, ასევე SM-ში. ამასთან, ვირთაგვების თიროქსინით მკურნალობის შედეგად ატფ-ის ოლიგომიცინ-არამგრძნობიარე სინთეზი გაიზარდა მხოლოდ CM-ში და არა SM-ში. თიროქსინისაგან განსხვავებით, ჰიპოთირეოდიული ვირთაგვებისათვის საკვებში ნობილეტინის დამატების შემდეგ ატფ-ის ოლიგომიცინ-არამგრძნობიარე სინთეზი გაძლიერდა ორივე ტიპის მიტოქონდრებში. აღნიშნული მონაცემები მიუთითებენ, რომ ნობილეტინი გარკვეული ხარისხით აძლიერებს მატრიქსში მიმდინარე სუბსტრატულ ფოსფორილებას.

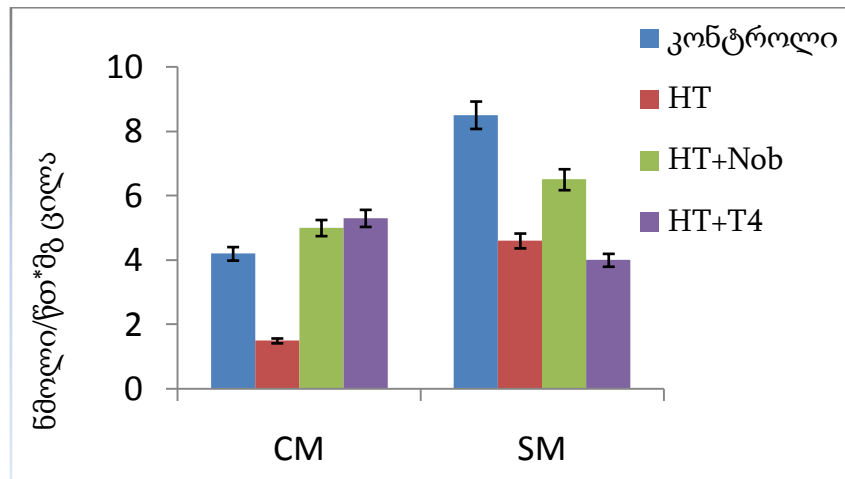


სურ.33 ჯამური და სუბსტრატული ფოსფორილირებით მიღებული (ოლიგომიცინ-არამგრძნობიარე) ატვ-ის სინთეზის ცვლილებები ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T4) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედულ (CM) (ა) და სინაპსურ(SM) (ბ) მიტოქონდრებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტის შედეგების საშუალო მაჩვენებელს. P<0.05

2.8. ალფა-კეტოგლუტარატ დამოკიდებული ატფ-ის პროდუქციის ცვლილება

ჰიპოთირეოზის დროს

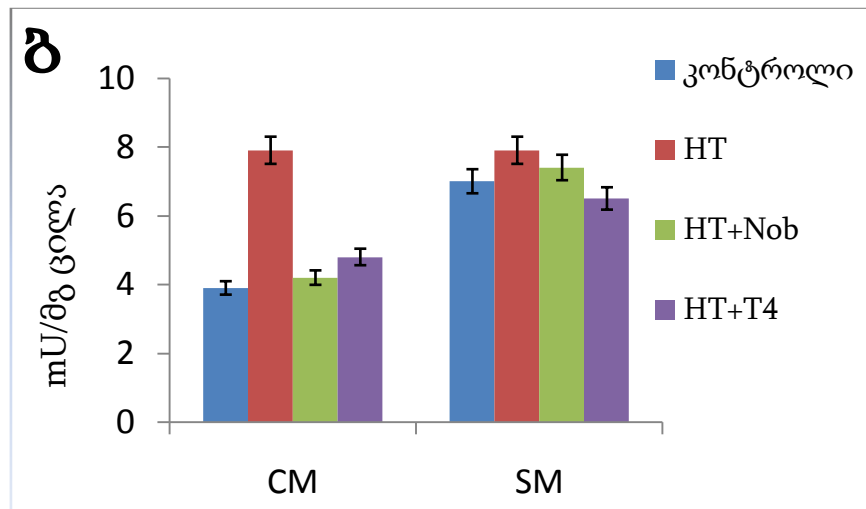
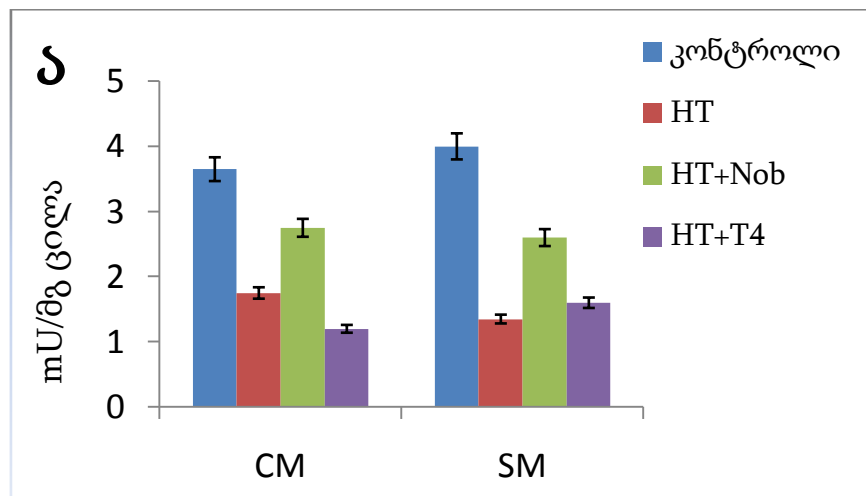
ატფ-ის ოლიგომიცინ-არამგრძნობიარე პროდუქციის წყაროდ თავის ტვინის მიტოქონდრიებში შეიძლება განიხილებოდეს კრებსის ციკლის ფერმენტული რეაქცია, რომელსაც აკატალიზებს I კომპლექსის ცილოვან კონგლომერატში შემავალი ფერმენტი - ალფა-კეტოგლუტარატდეჰიდროგენაზა. იმისათვის, რომ შეგვემოწმებინა ჩვენი მოსაზრება, კვლევის შემდეგ ეტაპზე განვსაზღვრეთ ალფა-კეტოგლუტარატდეჰიდროგენაზული კომპლექსის მიერატფ-ის წარმოქმნა - სუბსტრატული ფოსფორილების ხარისხი საკონტროლო და ჰიპოთიროიდული ჯგუფის ვირთაგვების უჯრედულ და სინაპსურ მიტოქონდრიებში (იხ.სურ. 34). ალფა-კეტოგლუტარატდეჰიდროგენაზული კომპლექსი წარმოადგენს ლიმონმჟავა ციკლის მნიშვნელოვან კომპლექსს, რომელიც აკატალიზებს ალფა-კეტოგლუტარატის დეკარბოქსილებას სუქცინილ-CoA-მდე. აღნიშნული პროცესს კი თან სდევს სუქცინილ-CoA-სა და ადფ (გდფ)-ის გარდაქმნა CoASH, სუქცინატამდე და ატფ (ან გტფ)-მდე. ეს უკანასკნელი რეაქცია სუქცინილ-CoA-ლიგაზას მიერ კატალიზდება. ჩვენს მიერ მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა, რომ ჰიპოთირეოზის დროს ალფა-კეტოგლუტარატ დამოკიდებული ატფ-ის პროდუქცია შემცირებულია ორივე ტიპის მიტოქონდრიაში და ვირთაგვების თიროქსინით მკურნალობის შემდეგ ამ ტიპის ატფ-ის სინთეზი ნორმას უბრუნდება მხოლოდ CM-ში. თიროქსინისაგან განსხვავებით ნობილეტინის დამატება ზრდის ალფა-კეტოგლუტარატ დამოკიდებულ ატფ-ის პროდუქციას ორივე ტიპის მიტოქონდრიებში.



სურ.34 ალფა-კეტოგლუტარატ დამოკიდებული ატფ-ის სინთეზის ცვლილებები ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედულ (CM) და სინაპსურ (SM) მიტოქონდრიებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტის შედეგების საშუალო მაჩვენებელს. $P < 0.05$

2.9. ჰექსოკინაზას აქტივობის ცვლილება ჰიპოთირეოზის დროს

ჰექსოკინაზა (HK) წარმოადგენს ფერმენტს, რომლის აქტივობაც ხშირად იცვლება ჰიპომეტაბოლურ პირობებში და სიმსივნური ტრანსფორმაციის დროს. აქედან გამომდინარე, განვსაზღვრეთ mt-HK-ას აქტივობა ატფ-ის როგორც ინტრამიტოქონდრიული გზით წარმოქმნის (endo ATP) (იხ. სურ.35ა) ასევე ეგზოგენურად დამატების (exo ATP) (იხ. სურ.35.ბ) პირობებში. აღმოჩნდა, რომ ჰიპოთიროიდული ვირთაგვების ჰიპოკამპში მიტოქონდრიული HK-ას აქტივობა, რომელიც განისაზღვრა ატფ-ის ეგზოგენურად დამატების (exo ATP) პირობებში, მომატებულია საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით, მაშინ როდესაც, აღნიშნული ფერმენტის აქტივობა, სუბსტრატად ინტრამიტოქონდრიული გზით წარმოქმნილი ატფ-ის (endo ATP) გამოყენებისას შემცირებულია საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით CM-ში. საინტერესოა, რომ ორივე შემთხვევაში mt-HK-ას აქტივობა უზრუნდება ნორმას საკვებში ნობილეტინის დამატების შემდეგ.

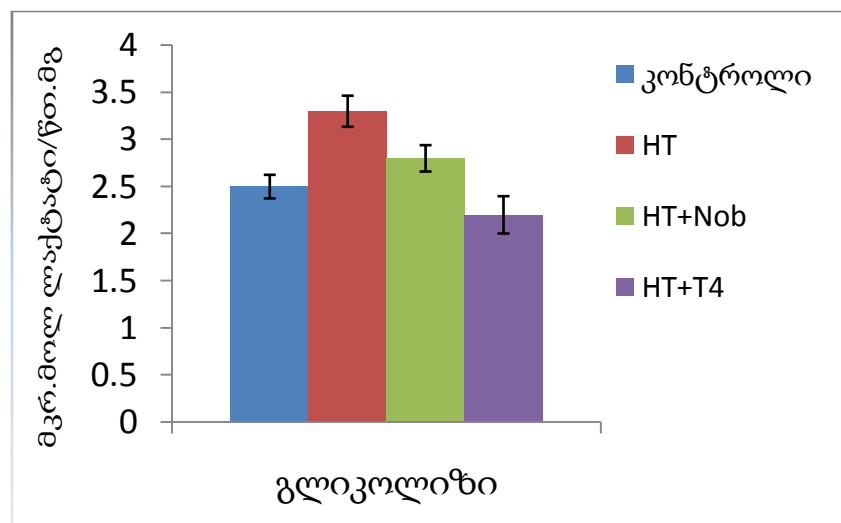


სურ.35 მიტოქონდრიული ჰექსოკინაზას (HK)-ას აქტივობის ცვლილება ატფ-ის ინტრამიტოქონდრიული გზით წარმოქმნის (endo ATP) (ა) ასევე ეგზოგენურად დამატების (exo ATP) (ბ) პირობებში ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის უჯრედულ (CM) და სინაპსურ (SM) მიტოქონდრებში. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტის შედეგების საშუალო მაჩვენებელს. P<0.05

2.10. გლიკოლიზის დონის ცვლილება ჰიპოთირეოზის დროს

ცნობილია, რომ თავის ტვინში, აერობული პირობების დროსაც კი, წარმოიქმნება ჭარბი რაოდენობით ლაქტატი (გლიკოლიზის საბოლოო პროდუქტი) (Hashimoto et al.

2008), რომელიც ინტაქტურ ტვინში ხმარდება ნერვული უჯრედების აქტივობას (Wyss et al. 2011). იმისათვის, რომ შეგვესწავლა აერობული გლიკოლიზის დონე ჰიპოთიროიდულ პირობებში, განვსაზღვრეთ ლაქტატის წარმოქმნა რეკონსტრუირებულ სისტემებში, რომლებიც შეიცავდა CM-ს და პოსტმიტოქონდრიულ ფრაქციას (სურ.36). ვნახეთ, რომ ჰიპოთიროიდული ცხოველების ჰიპოკამპიდან მიღებულ რეკონსტრუირებულ სისტემებში გლიკოლიზის დონე არის მაღალი, მიუხედავად იმისა, რომ შესაბამის პოსტმიტოქონდრიულ ფრაქციაში ჰექსოკინაზური აქტივობა არის დაბალი. T4-ით ნამკურნალებ ცხოველებში კი, ისევე როგორც იმ ცხოველებში, რომლებიც იღებდნენ ნობილეტინს, ლაქტატის წარმოქმნის დონე უბრუნდება ეუთიროიდულ მაჩვენებელს. მიღებული შედეგები მიუთითებენ, რომ თიროიდული ჰორმონების ნაკლებობა იწვევს აერობული გლიკოლიზის გაძლიერებას CM-ს სავარაუდოდ მიტოქონდრიული ჰექსოკინაზას გააქტივების გზით.



სურ.36 გლიკოლიზის დონის ცვლილება ეუთიროიდული (კონტროლი), ჰიპოთიროიდული (HT), ჰიპოთიროიდული + ნობილეტინი (HT+Nob) და ჰიპოთიროიდული + T₄ (HT+T₄) ვირთაგვების ჰიპოკამპის რეკონსტრუირებულ სისტემებში, რომლებიც შეიცავდა CM-ს და პოსტმიტოქონდრიულ (PMF) ფრაქციას. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები წარმოადგენენ ოთხი დამოუკიდებელი ექსპერიმენტის შედეგების საშუალო მაჩვენებელს. $P < 0.05$

შედეგების განხილვა

ამრიგად, მიღებული მონაცემები მეტყველებენ იმაზე, რომ ნერვული უჯრედების ერთ-ერთი მთავარი რეგულაციური ელემენტი - Ras და მისი დაღმავალი ეფექტორები - Akt და ERK პროტეინკინაზები საგრძნობ ცვლილებებს განიცდიან ჰიპოკამპის უჯრედებში ჰიპოთირეოზის დროს. ჰიპოთირეოზის დროს ადგილი აქვს Ras-ცილის რელოკაციას, რაც ნაწილობრივ აღდგება ცხოველების თიროქსინით და ნობილეტინით დამუშავების შედეგად. აღსანიშნავია, რომ ნობილეტინის და თიროქსინის აღდგენითი ეფექტი მკაფიოდ არის გამოხატული ენდოპლაზმურ ბადეში, რომელიც ორივე Ras-ისტვის პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიკაციის (ფარნეზილირება, მეთილირება, პალმიტილირება) ძირითად ადგილს წარმოადგენს. მნიშვნელოვანია ისიც, რომ ენდოპლაზმურ ბადეში ჰიპოთირეოზის დროს Ras-ის იზოფორმების ცვლილებები საპირისპირო ხასიათს ატარებს - K-Ras-ის რაოდენობა მცირდება, ხოლო - H-Ras-ის იზრდება. ეს ურთიერთსაპირისპირო ცვლილებები დამოკიდებული უნდა იყოს იმაზე, რომ K-Ras-ისაგან განსხვავებით, H-Ras ენდოპლაზმურ ბადეზე განიცდის პალმიტირებას, რაც მისი რეციკლიზაციის (ტრანსლოკაციური ბრუნვის) ძირითად მამოძრავებელ ძალას წარმოადგენს ენდოპლაზმურ ბადესა და პლაზმურ მემბრანას შორის (Cox AD, et al. 2015) როგორც *in vitro*, ასევე ცხოველურ მოდელებზე ჩატარებული კვლევებით ნანახია, რომ K-Ras და H-Ras განსხვავებულ, მაგრამ ურთიერთგადამფარავი სპეციფიკურობა დაღმავალი სასიგნალო გზების მიმართ (Carón RW, et al; 2005). ამასთან, K-Ras4B-ის უნიკალურ ეფექტორს წარმოადგენს ინოზიტოლ ტრიფოსფატის რეცეპტორი, რომელიც K-Ras-ის სხვა ეფექტორების მიერ ინიცირებულ ანტიაპოპტოზური სიგნალების ანტაგონისტურია (Sung PJ, et al. 2013).

სოლუბილიზირებულ უჯრედული მიტოქონდრიების ფრაქციაში IP3R-თან დაკავშირებული BiP ცილის რაოდენობის განსაზღვრის შედეგად გაირკვა, რომ ჰიპოთირეოზის დროს ადგილი აქვს IP3R-თან დაკავშირებული BiP-ის რაოდენობისკლებას. ვინაიდან IP3R-თან დაკავშირებული BiP რაოდენობა

განსაზღვრავს IP3R-ის ფუნქციონირებას და მის მიერ კალციუმის გატარების უნარს, ამ იონების შედინებას მიტოქონდრიებში, და შესაბამისად კრებსის ციკლის აქტივობას, ჰიპოთირეოზის დროს IP3R-თან დაკავშირებული BiP-ის რაოდენობრივი კლებას თანუნდა ახლდეს ბიოენერგეტიკული პროცესების ინტენსივობის შემცირება.

მცირე ზომის Rho GTP-აზები (მაგ. Rho, Rac, CDC42) ჩართულნი არიან სხვადასხვა ფსიქიური და ნევროლოგიური დარღვევების ნეიროპათოგენეზში და წარმოადგენენ კრიტიკულ მედიატორებს ნეირონული ზრდის ზონის დინამიკის, დენდრიტული მორჩების ფორმირებისა და აქსონური გზის განსაზღვრის პროცესებში (Pertz O. 2010). როგორც წესი, Rac და მისი დადმავალი ეფექტორები განაპირობებენ ნეირონების სიცოცხლისუნარიანობას. აღნიშნულ ცილებს შეუძლიათ წარმოქმნან მულტიცილოვანი კომპლექსები, რომლებიც აუცილებელია დადმავალი გზებით სიგნალის გადაცემისათვის. Rac-ის მთავარი ეფექტორი ნეირონებში აძლიერებს Bcl-2 ოჯახის ცილების ანტიაპოპტოზური წარმომადგენლების (მაგ. Bcl-xL) ექსპრესიას (Johnson K, D'Mello SR. 2005. Linseman DA, Loucks FA. 2008. Stankiewicz TR, Linseman DA. 2014). როგორც ცნობილია, Rac 1 ჩართულია NADPH ოქსიდაზას კომპლექსში და მონაწილეობს აღნიშნული კომპლექსის გააქტივებაში, რაც განაპირობებს ROS-ის წარმოქმნას (Hordijk PL. 2006). Rac 1 ურთიერთქმედებს ცილოვან კომპლექსთან, რომელიც შეიცავს IP3R-ს, BiP-სა და Bcl2-ს და შესაძლებელია არეგულირებდეს ER-მიტოქონდრიულ ურთიერთქმედებებს (Natsvlishvili N., et al; 2015). მიღებული შედეგები საფუძველს გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ IP3R-BiP-ის კომპლექსის დისოციაციას ჰიპოთირეოზის დროს არ ახლავს Rac ცილის აფრეგულაცია მიტოქონდრიულ ფრაქციაში.

ამრიგად, მიღებული მონაცემების საფუძველზე ირკვევა, რომ ჰიპოთირეოზი იწვევს ბიოენერგეტიკული პროცესების შესუსტებას, რომელიც აისახება როგორც ენდოპლაზმური ბადის სასიგნალო გზებზე, ასევე მიტოქონდრიულ სისტემებზე. ერთის მხრივ, IP3R-თან დაკავშირებული BiP-ის რაოდენობრივი კლება და კალციუმის სუსტი მობილიზაცია მიტოქონდრიებში, ხოლო მეორე მხრივ, მიტოქონდრიების შერწყმის პროცესების გაძლიერება და პროაპტოზური ცილების სიჭარბე, რაც ენერგეტიკული

სტრესის საპასუხო რეაქციას წარმოადგენს (Richard J. Youle and Alexander M. 2012) მეტყველებს ჰიპოთირეოზის დროს მიმდინარე ბიოენერგეტიკული პროცესების შემცირების საპასუხოდ ჩართულ კომპენსატორულ რეაქციებზე. ამ მხრივ აღსანიშნავია ის გარემოება, რომ თიროქსინული თერაპია უფრო ქმედითია, ვიდრე ნობილექტინით დამუშავება, რადგან ეს უკანასკნელი, მიტოქონდრიული დინამიკის დარღვევების კორექციას არ განაპირობებს.

საინტერესოა, რომ ციტრუსის ფლავონოიდის ნეიროპროტექტორული ეფექტი, რომლის მოლეკულური მექანიზმი განსხვავდება თიროქსინის ზემოქმედების მოდელისაგან, არ მოიცავს ჟანგვითი ფოსფორილების მარეგულირებელი დეაქტილზას - სირტუინ-3-ის აქტივაციას. სირტუინ-3-ის აქტივატორები ნაწილობრივ მცენარეული წამორშობის მრავალნაერთს შორის (მაგ., რესვერატროლი) და ფართოდ გამოიყენება იმ სიმსივნური პროცესების დროს, როდესაც ადგილი აქვს ჟანგვითი ფოსფორილების დათრგუნვას და გლიკოლიზის გაძლიერებას (ე.წ. ვარბურგის ეფექტი). ის ფაქტი, რომ ნობილექტინი არ აღმოჩნდა სირტუინის აქტივატორი და შესაძლოა ახდენდეს მიტოქონდრიული ბიოენერგეტიკის უფრო რთულ და შერჩევით რეგულაციას, იძლევა მისი გამოყენების საშუალებას სუნთქვითი ჯაჭვის დარღვევით მიმდინარე დაავადებების დროსაც.

ფართოდაა აღიარებული, რომ თ3-ს მნიშვნელოვანი როლი აკისრიათ ზრდასრული ორგანიზმის თავის ტვინის ფუნქციონირებაში და ისინი გავლენას ახდენენ განწყობასა და შემეცნებაზე (Bauer et al. 2008). ჰიპოკამპი წარმოადგენს თავის ტვინის ერთ-ერთ უმთავრეს უბანს, რომელიც ზიანდება ქცევითი და კოგნიტური დარღვევების დროს. რამდენადაც ჟანგბადის ნაკლებობა და ჟანგბადის შემცირებული მოხმარება წარმოადგენენ ფაქტორებს, რომლებიც იწვევენ ჰიპოკამპის დაზიანებას, მოცემული კვლევის ფარგლებში შევისწავლეთ ჰიპოთირეოზის გავლენა ჰიპოკამპის მიტოქონდრიების სუბპოპულაციებზე. ჩვენი კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ ჰიპოთირეოზის დროს, CM-ს მემბრანული პოტენციალი შემცირებულია და იმავდროულად გაზრდილია mtNOS აქტივობა და ციტოქრომ ოქსიდაზას სპილენძის იონის დაჟანგულობის ხარისხი. მოცემული ცვლილებები სავარაუდოდ გაზრდილი

უნდა იყოს NOS-ს ტრანსლოკაციით, NO-ს სინთეზის გაძლიერებით და ციტოქრომ ოქსიდაზას ინჰიბირებით, რაც ნანახი იქნა ღვიძლიდან და ჩონჩხის კუნთებიდან იზოლირებულ მიტოქონდრებში (Finocchietto et al. 2009). გარდა ამისა, ვნახეთ, რომ ჰიპოთიროიდული ცხოველების CM-ში წყალბადის ზეჟანგის პროდუქცია გაზრდილია მხოლოდ I კომპლექსის სუბსტრატების (მალატი + გლუტამატი) თანაობისას, მაშინ როდესაც სუქცინატის თანაობისას წყალბადის ზეჟანგის პროდუქცია შემცირებულია. თუ მხედველობაში მივიღებთ იმას, რომ ჰიპოთირეოზის დროს ადგილი აქვს NOS - ს ტრანსლოკაციას მიტოქონდრიაში, წყალბადის ზეჟანგის პროდუქციის მატება I კომპლექსის სუბსტრატების არსებობისას შესაძლებელია იყოს NO-ს მიერ მიტოქონდრიული I კომპლექსის ინაქტივაციის შედეგი (Franco et al. 2006). რამდენადაც ელექტრონების რევერსული ტრანსპორტი (RET) II კომპლექსიდან I კომპლექსზე წარმოადგენს სუქცინატით აღძრული ROS-ის გენერაციის მთავარ გზას, წყალბადის ზეჟანგის პროდუქციის შემცირება CM-ში სუქცინატის თანაობისას სავარაუდოდ, განპირობებული უნდა იყოს ელექტრონების უკუტრანსპორტის - RET-ის შემცირებით, რაც თავის მხრივ I კომპლექსის ინაქტივაციითაა გამოწვეული (Votyakova and Reynolds 2001). ნობილეტინის ეფექტი ამ შემთხვევაში შეიძლება აიხსნას მისი პოტენციალით დააკორექტიროს ელექტრონთა ტრანსპორტი I კომპლექსიდან და ამ გზით შეამციროს ROS-ის პროდუქცია.

გარდა ამისა, ჰიპოთიროიდული ვირთაგვების ჰიპოკამპიდან მიღებულ CM-ში აკონიტაზას აქტივობა აღმოჩნდა გაცილებით დაბალი SM-თან შედარებით. აკონიტაზა წარმოადგენს ოქსიდაციური სტრესის მგრძნობიარე და სპეციფიკურ მარკერს, ამასთან, იმისდა მიხედვით თუ როგორი სიძლიერის და ხაგრძლივობისაა ოქსიდაციური სტრესი და ასევე მიტოქონდრიის მეტაბოლური მდგომარეობიდან გამომდინარე, აღნიშნულმა ფერმენტმა შესაძლოა განიცადოს აქტივობის შექცევადი ცვლილება (Bulteau et al. 2005). ჩვენს მიერ მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა, რომ აკონიტაზას აქტივობა აღდგა თიროქსინით მკურნალობის შემდეგ, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ ჰიპოთირეოზი იწვევს ზომიერ და შექცევად ოქსიდაციურ/ნიტროზულ სტრესს, რაც განპირობებული NO-ს ჭარბი პროდუქციით. მიტოქონდრიული NOS-ს აქტივობის ამგვარი მატება

სავარაუდოდ დამოკიდებულია Ca^{2+} -ის დონის ცვლილებაზე, რამდენადაც კალციუმი მიტოქონდრიაში NO-ს პროდუქციის ძირითადი მარეგულირებელია (Giulivi et al. 2006). ჰიპოთირეოზი ზრდასრულებში იწვევს შერჩევით ნიტროზულ/ჟანგვით სტრესს ჰიპოკამპში, რაც გავლენას ახდენს ROS-მგრძნობიარე ფერმენტების აქტივობაზე (Phillips D., et al 2009. Dabrundashvili N.G., et al 2011). ჟანგველი სისტემების მიმართ ერთ-ერთი ყველაზე მგრძნობიარე ფერმენტი TCA ციკლში არის ალფა-კეტოგლუტარატ დეჰიდროგენაზული კომპლექსი (KGDHC), რომლის აქტივობაც შეუღლებულია სუქცინილ-CoA-ლიგაზასთან (SCS) (Chinopoulos., et al; 2010). ეს უკანასკნელი აუცილებელია თავის ტვინში სუბსტრატული ფოსფორილების გზით მატრიქსული ატფ-ის გენერაციისათვის. გარკვეული პათოლოგიური მდგომარეობების დროს სუბსტრატული ფოსფორილების შედეგად მიღებული ენერგიით ხდება მიტოქონდრიის მემბრანული პოტენციალის შენარჩუნება (Nakajima A., et al; 2007) და გლიკოლიზისა და ჟანგვითი ფოსფორილების დანაკლისის კომპენსირება (Mazzio FA., et al; 2011. Matsuzaki K., et al; 2006. Yamamoto Y., et al; 2009). იმის გათვალისწინებით, რომ ჰიპოთირეოზი იწვევს ელექტრონების სატრანსპორტო ჯაჭვის აქტივობის შემცირებას, შევისწავლეთ სუბსტრატული ფოსფორილების ინტენსივობა ჰიპოთიროიდული ვირთაგვების CM და SM ფრაქციებში. ვნახეთ, რომ ჰიპოთიროიდულ პირობებში ოლიგომიცინ-არამგრძნობიარე ატფ-ის პროდუქცია, ისევე როგორც ალფა-კეტოგლუტარატ დამოკიდებული ატფ-ის სინთეზი შემცირებულია ორივე ტიპის მიტოქონდრიაში. ვირთაგვების თიროქსინით მკურნალობის შედეგად ალფა-კეტოგლუტარატ დამოკიდებული ატფ-ის პროდუქცია გაიზარდა მხოლოდ CM-ში, მაშინ როდესაც ვირთაგვებისათვის საკვებში ნობილეტინის დამატების შედეგად ალფა-კეტოგლუტარატ დამოკიდებული ატფ-ის სინთეზი გაიზარდა ორივე ტიპის მიტოქონდრიაში. როგორც ჩანს, ნობილეტინს უნარი აქვს გააძლიეროს ატფ-ის სინთეზი ორივე ტიპის მიტოქონდრიაში ალფა-კეტოგლუტარატული რეაქციის პირდაპირი გააქტივების გზით, მაშინ როდესაც თიროქსინით მკურნალობა აძლიერებს მიტოქონდრიულ ბიოენერგეტიკას სავარაუდოდ სხვა გზით, რომელიც შესაძლოა გულისხმობდეს მაგ.

ადენინ ნუკლეოტიდ ტრანსლოკაზების გააქტივებას (Williams GR. 2008) ან მიტოქონდრიული განვლადობის არხის კომპონენტების ცვლილებას.

ჰიპოთირიდიული ცხოველების CM-ში ნანახი იქნა SDH აქტივობის მატება, რაც სავარაუდოდ წარმოადგენს კომპენსატორულ საპასუხო რეაქციას TCA ციკლის პირველი ნახევრის ფერმენტების აქტივობის კლებაზე (Dabrundashvili N.G. et. Al; 2011). SDH-ის აღნიშნული კომპენსატორული ზრდა მცირედება ნობილეტინის მიღების შემდეგ, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ მოცემულ ნაერთს, თიროქსინისაგან განსხვავებით, შეუძლია შეცვალოს სუქცინატის პროდუქცია KGDHC/SCS შეუღლებული რეაქციების მიერ. SDH-ინაქტივობა მნიშვნელოვნად იყო შემცირებული ჰიპოთირიდიული ცხოველების SM-ში. აქტივობის აღნიშნული კლება არ აღდგა ნობილეტინის მიღების შედეგად, მაგრამ დაუბრუნდა ნორმას თიროქსინით ნამკურნალებ ცხოველებში, მიღებული მონაცემები მიუთითებენ, რომ SDH-ზე ნობილეტინის ეფექტი მნიშვნელოვნად განსხვავდება თიროქსინის მოქმედებისაგან. აქედან გამომდინარე, ნობილეტინი სავარაუდოდ აძლიერებდეს ატფ-ის სინთეზს მატრიქსული სუბსტრატული ფოსფორილების გაძლიერების გზით, რაც მნიშვნელოვანი შეიძლება იყოს II კომპლექსის სუქცინატით მომარაგებისათვის. ნობილეტინი არ ახდენს საკუთრივ სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის მატებას.

ჩვენი კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ ჰიპოთირეოზი ზრდასრულ ორგანიზმებში იწვევს TCA ციკლის შენელებას, რაც განაპირობებს ჰექსოკინაზური აქტივობისა და გლიკოლიზის კომპენსატორულ გაძლიერებას ჰიპოკამპის CM-ში (Zhuravliova E., et al 2012). გლიკოლიზური მეტაბოლიზმის მსგავს ადაპტაციურ გააქტივებას ადგილი არ აქვს სინაპსურ მიტოქონდრიებში, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ SM-ის მგრძნობელობა ენერგეტიკული დარღვევების მიმართ განსხვავებულია. სადისერტაციო კვლევის ფარგლებში, ჩვენ განვსაზღვრეთ mt-HK-ს აქტივობა ჰიპოთირიდიული ცხოველებისათვის საკვებში ნობილეტინის დამატების შემდგომ და ვნახეთ, რომ აღნიშნული ფლავონოიდი, თიროქსინის მსგავსად, ამცირებს mt-HK-ს აქტივობას კონტროლის დონემდე CM-ში. თუმცა, თიროქსინისაგან განსხვავებით, SM-ში ნობილეტინის მოქმედების შედეგად mt-HK-ს აქტივობა დაუბრუნდა კონტროლის

მაჩვენებელს მხოლოდ იმ შემთხვევაში, როცა მოცემული ფერმენტი სუბსტრატად მოიხმარდა მიტოქონდრიის მიერ სინთეზირებულ ატფ-ს. მიღებული მონაცემები ადასტურებენ მოსაზრებას, რომ ნობილეტინს უნარი აქვს გააძლიეროს ატფ-ის სინთეზი ორივე ტიპის მიტოქონდრიაში, სავარაუდოდ, მატრიქსული სუბსტრატული ფოსფორილების გააქტივების გზით.

ჩვენი კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ ჰიპოთიროიდულ პირობებში აერობული გლიკოლიზის გაძლიერება ხდება მხოლოდ CM-ში (ფრაქცია, რომელიც ძირითადად ასტროციტების მიტოქონდრიებს შეიცავს) (Berkich et al. 2007). რამდენადაც ნეირონებში ვერ ხდება გლიკოლიზის აფრეგულაცია ჟანგვითი სტრესის საპასუხოდ 6-ფოსფოფრუქტო-1-კინაზას აქტივობის ნაკლებობის გამო (Almeida et al. 2004), შესაძლებელია დავასკვნათ, რომ მხოლოდ ასტროციტების მიტოქონდრიებს შეუძლიათ გააძლიერონ გლიკოლიზური მეტაბოლიზმი ჰიპოთიროიდული პირობების საპასუხოდ. საინტერესოა ისიც, რომ ნეირონებისაგან გასხვავებით ასტროციტებში გლიკოლიზი ძლიერდება აზოტის ოქსიდის მიერ მიტოქონდრიული ციტოქრომ c ოქსიდაზას ინჰიბირების შემდეგ (Almeida et al. 2001), რაც ჩვენი შედეგებითაც დადასტურდა.

ასტროციტებში წარმოქმნილი ლაქტატი წარმოადგენს ალტერნატიულ ენერგიის წყაროს, რომელსაც თავის ტვინი იყენებს რთულ სიტუაციებში (Pellerin and Magistretti 2003; Magistretti 2006; Quistorff et al. 2008). ლაქტატი, რომელიც ასტროციტებში წარმოიქმნება გლიკოლიზის პროცესში, შესაძლებელია დაიჟანგოს ნეირონების მიერ TCA ციკლში, რასაც თან ახლავს ატფ-ს მნიშვნელოვანი რაოდენობის სინთეზი (Schurr 2006). ამგვარად, შესაძლებელია, დავასკვნათ, რომ ჰიპოთირეოზის დროს ასტროციტების მიტოქონდრიული დისფუნქცია განაპირობებს ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის გადართვას აერობული სუნთქვიდან გლიკოლიზურ მეტაბოლიზმზე. გლიკოლიზის ამგვარი კომპენსატორული გაძლიერების შედეგად იზრდება ლაქტატის პროდუქცია, რომელიც შესაძლებელია ტრანსპორტირდეს ნეირონებში (სინაპსურ დაბოლოებებში) ლაქტატის მაქოს საშუალებით. რამდენადაც ლაქტატის დაჟანგვა უპირატესად ნეირონებში მიმდინარეობს, ამგვარი ნეირონულ-გლიური ურთიერთობები შესაძლოა მნიშვნელოვან როლს ასრულებდნენ ნეირონების ენერგიით

უზრუნველყოფაში ჰიპოთირეოზის დროს. მიღებული მონაცემები ხსნიან ახალ პერსპექტივებს თიროიდული დისფუნქციების კვლევაში და შესაძლოა გამოყენებული იქნას ახალი თერაპიული მიდგომების განვითარებისათვის ზრდასრულ ორგანიზმებში ჰიპოთირეოზის თერაპიის დაგეგმისათვის.

თიროქსინის ჩანაცვლებითი თერაპია მოითხოვს დოზის მუდმივ მონიტორინგს და კორექციას. გარდა ამისა, დაკავშირებულია მთელ რიგ გვერდით მოვლენებთან, რაც აიხსნება ამ ჰორმონის ბირთვულ რეცეპტორთან მისი დაკავშირებით და გენთა ექსპრესიის ცვლილებით, ასევე პლაზმურ მემბრანაში არსებულ ინტეგრინებზე (მაგ., $\alpha\beta_3$) მოქმედებით (Davis PJ et al; 2009). უკანასკნელი მონაცემებით, თიროქსინი და მისი წარმოებულები ინტეგრინებთან ურთიერთქმედების გზით ჩართულია ავთვისებიანი სისმსივნის პროგრესიის, მეტასტაზირების და ანგიოგენეზის ზოგიერთ მექანიზმში (Davis PJ et al; 2015).

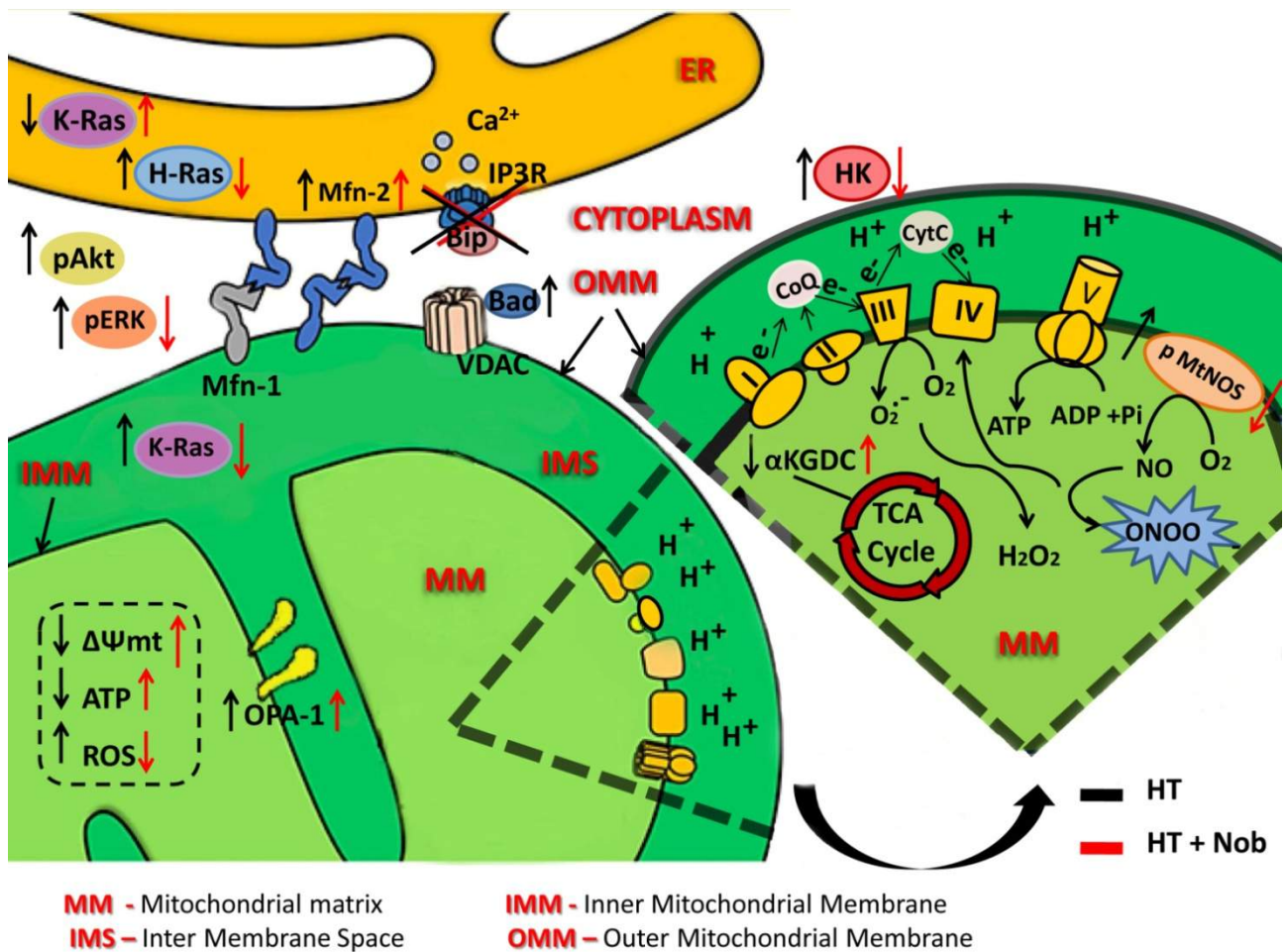
ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, აქტუალური ხდება ჰიპოთირეოზის და ზოგადად ჰიპომეტაბოლური სინდრომის ალტერნატიული თერაპიის მოძიება. ამ თვალსაზრისით განსაკუთრებული ყურადღება ექცევა მცენარეული წარმოშობის ბიოლოგიურად აქტიურ ნაერთებს, რომლებსაც ფართო თერაპიულ სპექტრთან ერთად გაცილებით დიდი თერაპიული ინდექსი აქვთ, რაც თავის მხრივ დოზის მუდმივი კორექციის პრობლემასაც ხსნის. ციტრუსის ფლავონოიდების დადებით თვისებებზე ბევრია ცნობილი, მაგრამ მათი მოქმედების ზუსტი მოლეკულური მექანიზმები შესწავლილი არ არის, რაც აბრკოლებს მათ თერაპიული აგენტის სახით გამოყენებას. ნობილეტინი მაღალი ლიპოფილურობის გამო უჯრედში კარგი შეღწევადობით ხასიათდება და ბიოენერგეტიკის რეგულაციის მხრივ მიმზიდველ ნაერთს წარმოადგენს. ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემები ადასტურებენ ვარაუდს, რომ ნობილეტინს, თიროქსინისაგან განსხვავებით, უნარი აქვს გაზარდოს ატფ-ის წარმოქმნა (სავარაუდოდ, სუბსტრატული ფოსფორილების გააქტივების გზით), რაც აუცილებელია ატფ-ის ინტრამიტოქონდრიული დონისა და მიტოქონდრიის მემბრანული პოტენციალის შენარჩუნებისათვის როგორც უჯრედულ, ისე სინაპსურ მიტოქონდრიებში. ეს მექანიზმი სავარაუდოდ მოიცავს სუნთქვითი ჯაჭვის

კომპლექსების რეორიენტაციას, რასაც მოჰყვება ROS-ის პროდუქციის შემცირება და ელექტრონთა დინების ცვლილება. აღნიშნული პროცესი მნიშვნელოვნად აუმჯობესებს უჯრედის ბიოენერგეტიკას და გვესახება უნივერსალურ მექანიზმად ამ ნაერთის როგორც პროტექტორული (მათ შორის ნეიროპროტექტორული), ასევე ციტოტოქსიკური (მაგ., სიმსივნის დროს) ეფექტისათვის.

დასკვნები

1. ჰიპოთირეოზის შედეგად ადგილი აქვს სასიგნალო მარეგულირებელი მაკრომოლეკულების შიდაუჯრედული განაწილების ცვლილებას. ნანახია, რომ თიროიდული ჰორმონების სიმცირე იწვევს K-Ras-ის კლებას ენდოპლაზმურ ბადეზე, რის გამოც ამ რეგულატორული ელემენტის დადმავალი პროტეინკინაზები (Akt, ERK) საგრძნობ ცვლილებებს განიცდის. K-Ras-ის რაოდენობრივი ცვლილებები აღინიშნება აგრეთვე მიტოქონდრიებშიც.
2. ჰიპოთირეოზი იწვევს ენდოპლაზმურ ბადეზე ცილის IP3R-თან დაკავშირებული BiP-ის რაოდენობრივ კლებას და კალციუმის სუსტ მობილიზაციას მიტოქონდრიებში, ხოლო მეორე მხრივ, აღინიშნება მიტოქონდრიების შერწყმის პროცესების გაძლიერება (OPA-1 და Mfn-2) და პროაპტოზური ცილების სიჭარბე, რაც მეტყველებს ჰიპოთირეოზის დროს მიმდინარე ბიოენერგეტიკული პროცესების შემცირების საპასუხოდ ჩართულ კომპენსატორულ რეაქციებზე.
3. ჰიპოთირეოზის დროს ადგილი აქვს არასინაპსურ მიტოქონდრიებზე მიტოქონდრიული NOS-ს (mtNOS) რაოდენობის და აქტივობის მატებას, რასაც მოჰყვება სუნთქვითი ჯაჭვის ინჰიბირება და მიტოქონდრიული მემბრანის პოტენციალის დაქვეითება. ამ პათოლოგიური მდგომარეობის დროს მიმდინარეობს ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების წარმოქმნა, რომლებიც მიტოქონდრიებში არსებულ რედოქს-მგრძნობიარე კომპონენტების დათრგუნვას განაპირობებენ.
4. ჰიპოთირეოზის დროს ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების წარმოქმნის, ჟანგვითი ფოსფორილების დათრგუნვის, ატფ-სინთეზის შემცირების და ჟანგბადის მოხმარების დაქვეითების ფონზე მიმდინარეობს ჰექსოკინაზას აქტივობის კომპენსატორული მატება, რაც დამახასიათებელი უნდა იყოს მხოლოდ გლიური უჯრედებისთვის. დადგენილია, რომ სინაპსურ დაბოლოებებში გლიკოლიზური მეტაბოლიზმის აქტივაცია არ ხდება.

5. ციტრუსებიდან გამოყოფილი ბიოლოგიურად აქტიური ფლავონოიდი - ნობილეტინი ნაწილობრივ აღადგენს ჰიპოთირეოზით დათრგუნულ მიტოქონდრიულ მეტაბოლიზმს ჰიპოკამპის უჯრედებში, რაც სავარაუდოდ მოიცავს მიტოქონდრიის მატრიქსში მიმდინარე სუბსტრატული ფოსფორილების გაძლიერებას.
6. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ჰიპოთირეოზი ვირთაგვების ჰიპოკამპში იწვევს ბიოენერგეტიკული პროცესების შესუსტებას, რომელიც განპირობებულია როგორც ენდოპლაზმური ბადის სასიგნალო გზების, ასევე მიტოქონდრიული სისტემების ცვლილებებით. აღნიშნული ცვლილებების საპასუხოდ გლიურ უჯრედებში ხდება კომპენსატორული მექანიზმების ჩართვა, რომელიც თავის მხრივ ხელს უწყობს სინაპსური პროცესების ენერგეტიკულ უზრუნველყოფას. ნობილეტინით კვება ჰიპოთირეოზის დროს აღმოჩენილ ნერვული უჯრედების ენერგეტიკულ სტატუსს, აძლიერებს ატფ-ის სინთეზს, ზრდის მემბრანულ პოტენციალს და ამცირებს ოქსიდაციური სტრესით გამოწვეულ დარღვევებს.



სქემა 1. ჰიპოთირეოზით გამოწვეული ცვლილებები ნერვული უჯრედების მეტაბოლიზმსა და რეგულაციური ცილების დინამიკაში და ნობილეტინის ეფექტი აღნიშნულ ცვლილებებზე.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Allemann N. and Schneider A. ATP production in isolated mitochondria of procyclic *Trypanosoma brucei*. *Molecular and Biochemical Parasitology* (2000) 111, 87–94.
2. Allen N. and Barres B. Glia- more than just brain glue. *NATURE*. (2009). Vol 457|5.
3. Almeida A, Almeida J, Bolan~os JP, Moncada S Different responses of astrocytes and neurons to nitric oxide: the role of glycolytically-generated ATP in astrocyte protection. *Proc Natl Acad Sci USA* (2001) 98:15294–15299.
4. Almeida A, Moncada S, Bolan~os JP Nitric oxide switches on glycolysis through the AMP protein kinase and 6-phosphofructo-2-kinase pathway. *Nat Cell Biol* (2004) 6:45–51.
5. Altucci L, Gronemeyer H. Nuclear receptors in cell life and death. *Trends Endocrinol Metab.*(2001);12(10):460–468.
6. Alzoubi KH, Gerges NZ, Aleisa AM, Alkadhi KA. Levothyroxin restores hypothyroidism-induced impairment of hippocampus-dependent learning and memory: behavioral, electrophysiological, and molecular studies. *Hippocampus* (2009).19:66–78.
7. Amaral, A.I., Meisingset, T.W., Kotter, M.R., Sonnewald, U., Metabolic aspects of neuron-oligodendrocyte-astrocyte interactions. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* (2013).4:54.
8. Antunes F, Boveris A, Cadenas E On the mechanism and biology of cytochrome oxidase inhibition by nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* (2004) 101(48):16774–16779.
9. Attwell, D., and S.B. Laughlin.. An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *J.Cereb. Blood Flow Metab.*(2001). 21:1133–1145.
10. Axelband, F., Dias, J., Ferrro, F.M., Einicker-Lamas, M.J., Nongenomic signaling pathways triggered by thyroid hormones and their metabolite 3-iodothyronamine on the cardiovascular system. *J. Cell. Physiol.* (2011). 226 (1), 21–28.
11. Azzu V, Brand MD. The on-off switches of the mitochondrial uncoupling proteins. *Trends Biochem Sci.* (2010). 35(5):298–307.

12. Barbe P, Larrouy D, Boulanger C, et al. Triiodothyronine-mediated up-regulation of UCP2 and UCP3 mRNA expression in human skeletal muscle without coordinated induction of mitochondrial respiratory chain genes. *FASEB J.* (2001). 15(1):13–15.
13. Bassett, J.H., Harvey, C.B., Williams, G.R., Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions. *Mol. Cell. Endocrinol.* (2003). 213 (1), 1–11.
14. Bauer M, et al. Brain glucose metabolism in hypothyroidism: a positron emission tomography study before and after thyroid hormone replacement therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* (2009); 94(8):2922–9.
15. Bauer M, Goetz T, Glenn T, Whybrow PC. The thyroid-brain interaction in thyroid disorders and mood disorders. *J Neuroendocrinol* (2008). 20:1101–1114.
16. Beal, M.F. Aging, energy, and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann. Neurol.* (1995) 38, 357–366.
17. Beck V, Jabůrek M, Demina T, et al. Polyunsaturated fatty acids activate human uncoupling proteins 1 and 2 in planar lipid bilayers. *FASEB J.* (2007); 21(4):1137–1144.
18. Belanger, M., Allaman, I., Magistretti, P.J., Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metab.* (2011). 14, 724–738.
19. Beltrán Felipe A., Acuña Aníbal I., María Paz Miró and Castro Maite A. Brain Energy Metabolism in Health and Disease. *Neuroscience » "Neuroscience - Dealing With Frontiers"* (2012). DOI: 10.5772/36092.
20. Bergh JJ, Lin HY, Lansing L, Mohamed SN, Davis FB, Mousa S, Davis PJ: Integrin $\alpha V\beta 3$ contains a cell surface receptor site for thyroid hormone that is linked to activation of mitogen-activated protein kinase and induction of angiogenesis. *Endocrinology* (2005), 146(7):2864–2871.
21. Berkich DA, Ola MS, Cole J, Sweatt AJ, Hutson SM, LaNoue KF. Mitochondrial transport proteins of the brain. *J Neurosci Res* (2007) 85:3367–3677.
22. Bernal J. Thyroid hormone receptors in brain development and function. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* (2007). 3:249–259.

23. Bernal J. Thyroid hormone transport in developing brain. *Curr Opin Endocrinol Diab Obes* (2011) 18:295–299.
24. Bianco AC, Kim BW. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. *J Clin Invest* (2006) 116:2571–9. 27.
25. Bianco, A.C.,. Minireview: cracking the metabolic code for thyroid hormone signaling. *Endocrinology* (2011). 152 (9), 3306–3311.
26. Bolanos, J.P., Almeida, A., and Moncada, S. Glycolysis: a bioenergetic or a survival pathway? *Trends Biochem.Sci.* (2010). 35, 145–149.
27. Boss O, Hagen T, Lowell BB. Uncoupling proteins 2 and 3: potential regulators of mitochondrial energy metabolism. *Diabetes*. (2000);49(2):143–156.
28. Bracke, M. E., Bruyneel, E. A., Vermeulen, S. J., Vennekens, K., Maeck, V. V., and Mareel, M. N., Citrus flavonoid effect on tumor invasion and metastasis. *Food Technol.*, (1994) 48, 121–124.
29. Brand MD, Affourtit C, Esteves TC, et al. Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radic Biol Med*. (2004);37(6):755–767.
30. Brand MD. The efficiency and plasticity of mitochondrial energy transduction. *Biochem Soc Trans*. (2005) . 33(Pt 5):897–904.
31. Brent GA. The molecular basis of thyroid hormone action. *N Engl J Med*. (1994);331(13):847–853.
32. Brooks, W.M., Lynch, P.J., Ingle, C.C., Hatton, A., Emson, P.C., Faull, R.L., Starkey, M.P., Gene expression profiles of metabolic enzyme transcripts in Alzheimer's disease. *Brain Res*. (2007) . 1127, 127–135.
33. Brown MR, Sullivan PG, Geddes JW Synaptic mitochondria are more susceptible to Ca^{2+} overload than nonsynaptic mitochondria. *J Biol Chem* (2006) 281:11658–11668.
34. Brustovetsky and Dubinsky Dual responses of CNS mitochondria to elevated calcium. *J Neurosci* (2000) 20(1):103–113

35. Bulteau AL, Lundberg KC, Ikeda-Saito M, Isaya G, Szveda LI Reversible redox-dependent modulation of mitochondrial aconitase and proteolytic activity during in vivo cardiac ischemia/reperfusion. PNAS (2005) 102:5987–5991
36. Burchell VS, Gandhi S, Deas E, Wood NW, Abramov AY, Plun-Favreau H. Targeting mitochondrial dysfunction in neurodegenerative disease: Part II. Expert Opin Ther Targets. (2010);14:497-511.
37. Busiello RA, Savarese S, Lombardi A. Mitochondrial uncoupling proteins and energy metabolism. Front Physiol. (2015) 10:6:36.
38. Camara AK, Lesnefsky EJ, Stowe DF. Potential therapeutic benefits of strategies directed to mitochondria. Antioxid Redox Signal. (2010);13:279-347.
39. Campello S., Scorrano L Mitochondria shape changes: orchestrating cell pathophysiology. EMBO Rep (2010) 11: 678–84.
40. Cano-Europa E, Pe´rez-Severiano F, Vergara P, Ortiz-Butro´n R, Ri´os C, Segovia J, Pacheco-Rosado J Hypothyroidism induces selective oxidative stress in amygdala and hippocampus of rat. Metab Brain Dis (2008) 23:275–287.
41. Cao X, Kambe F, Moeller LC, Refetoff S, Seo H: Thyroid hormone induces rapid activation of Akt/protein kinase B-mammalian target of rapamycin/p70S6K cascade through phosphatidylinositol 3-kinase in human fibroblasts. Mol Endocrinol (2005).19(1):102-112.
42. Cao X, Kambe F, Yamauchi M, Seo H: Thyroid-hormone-dependent activation of the phosphoinositide 3-kinase/Akt cascade requires Src and enhances neuronal survival. Biochem J (2009).424(2):201-209.
43. Carageorgiou H, et al. Changes in acetylcholinesterase, Na⁺,K⁺-ATPase, and Mg²⁺-ATPase activities in the frontal cortex and the hippocampus of hyper- and hypothyroid adult rats. Metabolism. (2007) ;56(8):1104–10.
44. Carón RW, Yacoub A, Li M, Zhu X, Mitchell C, Hong Y, Hawkins W, Sasazuki T, Shirasawa S, Kozikowski AP, Dennis PA, Hagan MP, Grant S, Dent P. Activated forms of H-Ras and K-ras differentially regulate membrane association of PI3K, PDK-1 and AKT and

- the effect of therapeutic kinase inhibitors on cell survival. *Mol Cancer Ther.* (2005) Feb;4(2):257-70.
45. Carreras MC, Poderoso JJ Mitochondrial nitric oxide in the signaling of cell integrated responses. *Am J Physiol Cell Physiol*(2007) 292:C1569–C1580.
 46. Casas F, Rochard P, Rodier A, et al. A variant form of the nuclear triiodothyronine receptor α -ErbA_1 plays a direct role in regulation of mitochondrial RNA synthesis. *Mol Cell Biol.*(1999);19(12):7913–7924.
 47. Cassis P, Conti S, Remuzzi G, Benigni A. “Angiotensin receptors as determinants of life span”. *Pflügers Arch* (2010): 459: 325–332.
 48. Chada, S.R. and Hollenbeck, P.J. Mitochondrial movement and positioning in axons: the role of growth factor signaling. *J. Exp. Biol.*(2003) 206:1985–1992.
 49. Chatonnet F, Picou F, Fauquier T, Flamant F. Thyroid hormone action in cerebellum and cerebral cortex development. *J Thyroid Res*(2011) 2011:145762.
 50. Chen C, Ono M, Takeshima M, Nakano S. Antiproliferative and apoptosis-inducing activity of nobiletin against three subtypes of human breast cancer cell lines. *Anticancer Res.* (2014). 34(4):1785-92
 51. Chen H, Chan DC. Mitochondrial dynamics—fusion, fission, movement, and mitophagy—in neurodegenerative diseases. *Hum Mol Genet*(2009) 18:R169–76.
 52. Chen, H., Chan, D.C. Physiological functions of mitochondrial fusion. *Ann N Y Acad Sci.*(2010) 1201,21-5.
 53. Cheng SY, Leonard JL, Davis PJ. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev.*(2010);31(2):139–170.
 54. Chinopoulos C., Gerencsér A.A., Mandi M., Mathe K., Torocsik B., Doczi J., Turiak L. et al. Forward operation of adenine nucleotide translocase during F₀F₁-ATPase reversal: critical role of matrix substrate-level phosphorylation. *FASEB J.* (2010) 24, 2405–2416.
 55. Cho DH, Nakamura T, Lipton SA: Mitochondrial dynamics in cell death and neurodegeneration. *Cell Mol Life Sci* (2010), 67:3435-3447.

56. Choi SY, Hwang JH, Ko HC, Park JG, Kim SJ. NOB from citrus fruit peel inhibits the DNA-binding activity of NF-kappaB and ROS production in LPS-activated RAW 264.7 cells. *J Ethnopharmacol* (2007);113:149–55.
57. Cini G, Carpi A, Mechanick J, et al. Thyroid hormones and the cardiovascular system: pathophysiology and interventions. *Biomed Pharmacother* (2009) ;63:742–53.
58. Cioffi F, Senese R, Lanni A, Goglia F. Thyroid hormones and mitochondria: with a brief look at derivatives and analogues. *Mol Cell Endocrinol.* (2013). 15;379(1-2):51-61.
59. Clapham JC, Arch JR, Chapman H, et al. Mice overexpressing human uncoupling protein-3 in skeletal muscle are hyperphagic and lean. *Nature.* (2000);406(6794):415–418.
60. Cody, V., Davis, P.J., Davis, F.B., Molecular modeling of the thyroid hormone interactions with alpha v beta 3 integrin. *Steroids* (2007).72 (2), 165–170.
61. Collins, T. J., Berridge, M. J., Lipp, P., and Bootman, M. D. Mitochondria are morphologically and functionally heterogeneous within cells. *EMBO J.* (2002). 21(7) :1616–1627.
62. Corrado M, Scorrano L, Campello S. Mitochondrial dynamics in cancer and neurodegenerative and neuroinflammatory diseases *Int J Cell Biol* (2012). 2012:729290.
63. Costford SR, Chaudhry SN, Crawford SA, Salkhordeh M, Harper ME. Long-term high-fat feeding induces greater fat storage in mice lacking UCP3. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* (2008);295(5):E1018–E1024.
64. Cox AD, Der CJ, Philips MR. Targeting RAS Membrane Association: Back to the Future for Anti-RAS Drug Discovery? *Clin Cancer Res*; (2015),21(8) April 15, 1819-1827.
65. Craig EE, Chesley A, Hood DA. Thyroid hormone modifies mitochondrial phenotype by increasing protein import without altering degradation. *Am J Physiol.* (1998);275(6 Pt 1):C1508–C1515.
66. Cui, Y., Wu, J., Jung, S.C., Park, D.B., Maeng, Y.H., Hong, J.Y., Kim, S. J., Lee, S.R., Kim, S.J., Eun, S.Y., Anti-neuroinflammatory activity of nobiletin on suppression of microglial activation. *Biol. Pharm. Bull.* (2011). 33, 1814–1821.

67. Currais A. Ageing and inflammation – A central role for mitochondria in brain health and disease. *Ageing Research Reviews* 21 (2015) 30–42.
68. D'Arezzo S, Incerpi S, Davis FB, Acconcia F, Marino M, Farias RN, Davis PJ. Rapid nongenomic effects of 3, 5, 3'-triiodo-L-thyronine on the intracellular pH of L-6 myoblasts are mediated by intracellular calcium mobilization and kinase pathways. *Endocrinology* (2004). 145:5694-5703.
69. Dabrundashvili N.G., Kvaratskhelia E.B, Gagua M., Maisuradze E., Chkhikvishvili I., Zhuravliova E., Mikeladze D.G. Nobiletin Transiently Increases The Production of Nitric Oxide And Changes The Activity of Succinate Dehydrogenase in Human Blood Lymphocytes. *J Food Biochem*, (2011) 35(2), 638–649.
70. da-Silva WS, Gómez-Puyou A, de Gómez-Puyou MT, Moreno-Sanchez R, De Felice FG, de Meis L, Oliveira MF, Galina A. Mitochondrial bound hexokinase activity as a preventive antioxidant defense: steady-state ADP formation as a regulatory mechanism of membrane potential and reactive oxygen species generation in mitochondria. *J Biol Chem.* (2004) Sep 17;279(38):39846-55.
71. Davis FB, Mousa SA, O'Connor L, Mohamed S, Lin HY, Cao HJ, Davis PJ. Proangiogenic action of thyroid hormone is fibroblast growth factor-dependent and is initiated at the cell surface. *Circ Res* (2004). 94:1500-1506.
72. Davis FB, Tang HY, Shih A, Keating T, Lansing L, Herbergs A, Fenstermaker RA, Mousa A, Mousa SA, Davis PJ, Lin HY. Acting via a cell surface receptor, thyroid hormone is a growth factor for glioma cells. *Cancer Res* (2006). 66:7270-7275.
73. Davis PJ, Davis FB, Lin HY, Mousa SA, Zhou M, Luidens MK. Translational implications of nongenomic actions of thyroid hormone initiated at its integrin receptor. *Am J Physiol Endocrinol Metab* (2009); 297: E1238–E1246.
74. Davis PJ, Davis FB, Mousa SA, Luidens MK, Lin HY: Membrane Receptor for Thyroid Hormone: Physiologic and Pharmacologic Implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* (2011), 10(51):99-115.

75. Davis PJ, Glinsky GV, Lin HY, Leith JT, Hercbergs A, Tang HY, Ashur-Fabian O, Incerpi S, Mousa SA. Cancer Cell Gene Expression Modulated from Plasma Membrane Integrin $\alpha v \beta 3$ by Thyroid Hormone and Nanoparticulate Tetrac. *Front Endocrinol (Lausanne)*. (2015) Jan 12;5:240.
76. Davis PJ, Leonard JL, Davis FB Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone. *Front Neuroendocrinol* (2008) 29:211–218..
77. Davis PJ, Lin HY, Mousa SA, et al. Overlapping nongenomic and genomic actions of thyroid hormone and steroids. *Steroids*. (2011);76(9):829–833
78. Davis, P. J. and Davis, F. B. Nongenomic actions of thyroid hormone on the heart .*Thyroid*(2002) 12, 459-66;
79. Davis, P. J., Tillmann, H. C., Davis, F. B. and Wehling, M. Comparison of the mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone and steroid hormones. *J Endocrinol Invest*(2002) 25, 377-88.
80. de Escobar GM, Ares S, Berbel P, Obregon MJ, DelRey FE. The changing role of maternal thyroid hormone in fetal brain development. *Semin Perinatol* (2008) 32:380–6.
81. de Groot H, Rauen U. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol* (1998);12:249–55.
82. de Jong FJ. Thyroid hormones, dementia, and atrophy of the medial temporal lobe. *J Clin Endocrinol Metab* (2006) 91:2569–2573.
83. de Lange, P., Lanni, A., Beneduce, L., Moreno, M., Lombardi, A., Silvestri, E., Goglia, F.,. Uncoupling protein-3 is a molecular determinant for the regulation of resting metabolic rate by thyroid hormone. *Endocrinology* (2001). 142, 3414–3420.
84. Del Viscovo, A., Secondo, A., Esposito, A., Goglia, F., Moreno, M., Canzoniero, L.M., Intracellular and plasma membrane-initiated pathways involved in the $[Ca^{2+}]_i$ elevations induced by iodothyronines (T3 and T2) in pituitary GH3 cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* (2012). 302 (11), E1419–E1430.
85. Deladoëy J., Vassart G and Van Vliet, G. Possible non-Mendelian mechanisms of thyroid dysgenesis. *Endocr. Dev.* (2007) 10, 29–42.

86. Delange F. The role of iodine in brain development. *Proc Nutr Soc.* (2000). 59:75–79.
87. Deng X, Kornblau SM, Ruvolo PP, May WS, Jr. Regulation of Bcl2 phosphorylation and potential significance for leukemic cell chemoresistance. *J Natl Cancer Inst Monogr.* (2001). (28):30-7.
88. Dentice, M., Salvatore, D., Deiodinases: the balance of thyroid hormone: local impact of thyroid hormone inactivation. *J. Endocrinol.* (2011). 209 (3), 273–282.
89. Desouza LA, Ladiwala U, Daniel SM, Agashe S, Vaidya RA, Vaidya VA Thyroid hormone regulates hippocampal neurogenesis in the adult rat brain. *Mol Cell Neurosci* (2005) 29: 414–426.
90. Di Mauro S, Schon EA, Carelli V, Hirano M. The clinical maze of mitochondrial neurology. *Nat. Rev. Neurol.* (2013) 9(8): 429–444 .
91. DiMauro, S., Schon, E.A., Mitochondrial respiratory-chain diseases. *N. Engl. J. Med.* (2003). 348, 2656–2668.
92. Douette P, Sluse FE. Mitochondrial uncoupling proteins: new insights from functional and proteomic studies. *FreeRadic Biol Med.* (2006);40(7):1097-1107.
93. Dratman MB, Crutchfield FL, Schoenhoff MB. Transport of iodothyronines from blood stream to brain: contributions by blood: brain and choroid plexus: cerebrospinal fluid barriers. *Brain Res* (1991) 554:229–36
94. Drew B and Leeuwenburgh C. Method for measuring ATP production in isolated mitochondria: ATP production in brain and liver mitochondria of Fischer-344 rats with age and caloric restriction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* (2003) 285(5), 1259-1267.
95. Dugbartey AT. Neurocognitive aspects of hypothyroidism. *Arch Intern Med* (1998) 158:1413–8
96. Farach-Carson, M.C., Davis, P.J., Steroid hormone interactions with target cells: cross talk between membrane and nuclear pathways. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (2003). 307 (3), 839–845.

97. Farwell AP, Dubord-Tomasetti SA, Pietrzykowski AZ, Stachelek SJ, Leonard JL. Regulation of cerebellar neuronal migration and neurite outgrowth by thyroxine and 3,3',5'-triiodothyronine. *Brain Res Dev Brain Res* (2005) 154 (11):121–35.
98. Fernandez, SP, Wasowski, C, Loscalzo, LM, Granger, RE, Johnston, GAR, Paladini, AC, Marder, M. Central nervous system depressant action of flavonoid glycosides. *European Journal of Pharmacology* (2006); 539: 168-176.
99. Ferreira JM, Burnett AL, Rameau GA. Activity-dependent regulation of surface glucose transporter-3. *J Neurosci* (2011) 31:1991–9.
100. Finocchietto PV, Franco MC, Holod S, Gonzalez AS, Converso DP, Antico Arciuch VG, Serra MP, Poderoso JJ, Carreras MC. Mitochondrial nitric oxide synthase: a masterpiece of metabolic adaptation, cell growth, transformation, and death. *Exp Biol Med* (2009) 234:1020–1028
101. Folmer F, Orlikova B, Schnekenburger M, Dicato M, Diederich M. Naturally Occurring Regulators of Histone Acetylation/Deacetylation *Cur Nutr & Food Sci*, (2010), 6, 78-99.
102. Ford G. and La Franchi S.H. Screening for congenital hypothyroidism: a world wide view of strategies. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* (2014). 28, 175–187.
103. Forhead, A.J and Fowden, A.L. Thyroid hormones in fetal growth and parturition maturation. *J. Endocrinol.* (2014). 221, R87–R103.
104. Formica JV, Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol* (1995) ;33:1061–80.
105. Franco MC, Antico Arciuch VG, Peralta JG, Galli S, Levisman D, Lopez LM, Romorini L, Poderoso JJ, Carreras MC Hypothyroid phenotype is contributed by mitochondrial complex I inactivation due to translocated neuronal nitric oxide synthase. *J Biol Chem* (2006) 281:4779–4786
106. Friedman JR, Nunnari J. Mitochondrial form and function. *Nature* (2014), 505:335–343.
107. Friesema, E.C., Ganguly, S., Abdalla, A., Manning Fox, J.E., Halestrap, A.P., Visser, T.J., Identification of monocarboxylate transporter 8 as a specific thyroid hormone transporter. *J. Biol. Chem.* (2003). 278 (41), 40128–40135.

108. Galton VA, Schneider MJ, Clark AS, St Germain DL. Life without thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine conversion: studies in mice devoid of the 5'-deiodinases. *Endocrinology* (2009) 150:2957–63.
109. Gerges NZ, Alkadhi KA. Hypothyroidism impairs late LTP in CA1 region but not in dentate gyrus of the intact rat hippocampus:MAPK involvement. *Hippocampus* (2004) 14(1):40–45
110. Gerges NZ, Alzoubi KH, Park CR, Diamond DM, AlkadhiKA .Adverse effect of the combination of hypothyroidism and chronic psychosocial stress on hippocampus dependent memory in rats. *Behavioural brain research* (2004). 155:77–84.
111. Gilbert ME, Rovet J, Chen Z, Koibuchi N Developmental thyroid hormone disruption: prevalence, environmental contaminants and neurodevelopmental consequences. *Neurotoxicology* (2012) .33:842–852.
112. Gilbert ME, Lasley SM. Developmental thyroid hormone insufficiency and brain development: a role for brain-derived neurotrophic factor (BDNF)? *Neuroscience*. (2013) Jun 3;239:253-70.
113. Gilbert ME. Alterations in synaptic transmission and plasticity in area CA1 of adult hippocampus following developmental hypothyroidism. *Dev Brain Res* (2004). 148(1):11–18
114. Giulivi C, Kato K, Cooper CE. Nitric oxide regulation of mitochondrial oxygen consumption I: cellular physiology. *Am J Physiol Cell Physiol* (2006) 291:C1225–C1231
115. Glinoe D. The importance of iodine nutrition during pregnancy. *Public Health Nutr.*(2007).10:1542–1546
116. Gonzalez-Lima F, Barksdale BR, Rojas JCMitochondrial respiration as a target for neuroprotection and cognitive enhancement. *Biochemical Pharmacology* (2014). 88(4):584-93.
117. Grymula K, Paczkowska E, Dzieziejko V, et al. The influence of 3,3,5-triiodo-L-thyronine on human haematopoiesis. *Cell Prolif.* (2007);40(3):302–315.

118. Guadano-Ferraz A, Escamez MJ, Rausell E, Bernal J. Expression of type 2 iodothyronine deiodinase in hypothyroid rat brain indicates an important role of thyroid hormone in the development of specific primary sensory systems. *J Neurosci* (1999) 19:3430–9.
119. Guo X, Macleod GT, Wellington A, Hu F, Panchumarthi S, Schoenfield M, Marin L, Charlton MP, Atwood HL, Zinsmaier KE. The GTPase Miro is required for axonal transport of mitochondria to *Drosophila* synapses. *Neuron* (2005) 47:379–393.
120. Haddow, J.E. Palomaki, G.E. Allan, W.C. Williams, J.R. Knight, G.J. Gagnon J., C.E. O'Heir, M.L. Mitchell, R.J. Hermos, S.E. Waisbren, J.D. Faix, R.Z. Klein, Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child, *N. Engl. J. Med.* 341 (1999) 549–555.
121. Hansford RG, Hogue BA, Mildaziene V. Dependence of H₂O₂ formation by rat heart mitochondria on substrate availability and donor age. *J Bioenerg Biomembr.* (1997) 29(1):89–95.
122. Hara M, Suzuki S, Mori J, et al. Thyroid hormone regulation of apoptosis induced by retinoic acid in promyeloleukemic HL-60 cells: studies with retinoic acid receptor specific and retinoid x receptor-specific ligands. *Thyroid.* (2000);10(12):1023–1034
123. Harada, S., Tominari, T., Matsumoto, C., Hirata, M., Takita, M., Inada, M. and Miyaura, C. Nobiletin, a Polymethoxy Flavonoid, Suppresses Bone Resorption by Inhibiting NFκB-Dependent Prostaglandin E Synthesis in Osteoblasts and Prevents Bone Loss Due to Estrogen Deficiency. *Journal of Pharmacological Sciences*, (2011) 115, 89–93.
124. Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* (2000);55:481–504.
125. Harper ME, Seifert EL. Thyroid hormone effects on mitochondrial energetics. *Thyroid.* (2008) Feb;18(2):145–56.

126. Harper ME, et al; The efficiency of cellular energy transduction and its implications for obesity. *Annu Rev Nutr.* (2008); 28:13–33.
127. Hashimoto T, Hussien R, Cho HS, Kaufer D, Brooks GA Evidence for the mitochondrial lactate oxidation complex in rat neurons: demonstration of an essential component of brain lactate shuttles. *PLoS ONE* (2008) 3:e2915
128. Herrero-Mendez A, Almeida A, Fernandez E, Maestre C, Moncada S, Bolanos JP. The bioenergetic and antioxidant status of neurons is controlled by continuous degradation of a key glycolytic enzyme by APC/C-Cdh1. *Nat Cell Biol.* (2009); 11:747-52.
129. Hertog MG, Kromhout D, Aravanis C, et al. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Intern Med* (1995); 155:381–6
130. Heuer H. The importance of thyroid hormone transporters for brain development and function. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* (2007) 21:265–76.
131. Heuer H, Mason CA. Thyroid hormone induces cerebellar Purkinje cell dendritic development via the thyroid hormone receptor $\alpha 1$. *J Neurosci* (2003) 23:10604–12.
132. Higo T, Hamada K, Hisatsune C, Nukina N, Hashikawa T, Hattori M, Nakamura T, Mikoshiba K. Mechanism of ER stress-induced brain damage by IP(3) receptor. *Neuron.* (2010) ; 68(5):865–78.
133. Hillman N.H., Kallapur, S.G., and Jobe, A.H. Physiology of transition from intrauterine to extrauterine life. *Clin. Perinatol.* (2012). 39, 769–783.
134. Hiroi Y, Kim HH, Ying H, Furuya F, Huang Z, Simoncini T, Noma K, Ueki K, Nguyen NH, Scanlan TS, Moskowitz MA, Cheng SY, Liao JK: Rapid nongenomic actions of thyroid hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2006), 103(38):14104–14109.
135. Hodgson JM, Croft KD. Tea flavonoids and cardiovascular health. *Mol Aspects Med* (2010). 31: 495–502.
136. Hoffmann G, Dietzel ID. Thyroid hormone regulates excitability in central neurons from postnatal rats. *Neuroscience* (2004). 125:369–379.

137. Hollenberg AN, Monden T, Wondisford FE. Ligand-independent and -dependent functions of thyroid hormone receptor isoforms depend upon their distinct amino termini. *J Biol Chem.*(1995); 270(24):14274–14280.
138. Hordijk PL. Regulation of NADPH oxidases: the role of Rac proteins. *Circ Res.*(2006);98:453–62.
139. Hulbert AJ. Thyroid hormones and their effects: a new perspective. *Biol Rev Camb Philos Soc.* (2000) Nov;75(4):519-631.
140. Incerpi S, Luly P, De Vito P, Farias RN. Short-term effects of thyroid hormones on the Na/H antiport in L-6 myoblasts: high molecular specificity for 3, 3, 5-triiodo-L-thyronine. *Endocrinology* (1999). 140:683-689
141. Ishiwa, J., Sato, T., Mimaki, Y., Sashida, Y., Yano, M., & Ito, A. A citrus flavonoid, nobiletin, suppresses production and gene expression of matrix metalloproteinase 9/gelatinase B in rabbit synovial fibroblasts. *Journal of Rheumatology*, (2000). 27, 20–25.
142. Itoh K, Nakamura K, Iijima M, Sesaki H: Mitochondrial dynamics in neurodegeneration. *Trends Cell Biol* (2013), 23:64-71.
143. Jahagirdar V., McNay EC. Thyroid hormone's role in regulating brain glucose metabolism and potentially modulating hippocampal cognitive processes. *Metab Brain Dis.* (2012). 27(2):101-11.
144. Jeong KH, Jeon MT, Kim HD, Jung UJ, Jang MC, Chu JW, Yang SJ, Choi IY, Choi MS, Kim SR. Nobiletin Protects Dopaminergic Neurons in the 1-Methyl-4-Phenylpyridinium-Treated Rat Model of Parkinson's Disease. *J Med Food.* 2015 Apr;18(4):409-14.
145. Jing Li, Ying Zhou, Bin-Bin Liu, Qing Liu, Di Geng, Lian-Jin Weng, and Li-Tao Yi; Nobiletin Ameliorates the Deficits in Hippocampal BDNF, TrkB, and Synapsin I Induced by Chronic Unpredictable Mild Stress; *Evid Based Complement Alternat Med.* (2013);2013:359682.
146. Joffe RT. Should thyroid replacement therapy be considered for patients with treatment-refractory depression? *J PsychiatryNeurosci*(2002) 27:80.

147. Johnson K, D'Mello SR. p21-Activated kinase-1 is necessary for depolarization-mediated neuronal survival. *J Neurosci Res.*(2005);79:809–15.
148. Jung, U. J., Kim, H. J., Lee, J. S., Lee, M. K., Kim,H. O., Park, E. J., Kim, H. K., Jeong, T. S., and Choi,M. S., Naringin supplementation lowers plasma lipidsand enhances erythrocyte antioxidant enzyme activitiesin hypercholesterolemic subjects. *Clin.Nutr.* (2003).,22, 561–568 .
149. Kawabata, K., Murakami, A., & Ohigashi, H. Nobiletin, a citrus flavonoid, down-regulates matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) expression in HT-29 human colorectal cancer cells. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, (2005). 69, 307–314.
150. Khatri N, Man HYSynaptic activity and bio energy homeostasis: implications in brain trauma and neurodegenerative diseases. *Front Neurol.* (2013) 11;4:199.
151. Kim, H. K., Jeong, T. S., Lee, M. K., Park, Y. B., and Choi, M. S., Lipid-lowering efficacy of hesperetin metabolites in high-cholesterol fed rats. *Clin.Chim.Acta*, (2003)327, 129–137.
152. Knekt P, Jarvinen R, Reunanen A, Maatela J. Flavonoid intake andcoronary mortality in Finland: a cohort study. *BMJ* (1996);312:478–81.
153. Kobayashi T, Kuroda S, Tada M, Houkin K, Iwasaki Y, Abe H Calcium-induced mitochondrial swelling and cytochrome c release in the brain: its biochemical characteristics and implication in ischemic neuronal injury. *Brain Res*(2003) 960(1–2): 62–70.
154. Koga, N., Ohta, C., Kato, Y., Haraguchi, K., Endo, T., Ogawa, K., Ohta, H., & Yano, M. In vitro metabolism of nobiletin, a polymethoxy-flavonoid, by human liver microsomes and cytochrome P450.*Xenobiotica*, (2011). 41, 927–933.
155. Koromilas C, Liapi C, Schulpis KH, Kalafataki K, ZarrosA, Tsakiris S. Structural and functional alterations inthe hippocampus due to hypothyroidism. *Metab Brain Dis* (2010).25:339–354.
156. Kris-Etherton PM, Lefevre M, Beecher GR, Gross MD, Keen CL, Etherton TD.Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies forestablishing biological

- function: the antioxidant and anti-inflammatory effects of flavonoids on atherosclerosis. *Annu Rev Nutr.* (2004); 24:511–38.
157. Krotkiewski M. Thyroid hormones in the pathogenesis and treatment of obesity. *Eur J Pharmacol.* (2002);440(2–3):85–98.25.
 158. Kumar, A., Devaraj, V. C., Giri, K. C., Giri, S., Rajagopal, S., & Mullangi, R. Development and validation of a highly sensitive LC–MS/MS-ESI method for the determination of nobiletin in rat plasma: Application to a pharmacokinetic study. *Biomedical Chromatography*, (2012). 26, 1464–1471.
 159. Kunimasa, K., Ikekita, M., Sato, M., Ohta, T., Yamori, Y., Ikeda, M., Kuranuki, S., & Oikawa, T. Nobiletin, a citrus polymethoxyflavonoid, suppresses multiple angiogenesis related endothelial cell functions and angiogenesis in vivo. *Cancer Science*, (2010).101, 2462–2469.
 160. Kuzman JA, Tang Y, Vogelsang KA, Said S, Anderson BE, Morkin E, Gerdes AM. Thyroid hormone analog, diiodothyropropionic acid (DITPA), exerts beneficial effects on chamber and cellular remodeling in cardiomyopathic hamsters. *Can J Physiol Pharmacol* (2007) 85:311-318,.
 161. Kwok KH, Ho PW, Chu AC, et al. Mitochondrial uncoupling protein 5 is neuroprotective by preserving mitochondrial membrane potential, adenosine-5'-triphosphate levels, and reducing oxidative stress in MPP+ and dopamine toxicity. *Free Radic Biol Med.* (2010);49(6):1023-1035.
 162. Lackner LL: Determining the shape and cellular distribution of mitochondria: the integration of multiple activities. *Curr Opin Cell Biol* (2013), 25:471-476.
 163. Lai C.S., Li, S., Chai, C.Y., Lo, C.Y., Dushenkov, S., Ho, C. T., Pan, M.H., & Wang, Y. J. Anti-inflammatory and antitumor promotional effects of a novel urinary metabolite, 30,40-didemethylnobiletin, derived from nobiletin. *Carcinogenesis*, (2008). 29, 2415–2424.
 164. Lai JK, Walsh JM, Dennis SC, Clark JB. Synaptic and non-synaptic mitochondria from rat brain: isolation and characterization. *J Neurochem* (1977) 28:625-631.

165. Lanni A., Beneduce, L., Lombardi, A., Moreno, M., Boss, O., Muzzin, P., Giacobino, J.P., Goglia, F., Expression of uncoupling protein-3 and mitochondrial activity in the transition from hypothyroid to hyperthyroid state in rat skeletal muscle. *FEBS Lett.* (1999). 444, 250–254.
166. Lanni, A., De Felice, M., Lombardi, A., Moreno, M., Fleury, C., Ricquier, D., Goglia, F., Induction of UCP2 mRNA by thyroid hormones in rat heart. *FEBS Lett.* (1997). 418, 171–174.
167. Lass P, Slawek J, Derejko M, Rubello D. Neurological and psychiatric disorders in thyroid dysfunctions. The role of nuclear medicine: SPECT and PET imaging. *Minerva Endocrinol.* (2008). 33:75–84.
168. Lazar MA. Thyroid hormone receptors: multiple forms, multiple possibilities. *Endocr Rev.* (1993);14(2):184–193.
169. Lee JY, Takahashi N, Yasubuchi M, et al. Triiodothyronine induces UCP-1 expression and mitochondrial biogenesis in human adipocytes. *Am J Physiol Cell Physiol.* (2012); 302(2):C463–C472.
170. Lee PR, Brady D, Koenig JI. Thyroid hormone regulation of N-methyl-D-aspartic acid receptor subunit mRNA expression in adult brain. *J Neuroendocrinol* (2003)15: 87–92.
171. Lee Y. S., Cha, B. Y., Saito, K., Yamakawa, H., Choi, S. S., Yamaguchi, K., Yonezawa, T., Teruya, T., Nagai, K., & Woo, J. T. Nobiletin improves hyperglycemia and insulin resistance in obese diabetic ob/ob mice. *Biochemical Pharmacology*, (2010). 79, 1674–1683.
172. Lee Y.-S., Asai, M., Choi, S.-S., Yonezawa, T., Teruya, T., Nagai, K., Woo, J.-T. and Cha, B.-Y. Nobiletin Prevents Body Weight Gain and Bone Loss in Ovariectomized C57BL/6J Mice. *Pharmacology & Pharmacy*, (2014) 5, 959–965.
173. Lee Young-Sil, Chae Byung-Yoon, Choia Sun-Sil, Choia Bong-Keun, Yonezawa Takayuki, Teruya Toshiaki, Nagaia Kazuo, Wooa Je-Tae; Nobiletin improves obesity and insulin resistance in high-fat diet-induced obese mice; *Journal of Nutritional Biochemistry* 24 (2013) 156–162.

174. Lei J, Mariash CN, Bhargava M, Wattenberg EV, Ingbar DH. T3 increases Na, K-ATPase activity via MAPK/ERK1/2-dependent pathway in rat adult alveolar epithelial cells. *Am J Physiol* (2008). 294:L749-L754.
175. Lei J, Mariash CN, Ingbar DH. 3, 3', 5-Triiodo-L-thyronine up-regulation of Na, K-ATPase activity and cell surface expression in alveolar cells is Src kinase- and phosphoinositide 3-kinasedependent. *J BiolChem* (2004). 279:47589-47600,
176. Lei J, Nowbar S, Mariash CN, Ingbar DH. Thyroid hormone stimulates Na, K-ATPase activityand its plasma membrane insertion in rat alveolar epithelial cells. *Am J Physiol* (2003).285:L762-L772.
177. Leung HW, Kuo CL, Yang WH, Lin CH, Lee HZ. Antioxidant enzymes activity involvement in luteolin-induced human lung squamous carcinoma CH27 cell apoptosis.*Eur J Pharmacol* (2006). 534: 12–18
178. Li JW, Vederas JC. Drug discovery and natural products:end of an era or an endless frontier? *Science* (2009); 325:161-165.
179. Li Z, Okamoto K, Hayashi Y, Sheng M. The importance of dendritic mitochondria in the morphogenesis and plasticity of spines and synapses. *Cell*. (2004);119:873-87.
180. Li, R. W., Theriault, A. G., Au, K., Douglas, T. D., Casaschi, A.,Kurowska, E. M., & Mukherjee, R. Citrus polymethoxylated flavones improve lipid and glucose homeostasis and modulate adipocytokines in fructoseinduced insulin resistant hamsters. *Life Sciences*, (2006). 79, 365–373.
181. Li, S., Lo, C. Y., & Ho, C. T. Hydroxylated polymethoxyflavones and methylated flavonoids in sweet orange (*Citrus sinensis*) peel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2006). 54, 4176–4185.
182. Li, S., Pan, M. H., Lo, C. Y., Tan, D., Wang, Y., Shahidid, F., & Ho, C.- T. Chemistry and health effects of polymethoxyflavones and hydroxylated polymethoxyflavones.*Journal of Functional Foods*,(2009). 1, 2–12.

183. Li, S., Sang, S., Pan, M. H., Lai, C. S., Lo, C. Y., Yang, C. S., & Ho, C. T. Anti-inflammatory property of the urinary metabolites of nobiletin in mouse. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, (2007).1, 5177–5181.
184. Liesa M, Palacín M, Zorzano A. Mitochondrial Dynamics in Mammalian Health and Disease *Physiol Rev* (2009) 89: 799–845.
185. Lin HY, Tang HY, Shih A, Keating T, Cao G, Davis PJ, Davis FB. Thyroid hormone is a MAPKdependent growth factor for thyroid cancer cells and is anti-apoptotic. *Steroids* (2007). 72:180-187.
186. Lin, H.Y., Sun, M., Lin, C., Tang, H.Y., London, D., Shih, A., Davis, F.B., Davis, P.J., Androgen induced human breast cancer cell proliferation is mediated by discrete mechanisms in estrogen receptor-alpha-positive and -negative breast cancer cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*(2009a).113, 182–188.
187. Lin, H.Y., Sun, M., Tang, H.Y., Lin, C., Luidens, M.K., Mousa, S.A., Incerpi, S., DrusanoG, L., Davis, F.B., Davis, P.J., L-Thyroxine vs. 3,5,3-triiodo-L-thyronine and cell proliferation: activation of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* (2009b); 296, C980–C991.
188. Lin, N., Sato, T., Takayama, Y., Mimaki, Y., Sashida, Y., Yano, M., & Ito, A. Novel anti-inflammatory actions of nobiletin, a citrus polymethoxy flavonoid, on human synovial fibroblasts and mouse macrophages. *Biochemical Pharmacology*, (2003).65, 2065–2071.
189. Linseman DA, Loucks FA. Diverse roles of Rho family GTPases in neuronal development, survival, and death. *Front Biosci.*(2008);13:657–76.
190. Liu D, Chan SL, de Souza-Pinto NC, et al. Mitochondrial uncoupling protein4 mediates an adaptive shift in energy metabolism and increases the resistance of neurons to metabolic and oxidative stress. *Neuromolecular Med.*(2006);8(3):389-414.
191. Lu, Y.H., Su, M.Y., Huang, H.Y., Lin, L., Yuan, C.G., Protective effects of the citrus flavanones to PC12 cells against cytotoxicity induced by hydrogen peroxide. *Neurosci. Lett.* (2010). 484, 6–11.

192. Madeira MD, Cadete-Leite A, Andrade JP, Paula-Barbosa MM. Effects of hypothyroidism upon the granular layer of the dentate gyrus in male and female adult rats: a morphometric study. *J Comp Neurol* (1991) 314:171–186.
193. Magi S, Lariccia V, Castaldo P, Arcangeli S, Nasti AA, Giordano A, et al. Physical and functional interaction of NCX1 and EAAC1 transporters leading to glutamate-enhanced ATP production in brain mitochondria. *PloS One* (2012) 7:e34015.
194. Magistretti PJ Mitochondrial transport proteins of the brain. *J Exp Biol* (2006) 209:2304–2311
195. Magnus-Levy, A., Ueber den respiratorischen Gaswechsel unter Einfluss der Thyroidea sowie unter verschiedenen pathologischen Zuständen. *Berliner Klinische Wochenschrift* (1895). 32, 650–652.
196. Mandel SA, Amit T, Weinreb O, Youdim MB. Understanding the broad spectrum neuroprotective action profile of green tea polyphenols in aging and neurodegenerative diseases. *J Alzheimers Dis* (2011). 25(2): 187–208.
197. Mandemakers W., Morais VA., De Strooper B. A cell biological perspective on mitochondrial dysfunction in Parkinson disease and other neurodegenerative diseases. *J Cell Sci.* (2007). 15;120(Pt 10):1707–16.
198. Manthey, J. A., Cesar, T. B., Jackson, E., & Mertens-Talcott, S. Pharmacokinetic study of nobiletin and tangeretin in rat serum by high-performance liquid chromatography–electrospray ionization–mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2011). 59, 145–151.
199. Marin-Garcia J. Thyroid hormone and myocardial mitochondrial biogenesis. *Vascular Pharmacol.* (2010);52(3–4):120–130.
200. Marks JD, Boriboun C, Wang J Mitochondrial nitric oxide mediates decreased vulnerability of hippocampal neurons from immature animals to NMDA. *J Neurosci* (2005) 25(28):6561–6575.

201. Martín MA, Serrano AB, Ramos S, Pulido MI, Bravo L, Goya L. Cocoa flavonoids up-regulate antioxidant enzyme activity via the ERK1/2 pathway to protect against oxidative stress-induced apoptosis in HepG2 cells. *J Nutr Biochem*(2010). 21: 196–205.
202. Martinez B, Rodrigues TB, Gine E, Kaninda JP, Perez-Castillo A, Santos A. Hypothyroidism decreases the biogenesis in free mitochondria and neuronal oxygen consumption in the cerebral cortex of developing rats. *Endocrinology* (2009). 150(8):3953–3959.
203. Martino, G., Covello, C., De Giovanni, R., Filippelli, R., Pitrelli, G.,. Direct in vitro action of thyroid hormones on mitochondrial RNA-polymerase. *Mol. Biol. Rep.*(1986).11 (4), 205–211.
204. Matsuzaki K, Yamakuni T, Hashimoto M, Haque AM, Shido O, Mimaki Y, et al. Nobiletin restoring beta-amyloid-impaired CREB phosphorylation rescues memory deterioration in Alzheimer's disease model rats. *NeurosciLett*, (2006) 400, 230–234.
205. Mattson MP, Gleichmann M, Cheng A. Mitochondria in neuroplasticity and neurological disorders. *Neuron*. (2008);60:748–66.
206. Mazziro FA, Close F, Soliman KFA. The Biochemical and Cellular Basis for Nutraceutical Strategies to Attenuate Neurodegeneration in Parkinson's Disease. *Int. J. Mol. Sci.* (2011) 12, 506–569.
207. Middleton E, Jr., Kandaswami C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: Implications for immunity, inflammation and cancer. In book: *The flavonoids—Advances in research since 1986*, Chapter: The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer, Publisher: Chapman & Hall, London, U.K. (1994), 676 pp., Editors: J. B. HARBORNE, pp.619–652
208. Mihara S, Suzuki N, Wakisaka S, et al. Effects of thyroid hormones on apoptotic cell death of human lymphocytes. *J Clin Endocrinol Metab.* (1999);84(4):1378–1385.
209. Mishra A., Kumar S., Bhargava A., Sharma B., and Pandey A.K., “Studies on in vitro antioxidant and antistaphylococcal activities of some important medicinal plants,” *Cellular and Molecular Biology*, (2011)vol. 57, no. 1, pp. 16–25,

210. Mishra A., Sharma A. K., Kumar S., Saxena A. K., and Pandey A. K., “Bauhinia variegata leaf extracts exhibit considerable antibacterial, antioxidant and anticancer activities,” BioMed Research International, vol. (2013), Article ID 915436.
211. Moeller LC, Broecker-Preuss M. Transcriptional regulation by nonclassical action of thyroid hormone. Thyroid Res.(2011) Aug 3; 4 suppl 1:S6
212. Moreno M, de Lange P, Lombardi A, Silvestri E, Lanni A, Goglia F. Metabolic effects of thyroid hormone derivatives. Thyroid. (2008);18(2):239–253.
213. Mousa SA, Davis FB, Mohamed S, Davis PJ, Feng X. Pro-angiogenesis action of thyroid hormone and analogs in a three-dimensional *in vitro* microvascular endothelial sprouting model. Int Angiol (2006); 25:407-413,.
214. Mousa SA, O'Connor LJ, Bergh JJ, Davis FB, Scanlan TS, Davis PJ. The proangiogenic action of thyroid hormone analogue GC-1 is initiated at an integrin. J Cardiovasc Pharmacol (2005).46:356-360.
215. Muller, M., Mironov, S. L., Ivannikov, M. V., Schmidt, J., and Richter, D. W. Mitochondrial organization and motility probed by two-photon microscopy in cultured mouse brainstem neurons. Exp. Cell Res. (2005) 303, 114–127.
216. Mulvihill EE, Huff MW. Antiatherogenic properties of flavonoids: implications for cardiovascular health. Can J Cardiol (2010). 26(Suppl A): 17A–21A.
217. Mulvihill, E. E., & Huff, M. W. Protection from metabolic dysregulation, obesity, and atherosclerosis by citrus flavonoids: Activation of Hepatic PGC1 α -mediated fatty acid oxidation. PPAR Research, (2012). 1–9. Article ID 857142.
218. Murakami A, Matsumoto K, Koshimizu K, Ohigashi H. Effects of selected food factors with chemopreventive properties on combined lipopolysaccharide- and interferon-gamma-induced IkappaB degradation in RAW264.7 macrophages. Cancer Lett (2003);195:17–25
219. Murakami Akira, Nakamura Yoshimasa, Torikai Koji, Tanaka Takuji, Koshiba Teruaki, Koshimizu Koichi, Kuwahara Shigeru, Takahashi Yasuo, Ogawa Kazunori, Yano Masamichi, Tokuda Harukuni, Nishino Hoyoku, Mimaki Yoshihiro, Sashida Yutaka, Kitanaka Susumu, and Ohigashi Hajime. Inhibitory Effect of Citrus Nobiletin on Phorbol

- Ester-induced Skin Inflammation, Oxidative Stress, and Tumor Promotion in Mice. *CANCER RESEARCH* (2000) 60, 5059–5066.
220. Murakami, A., Koshimizu, K., Ohigashi, H., Kuwahara, S., Kuki, W., Takahashi, Y., Hosotani, K., Kawahara, S., & Matsuoka, Y. Characteristic rat tissue accumulation of nobiletin, a chemopreventive polymethoxyflavonoid, in comparison with luteolin. *BioFactors*, (2002). 16, 73–82.
 221. Murakami, A., Shigemori, T., & Ohigashi, H. Zingiberaceous and citrus constituents, 10-acetoxychavicol acetate, zerumbone, auraptene, and nobiletin, suppress lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression in RAW264.7 murine macrophages through different modes of action. *Journal of Nutrition*, (2005). 135, 2987S–2992S.
 222. Mutvei, A., Kuzela, S., Nelson, B.D., Control of mitochondrial transcription by thyroid hormone. *Eur. J. Biochem.* (1989). 180 (1), 235–240.
 223. Nagase H, Omae N, Omori A, Nakagawasai O, Tadano T, et al. Nobiletin and its related flavonoids with CRE-dependent transcription stimulating and neuritegenic activities. *Biochem and Biophys Res Commun* (2005a) 337, 1330–1336.
 224. Nagase H, Yamakuni T, Matsuzaki K, Maruyama Y, Kasahara J, Hinohara Y, Kondo S, Mimaki Y, Sashida Y, Tank WA, et al. Mechanism of neurotrophic action of nobiletin in PC12D cells. *Biochemistry* (2005b) 44:13683–13691.
 225. Nagata H, Takekoshi S, Takagi T, Honma T, Watanabe K. Antioxidative action of flavonoids, quercetin and catechin, mediated by the activation of glutathione peroxidase. *Tokai J Exp Clin Med* (1999). 24: 1–11.
 226. Nakajima Akira, Ohizumi Yasushi, Yamada Kiyofumi. Anti-dementia Activity of Nobiletin, a Citrus Flavonoid: A Review of Animal Studies. *Clin Psychopharmacol Neurosci.* (2014);12(2):75–82.
 227. Nakajima A, Yamakuni T, Haraguchi M, Omae N, Song SY, et al. Nobiletin, a citrus flavonoid that improves memory impairment, rescues bulbectomy-induced cholinergic neurodegeneration in mice. *J Pharmacol Sci* (2007a) 105, 122–126.

228. Nakajima Akira, Yamakuni Tohru, Matsuzaki Kentaro, Nakata Norihito, Onozuka Hiroshi, Yokosuka Akihito, Sashida Yutaka, Mimaki Yoshihiro, and Ohizumi Yasushi; Nobiletin, a Citrus Flavonoid, Reverses Learning Impairment Associated with N-Methyl-D-aspartate Receptor Antagonism by Activation of Extracellular Signal-Regulated Kinase Signaling. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. (2007b) 321:784–790.
229. Natsvlishvili N, Gogvadze N, Zhuravliova E, Mikeladze D. Sigma-1 receptor directly interacts with Rac1-GTPase in the brain mitochondria. *BMC Biochem*. (2015) 30;16:11.
230. Nicholls, D.G., and Budd. S.L. Mitochondria and neuronal survival. *Physiol. Rev.* (2000). 80(1):315–360.
231. Nilsson M and Fagman H. Mechanisms of thyroid development and dysgenesis: an analysis based on developmental stages and concurrent embryonic anatomy. *Curr. Top. Dev. Biol.* (2013). 106, 123–170.
232. Nogata Y, Sakamoto K, Shiratsuchi H, Ishii T, Yano M, Ohta H. Flavonoid Composition of Fruit Tissues of Citrus Species. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, (2006) 70 (1), 178–192.
233. Nulton-Persson AC, Szweda LI. Modulation of mitochondrial function by hydrogen peroxide. *J Biol Chem* (2001) 276:23357–23361.
234. Ohizumi Y. Application of physiologically active substances isolated from natural resources to pharmacological studies. *Jpn J Pharmacol* (1997);73:263–289.
235. Onda, K., Horike, N., Suzuki, T., & Hirano, T. Polymethoxyflavonoids tangeretin and nobiletin increase glucose uptake in murine adipocytes. *Phytotherapy Research*, (2013). 27,312–316.
236. Ong SB, Hall AR, Hausenloy DJ: Mitochondrial dynamics in cardiovascular health and disease. *Antioxid Redox Signal* (2013), 19:400–414.
237. Onozuka, H., Nakajima, A., Matsuzaki, K., Shin, R. W., Ogino, K., Saigusa, D., Tetsu, N., Yokosuka, A., Sashida, Y., Mimaki, Y., Yamakuni, T., & Ohizumi, Y. Nobiletin, a citrus flavonoid, improves memory impairment and Ab pathology in a transgenic mouse model

- of alzheimer's disease. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, (2008). 326, 739–744.
238. Oppenheimer J, Schwartz HL, Strait KA. The molecular basis of thyroid hormone actions. In: Braverman L, Utiger RD, eds. *Werner and Ingbar's The Thyroid*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; (1996):162–184.
 239. Orozco, A., Valverde, R.C., Olvera, A., Garcha, G.C., Iodothyronine deiodinases: a functional and evolutionary perspective. *J. Endocrinol.* (2012). 215 (2), 207–219.
 240. Oshitari, T., Okuyama, Y., Miyata, Y., Kosano, H., Takahashi, H., & Natsugari, H. Nobiletin metabolites: Synthesis and inhibitory activity against matrix metalloproteinase-9 production. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, (2011). 21, 4540–4544.
 241. Pascual A, Aranda A. Thyroid hormone receptors, cell growth and differentiation. *Biochim Biophys Acta*. (2013); 1830(7):3908–3916.
 242. Pate M, Liang LP, Roberts LJ 2nd. Enhanced hippocampal F2-isoprostane formation following kainate-induced seizures. *J Neurochem.* (2001) Dec;79(5):1065–9.
 243. Patrushev MV, Patrusheva VE. Role of transcription factors in mtDNA biogenesis mediated by thyroid hormones. *Biochemistry (Mosc)*. (2011);76(2):260–267.
 244. Pecqueur C, Couplan E, Bouillaud F, et al. Genetic and physiological analysis of the role of uncoupling proteins in human energy homeostasis. *J Mol Med.* (2001);79(1):48–56.
 245. Pei-Ching Hsiao, Wei-Jiunn Lee, Shun-Fa Yang, Peng Tan, Hui-Yu Chen, Liang-Ming Lee, Junn-Liang Chang, Gi-Ming Lai, Jyh-Ming Chow, Ming-Hsien Chien. Nobiletin suppresses the proliferation and induces apoptosis involving MAPKs and caspase-8/-9/-3 signals in human acute myeloid leukemia cells. *Tumour Biol.* (2014);35(12):11903–11.
 246. Pellerin L, Magistretti PJ. Food for thought: challenging the dogmas. *J Cereb Blood Flow Metab* (2003) 23(11):1282–1286.
 247. Pellerin, L., Magistretti, P.J., Sweet sixteen for ANLS. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* (2012). 32, 1152–1166.

248. Pertz O. Spatio-temporal Rho GTPase signaling – where are we now? *J Cell Sci.* (2010);123:1841–50.
249. Phillips D, Aponte AM, French SA, Chess DJ, Balaban RS. Succinyl-CoA synthetase is a phosphate target for the activation of mitochondrial metabolism. *Biochemistry*, (2009);48:7140–9.
250. Poderoso JJ, Lisdero C, Schopfer F, Riobo N, Carreras MC, Cadenas E, Boveris A. The regulation of mitochondrial oxygen uptake by redox reactions involving nitric oxide and ubiquinol. *J Biol Chem* (1999) 274:37709–37716.
251. Pollastri S., Tattini M.: Flavonols: old compounds for old roles. *Ann Bot* (2011); 108:1225–1233.
252. Potthoff O, Dietzel ID. Thyroid hormone regulates currents in cultured hippocampal neurons from postnatal rats. *Proc Biol Sci* (1997) 264:367–373.
253. Preau L, Fini JB, Morvan-Dubois G, Demeneix B. Thyroid hormone signaling during early neurogenesis and its significance as a vulnerable window for endocrine disruption. *Biochim Biophys Acta*. (2015);1849(2):112–121.
254. Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia* (2011). 82: 513–523.
255. Quistorff B, Secher NH, Van Lieshout JJ Lactate fuels the human brain during exercise. *FASEB J* (2008) 22:3443–3449.
256. Ramos, M., del Arco, A., Pardo, B., Martinez-Serrano, A., Martinez-Morales, J.R., Kobayashi, K., Yasuda, T., Bogonez, E., Bovolenta, P., Saheki, T., et al. Developmental changes in the Ca²⁺-regulated mitochondrial aspartate-glutamate carrier aralar1 in brain and prominent expression in the spinal cord. *Brain Res. Dev. Brain Res.* (2003). 143, 33–46.
257. Reddy PH, Tripathi R, Troung Q, Tirumala K, Reddy TP, Anekonda V, Shirendeb UP, Calkins MJ, Reddy AP, Mao P et al.: Abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration as early events in Alzheimer's disease: Implications to mitochondria-targeted antioxidant therapeutics. *Biochim Biophys Acta* (2012), 1822:639–649.

258. Remaud S, Gothie JD, Morvan-Dubois G, Demeneix BA. Thyroid hormone signaling and adult neurogenesis in mammals. *Front Endocrinol. (Lausanne)* (2014) 28;5:62
259. Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. Flavonoids: promising anticancer agents *Med Res Rev.* (2003);23(4):519-34.
260. Richard J. Youle and Alexander M. van der Bliek Mitochondrial Fission, Fusion, and Stress. *Science*(2012);337, 1062.
261. Riobo NA, Clementi E, Melani M, Boveris A, Cadenas E, Moncada S, Poderoso JJ Nitric oxide inhibits mitochondrial NADH:ubiquinone reductase activity through peroxynitrite formation. *Biochem J* (2001) 359:139–145.
262. Robak J, Gryglewski RJ. Bioactivity of flavonoids. *Pol J Pharmacol.*(1996);48:555–64.
263. Robert J Nijveldt, Els van Nood, Danny EC van Hoorn, Petra G Boelens, Klaske van Norren, and Paul AM van Leeuwen ; Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications 1–3. *Am J Clin Nutr* (2001);74:418–25.
264. Robinson AJ, Overy C, Kunji ER. The mechanism of transport by mitochondrial carriers based on analysis of symmetry. *Proc Natl Acad Sci USA.* (2008);105(46):17766–17771.
265. Rodriguez-Rodriguez, P., Fernandez, E., Bolanos, J.P., Underestimation of the pentose-phosphate pathway in intact primary neurons as revealed by metabolic flux analysis. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* (2013). 33, 1843–1845.
266. Rosen H, Rakita RM, Waltersdorff AM, Klebanoff SJ. Myeloperoxidase-mediated damage to the succinate oxidase system of *Escherichia coli*. Evidence for selective inactivation of the dehydrogenase component. *J Biol Chem.* (1987) Nov 5;262(31):15004-10.
267. Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr.* (2002); 22:19–34.
268. Rubio IG, Medeiros-Neto G. Mutations of the thyroglobulin gene and its relevance to thyroid disorders. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* (2009);16(5):373–378.

269. Saelim, N., John, L.M., Wu, J., Park, J.S., Bai, Y., Camacho, P., Lechleiter, J.D., Nontranscriptional modulation of intracellular Ca²⁺ signaling by ligand stimulated thyroid hormone receptor. *J. Cell Biol.* (2004). 167 (5), 915–924.
270. Saito, T., Abe, D., & Sekiya, K. Nobiletin enhances differentiation and lipolysis of 3T3-L1 adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, (2007). 357, 371–376.
271. Sala-Roca J, et al. Effects of adult dysthyroidism on the morphology of hippocampal neurons. *BehavBrain Res.* (2008); 188(2):348–54.
272. Schmidt, O., Pfanner, N., Meisinger, C., Mitochondrial protein import:from proteomics to functional mechanisms. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*(2010). 11, 655–667
273. Schneider JJ, Hood DA. Effect of thyroid hormone onmtHsp70 expression, mitochondrial import and processingin cardiac muscle.*J Endocrinol.* (2000);165(1):9 –17.
274. Schubert, D., Glucose metabolism and Alzheimer’s disease.*Ageing Res. Rev.* (2005).4,240–257.
275. Schurr A . Lactate: the ultimate cerebral oxidative energy substrate? *J Cereb Blood Flow Metab*(2006) 26:142–152
276. Schwartz HL, Strait KA, Ling NC, Oppenheimer JH. Quantitationofrattissue thyroidhormonebindingreceptorisoformsbyimmunoprecipitationofnuclear triiodothyroninebindingcapacity. *J BiolChem* (1992) 267:11794–9.
277. Schweizer U, Johannes J, Bayer D, Braun D. Structure and function of thyroid hormone plasma membrane transporters.*Eur Thyroid J.* (2014) ;3(3):143-53.
278. Serviddio G, Romano AD, Cassano T, Bellanti F, Altomare E, Vendemiale G. Principles and therapeutic relevance for targeting mitochondria in aging and neurodegenerative diseases. *CurrPharm Des.* (2011);17:2036-55.
279. Sferruzzi-Perri A.N., Vaughan, O.R., Forhead, A.J.,and Fowden, A.L. Hormonal and nutritional drivers of intrauterine growth. *Curr.Opin.Clin.Nutr. Metab.Care* (2013).16, 298–309.
280. Sharpe MA, Cooper CE. Interaction of peroxynitrite with mitochondrial cytochrome oxidase. *J Biol Chem* (1998) 273 (47) : 30961–30972.

281. Shanmugam MK, Kannaiyan R, Sethi G. Targeting cell signaling and apoptotic pathways by dietary agents: role in the prevention and treatment of cancer. *Nutr Cancer*. (2011); 63(2):161–73.
282. Sheehan TE, Kumar PA, Hood DA. Tissue-specific regulation of cytochrome c oxidase subunit expression by thyroid hormone. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. (2004); 286(6):E968–E974.
283. Shen, W., Xu, Y., & Lu, Y. H. Inhibitory effects of citrus flavonoids on starch digestion and antihyperglycemic effects in HepG2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2012). 60, 9609–9619.
284. Sheng ZH and Cai Q. Mitochondrial transport in neurons: impact on synaptic homeostasis and neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci*. (2012); 13:77-93.
285. Shepherd GM and Harris KM. Three-dimensional structure and composition of CA3→CA1 axons in rat hippocampal slices: implications for presynaptic connectivity and compartmentalization. *J Neurosci*. (1998); 18:8300-8310.
286. Shi, M. D., Liao, Y. C., Shih, Y.W., & Tsai, L. Y. Nobiletin attenuates metastasis via both ERK and PI3K/Akt pathways in HGF-treated liver cancer HepG2 cells. *Phytomedicine*, (2013). 20, 743–752
287. Shiming Lia,b,* , Hong Wangc, Limin Guod, Hui Zhaoe, Chi-Tang Hob, Chemistry and bioactivity of nobiletin and its Metabolites. *Journal of Functional Foods*(2014)Volume 6, January, Pages 2–10.
288. Sibson, N.R., Dhankhar, A., Mason, G.F., Rothman, D.L., Behar, K.L., Shulman, R.G. Stoichiometric coupling of brain glucose metabolism and glutamatergic neuronal activity *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (1998). 95, 316–321.
289. Smith JW, Evans AT, Costall B, Smythe JW. Thyroid hormones, brain function and cognition: a brief review. *Neurosci Bio behav Rev* (2002) 26:45–60.
290. Solanki I, Parihar P, Mansuri ML, Parihar MS. Flavonoid-Based Therapies in the Early Management of Neurodegenerative Diseases *Adv Nutr*. (2015). 15;6(1):64-72.

291. St Germain DL, Galton VA, Hernandez A. Minireview: defining the roles of the iodothyronine deiodinases: current concepts and challenges. *Endocrinology* (2009) 150:1097–107.
292. Stankiewicz TR, Linseman DA. Rho family GTPases: key players in neuronal development, neuronal survival, and neurodegeneration, *Front. Cell Neurosci.* (2014);8(314):1–14.
293. Stauch KL, Purnell PR, Fox HS. Quantitative proteomics of synaptic and nonsynaptic mitochondria: insights for synaptic mitochondrial vulnerability. *J Proteome Res.* (2014); 2;13(5):2620–36.
294. Sterling K, Campbell GA, Taliadouros GS, Nunez EA. Mitochondrial binding of triiodothyronine (T₃). Demonstration by electron-microscopic radioautography of dispersed liver cells. *Cell Tissue Res.* (1984);236(2):321–325.
295. Sterling, K., Milch, P.O., Thyroid hormone binding by a component of mitochondrial membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1975).72 (8), 3225–3229.
296. Sugiyama, S., Umemura, K., Kuroyanagi, M., Ueno, A., and Taki, T. Studies on the differentiation inducers of myeloid leukemic cells from *Citrus* species. *Chem. Pharm. Bull.*, (1993). 41: 714–719.
297. Sung PJ, Tsai FD, Vais H, Court H, Yang J, Fehrenbacher N, Foscett JK, Philips MR. Phosphorylated K-Ras limits cell survival by blocking Bcl-xL sensitization of inositol trisphosphate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* (2013). Dec 17;110(51):20593–8.
298. Surh YJ. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat Rev Cancer.* (2003); (10):768–80.
299. Suzuki, R., Kohno, H., Murakami, A., Koshimizu, K., Ohigashi, H., Yano, M., Tokuda, H., Nishino, H., & Tanaka, T. Citrus nobletin inhibits azoxymethane-induced large bowel carcinogenesis in rats. *BioFactors*, (2004). 22, 111–114.
300. Szinnai, G. Clinical genetics of congenital hypothyroidism. *Endocr. Dev.* (2014).26, 60–78.

301. Tanaka, T., Makita, H., Kawabata, K., Mori, H., Kakumoto, M., Satoh, K., Hara, A., Tanaka, T., and Ogawa, H., Chemoprevention of azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis by the naturally occurring flavonoids, diosmin and hesperidin. *Carcinogenesis*, (1997).18, 957–965 .
302. Tang H.Y., Lin, H.Y., Zhang, S., Davis, F. B. and Davis, P. J. Thyroid hormone causes mitogen-activated protein kinase-dependent phosphorylation of the nuclear estrogen receptor *Endocrinology* (2004) 145, 3265-72.
303. Tang M, Ogawa K, Asamoto M, Hokaiwado N, Seeni A, Suzuki S, Takahashi S, Tanaka T, Ichikawa K, Shirai T. Protective effects of citrus nobiletin and auraptene in transgenic rats developing adenocarcinoma of the prostate (TRAP) and human prostate carcinoma cells. *Cancer Sci.* (2007) . 98(4):471-7)
304. Tata J.R., Ernster, L., Lindberg, O., Arrhenius, E., Pedersen, S., Hedman, R., The action of thyroid hormones at the cell level. *Biochem. J.* (1963).86 (3), 408–428.
305. Tata JR, Ernster L, Lindberg O. Control of basal metabolic rate by thyroid hormones and cellular function. *Nature.* (1962);193:1058–1060.23.
306. Tata JR. The road to nuclear receptors of thyroid hormone. *Biochim Biophys Acta.*(2013);1830(7):3860–3866.
307. Tomanek RJ, Busch TL. Coordinated capillary and myocardial growth in response to thyroxine treatment. *Anat Rec* (1998) 251:44-49.
308. Trumpower BL. The protonmotive Q cycle. Energy transduction by coupling of proton translocation to electron transfer by the cytochrome bc₁ complex. *J Biol Chem.* (1990);265(20):11409-11412.
309. Tu HM, Kim SW, Salvatore D, Bartha T, Legradi G, Larsen PR, et al. Regional distribution of type 2 thyroxine deiodinase messenger ribonucleic acid in rat hypothalamus and pituitary and its regulation by thyroid hormone. *Endocrinology* (1997) 138:3359–68.

310. Vallortigara J, et al. Thyroid hormone receptor alpha plays an essential role in the normalisation of adult-onset hypothyroidism-related hypoexpression of synaptic plasticity target genes in striatum. *J Neuroendocrinol.* (2009); 21(1):49–56.
311. Verstreken, P., Ly C.V., Venken K.J, Koh T.W., Zhou Y., and Bellen H.J. Synaptic mitochondria are critical for mobilization of reserve pool vesicles at *Drosophila* neuromuscular junctions. *Neuron.* (2005).47(3):365–378.
312. Votyakova TV, Reynolds IJ. DWM-dependent and –independent production of reactive oxygen species by rat brain mitochondria. *J Neurochem*(2001) 79:266–277.
313. Wall, M. W., Wani, M. C., Manukumar, G., Abraham, P., Taylor, H., Hughes, T. J., Warner, J., and McGivney, R. Plant antimutagenic agents, 2. Flavonoids. *J. Nat. Prod.*(Lloydia), , (1998). 51: 1084–1091.
314. Walle T. Methoxylated flavones, superior cancer chemopreventive flavonoid subclass? *Semin Cancer Biol.* (2007) . 17(5):354–62.
315. Wallis K, Dudazy S, Van Hogerlinden M, Nordstrom K, Mittag J, Vennstrom B. The thyroid hormone receptor alpha1 protein is expressed in embryonic postmitotic neurons and persists in most adult neurons. *Mol Endocrinol.* (2010).24:1904–16.
316. Weinberger C, Thompson CC, Ong ES, Lebo R, Gruol DJ, Evans RM. The c-erb-A gene encodes a thyroid hormone receptor. *Nature.* (1986);324(6098):641–646.
317. Weitzel JM, Hamann S, Jauk M, et al. Hepatic gene expression patterns in thyroid hormone-treated hypothyroid rats. *J Mol Endocrinol.* (2003);31(2):291–303.
318. Weitzel JM, Iwen KA. Coordination of mitochondrial biogenesis by thyroid hormone. *Mol Cell Endocrinol.* (2011); 342(1–2):1–7.
319. Whitman, S. C., Kurowska, E. M., Manthey, J. A., & Daugherty, A. Nobiletin, a citrus flavonoid isolated from tangerines, selectively inhibits class A scavenger receptor mediated metabolism of acetylated LDL by mouse macrophages. *Atherosclerosis*, (2005). 178, 25–32.
320. Williams GR. Neurodevelopmental and neurophysiological actions of thyroid hormone. *J Neuroendocrinol.*(2008);20(6):784–794.

321. Wolkow CA, Iser WB. Uncoupling protein homologs may provide a link between mitochondria, metabolism and lifespan. *Ageing Res Rev.* (2006);5(2):196-208.
322. Wrutniak C, Rochard P, Casas F, Frayssé A, Charrier J, Cabello G. Physiological importance of the T3 mitochondrial pathway. *Ann NY Acad Sci.*(1998);839:93–100.
323. Wrutniak C, Cassar-Malek I, Marchal S, Rascle A, Heusser S, Keller JM, Fléchon J, Dauça M, Samarut J, Ghysdael J, et al. A 43-kDa protein related to c-Erb A alpha 1 is located in the mitochondrial matrix of rat liver. *J. Biol. Chem.* (1995). 270 (27), 16347–16354.
324. Wrutniak-Cabello C, Casas F, Cabello G. Thyroid hormone action in mitochondria. *J Mol Endocrinol.* (2001);26(1):67–77.235.
325. Wu JJ, Cui Y, Yang YS, Jung SC, Hyun JW, Maeng YH, Park DB et al. Mild Mitochondrial Depolarization is Involved in a Neuroprotective Mechanism of Citrus sunki Peel Extract. *Phytother Res*, (2012) 27(4), 564-71.
326. Wyse AT, et al. Training in inhibitory avoidance causes a reduction of Na⁺,K⁺-ATPase activity in rat hippocampus. *PhysiolBehav.* (2004); 80(4):475–9.
327. Wyss MT, Jolivet R, Buck A, Magistretti PJ, Weber B In vivo evidence for lactate as a neuronal energy source. *J Neurosci* (2011) 31(20):7477–7485.
328. Yabuki Y., Ohizumi Y., Yokosuka A., Mimaki Y. And Fukunaga K.; Nobiletin Treatment Improves Motor And Cognitive Deficits Seen In Mptp-Induced Parkinson Model Mice; *Neuroscience* 259 (2014) 126–141.
329. Yamamoto, Y., Shioda, N., Han, F., Moriguchi, S., Nakajima, A., Yokosuka, A., Mimaki, Y., Sashida, Y., Yamakuni, T., Ohizumi, Y., Fukunaga, K., Nobiletin improves brain ischemia- induced learning and memory deficits through stimulation of CaMKII and CREB phosphorylation. *Brain Res.* (2009).1295, 218–229.
330. Yang CS, Wang X, Lu G, Picinich SC. Cancer prevention by tea: animal studies, molecular mechanisms and human relevance. *Nat Rev Cancer.* (2009); (6):429–39.).
331. Yasuda N, Ishii T, Oyama D, Fukuta T, Agato Y¹, Sato A¹, Shimizu K¹, Asai T¹, Asakawa T, Kan T, Yamada S, Ohizumi Y, Oku N⁵.Neuroprotective

- effect of nobiletin on cerebral ischemia-reperfusion injury in transient middle cerebral artery-occluded rats; *Brain Res.* (2014) Apr 22;1559:46-54
332. Yehuda-Shnaidman E, Kalderon B, Bar-Tana J. Modulation of mitochondrial transition pore components by thyroid hormone. *Endocrinology.* (2005) May;146(5):2462-72.
 333. Yehuda-Shnaidman E, Kalderon B, Bar-Tana J. Thyroid hormone, thyromimetics, and metabolic efficiency. *Endocr Rev.* (2014) Feb;35(1):35-58.
 334. Yen PM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol Rev.* (2001);81(3):1097–1142..
 335. Yi L-T, Xu H-L, Feng J., Zhan X., Zhou L-P, Cui C-C. Involvement of monoaminergic systems in the antidepressant-like effect of nobiletin. *Physiology & Behavior*, (2011) 102, 1–6.
 336. Yoshimizu, N., Otani, Y., Saikawa, Y., Kubota, T., Yoshida, M., Furukawa, T., Kumai, K., Kameyama, K., Fujii, M., Yano, M., Sato, T., Ito, A., & Kitajima, M. Anti-tumour effects of nobiletin, a citrus flavonoid, on gastric cancer include: Antiproliferative effects, induction of apoptosis and cell cycle deregulation. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, (2004). 20(Suppl.1), 95–101.
 337. Zaninovich AA. Role of uncoupling proteins uncoupling protein1, uncoupling protein2 and uncoupling protein3 in energy balance, type 2 diabetes and obesity. Synergism with the thyroid. *Medicina (B Aires)*. (2005); 65(2):163-169.
 338. Zhu DF, et al. Effect of Thyroxine on Synaptotagmin 1 and SNAP-25 Expression in Dorsal Hippocampus of Adult-onset Hypothyroid Rats. *J Endocrinol Invest.* (2011). 34(4):280-6.
 339. Zhu DF, Wang ZX, Zhang DR, Pan ZL, He S, Hu XP, Chen XC, Zhou JN. MRI revealed neural substrate for reversible working memory dysfunction in subclinical hypothyroidism. *Brain* (2006) 129:2923–2930
 340. Zhu, X.-H., H. Qiao, F. Du, Q. Xiong, X. Liu, X. Zhang, K. Ugurbil, and W. Chen. Quantitative imaging of energy expenditure in human brain. *Neuroimage.* (2012). 60:2107–2117.

341. Zhuravliova E, Barbakadze T, Jojua N, Zaalishvili E, Shanshiashvili L, Natsvlishvili N, Kalandadze I, Narmania N, Chogovadze I, Mikeladze D. Synaptic and non-synaptic mitochondria in hippocampus of adult rats differ in their sensitivity to hypothyroidism. *Cell Mol Neurobiol.* (2012) 32(8), 1311-21.
342. Zielke, H.R., Zielke, C.L., and Baab, P.J. Direct measurement of oxidative metabolism in the living brain by microdialysis: a review. *J. Neurochem.* (2009). 109 (Suppl1), 24–29.
343. Zimmermann MB. Iodine deficiency. *Endocr Rev.* (2009) ;30(4):376–408;