



შპს სასწავლო უნივერსიტეტი გეომედი

ფირცხალავა მ., ვახანია მ., თავხელიძე თ., გოგობე მ., მინდიაშვილი თ.,
კობიაშვილი მ.

სტატია სამეცნიერო ჟურნალისთვის

საქართველოს ენდემური მცენარეებიდან გამოყოფილი პოლიფენოლების
(ფლავონოიდების) გავლენა ტეტრაქლორმეთანით (CCl₄) დაზიანებული
თაგვების ღვიძლის ქსოვილზე

თბილისი
2020

საქართველოს ენდემური მცენარეებიდან გამოყოფილი პოლიფენოლების
(ფლავონოიდების) გავლენა ტეტრაქლორმეთანით (CCl₄) დაზიანებული თავგვების
ღვიძლის ქსოვილზე

ფირცხალავა მ., ვახანია მ., თავხელიძე თ., გოგოძე მ., მინდიაშვილი თ.,
კობიაშვილი მ.

საქართველო, თბილისი, უნივერსიტეტი გეომედი, www.info@geomedi.edu.ge

შესავალი

ფლავონოიდები მცენარეული წარმოშობის პოლიფენოლური ნაერთებია. ისინი მცენარეების მეორეულ მეტაბოლიტებს წარმოადგენენ და ხშირად გლიკოზიდური ფორმით გვხვდება მცენარეების ყველა ორგანოში, სადაც ასრულებენ მთელ რიგ მნიშვნელოვან ფუნქციებს: განსაზღვრავენ მცენარეთა პიგმენტაციას, სუნს, გემოს და სხვა. გარდა ამისა, ისინი მონაწილეობენ მცენარეებში ბუნებრივი იმუნიტეტის უზრუნველყოფაში, სხვადასხვა ბაქტერიული და სოკოვანი ინფექციის წინააღმდეგ. სადღეისოდ, იდენტიფიცირებულია დაახლოებით 10 000-მდე ფლავონოიდი.

ფლავონოიდები გამოიყენება მრავალი დაავადების სამკურნალოდ, მათ შორის, ავთვისებიანი სიმსივნეების პროფილაქტიკასა და მკურნალობაში, რაც სათავეს მე-20 საუკუნის 70-იანი წლებიდან იღებს. 1975 წელს, *in vitro* ექსპერიმენტებით ნაჩვენები იყო ქვერცეტინის (უმეტესად შეიცავს ხილი და ბოსტნეული) მაინჰიბირებელი გავლენა ლეიკემიის უჯრედებზე [1].

მრავალრიცხოვანი კვლევები, რომლებიც ეძღვნება ადამიანის მიერ საკვებად გამოყენებულ მცენარეებში არსებულ ფლავონოიდებს, მიუთითებენ კანცეროგენუზის სხვადასხვა მოდელში სიმსივნური უჯრედების აპოპტოზის უნარზე [2;3;4].

ნაჩვენებია ფლავონოიდების ანტიმეტასტაზური თვისებები, დათრგუნოს სიმსივნეების ნეოანგიოგენეზის პროცესი. ასეთი ანტიანგიოგენეზური პოტენციალი აღმოაჩნდა ეპიგალოკატეჟინგალატს(EGCG)[5].

ანტიანთებითი თვისებებით გამოირჩევა არაერთი ფლავონოიდი. მაგალითად, ფლავანონი ნარინგენინი იცავს დაავადებული თირკმლების მქონე ცხოველებს დიაბეტური ნეფროპათიის განვითარებისაგან, რაც დაკავშირებულია თირკმლის სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის დაქვეითებასთან (α ფაქტორი), პარალელურად, ქვეითდება ციტოკინებიც [6].

ანტიანთებითი თვისებები ახასიათებს ფლავონოიდების სხვა წარმომადგენლებსაც, მაგალითად, ციანიდინი და პროკატეჟინის მჟავა (ანთოციანები)

ავლენენ ანტიანთებით თვისებებს. აქვეითებენ სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის(TNF- α) და ინტერლეიკინ-1 β -ს პროდუქციას [7].

კვლევის საგანი

ვინაიდან, ფლავონოიდების ანტიანთებითი აქტიურობა უშუალოდ დაკავშირებულია ანტისიმსივნურ დაცვასთან, აქედან გამომდინარე, შევისწავლეთ საქართველოს სამი ენდემური მცენარიდან გამოყოფილი პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) ნაკრების ერთობლივი ზემოქმედება დაზიანებული ღვიძლის ქსოვილზე ინდუცირებული CCl₄-ით.

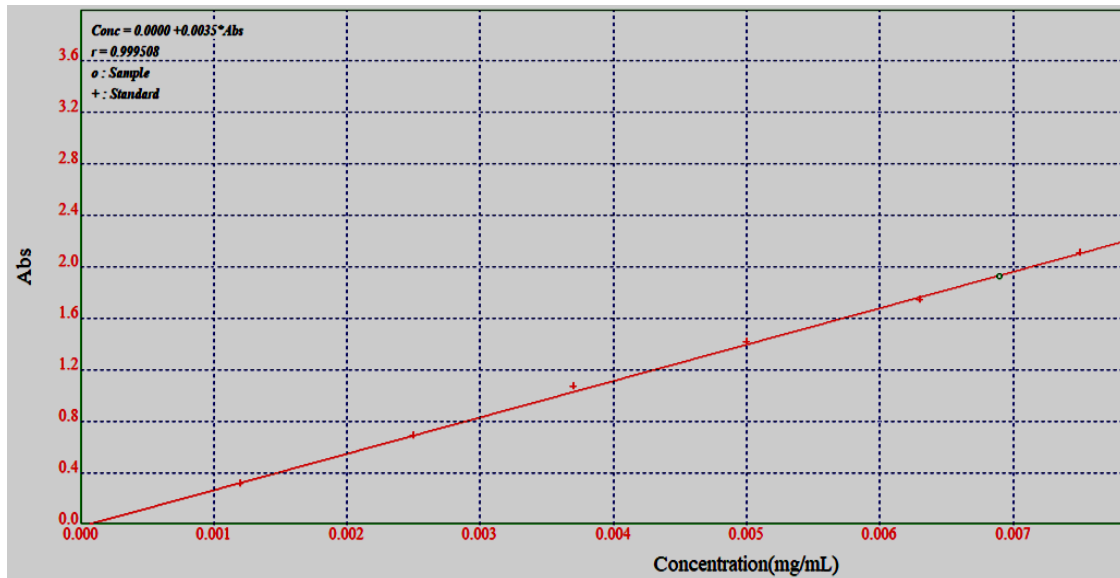
გამოყენებული მეთოდები და მასალები

ექსპერიმენტების პირველ ეტაპზე, მცენარეებიდან გამოყოფილი იყო პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) აქტიურობის მქონე ნაერთები. ამ მიზნით, მცენარეებს ვაქუცმაცებდით და ვათავსებდით 90%-იან ეთანოლის ხსნარში. ინკუბაცია მიმდინარეობდა 70°C-ზე 60 წუთის განმავლობაში. მიღებულ ხსნარს ვფილტრავდით და ვაცენტრიფუგირებდით (3000 rpm. 10 წუთის განმავლობაში). ეთანოლის მოცილების მიზნით, ხსნარი თავსდებოდა ამორთქლებელზე, სადაც მიმდინარეობდა ეთანოლის გაყინვით აორთქლება 5 საათის განმავლობაში. მიღებული მასა იხსნებოდა დისტილირებულ წყალში და ცენტრიფუგირდებოდა (3000 rpm. 10 წუთის განმავლობაში).

პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) კონცენტრაციას ვსაზღვრავდით რუტინის მიხედვით. ექსპერიმენტულ ცხოველებში, როგორც მხოლოდ პოლიფენოლების (ფენოლების, მე-3 ჯგუფი), ისე პოლიფენოლების (ფენოლების) და CCl₄-ის ერთდროული ზემოქმედების ჯგუფებში. პოლიფენოლების (ფენოლების) თავგებისადმი მიწოდებული საბოლოო კონცენტრაცია იყო 7მკგ/მლ-ზე.

ტეტრაქლორმეთანი (CCl₄) მეთანის ქლორწარმოებულია. იგი უფერო სითხეა, არომატული სუნით. ექსპერიმენტულ მედიცინაში ხშირად იყენებენ, როგორც ჰეპატოტოქსიკურ აგენტს. ჩვენს ექსპერიმენტებში გამოყენებული იყო მისი 10%-იანი ხსნარი, ზეთში გახსნილი.

სურათი №1. მცენარეულ ექსტრაქტებში პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) კონცენტრაციის განსაზღვრა (რუტინის მიხედვით). საბოლოო კონცენტრაცია 7 მკგ/მლ-ზე.



In vivo ცდები ტარდებოდა თავგებზე. საექსპერიმენტო ცხოველები დაყოფილი იყო ოთხ ჯგუფად. თითოეულ ჯგუფში შედიოდა 5 მამრი თავგი, წონით დაახლ. 30 ($\pm 0.1-0.5$) გრამი.

I ჯგუფი - საკონტროლო (ინტაქტური ცხოველები);

II ჯგუფის ცხოველებში, 1 თვის განმავლობაში, ინტრაპერიტონეალურად კვირაში ორჯერ შეგვყავდა CCl_4 ;

III ჯგუფის ცხოველებს, 1 თვის განმავლობაში, ყოველდღიურად წყალთან ერთად (per os) ვაძლევდით მხოლოდ პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) ექსტრაქტს;

IV ჯგუფის ცხოველებში, 1 თვის განმავლობაში, ინტრაპერიტონეალურად კვირაში ორჯერ შეგვყავდა CCl_4 და ყოველდღიურად წყალთან ერთად ვაძლევდით (per os) პოლიფენოლების(ფლავონოიდების) ექსტრაქტს.

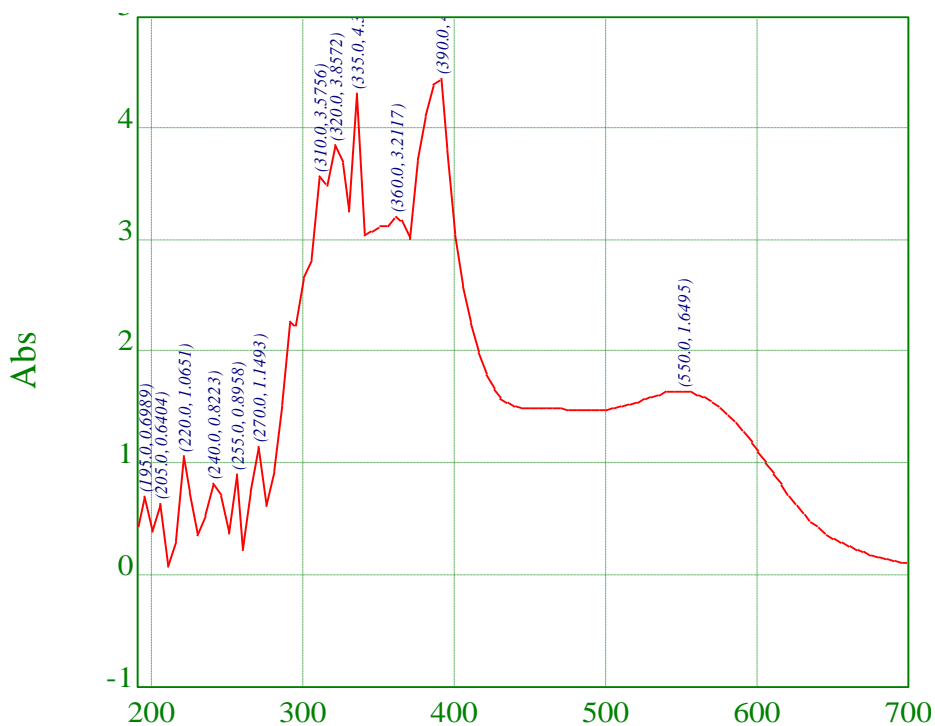
საექსპერიმენტო ვადის გასვლის შემდეგ, თავგების დეკაპიტაცია მიმდინარეობდა მათი წინასწარი დაძინების შემდეგ.

გამოსაკვლევი ცხოველების ღვიძლიდან აღებულ ქსოვილებს, შესაბამისი დაფიქსირებისა და სათანადო ჰისტოლოგიური დამუშავების შემდეგ, ვაყალიბებდით პარაფინში, რომლისგანაც მიღებულ როტაციულ მიკროტომზე დაჭრილ ანათლებს ვღებავდით ჰემატოქსილინითა და ეოზინით, აგრეთვე, პიკროფუქსინით. მიღებულ მიკროპრეპარატებს ვიკვლევდით ტრინოკულარულ სინათლის მიკროსკოპში (ასევე, ვიღებდით სათანადო მიკროფოტოებს).

მიღებული შედეგების განხილვა

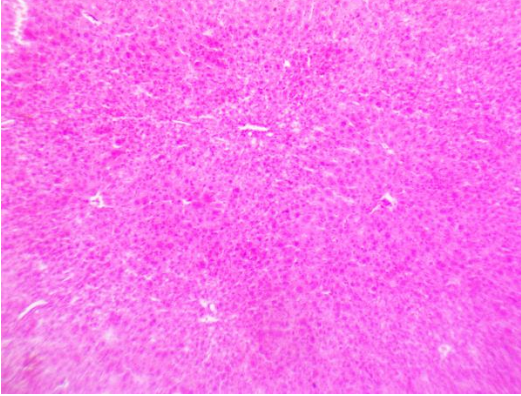
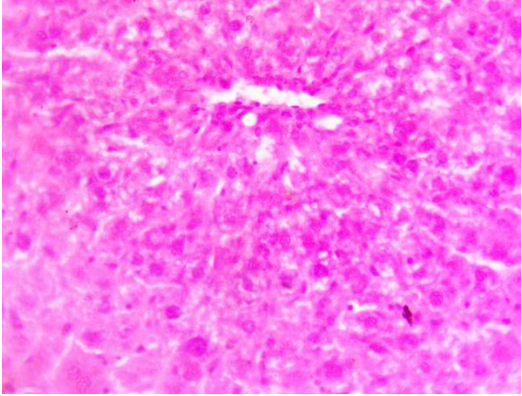


მცენარეებიდან მიღებული პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) ნაკრების ულტრასპექტროფოტომეტრულმა ანალიზმა გამოავლინა რამდენიმე სპექტრული მაჩვენებელი. ანალიზი მიმდინარეობდა 190-700 ნმ-ის ფარგლებში (სურათი №2).

სურათი №2. პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) სპექტრი გამოირჩევა მრავალფეროვნებით. განსაკუთრებით ჭარბადაა პოლიფენოლები სპექტრის 310-400 ნმ-ის ფარგლებში, რომელიც, ძირითადად, შეესაბამება ფლავონოიდების სპექტრს (ქვერცეტინი, რუტინი, მირიციტინი და სხვა).



I საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში აღინიშნება ნორმალური ღვიძლის მიკრომორფოლოგიური შენება, მისთვის დამახასიათებელი ნორმალური ჰეპატოციტური ხარიხებითა და სინუსოიდური მიკროსისხლძარღვებით, წილაკთა ცენტრალური ვენებით, წილაკთაშორის არსებული არტერიული, ვენური სისხლძარღვებისა და ნაღვლის სადინრების ტრიადებით, დამახასიათებელი მინიმალურად წარმოდგენილი შემაერთებული ქსოვილით, როგორც ჰემატოქსილინითა და ეოზინით, ისე პიკროფუქსინით შეღებილ მიკროპრეპარატებში (სურათები 1; 2; 3; 4).

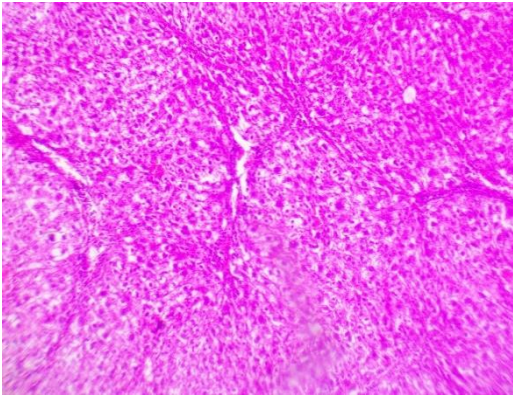
I საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში ღვიძლის ნორმალური მიკრომორფოლოგიური შენება.

 <p>სურათი 1. კონტროლი. შეღებვა ჰემატოქსილინითა და ეოზინით. გადიდება 100x.</p>	 <p>სურათი 2. კონტროლი. შეღებვა ჰემატოქსილინითა და ეოზინით. გადიდება 400x.</p>
 <p>სურათი 3. კონტროლი. შეღებვა პიკროფუქსინით. გადიდება 100x.</p>	 <p>სურათი 4. კონტროლი. შეღებვა პიკროფუქსინით. გადიდება 400x.</p>

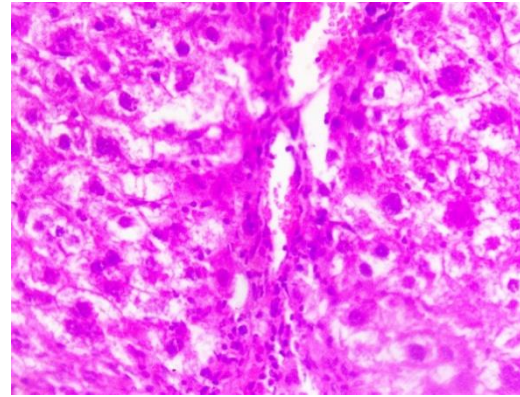
I ჯგუფის ცხოველებში, რომლებშიც 1 თვის განმავლობაში ინტრაპერიტონეალურად კვირაში ორჯერ შეგვყავდა CCl_4 , აღინიშნება ღვიძლის შეცვლილი მიკროსკოპული სურათი, რაც გამოიხატება წილაკოვანი სტრუქტურის დარღვევით, გამოხატულია შემაერთებელი ქსოვილის მნიშვნელოვანი გამრავლება და მისგან წილაკების მკვეთრი გამოიჯვნა, ცრუ წილაკების გაჩენა, ჰეპატოციტების

ხარიხების შეცვლილი სტრუქტურა, როგორც ჰემატოქსილინითა და ეოზინით, ისე პიკროფუქსინით შეღებილ მიკროპრეპარატებში (სურათები 5; 6; 7; 8).

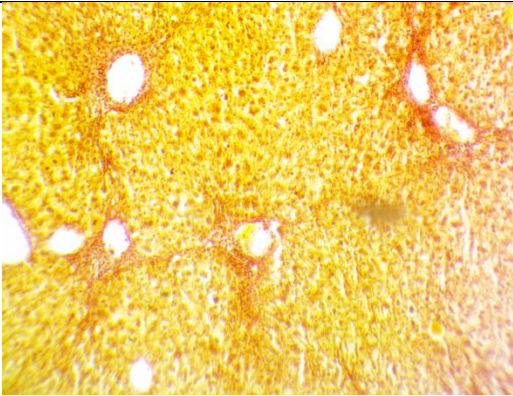
II საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში ინტრაპერიტონეალურად შეყვანილი 10%-იანი CCl_4 -ის შედეგად ღვიძლის შეცვლილი მიკრომორფოლოგია.



სურათი 5. CCl_4 -ით ზემოქმედება. შეღებვა ჰემატოქსილინითა და ეოზინით. გადიდება 100x.



სურათი 6. CCl_4 -ით ზემოქმედება. შეღებვა ჰემატოქსილინითა და ეოზინით. გადიდება 400x.



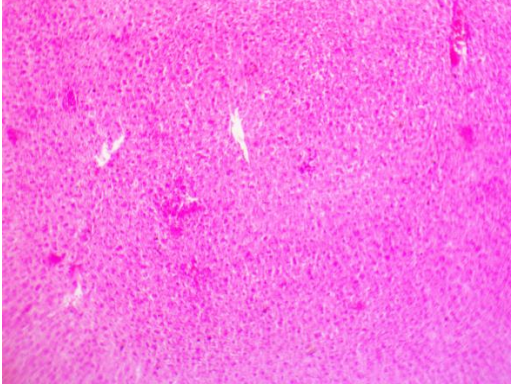
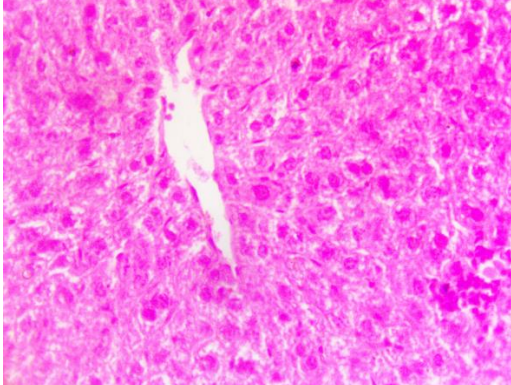
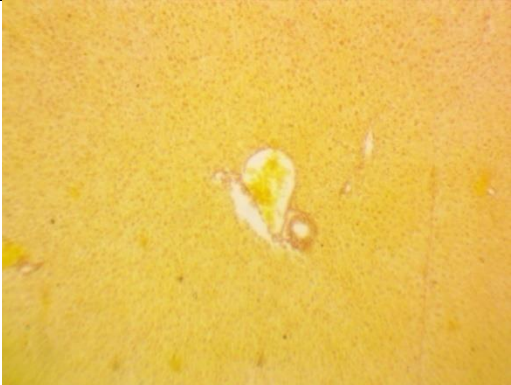
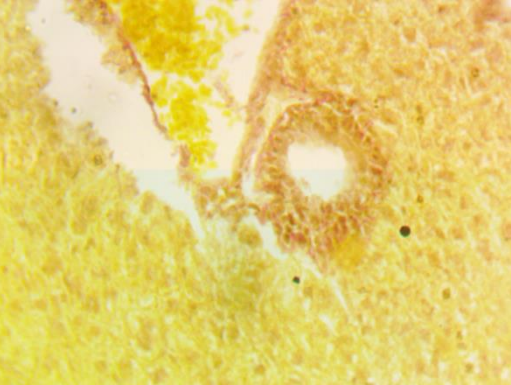
სურათი 7. CCl_4 -ით ზემოქმედება. შეღებვა პიკროფუქსინით. გადიდება 100x.



სურათი 8. CCl_4 -ით ზემოქმედება. შეღებვა პიკროფუქსინით. გადიდება 400x.

III ჯგუფის ცხოველებს, 1 თვის განმავლობაში, ყოველდღიურად წყალთან ერთად (per os) ვაძლევდით მხოლოდ პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) ექსტრაქტს. არსებული სურათი თითქმის არ განსხვავდება საკონტროლო ჯგუფის მონაცემებისგან, როგორც ჰემატოქსილინითა და ეოზინით, ისე პიკროფუქსინით შეღებილ მიკროპრეპარატებში (სურათები 9, 10, 11, 12).

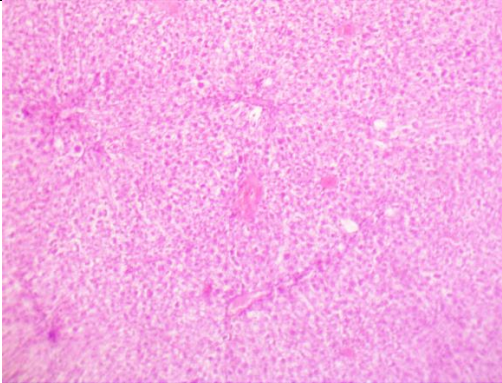
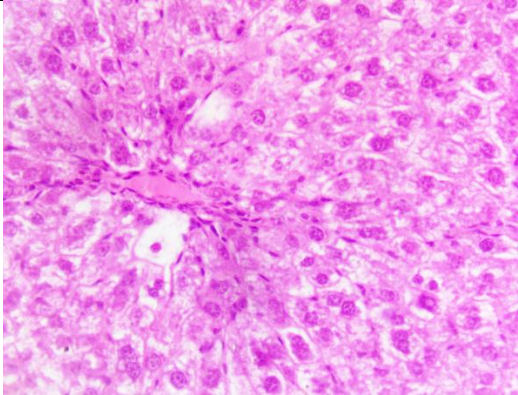
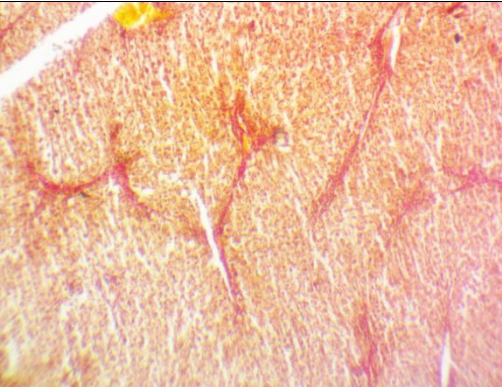
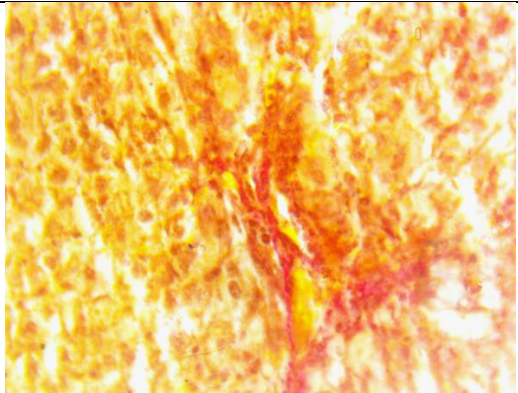
III საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში მცენარეული პოლიფენოლების(ფლავონოიდების)ექსტრაქტის მოქმედება ჯანმრთელი ცხოველების ღვიძლზე.

 <p>სურათი 9. პოლიფენოლებით (ფლავონოიდების) ზემოქმედება. შეღებვა ჰემატოქსილინითა და ეოზინით. გადიდება 100x.</p>	 <p>სურათი 10. პოლიფენოლებით (ფლავონოიდების) ზემოქმედება. შეღებვა ჰემატოქსილინითა და ეოზინით. გადიდება 400x.</p>
 <p>სურათი 11. პოლიფენოლებით (ფლავონოიდების) ზემოქმედება. შეღებვა პიკროფუქსინით. გადიდება 100x.</p>	 <p>სურათი 12. პოლიფენოლებით (ფლავონოიდების) ზემოქმედება. შეღებვა პიკროფუქსინით. გადიდება 400x.</p>

IV ჯგუფის ცხოველებში, 1 თვის განმავლობაში, ინტრაპერიტონეალურად კვირაში ორჯერ შეგვყავდა CCl_4 და ყოველდღიურად წყალთან ერთად ვაძლევდით (per os) პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) ექსტრაქტს. მონაცემები ემთხვევა II ჯგუფის ცხოველების მონაცემებს და აღინიშნება, როგორც შემაერთებელი ქსოვილის გამრავლება, ასევე, მისგან წილაკების მკვეთრი გამოიჯვნა, ცრუ წილაკების გაჩენა,

ჰეპატოციტების ხარიხების დეორიენტაცია, როგორც ჰემატოქსილინითა და ეოზინით, ისე პიკროფუქსინით შეღებილ მიკროპრეპარატებში (სურათები 13, 14, 15, 16).

IV საკონტროლო ჯგუფის თავებში, ინტრაპერიტონეალურად შეყვანილი 10%-იანი CCl_4 -ისა და მცენარეული პოლიფენოლების (ფლავონოიდების)გავლენა თავის ღვიძლის უჯრედებზე.

 <p>სურათი 13. CCl_4-ითა და პოლიფენოლებით (ფლავონოიდების)ერთდროული ზემოქმედება. შეღებვა ჰემატოქსილინითა და ეოზინით. გადიდება 100x.</p>	 <p>სურათი 14. CCl_4-ითა და პოლიფენოლებით (ფლავონოიდების) ერთდროული ზემოქმედება. შეღებვა ჰემატოქსილინითა და ეოზინით. გადიდება 400x.</p>
 <p>სურათი 15. CCl_4-ითა და პოლიფენოლებით (ფლავონოიდების) ერთდროული ზემოქმედება. შეღებვა პიკროფუქსინით. გადიდება 100x.</p>	 <p>სურათი 16. CCl_4-ითა და პოლიფენოლებით (ფლავონოიდების)ერთდროული ზემოქმედება. შეღებვა პიკროფუქსინით. გადიდება 400x.</p>

დასკვნა:

1. საქართველოს ენდემური მცენარეებიდან გამოყოფილი პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) ნაკრები, საბოლოო კონცენტრაციით 7მკგ/მლ-ზე, დამაზიანებელ გავლენას არ ახდენს თავგების ღვიძლის მიკროსტრუქტურაზე.

2. საქართველოს ენდემური მცენარეებიდან გამოყოფილი პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) ნაკრები (საბოლოო კონცენტრაციით 7 მკგ/მლ-ზე), ინტრაპერიტონეალურად შეყვანილ 10%-იან CCl₄-თან ერთად, ვერ უზრუნველყოფს CCl₄-ის მიერ თავგების ღვიძლის უჯრედებზე მიყენებული დაზიანებების აღმოფხვრას, რაც, შესაძლებელია, გამოწვეული იყოს პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) დაბალი კონცენტრაციითა და ცხოველების ორგანიზმში მათი (per os) შეყვანით.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Soulinna E.M., Buchsbaum R.N., Racker E. The effect of flavonoids on aerobic glycolysis and growth of tumorcells. *Cancer Res.* 1975; 35 (7): 1865–1872.
2. Pandey K.B., Rizvi S.I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid. Med. Cell. Long.* 2009; 2 (5): 270–278. DOI: 10.4161/oxim.2.5.9498.
3. Amararathna M., Johnston M.R., Rupasinghe H.P.V. Plant polyphenols as chemopreventive agents for lung cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17 (8): 1352. DOI: 10.3390/ijms17081352.
4. Scalbert A., Manach C., Morand C., Révész C., Jiménez L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2005; 45 (4): 287–306. DOI:10.1080/1040869059096.
5. Singh A.K., Seth P., Anthony P., Husain M.M., Madhavan S., Mukhtar H., Maheshwari R.K. Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate inhibits angiogenic differentiation of human endothelial cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 2002; 401 (1): 29–37. DOI: 10.1016/S0003-9861(02)00013-9.
6. Tsai, S. J., Huang C. S., Mong M. C., Kam W. Y., Huang H. Y., Yin M. C. (2012) Anti-inflammatory and Antifibrotic Effects of Naringenin in Diabetic Mice, *J. Agric. Food Chem.*, 60, 514–521.
7. Min, S. W., Ryu S. N., Kim D. H. (2010) Anti-inflammatory effects of black rice, cyanidin-3-O-beta-D-glycoside, and its metabolites, cyanidin and protocatechuic acid, *Int. Immunopharmacol.*, 10, 959–966.

საქართველოს ენდემური მცენარეებიდან გამოყოფილი პოლიფენოლების
(ფლავონოიდების) გავლენა ტეტრაქლორმეთანით (CCl₄) დაზიანებული თაგვების
ღვიძლის ქსოვილზე

მარინა ფირცხალავა, მალხაზ ვახანია, თეიმურაზ თავხელიძე, მარინა გოგოძე,
თორნიკე მინდიაშვილი, მარიამ კობიაშვილი

რეზიუმე

ნაშრომში აღწერილია საქართველოს ენდემური მცენარეებიდან გამოყოფილი პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) ნაკრების ერთობლივი ზემოქმედება, ტეტრაქლორმეთანით (CCl₄) დაზიანებულ თაგვის ღვიძლის ქსოვილზე. ექსპერიმენტების პირველი სერიაში, პოლიფენოლების (ფლავონოიდების) დაბალი კონცენტრაციებით მოქმედებამ (7 მკგ/მლ) არ მოგვცა დადებითი შედეგი.

საკვანძო სიტყვები: ფლავონოიდები, პოლიფენოლები, ტეტრაქლორმეთანი, CCl₄.

**Marina Pirtskhalava, Malkhaz Vakhania, Teimuraz Tavkheldze, Marina Gogodze,
Tornike Mindiashvili, Mariam Kobiashvili**

**Title: Influence of polyphenols (flavonoids) isolated from endemic plants of Georgia
on damaged mouse liver induced by tetrachlormethane (CCl₄)**

Summary

This article describes the combined effect of polyphenols (flavonoids), isolated from endemic plants of Georgia, on the damaged liver tissue with induced tetrachlormethane. Initial experiments in low concentrations (7 mg/L) of polyphenols (flavonoids) did not show positive effect.

Keywords: Flavonoids, Polyphenols, Tetrachloromethane, tetrachlormethane, CCl₄.

Влияние полифенолов (флавоноидов), выделенных из эндемичных растений Грузии, на ткань печени мышей, поврежденную тетрахлорметаном (CCl₄)

Марина Пирцхалава, Малхаз Вахания, Теймураз Тавхелидзе, Марина Гогодзе, Торнике Миндиашвили, Мариам Кобиашвили

Резюме

В статье описано комбинированное действие набора полифенолов (флавоноидов), выделенных из эндемичных растений Грузии, на ткань печени мыши, поврежденную тетрахлорметаном (CCl₄). В первой серии экспериментов, действие полифенолов (флавоноидов) низких концентраций (7 мкг / мл) на поврежденную ткань печени не дало положительного результата.

Ключевые слова: флавоноиды, полифенолы, тетрахлорметан, CCl₄.