

ივ. ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

ანა ხაზარაძე

თავისუფალრადიკალური პროცესების შესწავლა პროსტატის
სიმსივნურ ქსოვილში

სამაგისტრო პროგრამა: ბიოლოგია

ნაშრომი შესრულებულია ბიოლოგიის მაგისტრის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელი: ბ.მ.დ. პროფ. ნანა კოტრიკაძე
დოქტორანტი ლიანა რამიშვილი

თბილისი 2016

ანოტაცია

პროსტატის სიმსივნეები მამაკაცთა ონკოლოგიურ დაავადებებს შორის პირველ ადგილს იკავებს და პოლიეტოლოგიურ დაავადებათა ჯგუფს მიეკუთვნება. პროსტატის პერიფერიული ზონის ეპითელიურ უჯრედებში ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი ჰორმონო-დამოკიდებული ავთვისებიანი სიმსივნეების სხვა ტიპებისაგან განსხვავებით სპეციფიურია. პროსტატის ავთვისებიან ტრანსფორმაციას თან ახლავს კრების ციკლის აქტივობის ზრდა, რაც უნდა იწვევდეს ელექტრონების პროდუცირების მატებას მიტოქონდრიული ელექტრონმატრანსპორტირებელი ჯაჭვისათვის.

ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში ანტიოქსიდანტური ფერმენტებისა და თავისუფალრადიკალური პროცესების შესწავლა.

დადგენილ იქნა, რომ პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების ეპრ-სიგნალების ინტენსივობის შემცირება თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციის ფონზე მიმდინარეობს. თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაცია და რკინა-გოგირდოვანი კლასტერების დაზიანება პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში სუნთქვითი ჯაჭვის I და II კომპლექსების (რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების) ფუნქციონირების რღვევაზე მიუთითებს.

გლუტათიონდამოკიდებული სისტემის შესწავლის შედეგად დაფიქსირდა აღნიშნული სისტემის აქტივობის ზრდა ავთვისებიან სიმსივნეში რაც უნდა განაპირობებდეს სიმსივნური უჯრედების მდგრადობას განვითარებული ოქსიდაციური სტრესის საპასუხოდ და უნდა უზრუნველყოფდეს ავთვისებიანი უჯრედების უნარს შეეწინააღმდეგოს თავისუფალი რადიკალებით ინიცირებული აპოპტოზის მიტოქონდრიული გზის ჩართვას. ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის მკვეთრად გამოხატული ინტენსიფიკაციის ფონზე სუპეროქსიდდისმუტაზასა და კატალაზას აქტივობის მკვეთრი შემცირება მიუთითებს ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური სტატუსის დაქვეითებაზე, ორგანიზმის დამცველობითი ფუნქციის შესუსტებასა და დაავადების პროგრესირებაზე.

Anotation

Prostate tumors are first among oncologic diseases in men. Prostate peripheral epithelium is characterized with a specific energetic metabolism, different from other hormone-dependent tumor cells. Malignant transformation of prostate is followed by increase of Krebs cycle activity, which should result in an increased electron flow towards the mitochondrial respiratory chain.

The goal of the given work was the study of antioxidant enzymes and free radical processes in tissue of men with prostate tumors.

The studies have shown that in malignant prostate cancers the decrease of Fe-S cluster EPR-signal intensity ($g=1.94$, $g=2.01$) occurs parallel to the intensification of free radical processes. Intensification of free radical processes and the accompanying damage of Fe-S clusters in malignant prostate cancer tissue indicate the disruption of respiratory chain complex I and II function.

The study of glutathione-dependent antioxidant system revealed increased activity of the given system in adenocarcinoma, which provides the cancer cell with increased resistance to oxidative stress and to mitochondrial apoptosis. Decreased activity of superoxidodismutase and catalase accompanied by sharp intensification of lipid peroxidation point to decreased antioxidant status and protective function of the organism, as well as to progression of the disease.

შინაარსი

შესავალი.....	5
თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა	7
1. 1. რკინა-გოგირდოვანი ცილების ელექტრონ პარამაგნიტური რეზონანსი	7
1.1.1. რკინა-გოგირდოვანი (Fe-S) ცილები.	8
1.1.2. Fe-S კლასტერების ტიპები.....	10
1.2. მიტოქონდრიები და პროსტატის კიბო	12
1.2.1. მიტოქონდრიული სასიგნალო გზები და სიმსივნური პათოლოგია	12
1.2.2. მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციები	17
1.2.3. პროსტატის კიბოს განვითარების მექანიზმები.....	23
1.2.4. სომატური მიტოქონდრიული მუტაციების წარმოქმნა, ფუნქცია და პროგნოსტიკური გამოყენება სიმსივნეებში.....	34
1.2.5. სომატური მიტოქონდრიული მუტაციების წარმოქმნა, დაგროვება და ფუნქციური მნიშვნელობა კანცეროგენეზის პროცესში.....	36
1.2.6. მიტოქონდრიული დნმ-ის დაზიანება და მუტაცია.....	37
1.2.7. მიტოქონდრიული მუტაციები როგორც კიბოს ბიომარკერები	38
1.2.8. მეტაბოლური გადართვა და მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციები	39
თავი II კვლევის ობიექტი და მეთოდები	43
2.1. კვლევის ობიექტი.....	43
2.2. ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) მეთოდი	43
2.3. ეპრ-ნიმუშის მომზადება	47
2.3.1. ქსოვილის მომზადება	47
2.3.2. მიტოქონდრიების გამოყოფის მეთოდი	47
2.4. ფერმენტ გლუტათიონპეროქსიდაზას (GSH-Px) აქტივობის განსაზღვრა	48
2.5. ფერმენტ გლუტათიონრედუქტაზას (GR) აქტივობის განსაზღვრა	48
2.6. აღდგენილი გლუტათიონის (GSH) კონცენტრაციის განსაზღვრა	49
2.7. კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა.....	49
2.8. სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობის განსაზღვრა.....	50
თავი III ექსპერიმენტული ნაწილი	51

3.1. რკინა-გოგირდოვანი ცილებისა და თავისუფალრადიკალური პროცესების შესწავლა პროსტატის სიმსივნური ქსოვილსა და მიტოქონდრიებში ელექტრონ-პარამაგნიტური რეზონანსის მეთოდით	51
3.2. ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის ცვლილების შესწავლა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში	60
თავი IV დასკვნები	73
თავი V გამოყენებული ლიტერატურა	75

შესავალი

პროსტატის სიმსივნეები მამაკაცთა ონკოლოგიურ დაავადებებს შორის პირველ ადგილს იკავებს და პოლიეთიოლოგიურ დაავადებათა ჯგუფს მიეკუთვნება. პროსტატის სიმსივნური პათოლოგიების განვითარებაში წამყვან როლს ანდროგენ/ესტროგენული ბალანსის რღვევა [1] და მიტოქონდრიული დეფექტები ასრულებენ [2]. პროსტატის სიმსივნეებით ძირითადად ასაკოვანი მამაკაცები (65-75 წელი) ავადდებიან [3], თუმცა ბოლო პერიოდში სტატისტიკა მიუთითებს პროსტატის კიბოთი დაავადებულთა ასაკის გაახალგაზრდავებაზე [4].

მიტოქონდრიული დეფექტების შესწავლა პროსტატის კიბოს განვითარებასა და პროგრესირებაში დღემდე აქტუალურ საკითხად რჩება. აღნიშნული დეფექტების უმეტესობა დაკავშირებულია სუნთქვითი ჯაჭვის სუბერთეულებისა და გლიკოლიზში მონაწილე ფერმენტების სახეცვლილ ექსპრესიასთან, მათი აქტივობის ცვლილებასთან [5,6], **NADH**-დამაკავშირებელი სუბერთეულების აქტივობის შემცირებასთან, მიტოქონდრიული დნმ-ის (მ-დნმ) მუტაციებთან [2].

გვინდა ავღნიშნოთ, რომ პროსტატის პერიფერიული ზონის ეპითელურ უჯრედებში (ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის 80% სწორედ აღნიშნულ უბანზე მოდის [7]) ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი ჰორმონო-დამოკიდებული ავთვისებიანი სიმსივნეების სხვა ტიპებისაგან (სარძევე ჯირკვალის და საშვილოსნოს ტანის) განსხვავებით სპეციფიურია. პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეებს თან ახლავს კრებსის ციკლის აქტივობის ზრდა, რაც სავარაუდოდ, უნდა იწვევდეს ელექტრონების პროდუცირების მატებას მიტოქონდრიული ელექტრონმატრანსპორტირებელი ჯაჭვისათვის [8,9].

პროსტატის ნორმალური ქსოვილის პერიფერიული ზონის ეპითელური უჯრედებისათვის დამახასიათებელია კრებსის ციკლის არასრული აქტივობა, სუნთქვისა და ტერმინალური ჟანგვის დაბალი დონე. ისინი ენერგეტიკულად არაეფექტურები არიან და უმნიშვნელო რაოდენობით ელექტრონების გენერირება შეუძლიათ სატრანსპორტო ჯაჭვისათვის [10].

ამგვარად, ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის ადრეულ ეტაპზევე პროსტატის პერიფერიული ზონის ეპითელური უჯრედები ენერგეტიკულად არაეფექტური სისტემიდან გადაერთვებიან ენერგეტიკულად ეფექტურ სისტემაზე, შედეგად ადგილი უნდა ქონდეს **ROS**-ის დიდი რაოდენობით წარმოქმნას [8,9], რომლებიც დამაზიანებელ მოქმედებას ახორციელებენ როგორც

სუნთქვითი ჯაჭვის ფერმენტების ფუნქციონირებაზე, ასევე მიტოქონდრიულ დნმ-ზე. მოსალოდნელია ასევე მუტაციების სწრაფი „აფეთქება“ მიტოქონდრიულ გენომში [5; 11].

საყურადღებოა აღნიშნოს, რომ მიტოქონდრიული დეფექტების კვლევა სხვადასხვა კუთხით ბოლო წლებში აქტიურად მიმდინარეობს [2,10]. თუმცა აღნიშნული ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილების ზუსტი მექანიზმები ჯერ კიდევ უცნობი რჩება.

სამაგისტრო ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა:

პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში ანტიოქსიდანტური ფერმენტებისა და თავისუფალრადიკალური პროცესების შესწავლა.

აღნიშნული მიზნის მისაღწევად დასახულ იქნა შემდეგი ამოცანები:

- რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების შესწავლა, რათა შემდგომში დაგვარად გვემსჯელა სუნთქვითი ჯაჭვის I და II კომპლექსების ფუნქციონირებაზე პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიითა და პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილსა და სიმსივნური ქსოვილიდან მიღებულ მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში;
- თავისუფალრადიკალური (ჟანგბადის აქტიური ფორმები – O_2^- , OH^- , H_2O_2 ; ფლავოპროტეინების სემიქინონური რადიკალები; $g=2.002$) პროცესების შესწავლა პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიითა და პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილსა და სიმსივნური ქსოვილიდან მიღებულ მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში.
- ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (გლუტათიონ-დამოკიდებული ფერმენტები, კატალაზა, სუპეროქსიდდისმუტაზა) აქტივობის შესწავლა პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით, HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიითა და ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში.
- ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ინტენსივობის ცვლილების შესწავლა პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით, HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიითა და ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში.

თავი I

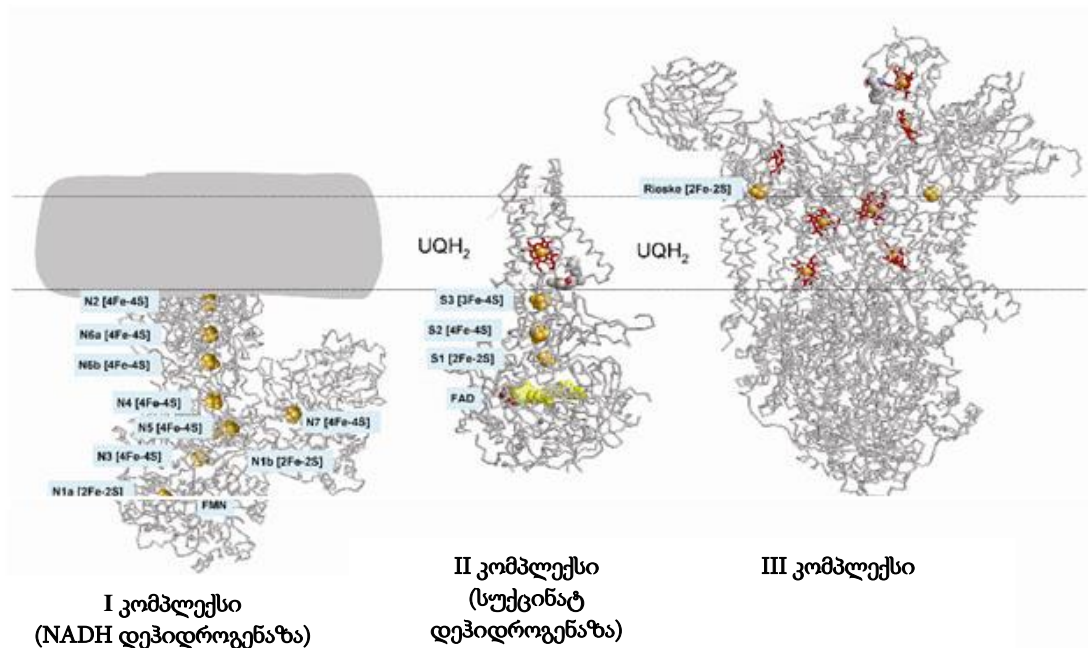
ლიტერატურის მიმოხილვა

1. 1. რკინა-გოგირდოვანი ცილების ელექტრონ პარამაგნიტური რეზონანსი

ცნობილია კვლევები ელექტრონ-პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) მეთოდით ელექტრონების მატრანსპორტირებელი (ET) ცილების შესასწავლად [12,13]. აღნიშნული კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ რკინა-გოგირდოვანი ცილები მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის, ფოტოსინთეზის ელექტრომატრანსპორტირებელი ჯაჭვის და სხვა მემბრანული ბიოენერგეტიკული სისტემების აუცილებელ შემადგენელ ნაწილს წარმოადგენს. ოპტიკურმა სპექტროსკოპიამ უჩვენა, რომ აღნიშნულ სისტემებში ციტოქრომები ასრულებდნენ ელექტრონების გადამტანების როლს. ეპრ-ის მეთოდის საშუალებით (77K), დადგენილ იქნა, რომ რკინა-გოგირდოვანი ცილები უფრო დიდი რაოდენობით არის წარმოდგენილი ვიდრე ვარაუდობდნენ [14-18]. ეპრ-ის საშუალებით შესაძლებელი გახდა შესწავლილიყო რთული მაკრომოლეკულური კომპლექსები, ასევე ორგანოები (მიტოქონდრიები და ქლოროპლასტები). აღნიშნულ სისტემებში Fe-S კლასტერები იდენტიფიცირებულ იქნა მათი ეპრ სპექტრის მიხედვით. თითოეული კლასტერი განსხვავებულ სპექტრს იძლეოდა დაჟანგულ და აღდგენილ მდგომარეობაში (სურ.1). კომპლექსების იზოლირებისას აღმოჩნდა, რომ ერთ ცილაში შესაძლოა რამდენიმე ტიპის Fe-S კლასტერი ყოფილიყო. კომპლექსებში რკინა-გოგირდოვანი ცილების სიმრავლე აიხსნა იმ ფაქტით, რომ 1.2-1.4 ნმ-ით დაშორებული კლასტერები ხშირად მოქმედებდნენ როგორც ელექტრონების გადამცემები მემბრანის ერთი მხრიდან მეორეზე [19,20].

აღნიშნული ცილების მნიშვნელობაზე მიუთითებს მემკვიდრული ნევროლოგიური დაავადებები, რომელთაც საფუძვლად უდევს მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის რკინა-გოგირდოვანი ცილების დეფიციტი [21]. ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ Fe-S

კლასტერები მონაწილეობენ ჟანგბადის რადიკალების და აზოტის ოქსიდის ტოქსიკური ეფექტების განხორციელებაში [22,23].

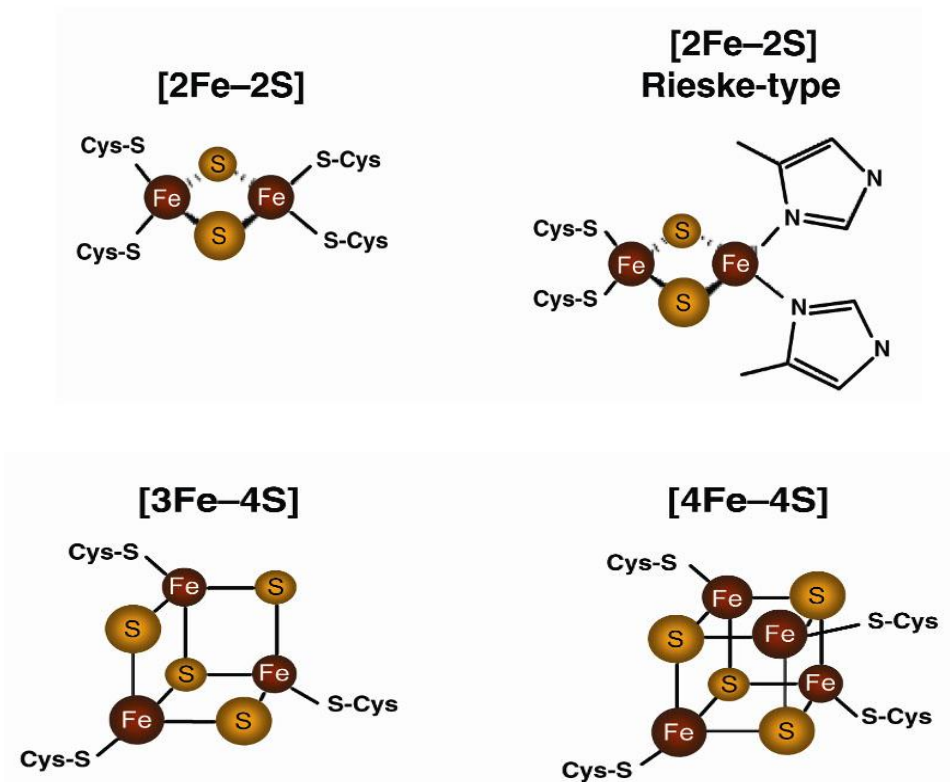


სურ. 1 სუნთქვითი ჯაჭვის შემადგენელი რკინა-გოგირდოვანი (Fe-S) კლასტერების სტრუქტურული გამოსახულება (კომპლექსი I, II, III)

1.1.1. რკინა-გოგირდოვანი (Fe-S) ცილები.

Fe-S ცილები წარმოადგენენ ფართოდ გავრცელებულ მეტალოპროტეინებს, რომლებიც გვხვდება Fe-S კლასტერების შემცველ ყველა ორგანიზმში [19]. მათი მრავალი ფუნქციიდან აღსანიშნავია ფერმენტული კატალიზი, რეგულატორული ფუნქცია და ცილის სტრუქტურის ფორმირება, თუმცა ყველაზე ხშირად Fe-S ცილები მონაწილეობენ ელექტრონების ტრანსპორტში. როგორც უკვე აღვნიშნეთ, Fe-S ცილები წარმოადგენენ რამდენიმე კლასტერის შემცველ მაკრომოლეკულებს.

მე-2 სურათზე მოცემულია ელექტრონ-სატრანსპორტო ჯაჭვის შემადგენელი Fe-S კლასტერების სტრუქტურები [30]. აღნიშნულ კლასტერებში რკინისა და გოგირდის ატომები სპეციფიურადაა განლაგებული და ხშირად კოორდინირებულია ამინომჟავურ ნაშთებთან, ძირითადად ცისტეინთან (თუმცა შეიძლება უკავშირდებოდეს ასევე ჰისტიდინს, ასპარტატს, სერინსა და სხვა). ყველაზე ხშირად გვხვდება [2Fe-2S], [3Fe-4S] და [4Fe-4S] ტიპის კლასტერები, რომელთა მახასიათებლები მოცემულია I ცხრილში.



სურ. 2: Fe-S კლასტერების გავრცელებული სტრუქტურების სქემატური გამოსახულება [30]

ცნობილია, რომ თითო კლასტერს შეუძლია ერთი ელექტრონის გადატანა, შესაბამისად ეპრ მეთოდით მათი აღმოჩენა შესაძლებელია აღდგენილ ან დაჟანგულ მდგომარეობაში [30].

Fe-S კლასტერების უმრავლესობა პარამაგნიტურია აღდგენილ ან დაჟანგულ მდგომარეობაში ($S=1/2$). ხშირად გვხვდება უფრო მაღალი სპინიც ($S=3/2$ ან $S=2$). კლასტერების უმეტესობა შეიძლება შესწავლილ იქნას ეპრ მეთოდით. როგორც წესი,

კლასტერების ებრ სპექტრს აკვირდებიან კრიოგენულ ტემპერატურაზე ($T < 100\text{K}$) და მათ ხშირად აქვთ რომბული ან აქსიალური მოხაზულობა.

დიდი ელექტრონ-მატრანსპორტირებელი ცილოვანი კომპლექსების სტრუქტურების შესწავლამ უჩვენა, რომ მათ ხშირად გააჩნიათ მოდულარული (მულტიდომენური) აგებულება, სადაც კლასტერ-დამაკავშირებელი დომენები ფერედოქსინების დომენების მსგავსია. მაგ. $[4\text{Fe-4S}]$ კლასტერები ხშირად წყვილების სახით გვხვდება. აღნიშნულ შემთხვევაში მათი პოლიპეპტიდური ჯაჭვი ემსგავსება 8 რკინის ატომის შემცველ ფერედოქსინებს.

ცხრილი 1

Fe-S კლასტერების ტიპები [30]

#	კლასტერის ტიპი	დიამაგნიტური მდგომარეობა *	ებრ გაზომვადი მდგომარეობები	g- ფაქტორი
1	$[2\text{Fe-2S}]$,	დაჟანგული (2^+)	აღდგენილი (1^+)	$g=1.94$
2	$[2\text{Fe-2S}]$ Rieske	დაჟანგული (2^+)	აღდგენილი (1^+)	$g = 1.90$
3	$[3\text{Fe-4S}]$	აღდგენილი (0)	დაჟანგული (1^+)	$g=2.01$
4	$[4\text{Fe-4S}]$	დაჟანგული (2^+)	დაჟანგული (2^+)	$g=1.94$
5	$[3\text{Fe-4S}]$ HiPiP	დაჟანგული (2^+)	აღდგენილი (2^+)	$g=2.01$

*-კლასტერის მუხტი გამოითვლება ჯამურად: რკინის იონის მუხტს (3^+ ან 2^+) დამატებული გოგირდის იონის მუხტი

1.1.2. Fe-S კლასტერების ტიპები

განარჩევნ კლასტერ-დამაკავშირებელი დომენების რამდენიმე ძირითად ტიპს [30]:

- ფოტოსინთეზში მონაწილე და ციტოქრომ P-450 მონოოქსიგენაზებში შემავალი ფერედოქსინები.

- მოლიბდენ-ჰიდროქსილაზებში (ქსანტინოქსიდაზა) აღმოჩენილი კლასტერების ტიპი;
- აზოტფიქსაციის ბაქტერიებში (*Clostridium pasteurianum*) არსებული 2Fe-2S ფერედოქსინები;
- სუნთქვითი და ფოტოსინთეზის ელექტრონ-სატრანსპორტო ჯაჭვების შემადგენლობაში შემავალი რისკეს ცილები და არაჰემური რკინის შემცველი ოქსიგენაზების მსგავსი კლასტერები.

2Fe-2S კლასტერების სტრუქტურის თავდაპირველი მოდელი [24,25] დადასტურებულ იქნა Mossbauer და ეპრ მეთოდების გამოყენებით [26,27]. აღმოჩნდა, რომ დაჟანგულ მდგომარეობაში რკინის (Fe(III), S=5/2) ორივე ატომი ანტიფერომაგნიტურადაა შეწყვილებული. აღნიშნული მეთოდებით ნაჩვენებია იქნა ასევე, რომ რკინის ერთი ატომი აღდგებოდა Fe(II)-მდე, შედეგად 100 K-ზე დაბალ ტემპერატურაზე ჯამური სპინური რიცხვი კი უტოლდებოდა S=1/2, ხოლო ეპრ სპექტრში g-ფაქტორი $g < 2.00$.

ცნობილია, რომ ცილების უმეტესობაში [4Fe-4S] კლასტერები დაჟანგულ მდგომარეობაში ([4Fe-4S]²⁺) ხასიათდება S=0 მდგომარეობით. ერთი ელექტრონით აღდგენის შემთხვევაში მიიღება [4Fe-4S]⁺-ს, რომლის S=1/2.

მაღალი პოტენციალის რკინა-გოგირდოვანი ცილები (HiPiPs) ასევე წარმოადგენდნენ [4Fe-4S]²⁺ კლასტერების შემცველ ფერედოქსინებს, რომლებიც იშვიათად ფიქსირდება ბიოლოგიურ სისტემებში და იჟანგებიან [4Fe-4S]³⁺-მდე, რის დროსაც S=1/2. მაღალი პოტენციალის რკინა-გოგირდოვან ცილებს [4Fe-4S]^{2+/1+} ცილებთან შედარებით გააჩნიათ პოტენციალის უფრო მაღალი შუაწერტილი და ასევე განსხვავებიან ცილოვანი სტრუქტურით [29]. აღმოჩნდა, რომ დაჟანგულ [4Fe-4S] ცილებში [3Fe-4S] კლასტერები თავდაპირველად დაიკვირვებოდა, როგორც ვიწრო ეპრ სიგნალი (g=2.01) და მათ მიაკუთვნებდნენ HiPiPs ტიპს. მოგვიანებით აღმოჩნდა, რომ მათ სამი რკინის ატომი გააჩნდათ [28]. ვარაუდობდნენ, რომ [3Fe-4S] კლასტერები მიიღებოდნენ [4Fe-4S] კლასტერების ოქსიდაციური დაზიანების შედეგად ისეთ ფერმენტებში, როგორიცაა აკონიტაზა - მიტოქონდრიული ფერმენტი, რომელიც არ შედის სუნთქვითი ჯაჭვის

შემადგენლობაში [29]. მოგვიანებით დადგენილ იქნა, რომ $[3\text{Fe-4S}]$ კლასტერები ყოველთვის არ წარმოადგენენ ოქსიდაციური დაზიანების შედეგს და ხშირად გვხვდებიან სხვადასხვა ელექტრონ-გადამტანი ცილების შემადგენლობაში, როგორცაა მაგ. მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის II კომპლექსი და ნიტრატ-რედუქტაზა [30]. აღდგენილ $[3\text{Fe-4S}]^0$ მდგომარეობაში მათი $S=2$ და დაჟანგულ $[3\text{Fe-4S}]^+$ მდგომარეობაში კი $S=1/2$.

ცნობილია, რომ ჟანგვა-აღდგენის პირობებში კლასტერების რედოქს-პოტენციალი და ჟანგვა-აღდგენითი რეაქციების კინეტიკა დამოკიდებულია ელექტროსტატიკური მუხტის კომპენსაციაზე, რასაც განაპირობებს პროტონების გადაადგილება. განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს Fe-S კლასტერებთან ასოცირებული გაცვლადი პროტონები ანუ დეიტრონები (ჰიდრონები), რომლებიც მოიცავენ NH პეპტიდს, ცისტეინ-SH-ს და სერინ-OH-ს. ცნობილია, რომ NH-S წყალბადური ბმით უკავშირდება Fe-S კლასტერებს [30].

1.2. მიტოქონდრიები და პროსტატის კიბო

1.2.1. მიტოქონდრიული სასიგნალო გზები და სიმსივნური პათოლოგია

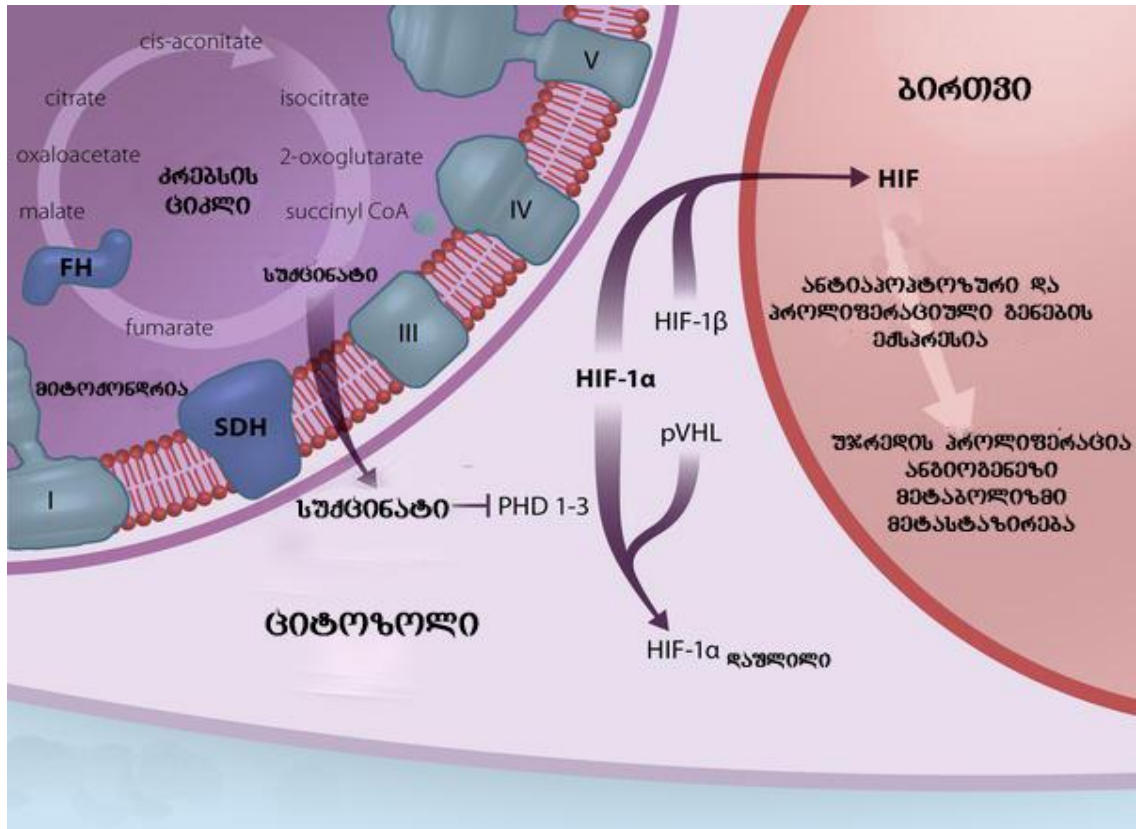
ბოლო წლების კვლევები ადასტურებენ, რომ მიტოქონდრიული დეფექტები, როგორც უკვე აღვნიშნეთ, მნიშვნელოვან როლს უნდა ასრულებენ კიბოს განვითარებასა და პროგრესირებაში.

დღეს უკვე მიტოქონდრია შესაძლოა განხილული იქნას როგორც “ორკესტრის დირიჟორი”, რომელიც აკონტროლებს იმ სასიგნალო გზებს, რაც მნიშვნელოვანია ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის ინიციაციასა და ტრანსფორმირებული ფენოტიპის შენარჩუნებისათვის [31].

ბოლო წლების კვლევებმა ნათელი მოჰგინა ახალ სასიგნალო გზას მიტოქონდრიიდან ციტოზოლის მიმართულებით, რაც თვალნათლივ აკავშირებს მიტოქონდრიალურ დარღვევებს სიმსივნის პროგრესირებასთან [32].

აღნიშნული სასიგნალო გზა უკავშირდება კრების ციკლის ერთ-ერთ ფერმენტს სუქცინატდეჰიდროგენაზას (SDH), რომელიც იმავდროულად მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის II ფერმენტულ კომპლექსს წარმოადგენს. აღსანიშნავია, რომ აღნიშნული ფერმენტი მთლიანად ბირთვის გენებით კოდირდება. მისი სუბერთეულების მაკოდირებელი გენების მუტაციები კი იწვევენ მემკვიდრულ ფეოქრომოციტომებს და პარაგანგლიომებს [33]. აღნიშნული სასიგნალო გზის კიდევ ერთ კომპონენტს წარმოადგენს კრების ციკლის კიდევ ერთი ფერმენტი ფუმარატ ჰიდრატაზა (FH), რომლის მუტაციები თავის მხრივ იწვევს საშვილოსნოს ლეიომიომებსა და თირკმლის სიმსივნეებს (სავარაუდოდ სწორედ მიტოქონდრიული ცილები მონაწილეობენ თირკმლის სპორადული სიმსივნის – ონკოციტომის განვითარებაში) [34].

Selak და თანაავტორების მიერ (2005) გამოვლენილ იქნა კავშირი სიმსივნესა და SDH/FH თანაფარდობას შორის [32]. აღმოჩნდა, რომ SDH დეფიციტის შემთხვევაში (სურვ) ადგილი ჰქონდა სუქცინატის ჭარბ დაგროვებას მიტოქონდრიის მატრიქსში (იგივე მოვლენას აქვს ადგილი FH დეფიციტის დროსაც) და მის ტრანსპორტს მატრიქსიდან ციტოზოლის მიმართულებით. ვარაუდობენ, რომ ციტოზოლში სუქცინატის მომატებული კონცენტრაცია აინჰიბირებდა პროლილ ჰიდროქსილაზების კომპლექსს (PHD 1-3), შედეგად PHD ვეღარ ახორციელებდა ჰიპოქსია ინდუცირებადი ფაქტორი-1 α -ს (HIF-1 α) დაშლას ჟანგბადის ნორმალური კონცენტრაციის პირობებშიც კი. აღნიშნული იწვევდა HIF-1 α სტაბილიზაციას და მის დაკავშირებას HIF-1 β სუბერთეულთან, რაც საბოლოოდ განაპირობებდა ჰიპოქსია ინდუცირებადი ფაქტორის (HIF) წარმოქმნას. HIF აინდუცირებდა იმ ბირთვული გენების ტრანსკრიპციას, რომლებიც ჩართულნი იყვნენ ანტიაპოპტოზური სიგნალის გადაცემასა და სიმსივნურ ზრდაში (ცნობილია, რომ აღნიშნული გენების ექსპრესია უზრუნველყოფს უჯრედების პროლიფერაციას, ანგიოგენეზს და მეტასტაზირებას) [35].



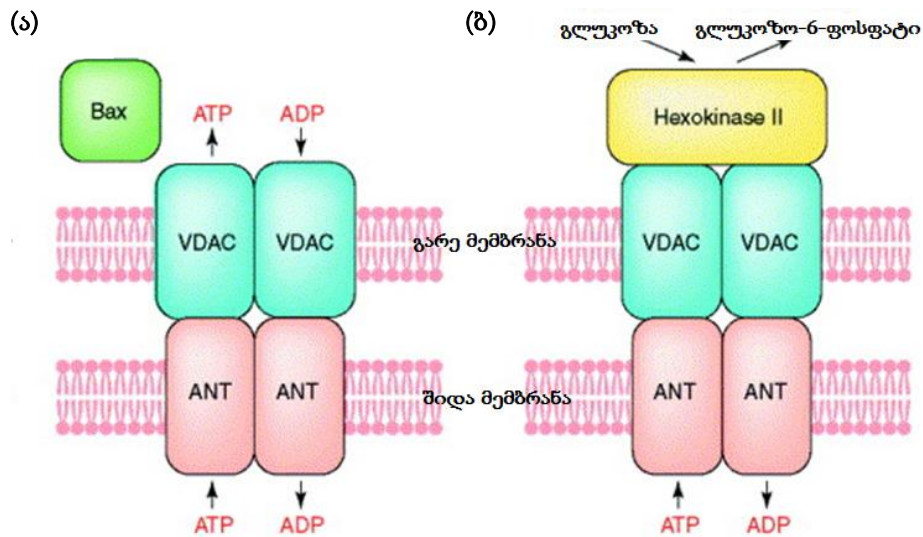
სურ 3: სიმსივნის განვითარების სქემატური მოდელი SDH დეფიციტის პირობებში [35]

კიდევ ერთი მიტოქონდრიული სასიგნალო გზა დაკავშირებულია სიმსივნურ უჯრედებში ჰექსოკინაზა II-ის აქტივაციასთან (სურ4) [36].

ოტო ვარბურგის დაკვირვებამ (1956) უჩვენა, რომ სიმსივნური უჯრედების მეტაბოლიზმისათვის დამახასიათებელი იყო ე.წ. „აერობული გლიკოლიზი“, რაც გულისხმობდა გლუკოზის აქტიურ მეტაბოლიზმს, რძემჟავას ჭარბ პროდუქციას და იმავდროულად ჟანგბადის მოხმარებასა და ჟანგვით ფოსფორილირებას [36].

ცნობილია, რომ მიტოქონდრიებში ენერჯის წარმოქმნა სწორედ ჟანგვითი ფოსფორილირების შედეგად ხდება. ამ დროს შუალედურ პროდუქტებად ჟანგბადის რეაქტიული ფორმები (ROS) წარმოიქმნება. როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ROS-ის მატება კი

დაკავშირებულია ქსოვილებისა და/ან დნმ-ის დაზიანებებთან. აღმოჩნდა, რომ სიმსივნური უჯრედები განვითარებული ჰიპოქსიის საპასუხოდ აინდუცირებენ ჰექსოკინაზა II-ს, რომელიც პირდაპირ უკავშირდებოდა მიტოქონდრიის პოტენციალ-დამოკიდებულ ანიონურ არხებს (VDAC) [36].



სურ 4: ჰექსოკინაზას მიერ აპოპტოზის დათრგუნვა ნორმაში (ა) და სიმსივნური უჯრედების გადართვა გლიკოლიზზე (ბ) [36]

*VDAC – პოტენციალდამოკიდებული ანიონური არხი
 ANT – ადენინუკლეოტიდის ტრანსპორტერი
 Bax – აპოპტოზის მაინდუცირებელი ცილა*

აღნიშნული არხები წარმოადგენენ მიტოქონდრიის გარე მემბრანის ინტეგრალური ცილებს, რომელთა საშუალებითაც ხორციელდება ნივთიერებების გადატანა ატფ-ის ჩათვლით. ჰექსოკინაზა II-ის პოტენციალ-დამოკიდებულ ანიონურ არხებთან დაკავშირების პრომოტორს წარმოადგენს პროტეინკინაზა D, რომელიც თავის მხრივ მონაწილეობს ონკოგენური სიგნალების გადაცემაში. პოტენციალ დამოკიდებული ანიონურ არხებთან (VDAC) დაკავშირებული ჰექსოკინაზა II იკავშირებს ატფ-ს და მის ხარჯზე ახდენს გლუკოზის ფოსფორილირებას გლუკოზო-6-ფოსფატამდე (რაც გლიკოლიზის პირველ რეაქციას წარმოადგენს. შედეგად სიმსივნური უჯრედები

ჟანგვითი ფოსფორილირებიდან გლიკოლიზზე გადაერთვებიან, რათა წარმოქმნან ატფ ჟანგბადის დაბალი კონცენტრაციის პირობებშიც. აღმოჩნდა, რომ ჰექსოკინაზა II VDAC-თან დაკავშირებისას ახდენს ასევე აპოპტოზის ინჰიბირებას, მოქმედებს რა როგორც Bax და Bak აპოპტოზის მაინდუცირებელი ცილების ანტაგონსტი.

ყოველივე აღნიშნულიდან გამომდინარე სიმსივნური უჯრედები გადაერთვებიან რა ჟანგვითი ფოსფორილირებიდან გლიკოლიზზე, ჟანგბადის დაბალი კონცენტრაციის პირობებშიც ახერხებენ გამრავლებას და ამავდროულად აპოპტოზის პროცესის ინჰიბირებას.

აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში შესაძლებელია მიტოქონდრიული დეფექტები განპირობებული იყოს ჰორმონალური დისბალანსით, რამეთუ მიტოქონდრია წარმოადგენს ანდროგენებისა და ესტროგენების მოქმედების სამიზნეს [37]. პირდაპირი თუ არაპირდაპირი გზით, ანდროგენები მონაწილეობას იღებენ პროსტატის კიბოს უჯრედებში ჟანგვითი სტრესის გამოწვევაში [38]. აღნიშნული რეალიზდება მიტოქონდრიების რაოდენობისა და აქტივობის ცვლილებით, ოქსიდანტების პროდუცირების გზით [6].

Ripple-მა თანაავტორებთან ერთად (1999) უჩვენა, რომ ანდროგენები აინდუცირებენ მიტოქონდრიების რიცხვის, მასისა და აქტივობის ზრდას, **ROS**-ის პროდუცირების მატებას მამაკაცის პროსტატის კიბოს ანდროგენ-მგრძობიარე **LNCaP** უჯრედებში [6].

ცნობილია, რომ როგორც ესტროგენებს ასევე ანდროგენებს, შეუძლიათ იმოქმედონ მიტოქონდრიაზე, კერძოდ მიტოქონდრიულ ცილებზე, მიტოქონდრიის სუნთქვით კომპლექსებზე (კომპლექსი I, II, III, IV) და მიტოქონდრიულ **ATP**-სინთეტაზაზე (**F₀F₁-ATP**-აზა) [39–41].

ცნობილია ისიც, რომ პროსტატის კიბოს პროგრესირება ანდროგენული ბლოკადის შემდგომ პერიოდში დაკავშირებულია ანდროგენდამოკიდებული უჯრედების გაჩენასთან, რაც შედეგად იწვევს ჰორმონრეზისტენტული კიბოს განვითარებას [2]. იმისათვის, რომ დაედგინათ მ-დნმ-ის როლი პროსტატის კიბოს ანდროგენ დამოკიდებულებაში **Higuchi**-მ და თანაავტორებმა (2006) შეისწავლეს ნორმალური და

დელეციების მქონე მ-დნმ-ის ცვლილებები პროსტატის კიბოს პროგრესირების პარალელურად. ნაჩვენები იქნა, რომ ანდროგენ-დამოუკიდებელი უჯრედული ხაზისათვის (C4-2) (რომელიც მიღებულია ანდროგენ-დამოკიდებული LNCaP უჯრედული ხაზის ინტეგრირებით კასტრირებულ თაგვებში) დამახასიათებელი იყო დიდი დელეციების მქონე მ-დნმ-ის დაგროვება და ნორმალური მ-დნმ-ის დეფიციტი. აღსანიშნავია, რომ მ-დნმ-ის ნორმალური ფორმების მკვეთრი შემცირება ანდროგენ-დამოკიდებულ LNCaP უჯრედებში იწვევდა ანდროგენ-დამოკიდებულების დაკარგვას. აღმოჩნდა, რომ ნორმალური მ-დნმ-ის თავდაპირველი რაოდენობის აღდგენა იმ კლონებში, სადაც ძირითადად მუტანტური დნმ ჭარბობდა, იწვევდა ანდროგენ-დამოკიდებულების აღდგენას [2].

აღნიშნული კვლევის შედეგად გამოითქვა მოსაზრება, რომ პროსტატის კიბოს უჯრედების კულტურის ანდროგენ-დამოკიდებულება დამოკიდებულია ნორმალური მიტოქონდრიული დნმ-ის რაოდენობაზე უჯრედებში. ამგვარად, დიდი დელეციების მქონე მ-დნმ-ის დაგროვება და/ან ნორმალური მ-დნმ-ის მკვეთრი შემცირება მნიშვნელოვან როლს უნდა ასრულებდეს სიმსივნური უჯრედის ანდროგენ-დამოუკიდებლობის განვითარებაში, რაც საბოლოოდ აღნიშნული დაავადების დამძიმებას იწვევს.

1.2.2. მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციები

სიმსივნის განვითარებისათვის დამახასიათებელ ნიშანს წარმოადგენს გენეტიკური დარღვევების დაგროვება მიტოქონდრიულ და ბირთვულ გენომში [10]. ცნობილია, რომ მიტოქონდრიული დარღვევები თავის მხრივ იწვევენ ისეთი პროცესების მოშლას როგორცაა ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი, აპოპტოზი, უჯრედის ზრდა, ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების წარმოქმნა და სხვ [10,36], რაც საბოლოოდ ნორმალური უჯრედის ტრანსფორმაციას იწვევს. დღესდღეობით მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციები

თითქმის ყველა სახის სიმსივნეშია ნანახი, თუმცა აღნიშნული კუთხით კვლევები მოითხოვს ახალ მონაცემებს, რათა გამოიკვეთოს ზუსტი კავშირი მიტოქონდრიულ მუტაციებსა და სიმსივნის ეტიოლოგიას შორის.

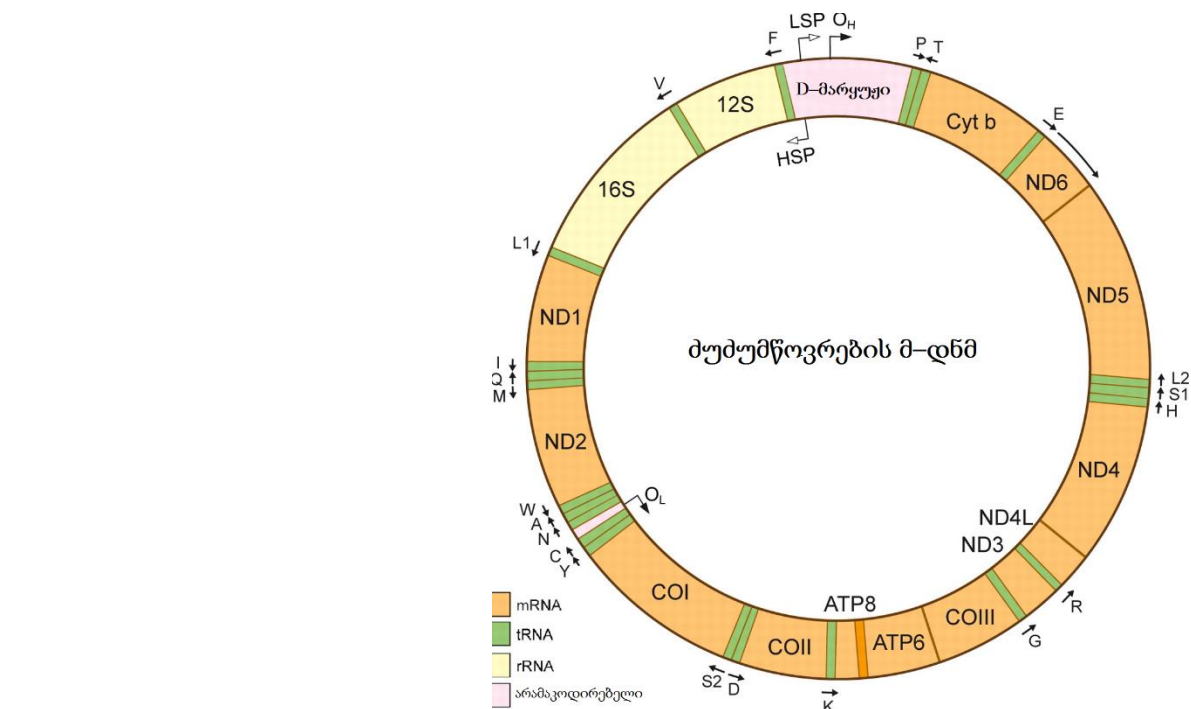
ცნობილია, რომ მიტოქონდრიების სტრუქტურა, ფორმა და რაოდენობა უჯრედში მეტად ცვალებადია. მათი რაოდენობა უჯრედში საშუალოდ 1-20000-მდე მერყეობს, რაც უჯრედის ტიპზე და მის ენერგეტიკულ მოთხოვნებზეა დამოკიდებული. მიტოქონდრიები ყველაზე დიდი რაოდენობით გვხვდება გულის, ტვინის, ღვიძლის, კუჭნაწლავის ტრაქტისა და თირკმლის უჯრედებში [42].

აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ მიტოქონდრიები პოლიპლოიდური ორგანელებია, რადგან თითოეული მათგანი შეიცავს წრიული დნმ-ის 5-10 ასლს. მიტოქონდრიული დნმ-ის რეპლიკაცია, ისევე როგორც ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის პროცესები, მიტოქონდრიის მატრიქსში მიმდინარეობს. აღსანიშნავია, რომ ყველა აღნიშნული პროცესი პროკარიოტებისათვის დამახასიათებელი პრინციპებით ხორციელდება [43].

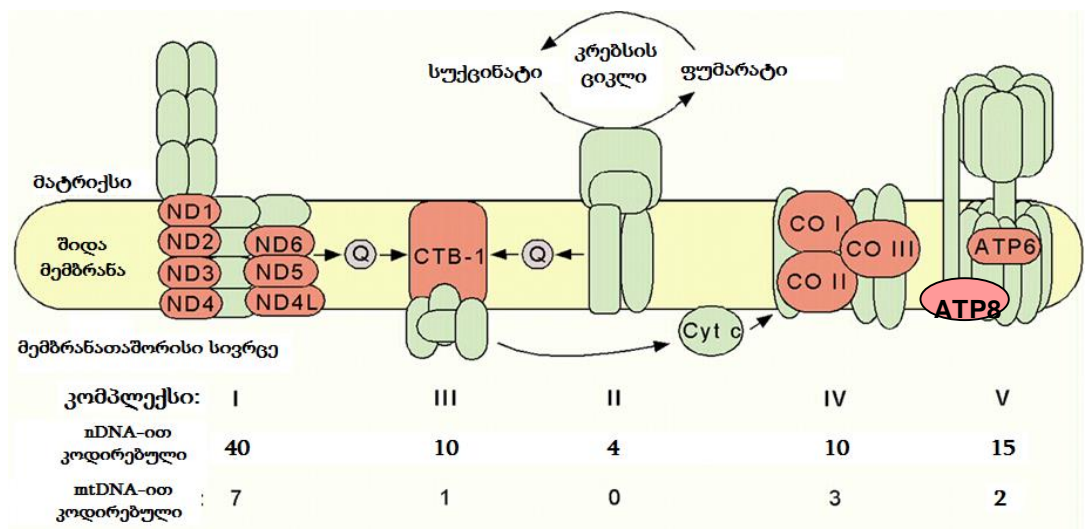
ცნობილია, რომ მიტოქონდრიის ორჯაჭვიანი წრიული დნმ აგებულია 16 569 აზოტოვანი ფუძისაგან და მოიცავს 37 გენს (სურ5), კერძოდ: 13 ცილის მაკოდირებელ (სუნთქვითი ჯაჭვის სუბერთეულები), 2 რიბოსომული რნმ-ის (12S და 16S სუბერთეულები) და 22 სატრანსპორტო რნმ-ის მაკოდირებელ გენს [44].

მიტოქონდრიული დნმ-ის მიერ კოდირებული 13-ვე ცილა შედის მიტოქონდრიის სუნთქვითი ჯაჭვის ფერმენტული კომპლექსების შემადგენლობაში, გარდა მეორე კომპლექსისა (სუქცინატდეჰიდროგენაზა), რომელიც, როგორც აღვნიშნეთ მთლიანად ბირთვული გენებით კოდირდება. სუნთქვითი ჯაჭვის დანარჩენ 4 ფერმენტულ კომპლექსში მიტოქონდრიული ცილები წარმოდგენილია შემდეგი სუბერთეულების სახით (სურ6) [44]:

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



სურ. 5: მიტოქონდრიული გენომის სტრუქტურული გამოსახულება [142]



სურ. 6: მიტოქონდრიული დნმ-ით კოდირებული ცილების სტრუქტურული განაწილება სუნთქვითი ჯაჭვის კომპლექსებში [44]

სუნთქვითი ჯაჭვის აღნიშნული კომპლექსების დანარჩენი სუბერთეულები ბირთვული დნმ-ით კოდირდება [44]. მიტოქონდრიული დნმ შეიცავს ასევე არაკოდირებად უბანსაც, რომელსაც დისლოკაციური მარყუქი ანუ D მარყუქი (D-loop) ეწოდება (სურ5). D მარყუქი სამჯაჭვიანი რეგულატორული უბანია, რომელიც მიტოქონდრიული გენების ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის პროცესებს აკონტროლებს [10]. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ მ-დნმ მნიშვნელოვან როლს ასრულებს როგორც სიმსივნური უჯრედების კვდომაში, ასევე მეტასტაზირების უნარის შექმნაში [10,36]. აღმოჩნდა, რომ პროსტატის კიბოს უჯრედებისათვის ხშირ შემთხვევაში დამახასიათებელია ჰეტეროპლაზმური, დიდი დელეციების მქონე მ-დნმ არსებობა.

მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციების შემცველობის მიხედვით განარჩევენ **ჰომოპლაზმურ** და **ჰეტეროპლაზმურ** უჯრედებს და შესაბამისად ჰომოპლაზმიასა და ჰეტეროპლაზმიას [36]. არჩევენ ჰომოპლაზმიის ორ ფორმას - ნორმალურსა და მუტანტურს. ცნობილია, რომ ნორმალური ჰომოპლაზმიის დროს უჯრედი მხოლოდ ჯანმრთელ მიტოქონდრიებს შეიცავს, მუტანტური ჰომოპლაზმიის შემთხვევაში კი უჯრედის ყველა მიტოქონდრიაში მსგავსი მუტაციები ფიქსირდება. ჰეტეროპლაზმიის დროს უჯრედში მ-დნმ-ის მუტაციები ფიქსირდება მიტოქონდრიების მხოლოდ გარკვეულ ნაწილში (უჯრედში ფიქსირდება როგორც ნორმალური, ასევე მუტაციების შემცველი მიტოქონდრიული დნმ). უჯრედის მრავალი თანმიმდევრული გაყოფის შედეგად შესაძლოა მნიშვნელოვნად შეიცვალოს თანაფარდობა ნორმალურ და მუტანტურ მ-დნმ-ს რაოდენობებს შორის, რაც საბოლოოდ მოგვცემს ან ნორმალურ ან მუტანტურ ჰომოპლაზმიას [36].

გარდა აღნიშნულისა სიმსივნურ უჯრედებში განარჩევენ მიტოქონდრიული გენების მუტაციების ორ ტიპს: ადაპტაციურ და კანცეროგენულ მუტაციებს [36].

ადაპტაციური მუტაციები ნორმაში ფიქსირდება ადამიანთა არაერთ პოპულაციაში დაბერებისა და/ან სხვადასხვა დაავადების დროს. სიმსივნური უჯრედების შემთხვევაში მუტაციების აღნიშნული ტიპი ემსახურება სიმსივნური უჯრედების ადაპტაციას შეცვლილ გარემოსთან (ენერგეტიკული სუბსტრატების ნაკლებობა, ჟანგბადის დაბალი

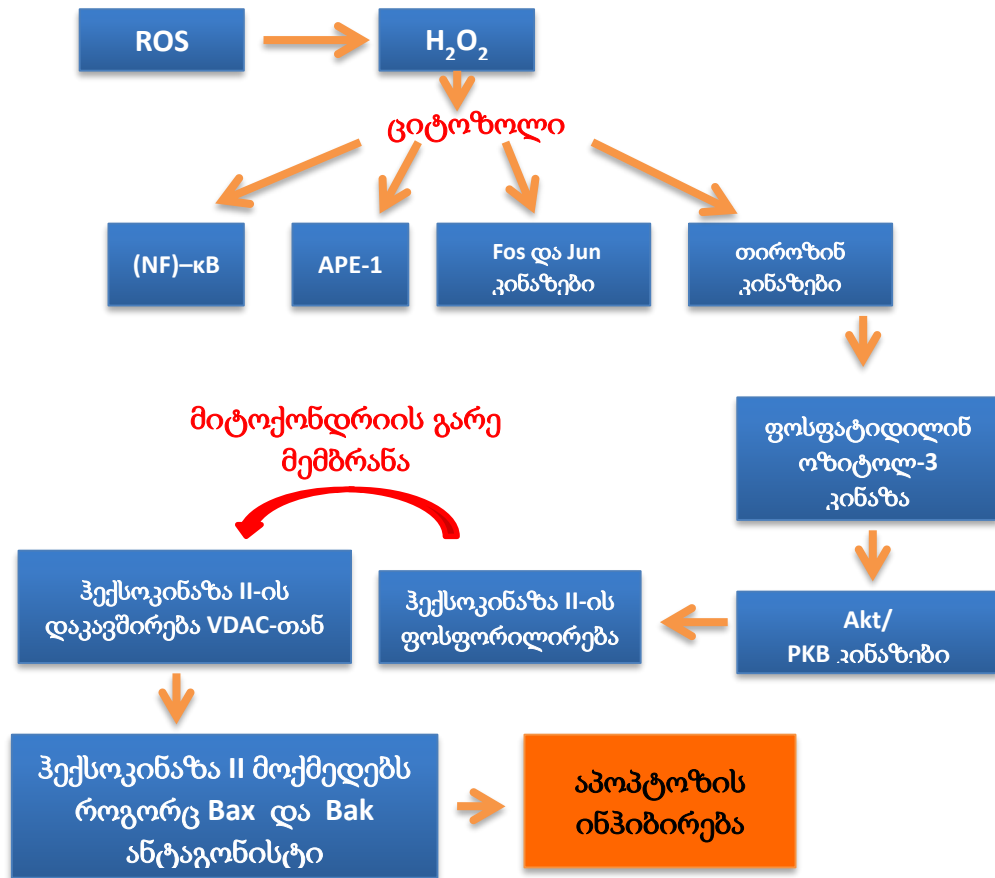
კონცენტრაცია, ტემპერატურის ცვლა, მომატებული ROS, აპოპტოგენური პირობები) და ვლინდება შედარებით გვიან სტადიაზე - მეტასტაზირებისას. ადაპტაციურ მუტაციებში განარჩევენ ერთი მხრივ *მისენს მუტაციებს*, რის შედეგადაც ცილის პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში შეცვლილია ფუნქციურად მნიშვნელოვანი ამინომჟავები და მეორეს მხრივ კი *რეგულატორული უბნის* (D-მარყუჯი) მუტაციებს, რომლის დროსაც ადგილი აქვს დნმ-ის რეპლიკაციისა და ტრანსკრიპციის პროცესების მოდულაციას.

კანცეროგენული მუტაციები ვლინდება სიმსივნის ადრეულ ეტაპზე. აღნიშნულ შემთხვევაში სიმსივნე ჟანგბადის დეფიციტს განიცდის. აღნიშნული მუტაციები აინჰიბირებენ ჟანგვით ფოსფორილირებას და აძლიერებენ ROS-ის წარმოქმნას, რაც საბოლოო ჯამში იწვევს ავთვისებიან ტრანსფორმაციას (პროტონკოგენების ონკოგენებად გარდაქმნა) და სიმსივნის პროგრესიას.

ცნობილია, რომ კანცეროგენული მუტაციების შემთხვევაში ROS-ის გაზრდილი კონცენტრაციის პირობებში ადგილი აქვს წყალბადის ზეჟანგის (H_2O_2) წარმოქმნის ინტენსივობის ზრდას (სურ7).

H_2O_2 დიფუნდირებს რა მიტოქონდრიის გარე მემბრანაში, ხვდება ჯერ ციტოზოლში შემდეგ კი ბირთვში. ბირთვში იგი ურთიერთქმედებს ცვალებადი ვალენტობის მქონე მეტალებთან და წარმოქმნის ჰიდროქსილის (OH^{\cdot}) რადიკალს, რომელიც ბირთვულ დნმ-თან ურთიერთქმედების შედეგად იწვევს ცალკეული გენების მუტაციებს. ციტოზოლში H_2O_2 მოქმედებს რა მიტოგენური სიგნალების გადაცემაზე, ურთიერთქმედებს ისეთ ფაქტორებთან როგორცაა: ბირთვული ფაქტორი (NF κ B), აპურინის/აპირიმიდინის ენდონუკლეაზა 1 (APE-1), Fos, Jun და თიროზინ კინაზები (Src კინაზა, პროტეინ კინაზა C, მიტოგენ აქტივირებული პროტეინ კინაზა და რეცეპტორული თიროზინ კინაზა). თიროზინ კინაზების აქტივაცია განაპირობებს ფოსფატიდილინოზიტოლ-3 კინაზას აქტივაციას, რაც თავის მხრივ ააქტიურებს Akt/PKB კინაზებს. ტრანსფორმირებული უჯრედების ონკოგენებით ინდუცირებული რეპლიკაციის პირობებში შესაძლოა განვითარდეს ჰიპოქსია, რაც იწვევს ჰექსოკინაზა II-ის ტრანსკრიპციის ინდუცირებას, შედეგად Akt/PKB კინაზები ახდენენ ჰექსოკინაზა II-ის ფოსფორილირებას, რასაც

შედეგად მოჰყვება ჰექსოკინაზა II-ის დაკავშირება VDAC-სთან. აღნიშნული კი ზემოთაღწერილი მექანიზმით განაპირობებს სიმსივნური უჯრედების გადართვას ინტენსიურ გლიკოლიზზე და იმავდროულად აპოპტოზის ინჰიბირებას [36].



სურ. 7 პროსტატის სიმსივნური უჯრედებში მუტაციის შედეგად ჰექსოკინაზას აქტივაციის პირობითი გზა [36]

(NF)-κB - ბირთვული ფაქტორი κB
 APE-1 - აპირიმიდინული ენდონუკლეოზა 1

1.2.3. პროსტატის კიბოს განვითარების მექანიზმები

პროსტატის კიბო მამაკაცთა ონკოლოგიურ დაავადებებს შორის წამყვან ადგილს იკავებს შეერთებულ შტატებსა და აღმოსავლეთ ევროპაში. აუტოფსიური (გვამის გაკვეთა დიაგნოსტიკური ან სამეცნიერო მიზნით) სერიული კვლევების შედეგად 30–40 წლის მამაკაცების ~29%-ში და 60–70 წლის მამაკაცების ~64%-ში გამოვლინდა პროსტატის მცირე კარცინომები [45]. უფრო მეტიც აღმოჩნდა, რომ პროსტატის კიბოს განვითარების რისკი შეადგენს 1 შემთხვევას 6–დან, ხოლო სიკვდილიანობის მაჩვენებელი, პროსტატის მეტასტაზური კიბოს განვითარების შედეგად, კი შეადგენს 1 შემთხვევას 30–დან [46].

პროსტატის სიმსივნეების განვითარების რისკ-ფაქტორებად დიდი ხანია განიხილება ალიმენტური ფაქტორები, ცხოვრების სტილი და ანდროგენები. ბოლო ათი წლის განმავლობაში ჩატარებული მოლეკულური კვლევების შედეგად გამოვლენილ იქნა ახალი მონაცემები პროსტატის სიმსივნეების განვითარებისა და პროგრესირების კუთხით. მემკვიდრული და სომატური მუტაციების იდენტიფიკაციისა და შესწავლის შედეგად აღმოჩნდა, რომ პროსტატის ანთება ხელს უწყობს სიმსივნის განვითარებას. გამოვლენილ იქნა გარემოში არსებული კანცეროგენების მიერ სიმსივნის ინდუცირებისა და პროგრესირების ახალი მექანიზმები. გაჩნდა ახალი მოსაზრებები იმის შესახებ, თუ რა მექანიზმით ახდენენ ანდროგენების რეცეპტორები პროსტატის კიბოს უჯრედების ფენოტიპის ცვლილებას.

მემკვიდრული პროსტატის სიმსივნისადმი წინასწარგანწყობის გენები: პროსტატის სიმსივნეების განვითარების კუთხით მონოზოგოტურ და დიზიგოტურ ტყუპებში ჩატარებულმა შედარებითმა კვლევებმა უჩვენა, რომ მემკვიდრული ფაქტორი ერთ-ერთ ძლიერ რისკ-ფაქტორს წარმოადგენს პროსტატის სიმსივნის განვითარებაში სხვა სიმსივნეებთან შედარებით [47].

1990 წელს სტეინბერგმა და თანაავტორებმა დაადგინეს, რომ პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებულ მამაკაცებს ხშირად ჰყავდათ დაავადებული ნათესავები. აღმოჩნდა, რომ დაავადებული ერთი, ორი და სამი ახლო ნათესავის ყოლა პროსტატის

სიმსივნის რისკს ზრდიდა 2, 5 და 11–ჯერ. შორეულ ნათესავებში ამას მხოლოდ მინიმალური გავლენა აქვს [48]. აღნიშნული საბუთდება ასევე სხვა კვლევებითაც [49-52].

კომპლექსური სეგრეგაციული ანალიზის მეთოდით (გენეტიკური ეპიდემიოლოგიის კვლევის მეთოდი) ჩატარებულმა კვლევამ აჩვენა, რომ ადრეულ ასაკში (55 წლამდე ასაკის მამაკაცებში) მემკვიდრული პროსტატის სიმსივნეების უმეტესი ნაწილის განვითარებაზე პასუხისმგებელია იშვიათი ავტოსომურ–დომინანტური ალელები [53]. იმ მამაკაცებში, რომლებსაც პროსტატის სიმსივნე აღმოაჩნდათ ხანში შესულ ასაკში, შესაძლოა სიმსივნის განვითარება დაკავშირებული იყოს სასქესო (X) ქრომოსომასთან შეჭიდულ ალელთან [54].

მემკვიდრული პროსტატის სიმსივნის პირველი მოლეკულურ–გენეტიკური კვლევის შედეგად, სადაც გამოყენებულ იქნა პოლიმორფული მარკერები, იდენტიფიცირებულ იქნა შეჭიდულობის რამდენიმე უბანი. ყველაზე სრულყოფილად იქნა შესწავლილი 1q24-25 ქრომოსომული უბანი, რომელიც მიჩნეულია პროსტატის მემკვიდრული სიმსივნის გენის - HPC1 (Hereditary Prostate Cancer 1) ლოკუსად [55].

ზოგიერთი სამეცნიერო კვლევით მართლაც დასტურდება კავშირი პროსტატის სიმსივნის განვითარებასა და HPC1 გენს შორის, თუმცა სხვა კვლევებში აღნიშნული ფაქტი არ დადასტურდა [56].

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ **RNASEL** გენი კოდირებს ლატენტურ ენდორიბონუკლეაზას, რომელიც მონაწილეობს რნმ–ის ინტერფერონით განპირობებულ დეგრადაციაში. ვარაუდობენ, რომ აღნიშნული მექანიზმით ხორციელდება ვირუსული და უჯრედული რნმ–ის დაშლა [57]. აღმოჩნდა რომ არსებობს კავშირი RNASEL და HPC1 გენს შორის [58]. ერთ–ერთ ოჯახში პროსტატის სიმსივნით დაავადებულ ოთხ ძმას აღმოაჩნდა მუტაცია, რომელიც იწვევდა RNASEL გენის ინაქტივაციას. სხვა ოჯახში კი ექვსიდან ოთხ დაავადებულ ძმას აღნიშნებოდა RNASEL გენის მეთიონინის მაკოდირებელი სასტარტო კოდონის წერტილოვანი მუტაცია [58].

პოპულაციურ კვლევებში ჯანმრთელი მამაკაცების 0.54%–ში დადგენილ იქნა RNASEL ალელის 265 პოზიციაზე მუტანტური სტოპ–კოდონის არსებობა. საინტერესოა რომ აღნიშნული მუტანტური კოდონი აღმოჩენილ იქნა მემკვიდრული პროსტატის სიმსივნის

მქონე ფინელი მამაკაცების 4.3%-ში. ამავე კვლევის მიხედვით მუტანტური სტოპ კოდონის არსებობა საკონტროლო ჯგუფის მამაკაცების 1.8%-ში იქნა დაფიქსირებული [59].

ცნობილია, რომ პროსტატის სიმსივნის გაზრდილი რისკი ასევე შესაძლოა დაკავშირებული იყოს RNASEL გენის კიდევ ერთი ტიპის მუტაციასთან, რის შედეგადაც ადგილი აქვს ფერმენტის დეფექტური ფორმების სინთეზს [60].

ცნობილია რომ **MSR1** გენი (macrophage scavenger receptor 1) ლოკალიზებულია 8p22 ქრომოსომაზე და ითვლება პროსტატის სიმსივნისადმი წინასწარგანაწყობის ერთ-ერთ გენად [61]. იგი კოდირებს მაკროფაგის სპეციფიურ რეცეპტორს რომელიც იკავშირებს რამდენიმე ტიპის ლიგანდს მათ შორისაა: ბაქტერიული ლიპოპოლისაქარიდეები, ლიპოთეიხოსის მჟავა და შრატში არსებული დაჟანგული მაღალი სიმკვრივის და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები [62]. სასქესო უჯრედებში MSR1-ის მუტაციები დაკავშირებულია მემკვიდრული პროსტატის სიმსივნეების განვითარების მაღალ რისკთან ზოგიერთ ოჯახში. ერთი მუტანტური MSR1 ალელი აღმოჩენილი იქნა არამემკვიდრული პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების 3%-ში და ჯანმრთელი მამაკაცების 0.4%-ში [61,63]. პროსტატის ჯირკვალში MSR1 გენის ექსპრესიას ახდენენ ის მაკროფაგები, რომლებიც დიდი რაოდენობით არიან წრმოდგენილი ანთების კერებთან.

პროსტატის სიმსივნის განვითარების რისკზე მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ანდროგენების ეფექტების განხორციელებაზე პასუხისმგებელი სამი გენი: ანდროგენის რეცეპტორის (AR), ციტოქრომ P450c17 (CYP17) და II ტიპის სტეროიდული-5- α -რედუქტაზას (SRD5A2) გენები. ერთ-ერთი კვლევის მიხედვით AR გენში, რომელიც კოდირებს ანდროგენის რეცეპტორს, აღმოჩენილ იქნა პოლიმორფული პოლიგლუტამინური (CAG) განმეორებები [64]. ფუნქციური კვლევების შედეგად დადგინდა, რომ მოკლე პოლიგლუტამინური განმეორებები შეიძლება უკავშირდებოდეს ანდროგენის რეცეპტორის გენის გაზრდილ ტრანსკრიფციულ-ტრანსაქტივაციულ აქტივობას [65-68]. შავკანიან ამერიკელებს, რომელთაც პროსტატის სიმსივნის განვითარების მაღალი რისკი ახასიათებთ, აქვთ შედარებით მოკლე პოლიგლუტამინური განმეორებები AR გენში, მაშინ როცა აზიელ მამაკაცებს, რომელთაც პროსტატის სიმსივნის

განვითარების დაბალი რისკი აქვთ, ახასიათებთ უფრო გრძელი პოლიგლუტამინური განმეორებები [69]. AR-ს ასევე ახასიათებს პოლიმორფული პოლიგლიცინური განმეორებები (GGC), რომლებიც სავარაუდოდ ასევე ახდენს გავლენას პროსტატის სიმსივნის განვითარების რისკზე [70].

CYP17 კოდირებს ციტოქრომ P450c17, ფერმენტს, რომელიც სტეროიდული სასქესო ჰორმონების სინთეზის უმნიშვნელოვანეს რეაქციებს აკატალიზებს. CYP17 გენის ვარიაციები შესწავლილ იქნა როგორც პოპულაციური ისე გენეტიკური კვლევების საშუალებით, რომელთა შედეგად ვერ მოხერხდა რაიმე კონკრეტული, ერთგვაროვანი შედეგის მიღება [71]. თუმცა გენეტიკური კვლევები ადასტურებენ მის კავშირს პროსტატის სიმსივნესთან [72].

SRD5A2 გენი კოდირებს 5- α -რედუქტაზას იზოზიმს პროსტატაში. ცნობილია, რომ აღნიშნული ფერმენტი ტესტოსტერონს გარდაქმნის დიჰიდროტესტოსტერონად. ამჟამად აღწერილია SRD5A2 გენის ორი პოლიმორფული ვარიანტი [73,74]. ალელი, რომელიც კოდირებს გაზრდილი აქტივობის მქონე ფერმენტს დაკავშირებულია პროსტატის სიმსივნის მომატებულ რისკთან და ცუდ პროგნოზთან პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებულ მამაკაცებში [73,75].

სიმსივნეების მქონე პაციენტებში დიაგნოზის დასმის მომენტისათვის სიმსივნური უჯრედები უკვე შეიცავენ მრავალ სომატურ მუტაციას, დელეციას, ამპლიფიკაციას, ქრომოსომულ ტრანსლოკაციებსა და დნმ-ის მეთილირების ხარისხის ცვლილებებს. აღნიშნული ცვლილებების წარმოქმნას და დაგროვებას სავარაუდოდ რამოდენიმე ათწლეული სჭირდება [45]. პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში ხშირად ფიქსირდება გარკვეული უბნების ინსერციები 7p, 7q, 8q და Xq ქრომოსომებზე და დელეციები 8p, 10q, 13q, და 16q ქრომოსომებში [76]. ქრომოსომული ცვლილებების ჰეტეროგენულობა შეიმჩნევა სხვადასხვა სიმსივნეების შემთხვევებში, ისევე როგორც სიმსივნის სხვადასხვა კერებში და დაზიანებული კერის სხვადასხვა უბნებში.

სიმსივნის პროგრესირებასთან ერთად ადგილი აქვს დამატებითი სომატური მუტაციების წარმოქმნას [77]. მაგ: TP53 გენის მუტაციები ძლიერ მცირე რაოდენობით

ფიქსირდება პროსტატის პირველადი კიბოს გამოვლენისას, თუმცა მეტასტაზურ ფორმაში პროგრესირების პარალელურად მათი რაოდენობა შესამჩნევად იზრდება [78].

პროსტატის კანცეროგენეზის პროცესში ფერმენტ **გლუტათიონ-S-ტრანსფერაზა-1-ის (GSTP1)** გენის რეგულატორული უბნის ირგვლივ მდებარე CpG კუნძულების (ციტოზინისა და გუანინის განმეორებადი თანმიმდევრობები) ჰიპერმეთილირება უნდა წარმოადგენდეს დამაკავშირებელ რგოლს გენომის დამაზიანებელი ფაქტორის მოქმედებასა და გაზრდილ გენომურ არასტაბილურობას შორის [79]. პროსტატის ნორმალურ ეპითელიუმში GSTP1 გენის ექსპრესიას ახდენენ ბაზალური უჯრედები და არა ცილინდრული სეკრეტორული უჯრედები. მიუხედავად აღნიშნულისა, გენომის დამაზიანებელი ფაქტორის (სტრესის) მოქმედებისას შესაძლოა მოხდეს GSTP1-ის ექსპრესიის ინდუცირება ცილინდრულ უჯრედებშიც. თუმცა აღსანიშნავია, რომ პროსტატის კიბოს უჯრედებში აღნიშნული ანტიოქსიდანტი ფერმენტი ძალიან მცირე რაოდენობით არის წარმოდგენილი. პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევათა 90%-ზე მეტში აღნიშნული ფერმენტის დეფიციტი გამოწვეული უნდა იყოს CpG კუნძულების ჰიპერმეთილირებით, რაც GSTP1 გენის ტრანსკრიფციას უშლის ხელს [79]. დადგენილია, რომ GSTP1-ის გენის ექსპრესიის დაბალი დონე და CpG კუნძულების ჰიპერმეთილირება ასევე დამახასიათებელია პროსტატის ინტრაეპითელიური ნეოპლაზიის უჯრედებისათვის, რომლებიც პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნის წინაპირობას წარმოადგენს [80].

მიუხედავად იმისა, რომ სიმსივნის განვითარების პროცესში ადგილი აქვს ინაქტიური GSTP1 ალელის მატარებელი უჯრედების დაგროვებას, აღნიშნული გენი არ მიიჩნევა სიმსივნის სუპრესორად [79]. უფრო ზუსტად რომ ითქვას იგი ასრულებს ე.წ. „მზრუნველი“ (caretaker) გენის როლს [81], რომელიც იცავს პროსტატის უჯრედების გენომს ისეთი კანცეროგენების დამაზიანებელი მოქმედებისაგან, როგორებიცაა ანთებით კერებში არსებული დამჟანგველები და ისეთი ქსენობიოტიკები როგორიცაა ჰეტეროციკლური არომატული ამინი: 2-ამინო-1-მეთილ-6-ფენილიმიდაზო-[4,5-b] პირიდინი (PhIP), რომელიც ჭარბად გროვდება ხორცის მაღალ ტემპერატურაზე მომზადებისას [82]. PhIP-სთან უშუალო ზემოქმედებისას GSTP1-ის ექსპრესიის უნარის მქონე მოდიფიცირებულ

LNCaP სიმსივნური კულტურის უჯრედებში მნიშვნელოვნად ნაკლები დოზით წარმოიქმნება პრომუტაგენური PhIP-დნმ -ადუქტები, ვიდრე არამოდიფიცირებულ GSTP1-ის დეფიციტურ LNCaP ხაზის უჯრედებში [82]. ამავდროულად, ოქსიდაციური სტრესის დროს GSTP1-ის ექსპრესიის უნარის მქონე LNCaP უჯრედებში გაცილებით მცირე რაოდენობით წარმოიქმნება დნმ-ის დაქანგული აზოტოვანი ფუძეები არამოდიფიცირებულ უჯრედებთან შედარებით.

თუმცა ზემოთ აღნიშნულის საწინააღმდეგოდ აღმოჩნდა, რომ განვითარებულ ოქსიდაციური სტრესზე პასუხად არამოდიფიცირებული LNCaP უჯრედები უფრო სიცოცხლისუნარიანია ვიდრე მოდიფიცირებული, GSTP1-ის ექსპრესიის უნარის მქონე უჯრედები.

GSTP1-ის „მზრუნველი“ ფუნქციის დაკარგვის პირობებში LNCaP უჯრედების უჩვეულო მდგრადობა ოქსიდაციური სტრესის მიმართ, სავარაუდოდ საფუძვლად უდევს არააქტიური GSTP1-ის მქონე უჯრედების გაძლიერებულ ზრდას პროსტატის კანცეროგენული ტრანსფორმაციისას.

APC (Adenomatous polyposis coli) გენი წარმოადგენს სწორი ნაწლავის სიმსივნის სუპრესორულ გენს. ცნობილია, რომ აღნიშნული გენის მუტაცია პირდაპირ კავშირშია სწორი ნაწლავის კიბოს განვითარებასთან. პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში ჯერ არ არის აღმოჩენილი ანალოგიური გენი, რომელიც სიმსივნის სუპრესორულ (gatekeeper) ფუნქციას შეასრულებდა პროსტატის კანცეროგენეზის პროცესში [81]. პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში განიხილება ზემოთაღწერილი ფუნქციის მქონე რამოდენიმე გენის არსებობა, რომელთაგან ერთ-ერთია **NKX3.1 გენი**. აღნიშნული გენი 8p21 ქრომოსომულ ლოკუსზეა მოთავსებული და კოდირებს ანდროგენ მგრძნობიარე, პროსტატ-სპეციფიურ ჰომეობოქსის გენს, რომელიც საჭიროა პროსტატის ნორმალური განვითარებისათვის [83]. ბოლოდროინდელმა კვლევებმა უჩვენა, რომ აღნიშნული გენის მუტაცია მნიშვნელოვნად უწყობს ხელს პროსტატის უჯრედების დიფერენცირების უნარის დაკარგვას და პროსტატის კიბოს პროგრესირებას. ცნობილია, რომ NKX3.1 ცილა უკავშირდება დნმ-ს და ახდენს PSA გენის ექსპრესიის რეპრესირებას [84]. დადგენილია, რომ

ვითარებებს, რომლებსაც აქვთ Nkx3.1-ის ერთი ან ორი დაზიანებული ალელი, უვითარდებათ პროსტატის ეპითელიური ქსოვილის ჰიპერპლაზია და დისპლაზია [85].

ცნობილია, რომ ადამიანებში 8p21 ლოკუსის დაკარგვას ადგილი აქვს პროსტატის კანცეროგენეზის ადრეულ სტადიაზე. აღმოჩნდა, რომ 8p21-ის პოლიმორფული მარკერული თანმიმდევრობის ჰეტეროზიგოტურობის დაკარგვა აღინიშნება პროსტატის ინტრაეპითელიური ნეოპლაზიური დაზიანებების (PIN უბნები) 63%-ში და პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების 90%-ზე მეტ შემთხვევაში [86]. ცნობილია, რომ 8p21 ქრომოსომის მონაკვეთი, რომელიც მოიცავს NKX3.1 გენს, ხშირად განიცდის დელეციას, მაგრამ მოლეკულური კვლევების შედეგად ვერ მოხერხდა იმის დამტკიცება, რომ NKX3.1 გენი (და მისი ინაქტივაცია) წარმოადგენს სომატური მუტაციების სამიზნეს პროსტატის კანცეროგენეზის შემთხვევაში. აღნიშნული განპირობებულია იმ ფაქტით, რომ პროსტატის ავთვისებიანი ქსოვილის უჯრედებში აღნიშნული გენის ერთი ალელი ხშირად განიცდის დელეციას, ხოლო მეორე აქტიურ ალელში კი არ ფიქსირდება სომატური მუტაციების არსებობა [87]. მიუხედავად ზემოთთქმულისა, შეიძლება ითქვას, რომ NKX3.1 გენის ექსპრესიის დაკარგვა დაკავშირებულია პროსტატის სიმსივნის პროგრესირებასთან. ერთ-ერთი კვლევის მიხედვით NKX3.1 გენის დეფიციტი აღინიშნებოდა პროსტატის ინტრაეპითელიურ ნეოპლაზიურ დაზიანებათა 20%-ში, დაბალი სტადიის პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების 6%-ში, მაღალი სტადიის პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების 22%-ში, ანდროგენ-დამოუკიდებელი პროსტატის სიმსივნეების 34%-ში, და მეტასტაზირებული პროსტატის კიბოს შემთხვევათა 78%-ში [88].

PTEN წარმოადგენს სიმსივნის სუპრესორული გენს, რომელიც კოდირებს ფოსფატაზას და ტენზინის ჰომოლოგ ცილას. აღნიშნული გენის პროდუქტი წამოადგენს ფერმენტ ფოსფატაზას (phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase) რომელიც აქტიურობას ავლენს როგორც ცილოვანი ასევე ლიპიდური სუბსტრატების მიმართ. აღსანიშნავია რომ PTEN გენი წარმოადგენს სომატური მუტაციების ძირითად სამიზნეს პროსტატის კიბოს პროგრესირების დროს [89]. მისი ექსპრესია დაფიქსირებულია როგორც

ნორმალურ ეპითელურ უჯრედებში, ასევე PIN უბნების უჯრედებშიც, პროსტატის კიბოს უჯრედებში კი მისი ექსპრესია ხშირად მკვეთრად შემცირებული [90].

PTEN-ის როგორც სიმსივნის სუპრესორის ძირითად ფუნქციას წარმოადგენს უჯრედული ციკლის განხორციელებისათვის აუცილებელი ფოსფატიდილინოზიტოლ-3'-კინაზური ცილის კინაზა B-ს (PI3K-Akt) სასიგნალო გზის ინჰიბირება [91].

პროსტატის სიმსივნეების კვლევისას აღმოჩნდა, რომ PTEN გენის სომატური მუტაციები გაცილებით მაღალი სიხშირით აღინიშნებოდა მეტასტაზირებული სიმსივნისას ვიდრე პირველად სიმსივნეში [92].

პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების დროს ხშირად ადგილი აქვს PTEN-ისა და ასევე NKX3.1-ის ალელის დაკარგვას, მაგრამ არც ერთი აღნიშნული გენის შემთხვევაში მეორე აქტიური ალელის სომატური მუტაციები თითქმის არ აღინიშნება. ერთ-ერთ კვლევაში, PTEN-ის მიხედვით ჰეტეროზიგოტური ვირთაგვების შეჯვარებისას NKX3.1 ჰეტეროზიგოტურ ვირთაგვებთან მიიღეს PTEN ჰეტეროზიგოტური შთამომავლობა, რომელთა უჯრედებში Nkx3.1 გენის ორვე ალელი ან ერთი ალელი დაკარგული იყო; აღნიშნული შთამომავლობის ყველა წარმომადგენელში განვითარდა პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნე ინტრაეპითელური ნეოპლაზიური უბნებით [85,93].

პროსტატის სიმსივნეებში ხშირად ფიქსირდება **CDKN1B** გენით კოდირებული ციკლინ-დამოკიდებული კინაზას ინჰიბიტორის – p27-ის დონის კლება [94]. აღნიშნულ ფაქტს სავარაუდოდ უნდა იწვევდეს CDKN1B გენის (12p12-13 ქრომოსომულ ლოკუსებზე არსებული) შემცველი დნმ თანმიმდევრობის დაკარგვა. აღნიშნული დნმ-თანმიმდევრობის დაკარგვა აღწერილ იქნა ლოკალიზებული პროსტატის სიმსივნეების 23%-ში, რეგიონულ ლიმფურ კვანძებში მეტასტაზების 30%-ში და შორს წასული მეტასტაზების 47%-ში [95].

ცნობილია, რომ **P27**-ის დონე რეგულირდება PI3K-Akt სასიგნალო გზის საშუალებით [96]: PTEN-ის ინჰიბიტორული მოქმედების შედეგად იზრდება CDKN1B-ის შესაბამისი მ-რნმ-ს დონე და შესაბამისად p27-ის დონე [97]. ვარაუდობენ, რომ p27-ის დაბალი დონე დაკავშირებულია სწორედ PTEN-ის დაკარგვასთან ან CDKN1B გენის ცვლილებებთან.

პროსტატის კიბოს მეტასტაზურ ფორმას როგორც წესი ანდროგენების დათრგუნვით (სუპრესიით), ანტიანდროგენული თერაპიით ან ორივე აღნიშნული მეთოდის ერთობლივი გამოყენებით მკურნალობენ [98–100]. თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ ხშირ შემთხვევაში, (მკურნალობის საწყის ეტაპზე ორგანიზმის პირველადი პასუხის მიუხედავად) სიმსივნის პროგრესირება მაინც გარდაუვალია ანდროგენ–დამოუკიდებელი სიმსივნური უჯრედების ფორმირების გამო.

ანდროგენ–დამოუკიდებელი პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების უმრავლესობაში ანდროგენების რეცეპტორის ექსპრესია, ისევე როგორც მისი ფუნქციონირების არაერთი ასპექტი მაინც შენარჩუნებულია [101]. ზოგიერთი არგუმენტირებული მოსაზრების თანახმად, ანდროგენების არარსებობის პირობებშიც კი, ანდროგენის რეცეპტორს აქვს ანდროგენ–დამოუკიდებელი უჯრედების პროლიფერაციის სტიმულირების უნარი [102]. პროსტატის სიმსივნეებში, გასაკუთრებით კი ჰორმონ–დამოუკიდებელი ფორმის შემთხვევაში, ნანახია AR გენის მრავალი სომატური მუტაცია [103]. AR-ის მუტაციის ერთ–ერთი ხშირი მაგალითია მისი ამპლიფიკაცია და შედეგად ანდროგენის რეცეპტორის ჰიპერექსპრესია. აღნიშნული ფაქტი იწვევს ანდროგენ–დამოუკიდებელი უჯრედების გაძლიერებულ ზრდას, იზრდება რა მათი მგრძობელობა მცირე რაოდენობით ცირკულირებადი ანდროგენების მიმართ [104]. AR–ის სხვა ტიპის მუტაციის შემთხვევაში ადგილი აქვს რეცეპტორის ლიგანდ–სპეციფიურობის შეცვლას, რის შედეგადაც რეცეპტორის აქტივაცია ხორციელდება ანდროგენებისაგან განსხვავებული ნაერთებით ან სულაც ანტიანდროგენებით [105]. ზემოთაღწერილისაგან განსხვავებით არის ასევე შემთხვევები, როდესაც AR მუტაციები არ ფიქსირდება, თუმცა პროსტატის ანდროგენ–დამოუკიდებელი კიბოს პროგრესირება მაინც ხდება კიდევ ერთი მექანიზმით კერძოდ კი, ანდროგენის რეცეპტორის ლიგანდ–დამოუკიდებელი სასიგნალო გზის გააქტივების საშუალებით [106].

ქრონიკული ან პერიოდული ანთებითი პროცესი სავარაუდოდ ხელს უნდა უწყობდეს მრავალი ტიპის სიმსივნის და მათ შორის პროსტატის სიმსივნის განვითარებას [107]. დადგენილია, რომ სიმპტომური პროსტატიტი ფიქსირდება 40–79 ასაკის მამაკაცების ~9%–

ში; მათგან ნახევარს ერთხელ მაინც ჰქონია პროსტატიტის შემთხვევა 80 წლამდე [108]. შემთხვევების უმეტესობაში ინფექციური აგენტის დადგენა ვერ ხერხდება, რაც ეპიდემიოლოგიურ კვლევებში ართულებს კავშირის გამოვლენას სიმპტომურ ან ასიმპტომურ პროსტატიტსა და პროსტატის სიმისვენეს შორის. ამავდროულად, პროსტატის სიმისვენის განვითარების მაღალი რისკი დაკავშირებულია სქესობრივი გზით გადამდებ დაავადებებთან (მიუხედავად იმისა რომელი პათოგენია გამომწვევი), რაც საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ სწორედ ანთება და არა ინფექცია ახდენს პროსტატის კანცეროგენეზის ინიცირებას [109–110].

ანთებითი უჯრედები დიდი რაოდენობით გამოიმუშავენ მიკრობიციდული მოქმედების ოქსიდანტებს (ჟანგბადის აქტიურ ფორმებს), რომელთაც უნარი აქვთ გამოიწვიონ უჯრედული ან გენომური დაზიანებები [111,112]. აღნიშნულ მოსაზრებას ადასტურებს ის ფაქტიც, რომ ანტიოქსიდანტებისა და ანთების საწინააღმდეგო არასტეროიდული მედიკამენტების მიღება ზოგადად დაკავშირებულია პროსტატის სიმისვენის განვითარების დაბალ რისკთან [113]. აღმოჩენილია პროსტატის სიმისვენის განვითარებასთან დაკავშირებული რამდენიმე გენი, რომელთაგან ორი - RNASEL და MSR1 კოდირებს ინფექციის საპასუხო რეაქციებში მონაწილე ცილებს [58,61,62].

1999 წელს, დე მარცომ და კოლეგებმა ივარაუდეს, რომ პროსტატის ქსოვილის დაზიანება, რომელსაც ეწოდა პროლიფერაციული ანთებითი ატროფია, წარმოადგენდა პროსტატის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიისა და პროსტატის კიბოს წინამორბედს [114]. დიდი ხანია, რაც პროსტატის ქსოვილში დაფიქსირებულ იქნა ეპითელური ატროფიის ფოკალური უბნები, რომლებიც სავარაუდოდ მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ პროსტატის კანცეროგენეზში [107,115]. აღნიშნული ატროფიული უბნები ხშირად ფიქსირდება პროსტატის პერიფერიულ ქსოვილში, სადაც ყველაზე ხშირად ვითარდება ავთვისებიანი სიმისვენეები. ზემოთაღწერილი ატროფიული უბნები შეიცავენ პროლიფერირებად ეპითელურ უჯრედებს, რომელთაც დაკარგული აქვთ ცილინდრულ სეკრეტორულ უჯრედებად დიფერენცირების უნარი [114,116]. ტერმინი „პროლიფერაციული ანთებითი ატროფია“ შეესაბამება სწორედ აღნიშნულ ფოკალურ ატროფიულ უბნებს, რომლებიც

დაკავშირებული არიან ქრონიკულ ანთებასთან და როგორც წესი ესაზღვრებიან პროსტატის ინტრაეპითელურ ნეოპლაზიის უბნებს, პროსტატის კიბოს ან ორივეს [114,116,117]. ცნობილია, რომ პროსტატის ინტრაეპითელურ ნეოპლაზიასა და პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ უჯრედებში სომატური გენომური დარღვევების მსგავსი ცვლილებები აღმოჩენილია ასევე პროლიფერაციული ანთებითი ატროფიის უჯრედებშიც [118].

პროლიფერაციული ანთებითი ატროფიის კავშირი ქრონიკულ ანთებასთან იძლევა საფუძველს ვივარადუოთ, რომ ანთებითი ატროფია ვითარდება პროსტატის ეპითელური უჯრედების რეგენერაციული პროლიფერაციის შედეგად, რაც წარმოადგენს საპასუხო რეაქციას ანთებითი ოქსიდანტების მიერ გამოწვეულ დაზიანებაზე [114]. ანთებითი ატროფიის ეპითელური უჯრედებში გაზრდილი რაოდენობით არის წარმოდგენილი გლუტათიონ S-ტრასფერაზა 1 (GSTP1), გლუტათიონ S-ტრასფერაზა A1 (GSTA1) და ციკლოოქსიგენაზა 2 (COX2), რაც მიუთითებს ჟანგვითი სტრესის განვითარებაზე აღნიშნულ უჯრედებში [114]. ცნობილია, რომ CpG კუნძულების ჰიპერმეთილირების შედეგად გამოწვეული GSTP1-ის დეფიციტი სავარაუდოდ განსაზღვრავს და ხელს უწყობს პროლიფერაციული ანთებითი ატროფიის გარდაქმნას (ტრანზიცია) პროსტატის ინტრაეპითელურ ნეოპლაზიაში ან პროსტატის კიბოში [79,80,95].

დადგენილია, რომ პროსტატის ანთება, რომელსაც თან სდევს ფოკალური ეპითელური ატროფია ხელს უწყობს პროსტატის კიბოს განვითარებას ვირთაგვებში [118].

გენები, ალიმენტური ფაქტორები და ცხოვრების წესი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს პროსტატის კიბოს განვითარებაში. პროსტატის სიმსივნის განვითარებასთან დაკავშირებული მემკვიდრული გენები RNASEL და MSR1 მონაწილეობენ ინფექციის საპასუხო უჯრედულ რეაქციებში, რაც მიუთითებს იმ ფაქტზე, რომ ინფექცია ან ანთება წარმოადგენს პროსტატის კანცეროგენეზის ინიციაციის წინაპირობას. პროსტატის სიმსივნის წინამორბედი დაზიანება - პროლიფერაციული ანთებითი ატროფია, კიდევ ერთ სავარაუდო კავშირს წარმოადგენს პროსტატის ანთებასა და პროსტატის კიბოს შორის. GSTP1 გენის „მზრუნველობითი“ ფუნქციის დაკარგვა ზრდის პროსტატის მგრძობელობას ანთებითი ოქსიდანტებისა და საკვებში არსებული კანცეროგენების მიმართ, რადგან

ანთებითი ატროფიის უჯრედები გარდაიქმებიან პროსტატის სიმსივნურ ან ინტრაეპითელური ნეოპლაზიის უჯრედებად. გენომური დაზიანების სომატური სამიზნეებს წარმოადგენენ NKX3.1, PTEN და AR გენები, რომლებიც თავის მხრივ უნდა ახდენდნენ სიმსივნის პროგრესირების მოდულირებას. ანდროგენების ეფექტების განხორციელებაში მონაწილე ცილების მაკოდირებელი გენების (AR, CYP17 და SRD5A2) მემკვიდრული პოლიმორფული ვარიანტები ასევე მნიშვნელოვან გავლენას ახდენენ პროსტატის სიმსივნის განვითარებასა და პროგრესირებაზე [119].

1.2.4 სომატური მიტოქონდრიული მუტაციების წარმოქმნა, ფუნქცია და პროგნოსტიკური გამოყენება სიმსივნეებში

ადრეული კვლევები, რომლებიც აღწერდნენ მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაგენეზის როლს სიმსივნეების განვითარებაში ძირითადად ფოკუსირებული იყო მიტოქონდრიული დნმ-ის რეგულატორული უბნის - D-მარყუჟის მუტაციებზე. ბოლო წლებში კი სულ უფრო მეტი ყურადღება ეთმობა მიტოქონდრიული დნმ-ის მაკოდირებელ თანმიმდევრობებში არსებული გენების მუტაციებსაც. შესაბამისად, დღეისათვის აქტიურად მიმდინარეობს მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციების შესწავლა პროსტატის სიმსივნეებში. ციტოქრომ ოქსიდაზას I სუბერთეულის (COI) გენის სექვენირების შედეგად პროსტატის კიბოთი დაავადებული პაციენტების 10–12%-ში გამოვლენილ იქნა COI-ის გენის მუტაციები [11]. აღნიშნულ კვლევაში შესწავლილი ავთვისებიანი ქსოვილის ნიმუშებიდან ერთ-ერთში COI-ის ჰეტეროპლაზმური მუტაციასთან ერთად, რომლის შედეგადაც ადგილი ქონდა სტოპ-კოდონის წარმოქმნას, დაფიქსირებულ იქნა ასევე ატფ-სინთეტაზას მე-6 სუბერთეულის მაკოდირებელი გენის (ATP6-ის) მემკვიდრული მუტაცია. Gomez-Zaera და კოლეგებმა 2006 წელს განახორციელეს D-მარყუჟის, 12S და 16S რ-რნმ-ისა და ND3, ND4L, ND4 გენების სექვენირება პროსტატის კიბოთი დაავადებულ 10 პაციენტში [120]. აღნიშნული კვლევის ფარგლებში შესწავლილი პაციენტებიდან ხუთ პაციენტში გამოვლინდა

მიტოქონდრიული დნმ-ის რვა სომატური ცვლილება, რომლებიც ძირითადად D-მარყუჟის უბანს მოიცავდა. კიდევ ერთი კვლევის ფარგლებში მეცნიერებმა მოახდინეს 24 პაციენტის ქსოვილისაგან მიღებული ნიმუშებიდან მიტოქონდრიული დნმ-ის სრული გენომის სექვენირება. აღნიშნული ნიმუშები მიღებული იყო როგორც პროსტატექტომიის ასევე სიმპტომური კეთილთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტებისაგან პროსტატის ბიოფსიის შედეგად. ნიმუშები 3 ჯგუფად იყო დაყოფილი: **ავთვისებიანი ქსოვილის ნიმუშები, კეთილთვისებიანი ქსოვილისა და კეთილთვისებიანი სიმსივნიდან მოშორებით** მდებარე ქსოვილის ნიმუშები. საკონტროლო ჯგუფად გამოყენებულ იქნა 12 ჰისტოლოგიურად დადასტურებული კეთილთვისებიანი ქსოვილისა და სისხლიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული დნმ [121]. კვლევის შედეგად, 24-დან 16 პაციენტს (66.7%) აღმოაჩნდა მუტაციები სამივე ტიპის ქსოვილის ნიმუშში. 24-დან 22 პაციენტს (91.7%) მუტაციები დაუფიქსირდათ მხოლოდ ათვისებიან ქსოვილში; 24-დან 19 პაციენტს (79.2%) მუტაციები გამოუვლინდათ კეთილთვისებიან ქსოვილში, 22 პაციენტს (91.7%) კი ცვლილებები აღნიშნებოდა კეთილთვისებიანი ქსოვილიდან მოშორებულ უბნებში. ამავდროულად, D-მარყუჟის ანალიზმა გამოავლინა 34 ჩანაცვლებითი (substitution) მუტაცია 29 პაციენტის პროსტატის ბიოფსიური ნიმუშიდან 21-ში (72%), მაგრამ ათვისებიან და სიმპტომურ კეთილთვისებიან ნიმუშებს შორის არ აღინიშნებოდა განსხვავება მუტაციების რაოდენობაში. საინტერესოა ისიც, რომ მუტაციები დაფიქსირდა არა მხოლოდ ათვისებიან ქსოვილში, არამედ კეთილთვისებიან და კეთილთვისებიანი ქსოვილის მოშორებით მდებარე უბნებშიც, რაც იძლევა საფუძველს ვივარაუდოთ, რომ მიტოქონდრიული დნმ-ში მუტაციების წარმოქმნას ადგილი აქვს კანცეროგენეზის ადრეულ (ინიციაციის) ეტაპზევე.

1.2.5. სომატური მიტოქონდრიული მუტაციების წარმოქმნა, დაგროვება და ფუნქციური მნიშვნელობა კანცეროგენეზის პროცესში.

ჯერ კიდევ გაურკვეველია თუ როგორ ვრცელდება ერთი მიტოქონდრიის გენომში წარმოქმნილი სპონტანური მუტაცია ქსოვილის ყველა უჯრედის მიტოქონდრიულ გენომში. ცნობილია, რომ ავთვისებიან სიმსივნეებში ჰომოპლაზმური მუტაციების მაღალი სიხშირე იმის მაჩვენებელია, რომ აღნიშნული მუტაციები წამყვან როლს თამაშობენ ნეოპლაზიურ ტრანსფორმაციაში []. ზოგიერთ კვლევაში [122, 123] სიმსივნური უჯრედების ბირთვულ გენომში დაფიქსირებულ იქნა მრავალი ათასი კლონური მუტაცია, რომელთა უმრავლესობა დათრგუნულ მდგომარეობაშია. ავტორების აზრით აღნიშნულ ფაქტი განაპირობებული უნდა იყოს მათი მდებარეობით დნმ-ის მაკოდირებელი და რეგულატორული უბნების გარეთ. ვარაუდობენ, რომ მსგავსი სიტუაცია შესაძლებელია გვხვდებოდეს მიტოქონდრიაშიც. სექვენირების სტანდარტული მეთოდების საშუალებით მიტოქონდრიული მუტაციის დეტექცისათვის აუცილებელია, რომ მუტანტური დნმ-ის შემცველი მიტოქონდრიების რაოდენობა უჯრედში აჭარბებდეს ნორმალური დნმ-ის შემცველ მიტოქონდრიებს. საბოლოო ჯამში ადგილი უნდა ჰქონდეს მუტანტური უჯრედების ინტენსიური პროლიფერაცია, რის შედეგადაც წარმოიქმნება სიმსივნური უჯრედების გროვა.

ცნობილია ისიც, რომ მათემატიკური მოდელირების მიხედვით, ზოგიერთი ჰომოპლაზმური მუტაცია სიმსივნეებში შეიძლება დაგროვდეს უბრალო შემთხვევითობის შედეგად [124].

ამავდროულად, მთელ რიგ ექსპერიმენტებში ნაჩვენებია, რომ მასპინძელ უჯრედში სპეციფიური მუტაციების შემცველი მიტოქონდრიების შეყვანის შემთხვევაში უჯრედში შეიმჩნევა მკვეთრი ფენოტიპური ცვლილებები []. კონკრეტულად კი Ishikawa და კოლეგებმა პროსტატის სიმსივნის არამეტასტაზური ფორმით დაავადებული ვირთაგვების სიმსივნური უჯრედული ხაზის მიტოქონდრიული დნმ ჩაანაცვლეს პროსტატის სიმსივნის მეტასტაზური ფორმის უჯრედების მიტოქონდრიული დნმ-ით. აღნიშნული უჯრედული

ხაზების დნმ-ები განსხვავდებოდა მხოლოდ ერთი წყვილი ფუძით – G13997A ან 13885insC. აღმოჩნდა, რომ ჩანაცვლების შედეგად არამეტასტაზური ფორმის უჯრედებმა შეიძინეს მეტასტაზური პოტენციალი [125]. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ექსპერიმენტის საწინააღმდეგო მიმართულებით ჩატარების შემთხვევაში ადგილი ჰქონდა უჯრედების მიერ მეტასტაზური პოტენციალის სრული დაკარგვა. აღნიშნული ამტკიცებს, რომ მიტოქონდრიული მუტაციები ნამდვილად მონაწილეობენ ავთვისებიანი სიმსივნის პროგრესირებაში.

სხვა კვლევებში ხდებოდა მიტოქონდრიული მუტაციების როლის შესწავლა სიმსივნური უჯრედების აპოპტოზისადმი მდგრადობაში, მეტასტაზირებაში [126], სიმსივნური ზრდის დაჩქარებასა და გაძლიერებაში [11]. სხვადასხვა მიტოქონდრიული მუტაციების ფუნქციური კვლევების შედეგად შეგვიძლია დანამდვილებით ვიმსჯელოთ მიზეზ-შედეგობრივი კავშირის არსებობაზე მიტოქონდრიულ მუტაციებსა და კანცერგონებს შორის.

1.2.6. მიტოქონდრიული დნმ-ის დაზიანება და მუტაცია

ცნობილია, რომ მიტოქონდრიულ დნმ-ში მუტაციების წარმოქმნის სიხშირე გავლენას უნდა ახდენდეს უჯრედის გენომის მრავალფეროვნებაზე და ასევე იმ ვარიანტების სიმრავლეზე, რომლებიც სელექციას განიცდიან (ან გარდაქმნას ჰომოპლაზმიაში) ნეოპლაზიური ტრანსფორმაციის შემთხვევაში. ცნობილია ისიც, რომ მიტოქონდრიულ დნმ-ში შემთხვევითი მუტაციების წარმოქმნას ადგილი აქვს სხვადასხვა ფაქტორების მოქმედების შედეგად. მათ შორის აღსანიშნავია ენდოგენური პროცესების დარღვევებით განპირობებული მუტაციების ინდუქცია, რაც გულისხმობს დნმ რეპლიკაციის დროს დაშვებლი შეცდომებსა და უჯრედული მეტაბოლიტებით დნმ-ის დაზიანებას. ასევე ეგზოგენური ფაქტორების მოქმედება, რაც მოიაზრებს გარემოში არსებული აქტიური ნაერთებით განპირობებულ მუტაციების ინდუქციას. აღმოჩნდა, რომ

მიტოქონდრიული დნმ ადვილად შედის რეაქციაში და გაცილებით მგრძობიარეა ეგზოგენური ქიმიური ნაერთებისადმი ვიდრე ბირთვის დნმ. აღნიშნული ფაქტი ნაჩვენებია იქნა მაალკილირებელი აგენტების, პოლიციკლური არომატული ნახშირწყალბადების, აფლატოქსინ B1-ის და ციპლასტინის გამოყენების შემთხვევაში [127]. სრულიად შესაძლებელია, რომ მრავალი ქიმიური აგენტი, რომელიც არ არის მუტაგენური ბირთვული დნმ-სათვის, დამაზიანებელი იყოს მიტოქონდრიული დნმ-თვის. თუმცა აღსანიშნავია, რომ აღნიშნული მოსაზრების დამტკიცება მრავალ სირთულესთან და არაერთ გრძელვადიან კვლევასთან იქნება დაკავშირებული. გარდა ამისა გასათვალისწინებელია ის ფაქტიც, რომ ბირთვული დნმ-ის მუტაციების დეტექციისათვის შემუშავებული მრავალი მეთოდიდან [128, 129], მხოლოდ ზოგიერთი თუ გამოდგება მიტოქონდრიულ დნმ-ისათვის [130].

1.2.7. მიტოქონდრიული მუტაციები როგორც კიბოს ბიომარკერები

მიუხედავად იმისა, რომ დაავადების პათოგენეზის პროცესში მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციების აკუმულაციისა და უჯრედის ყველა მიტოქონდრიაში მათი გავრცელების ზუსტი მექანიზმები ჯერ კიდევ აუხსნელია, ავთვისებიანი სიმსივნეების უმრავლესობაში დადასტურებულია მრავლობითი ჰომოპლაზმური მუტაციების არსებობა. მიტოქონდრიული დნმ-ს გააჩნია რამოდენიმე უნიკალური თვისება რაც მის როგორც გენეტიკური ბიომარკერის გამოყენებას სრულიად საფუძვლიანს და უდაოს ხდის. მიტოქონდრიული გენომი **დეტალურადაა შესწავლილი** და მოიცავს ~16569 ნუკლეოტიდურ წყვილს, სადაც 37 გენია ლოკალიზებული. მიტოქონდრიული გენომი უჯრედში **მრავალი ასლითაა წარმოდგენილი** (ზოგიერთ უჯრედში მიტ. დნმ-ის რამოდენიმე ასეულიდან რამოდენიმე ათასამდე ასლია) და შედარებით **მდგრადია დაზიანების მიმართ** (რასაც მისი მცირე ზომა და ჩაკეტილი წრიული სტრუქტურა განაპირობებს). იგი **მოკლებულია ინტრონებს**, შესაბამისად მუტაციები, რომლებიც აქ წარმოიქმნება ხშირად კოდირებად უბნებში გროვდება, რაც სწრაფად აისახება უჯრედის ფუნქციონირებაზე [131]. ყოველივე

ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე მოაზრებულია 2 მიდგომა მიტოქონდრიული დნმ-ის პრაქტიკულ ბიომარკერად გამოყენების თვალსაზრისით სიმსივნური დაავადებების დროს. ესენია: თავისუფალი მიტოქონდრიული დნმ-ისა და ინტაქტური კიბოს უჯრედების მონიტორინგი პერიფერიულ სისხლში.

ცნობილია, რომ არსებობს მიტოქონდრიული დნმ-ის მოცირკულირე ფორმებიც, რომლებიც კიბოთი დაავადებული პაციენტების პლაზმასა და/ან შრატში პირველად დაფიქსირებულ იქნა 1977 წელს [132]. აღნიშნული პერიოდის შემდეგ იწყება დნმ-ის საერთო კონცენტრაციის შესწავლა სხვადასხვა ტიპის კიბოთი დაავადებული პაციენტების სისხლის პლაზმაში [133]. დადგენილ იქნა, რომ Solid სიმსივნეების მქონე პაციენტებში თავისუფალი დნმ-ის რაოდენობა პლაზმაში გაზრდილი იყო, რაც მათ განასხვავებდა ჯანმრთელი ინდივიდებისაგან (შესწავლილ იქნა ფილტვების [134], მსხვილი ნაწლავის [135], მკერდის კიბოს [136], საკვერცხის [137], სათესლეებისა და პროსტატის [138] სიმსივნეების შემთხვევაში). მიუხედავად იმისა, რომ კიბოთი დაავადებული პაციენტების სისხლში თავისუფალი მიტოქონდრიული დნმ-ის რაოდენობის მატების ზუსტი მიზეზი და მექანიზმი გარკვეული არ არის, მისი როგორც სიმსივნის არაინვაზიური ბიომარკერის გამოყენების პოტენციალი სრულიად ცხადი და რეალური გახდა.

1.2.8. მეტაბოლური გადართვა და მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციები

როგორც უკვე აღვნიშნეთ სიმსივნის განვითარებას ხშირ შემთხვევაში თან სდევს მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციები, რამაც მიტოქონდრიების დისფუნქციასა და შეცვლილ მეტაბოლიზმთან ერთად შესაძლოა ხელი შეუწყოს სიმსივნის განვითარებასა და მეტასტაზირებას [10.141,142].

ცნობილია, რომ ჯანმრთელი პროსტატის ქსოვილის უჯრედებისათვის დამახასიათებელია თუთიის მაღალი შემცველობა, რაც კრებსის ციკლის ბლოკირებას და პროსტატის სითხეში ციტრატის დიდი რაოდენობით დაგროვებას იწვევს. შედეგად ნორმალური პროსტატის ეპითელიურ უჯრედებს სუნთქვის დაბალი ინტენსივობა

ახასიათებთ, ისინი ენერგეტიკული თვალსაზრისით არაეფექტურები არიან და ნაკლებად წარმოქმნიან **ROS**. ნორმისაგან განსხვავებით, პროსტატის ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის ადრეულ სტადიაზე ადგილი აქვს თუთიის მატრანსპორტირებელი ცილების სინთეზის დათრგუნვას, რაც შედეგად განაპირობებს m-აკონიტაზას აქტივაციას და ციტრატის სრულ მეტაბოლიზმს. აღნიშნული მეტაბოლური გადართვა თუთიის რაოდენობის შემცირებას და ციტრატის ჟანგვის გაძლიერებას იწვევს [139].

ამგვარად, პროსტატის ავთვისებიანი უჯრედები ენერგეტიკულად ეფექტურები არიან, ახასიათებთ სუნთქვითი პროცესების ინტენსიფიკაცია, რაც შესაბამისად მეტი ROS-ის წარმოქმნას იწვევს [139].

უკანასკნელ წლებში სულ უფრო მეტი ყურადღება ექცევა მიტოქონდრიების როლის შესწავლას პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების განვითარებაში. პროსტატის კიბოს შემთხვევაში მიტოქონდრიული მეტაბოლიზმის ცვლილებებსა და მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციებს შორის შესაძლო კავშირის დასადგენად არაერთი კვლევა იქნა შესრულებული [10,11,141]. აღნიშნული კვლევების მიხედვით მიტოქონდრიები ROS-ის წარმოქმნის ძირითადი წყაროა. ამიტომ გასაკვირი არ უნდა იყოს, რომ შეცვლილი მიტოქონდრიული ენერგეტიკა და მუტაციები საფუძვლად უნდა ედოს პროსტატის კიბოს განვითარებას. [5,11].

Jessie-მა კოლეგებთან ერთად (2001) პირველებმა დაადგინეს, რომ პროსტატის ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის გვიან სტადიაზე ადგილი ჰქონდა მიტოქონდრიულ დნმ-ის უფრო მეტ დელეციებს, ვიდრე ტრანსფორმაციის ადრეულ სტადიაზე. ავტორებმა დაუშვეს ვარაუდი, რომ ჟანგვითი სტრესის გაძლიერებამ დროთა განმავლობაში შესაძლოა გამოიწვია კიდევ უფრო მეტი მუტაციების დაგროვება მიტოქონდრიულ დნმ-ში [141].

Chen-ისა და მისი თანამშრომლების მიერ ჩატარებული კვლევების შედეგად (2002-2003წწ) დადგენილ იქნა პროსტატის კიბოს შემთხვევაში მ-დნმ-ის არასტაბილურობა, და ჰომოპლაზმური წერტილოვანი მუტაციების მაღალი რიცხვი. ავტორების აზრით მიტოქონდრიული ჰიპერმუტაგენეზი განპირობებული უნდა ყოფილიყო უჯრედებში

მიმდინარე ჟანგვითი სტრესით, რაც თავის მხრივ იწვევდა მ-დნმ-ის მრავლობით მუტაციურ აფეთქებებს პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნეების დროს [5,142].

ცნობილია, რომ ასაკის მატებასთან ერთად ადგილი აქვს მიტოქონდრიული დნმ-ს მუტაციებს და მეტაბოლიზმის ცვლილებებს. თუმცა კავშირი მათ შორის ჯერ კიდევ დასადგენია. უცნობია განაპირობებს თუ არა მ-დნმ-ის მუტაცია თუთიის სატრანსპორტო ცილის ექსპრესიის დაქვეითებას. არსებულ მონაცემებზე დაყრდნობით ვარაუდობენ, რომ ასაკის მატებასთან ერთად მ-დნმ-ის მუტაციების მატება და მასთან დაკავშირებული ROS-ის ფორმირებისა და ბირთვული სასიგნალო პროცესების სტიმულაცია შესაძლებელია გავლენას ახდენდეს ბირთვში მიმდინარე გენეტიკურ და ეპიგენეტიკურ ცვლილებებზე. თავის მხრივ აღნიშნულმა დარღვევებმა შესაძლოა გამოიწვიოს მარეგულირებელი გზების ცვლილება, რაც საბოლოოდ თუთიის გადამტანი გენების (Zip1) დათრგუნვასა და მეტაბოლურ გადართვას გამოიწვევს [10,143]. თუმცა აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ პროსტატის კიბოს პათოგენეზში, მ-დნმ-ის მუტაციების შედეგად, ადგილი უნდა ჰქონდეს სუნთქვითი ჯაჭვის მუშაობის შეფერხებას და ROS-ის წარმოქმნის სტიმულაციას.

განსაკუთრებულ ინტერესს იმსახურებს თუთიისა და ციტრატის სხვადასხვა პროცენტული განაწილება ნორმალური და ავთვისებიანი პროსტატის ქსოვილის შემთხვევაში. ცნობილია, რომ ნორმალურ პროსტატაში თუთიისა და ციტრატის მაღალი შემცველობა დაკავშირებულია პროსტატის პერიფერული ზონის ლატერალურ წილთან და ტესტოსტერონით რეგულირდება, მაშინ როცა ავთვისებიანი პროსტატის შემთხვევაში, თუთიისა და ციტრატის დაბალი შემცველობა ცენტრალურ ზონას უკავშირდება [143]. იმ შემთხვევაში თუ არსებობს კავშირი მ-დნმ-ის მუტაციებსა და მეტაბოლურ გადართვას შორის, მაშინ პროსტატის სიმსივნის ცენტრალურ ზონაში აღმოჩენილი მ-დნმ-ის მუტაციები უნდა განსხვავდებოდეს პერიფერიულ ზონაში ნაპოვნი მუტაციების ტიპისაგან და სხვა ტიპის სიმსივნური ქსოვილის მ-დნმ-ის მუტაციების მსგავსი უნდა იყოს (მკერდის კიბო) [10]. გასათვალისწინებელია ისიც, რომ მ-დნმ-ს მუტაციები დაკავშირებულია დიდი რაოდენობით ROS-ის წარმოქმნასთან (რაც

ქანგვითი ფოსფორილირების რღვევით არის გამოწვეული), შესაბამისად უჯრედებმა სუნთქვით ქაჭვში ნაკლები პირუვატი და **NADH** უნდა დაქანგონ, რაც ჭარბი რაოდენობით ლაქტატის წარმოქმნას უნდა განაპირობებდეს.

ამრიგად, თუ მიტოქონდრიული ROS-ის წარმოქმნა მნიშვნელოვანია ისეთი სიმსივნისათვის, როგორცაა პროსტატის კიბო, მაშინ აერობული გლიკოლიზი აღნიშნული ტიპის სიმსივნისათვის ზოგადი მახასიათებელი ნიშანი უნდა იყოს, როგორც ამას ვარბურგი ამტკიცებდა [144].

თავი II

კვლევის ობიექტი და მეთოდები

2.1. კვლევის ობიექტი

კვლევებისათვის გამოიყენებოდა პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით (BHP), მაღალი ხარისხის პროსტატის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიის უბნებიანი (HGPIIN) კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიითა და პროსტატის ადენოკარცინომით (CaP) დაავადებული მამაკაცების პროსტატის სიმსივნური ქსოვილი. გამოკვლევები ავადმყოფებს (60-75წ) უტარდებოდათ სიმსივნის პირველადი გამოვლინებისას.

დაავადების კლინიკურ სტადიას ადგენდნენ ა. წულუკიძის უროლოგიის ეროვნულ ცენტრში წინამდებარე ჯირკვლის რექტალური, ჰისტოლოგიური და ექოგრაფიული გამოკვლევებით. სიმსივნის კლასიფიკაცია ხორციელდებოდა TNM სისტემით, საკვლევი ნიმუშების ჰისტომორფოლოგიური ანალიზი გლისონის შკალის მიხედვით ხორციელდებოდა უროლოგიის ნაციონალური ცენტრის პათო-მორფოლოგის მიერ.

2.2. ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ)

მეთოდი [145,146]

ეპრ-მეთოდი დამყარებულია გაუწყვილებელი ელექტრონების მაგნიტური მომენტების ურთიერთქმედებაზე მაგნიტურ ველთან. ცნობილია, რომ ატომებში ელექტრონები მოძრაობენ ბირთვის გარშემო გარკვეულ ორბიტაზე. ამ დროს ელექტრონი თავის გარშემო წარმოქმნის მაგნიტურ ველს, ე.ი. ორბიტაზე ელექტრონის მოძრაობა იწვევს ორბიტალური მაგნეტიზმის გამოვლინებას. ბირთვის გარშემო ორბიტალური მოძრაობის გარდა,

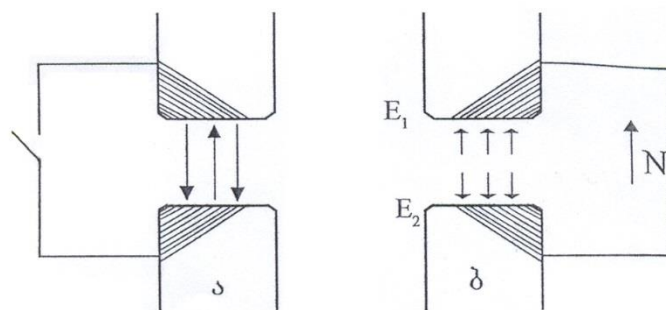
ელექტრონებს ახასიათებთ საკუთარი ღერძის გარშემო მექანიკური ბრუნვა, რომელსაც სპინი ეწოდება. ამ დროს წარმოქმნილ მაგნიტურ მომენტს კი სპინური მაგნიტური მომენტი ეწოდება.

გარეგანი მაგნიტური ველის არარსებობის შემთხვევაში გაუწყვილებელი ელექტრონების მაგნიტური მომენტები ქაოსურად არიან ორიენტირებულნი და გააჩნიათ ერთნაირი ენერგია. ამ დროს ადგილი აქვს ენერგეტიკული დონის ჩაქრობას (სურფ.ა).

იმ შემთხვევაში თუ ნიმუშს მოვათავსებთ მუდმივ მაგნიტურ ველში, წარმოიქმნება ენერგეტიკული დონეები, რაც ელექტრონების განსაზღვრულ ორიენტაციასთან არის დაკავშირებული (სურფ.ა).

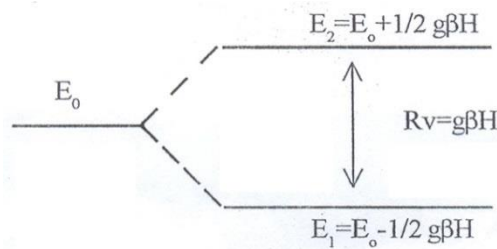
ამგვარად, გარეგანი მაგნიტური ველის მოქმედებისას ელექტრონული დონეები იხლიჩებიან ორ ქვედონედ ქვანტური რიცხვით $+\Delta m$; $-\Delta m$. ორ დონეს შორის ენერგეტიკული სხვაობა გამოისახება ფორმულით: $\Delta E = g\beta H$, სადაც:

- H -მაგნიტური ველის დამაბულობაა;
- $\beta = eh/4gmec$ - ბორის მაგნიტონია და ტოლია $9,274 \times 10^{-24}$ ჯ ტლ⁻¹;
- e^- -ელექტრონის მუხტია და ტოლია $1,6 \times 10^{-19}$ კლ;
- m_e - ელექტრონის მასაა და ტოლია $9,1 \times 10^{-31}$ კლ;
- h - კაპლანის მუდმივა
- c – სინათლის სიჩქარე
- g - სპექტროსკოპული გახლეჩვის ფაქტორი



სურ. 8. ელექტრონების მაგნიტური მომენტების ორიენტაციის სქემა გარეგანი მაგნიტური ველის მოქმედების გარეშე (ა) და ნიმუშის მუდმივმაგნიტურ ველში მოთავსებისას (ბ).

მე-9 სურათზე წარმოდგენილია სქემა, რომელიც ასახავს გაუწყვილებელი ელექტრონის ენერგეტიკული დონის გახლეჩვას (სისტემის სპინური ქვანტური რიცხვი $S=1/2$) გარეგანი მაგნიტური ველის მოქმედებით.



სურ. 9. გაუწყვილებელი ელექტრონის ენერგეტიკული დონის გახლეჩვის სქემა, გარეგანი ველის მოქმედებისას.

იმ ნაწილაკების ენერგია, რომელთა სპინები ორიენტირებულია ველის მიმართულებით, $1/2g\beta H$ -ით ნაკლებია იმ ნაწილაკების ენერგიაზე, რომლებიც გარე მაგნიტური ველის მოქმედებას არ განიცდიან ($E_1 = E_0 - 1/2g\beta H$), შესაბამისად ენერგიების სხვაობა ქვედა E_1 და ზედა E_0 დონეებს შორის ტოლია $g\beta H$ -ის. ენერგეტიკულ დონეებზე ელექტრონების გადანაწილება დამოკიდებულია ტემპერატურაზე და აღინიშნება ბოლცმანის განაწილებით, სადაც n_1 და n_2 ზემო და ქვემო დონეების დასახელებაა. ორ ენერგეტიკულ დონეს შორის შეიძლება განხორციელდეს ენერგეტიკული გადასვლები, რასაც თან სდევს სპინების ორიენტაციის ცვლილება საპირისპირო მიმართულებით. ქვანტური მექანიკის ძირითადი პრინციპების თანახმად, ასეთი გადასვლები შეიძლება განხორციელდეს ქვანტის ($h\nu$) შთანთქმით. იმ შემთხვევაში თუ მუდმივ მაგნიტურ ველში მყოფ სისტემაზე ვიმოქმედებთ ცვალებადი ზემადალი სიხშირის ელექტრომაგნიტური ველით, რომლის ქვანტური სიხშირეა ν და ენერგია $h\nu$, მაშინ რეზონანსის პირობებში $\Delta E = h\nu = g\beta H$ ხორციელდება მითითებულ დონეებს შორის გადასვლა. ქვედა E_1 დონიდან ზედა E_2 დონეზე გადასვლისას ადგილი აქვს ელექტრომაგნიტური ველის ენერგიის შთანთქმას, ხოლო E_2 -დან E_1 -ზე

ენერჯის გამოსხივებას. ქვედა დონიდან ზედა დონეზე და პირიქით გადასვლების თეორიული ალბათობა თანაბარია. იქიდან გამომდინარე, რომ ქვედა ენერგეტიკული დონე მეტადაა დასახლებული ოთახის ტემპერატურეს პირობებში, რეალურად ქვემოდან ზემოთ გადასვლების რაოდენობა მეტია ზემოდან ქვემოთ გადასვლების რიცხვზე.

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

g -სპექტროსკოპული გახლეჩვის ფაქტორი განსაზღვრავს, თუ რამდენად ახლოს დგას თავისი თვისებებით გაუწყვილებელი ელექტრონი თავისუფალ ელექტრონთან (რომლის მაგნეტიზმი გამოწვეულია მხოლოდ სპინით და ტოლია $g=2,0023$). პარამაგნიტური ცენტრების დიდი უმრავლესობისათვის g ფაქტორი განსხვავდება თავისი მნიშვნელობით $g=2,0023$ -ისაგან, ან მეტია მასზე ან ნაკლები.

შთანთქმის ზოლის სიგანე დამოკიდებულია პარამაგნიტური ცენტრების კონცენტრაციაზე. მისი საშუალებით ვიღებთ ინფორმაციას როგორც გაუწყვილებელი ელექტრონების ურთიერთქმედებაზე, ასევე მათი ურთიერთქმედების მექანიზმზე მესერთან. ეპრ-სპექტრის სიგანე იზომება ერსტედებში და განისაზღვრება სტანდარტული ნიმუშის ზუსტად ცნობილ მნიშვნელობასთან შედარების საშუალებით.

მაგნიტური ბირთვის შემცველი პარამაგნიტური ცენტრების ეპრ-სპექტრში შეიმჩნევა ზენატიფი სტრუქტურები. ისინი წარმოიქმნებიან გაუწყვილებელი ელექტრონების ურთიერთქმედების შედეგად ბირთვის მაგნიტურ მომენტთან, რაც თავის მხრივ, იწვევს თითოეული ენერგეტიკული დონის გახლეჩვას $2J+1$ დონედ, რის შედეგადაც რეზონანსული შთანთქმაც იხლიჩება $2J+1$ ერთი და იგივე ინტენსივობის ერთმანეთისაგან თანაბრად დაშორებულ ზოლად.

2.3. ეპრ-ნიმუშის მომზადება

საკვლევ ობიექტს ვყინავდით თხევად აზოტში და ვზომავდით ეპრ-სპექტრებს 90-100 K პირობებში, სპექტრომეტრზე: Bruker ER 200D-SRC Spectrometer System.

2.3.1. ქსოვილის მომზადება

1 გრ პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილს ვღებდით ეპრ-ის წვირში და ვყინავდით თხევად აზოტში.

2.3.2. მიტოქონდრიების გამოყოფის მეთოდი [147]

სიმსივნურ ქსოვილს ვათავსებდით კოლბაში, რომელსაც ვიმატებდით 30მლ. ყინულოვან გამოყოფის არეს (0,001M EDTA (pH7,4); 0,25M საქაროზა) და სიმსივნურ ქსოვილს ვრცხავდით. 2-3 ჯერადი გარეცხვის შემდგომ ვკეპავდით დანით ჯამში, რომელიც იდგა ყინულზე. მიღებულ მასას ისევ ვათავსებდით კოლბაში და ვასხავდით ახალ გამოყოფის არეს, ისევ ვრცხავდით, ვაყოვნებდით. დაქუცმაცებული ქსოვილის ნაწილების დალექვის შემდგომ ხსნარს გადმოვასხავდით ფრთხილად და რეცხვას ვიმეორებდით კიდევ 2-ჯერ. გარეცხვის შემდგომ ქსოვილი გადაგვექონდა ჰომოგენიზატორში და ვუმატებდით 30 მლ. გამომყოფ არეს და ვახდენდით ჰომოგენიზირებას 30-40 წამი. მიღებულ ჰომოგენატს კვლავ ვუმატებდით ახალ 30მლ. გამომყოფ არეს და მხოლოდ ამის შემდგომ ვაცენტრიფუგირებდით 500 ბრ/წთ-ზე 10წთ-ის განმავლობაში. სუპერნატანტს ფრთხილად ვაცილებდით, ვინახავდით ყინულში.

მიტოქონდრიების მისაღებად გაერთიანებულ სუპერნატანტს ვაცენტრიფუგირებდით 14000 ბრ/წთ-ზე 10წთ. მიღებულ ნალექს ვასუსპენდირებდით 0,2-

0.3 მლ საქაროზას ხსნარში, რომელიც არ შეიცავდა EDTA-ს. მიტოქონდრიალური სუსპენზია გადაგვქონდა სინჯარაში და ვინახავდით ყინულში.

2.4. ფერმენტ გლუტათიონპეროქსიდაზას (GSH-Px) აქტივობის განსაზღვრა [150]

საინკუბაციო არედ ვიყენებდით შემდეგ ნარევს: 1 მლ ფოსფატური ბუფერი (0.3M pH 7.4), რომელსაც დამატებული ჰქონდა 12mM Na₃N და 6mM EDTA, 0.5 მლ 2.5mM GSH, 0.2 მლ მიტოქონდრიალურ სუსპენზიას, 0.5 მლ 1.8 წყალბადის ზეჟანგი. წყალბადის ზეჟანგის დამატებიდან 2 წთ-ის შემდეგ ვუმატებდით 1 მლ 10%-იან ტრიქლორმმარმჟავას და ვაცენტრიფუგირებდით 3000 ბრ/წთ-ზე 15 წთ-ის განმავლობაში.

დაჟანგული გლუტათიონის ექსტინქციას ვსაზღვრავდით 260 ნმ-ზე. ფერმენტის აქტივობას გამოვსახავდით მიკრომოლებში 1 მგ ცილაზე წთ-ში.

2.5. ფერმენტ გლუტათიონრედუქტაზას (GR) აქტივობის განსაზღვრა [150]

სარეაქციო არედ ვიყენებდით შემდეგ ნარევს: 2 მლ ფოსფატური ბუფერი (0.05M pH 8.0), 0.2 მლ 1mM EDTA, 0.5 მლ 7.5mM GSSG, 0.2 მლ მიტოქონდრიალურ სუსპენზია, 0.1 მლ 1.2mM NADPH. ნარევს 10 წთ-ის განმავლობაში ვაინკუბირებდით 37°C-ზე.

ფერმენტის აქტივობას ვსაზღვრავდით 340 ნმ-ზე. [აქტივობას გამოვსახავდით მიკრომოლებში 1 მგ ცილაზე წთ-ში].

2.6. აღდგენილი გლუტათიონის (GSH) კონცენტრაციის განსაზღვრა

[150]

0.2 მლ მიტოქონდრიალურ სუსპენზიას და 1.8 მლ დისტილატის ნარევეს ვამატებდით 0.2 მლ 0.6N ქლორის მჟავას. ნარევეს ვაცენტრიფუგირებდით 3000 ბრ/წთ 10 წთ-ის განმავლობაში. სუპერნატანტის 1 მლ-ს ვუმატებდით 3.0 მლ 0.4M Tris·HCl ბუფერს (pH 9.2) და 0.05 მლ დითიონიტრობენზოის მჟავას (DTNB) (3.7 მგ – 1 მლ ეთანოლში).

შედეგის ინტენსივობას ვზომავდით სპექტროფოტომეტრზე 412 ნმ-ზე. GSH შემცველობა გამოისახებოდა მკმ/ლ-ში

2.7. კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა [148]

რეაქტივები: 4% ამონიუმის მოლიბდატის ხსნარი, 0.03% წყალბადის ზეჟანგი, 0.05M Tris-HCl

ცდის მსვლელობა: საკვლევ ხსნარად გამოიყენება როგორც სისხლის შრატის, ისე ქსოვილის ჰომოგენატი. ჩვენს შემთხვევაში ვიყენებდით 0.1 მლ ჰომოგენატს (ქსოვილის ჰომოგენიზაციის შემდეგ ვახდენდით ცენტრიფუგირებას 3000 ბრ, 10 წთ). ჰომოგენატის დასამზადებლად 1 გ საკვლევ მასალას ვამატებდით 10 მლ Tris-HCL-ს. ვამზადებდით სამ სინჯარას:

1. საცდელი ხსნარი შეიცავდა 0.1 მლ ჰომოგენატის სუპერნატანტს, 2 მლ წყალბადის ზეჟანგს და 1 მლ მოლიბდატს.
2. ცარიელი სინჯი შეიცავდა 0.1 მლ დისტილატს, 2 მლ წყალბადის სეჟანგს და 1 მლ მოლიბდატს
3. კონტროლი შეიცავდა 0.1 მლ ჰომოგენატის სუპერნატანტს, 2 მლ დისტილატს და 1 მლ მოლიბდატს.

წყალბადის ზეჟანგის დამატების შემდეგ ხსნარს ვაყოვნებდით 10 წთ, რის შემდეგაც რეაქციას ვაჩერებდით ამონიუმის მოლიბდატის დამატებით. ფერადი ხსნარის (საცდელი და ცარიელი სინჯი) შთანთქმას ვზომავდით 410 ნმ-ზე კონტროლის მიმართ სპექტრო ფოტომეტრზე.

კატალაზას აქტივობას ვზომავდით ფორმულით

$$E=(A_{\text{ცარ}}-A_{\text{საჯ}})\cdot V\cdot t\cdot K \text{ (მკატ/ლ)}$$

E – კატალაზას აქტივობა, $A_{\text{ცარ}}$ და $A_{\text{საჯ}}$ – ცარიელი და საკვლევი სინჯების შთანთქმის კოეფიციენტი, V - ხსნარის მოცულობა (0.1 მლ); t - ინკუბაციის დრო (600 წმ), K – წყალბადის სეჟანგის მილიმოლარული ექსტინქციის კოეფიციენტი ($22.2 \times 10^3 \text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

2.8. სუპეროქსიდისმუტაზას აქტივობის განსაზღვრა [149]

რეაქტივები: 1.2 mM ციტოქრომ C, 10^{-5} რიბოფლავინი ფოსფატურ ბუფერში (pH 7.4), 0.1M კალიფოსფატური ბუფერი.

ცდის მსვლელობა: საკვლევ მასალად გამოიყენებოდა ქსოვილის ჰომოგენატი. ჰომოგენატის დასამზადებლად 1 გ საკვლევ მასალას ვამატებდით 10 მლ 5mM კალიფოსფატური ბუფერს, ვაცენტრიფუგირებდით 3000 ბრ/წთ 10წთ, ვიღებდით სუპერნატანტს. საკონტროლო და საცდელ კიუვეტებში ვათავსებდით 15 წთ 50W ნათურის ქვეშ წინასწარ დასხივებულ 2 მლ რიბოფლავინის ხსნარსა და 0.5 მლ ციტოქრომ C-ს. საცდელ კიუვეტაში ვამატებდით 0.5 მლ საკვლევ ხსნარს. საკონტროლო კიუვეტაში ვამატებდით 0.5 მლ დისტილატს.

ოპტიკურ სიმკვრივეს (ΔE) ვზომავთ 550 ნმ-ზე, ხოლო საწყისი ციტოქრომის კონცენტრაციას ფორმულით $\Delta E \cdot \epsilon$, სადას $\epsilon=2 \cdot 10^4 \text{ M/სმ}$.

თავი III

ექსპერიმენტული ნაწილი

3.1 რკინა-გოგირდოვანი ცილებისა და თავისუფალრადიკალური პროცესების შესწავლა პროსტატის სიმსივნური ქსოვილსა და მიტოქონდრიებში ელექტრონ-პარამაგნიტური რეზონანსის მეთოდით

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

უჯრედული და მოლეკულური ბიოლოგიის კათედრაზე წინა წლებში შესწავლილ იქნა პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სისხლის პარამაგნიტური ცენტრები პლასტიკურ ორქექტომიამდე და ორქექტომიის შემდეგ ეპრ მეთოდით. კვლევებმა გვიჩვენა, რომ პროსტატის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სისხლში გაზრდილია რკინა-გოგირდოვანი ცენტრებისათვის დამახასიათებელი სიგნალი ($g=2.01$). აქედან გამომდინარე მნიშვნელოვანი იყო დავეკვირვებოდით რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების ცვლილებებს პროსტატის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების ქსოვილსა და ქსოვილიდან გამოყოფილ მიტოქონდრიებში, რათა შეძლებისდაგვარად გვემსჯელა სუნთქვითი ჯაჭვის კომპლექსების ფუნქციონირებაზე.

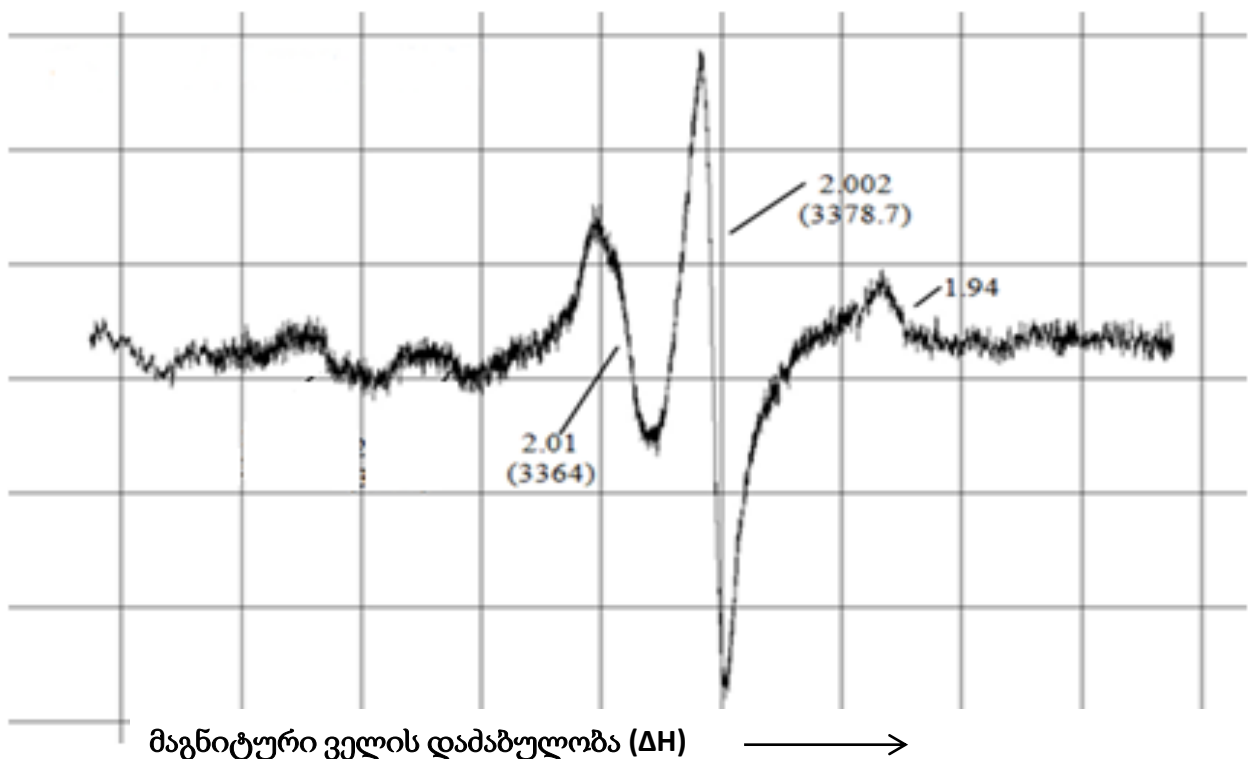
კვლევის ამ ეტაპზე ჩვენს მიზანს წარმოადგენდა ერთის მხრივ რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების შესწავლა, რათა შეძლებისდაგვარად გვემსჯელა სუნთქვითი ჯაჭვის I და II კომპლექსების ფუნქციონირებაზე და მეორეს მხრივ, თავისუფალ-რადიკალური (ჟანგბადის აქტიური ფორმები – O^{2-} , OH^- , H_2O_2 ; ფლავოპროტეინების სემიქინონური რადიკალები; $g=2.003$) პროცესების შესწავლა პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიითა და პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილსა და სიმსივნური ქსოვილიდან მიღებულ მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში ეპრ მეთოდის გამოყენებით.

პროსტატის კეთილთვისებიანი ქსოვილის ეპრ სპექტრზე დაფიქსირებულ იქნა რამოდენიმე ეპრ სიგნალი. მათ შორის ყველაზე გამოხატული პიკები აღინიშნა $g=1.94$, $g=2.00$, $g=2.01$ მნიშვნელობებზე (სურ.10). ცნობილია, რომ ეპრ სიგნალი - $g=1.94$ დამახასიათებელია როგორც აღდგენილი $2Fe-2S$, ასევე დაჟანგული $4Fe-4S$ რკინა-გოგირდოვანი კლასტერებისათვის. კვლევის ამ ეტაპზე შეუძლებელია დადგენილ იქნას აღნიშნული ორი კლასტერიდან თითოეულს რა წილი შეაქვს მოცემული სიგნალის ფორმირებაში.

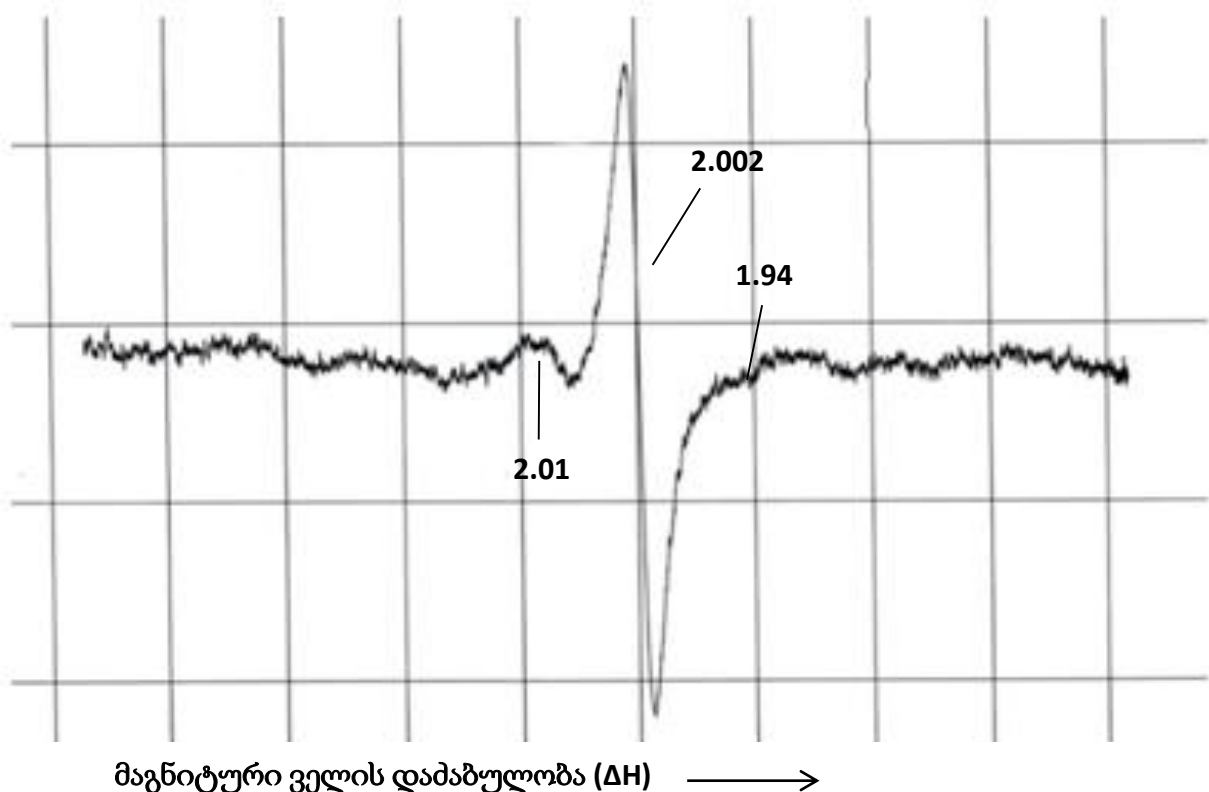
რაც შეეხება სიგნალს $g=2.01$ ცნობილია, რომ იგი შეესაბამება მესამე ტიპის ანუ $3Fe-4S$ რკინა-გოგირდოვან კლასტერს. პროსტატის კეთილთვისებიანი ქსოვილის ეპრ სპექტრზე $3Fe-4S$ სიგნალი ($g=2.01$) უფრო მაღალი ინტენსივობით ფიქსირდება, ვიდრე $g=1.94$ სიგნალი, რაც ამტკიცებს ჩვენს ვარაუდს თავისუფალ-რადიკალურ რეაქციებში რკინის იონების შესაძლო ჩართვის შესახებ. ცნობილია, რომ ჟანგბადის აქტიურ ფორმებს შეუძლიათ $Fe-S$ ცენტრების დაზიანება ან მათი მოდიფიცირება რა დროსაც ხშირად ადგილი აქვს $4Fe-4S$ კლასტერის გარდაქმნას $3Fe-4S$ კლასტერად. აღნიშნული უნდა იწვევდეს ერთი მხრივ $3Fe-4S$ სიგნალის და მეორეს მხრივ პათოლოგიის პროგრესირების ეტაპზე თავისუფალ-რადიკალური პროცესების (რკინის იონების ჩართვა ფენტონის რეაქციაში) ინტენსივობის გაზრდას.

სიგნალი $g=2.00$ ცნობილია, რომ წარმოადგენს თავისუფალი რადიკალებით (ჟანგბადის აქტიური ფორმები, ფლავოპროტეინებისა და უბიქინონის სემიქინონური რადიკალები) განპირობებულ სიგნალს [151].

ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის ეპრ სპექტრზე დაფიქსირდა როგორც თავისუფალი რადიკალების ($g=2.00$) ასევე რკინა-გოგირდოვანი კლასტერების ეპრ სიგნალები ($g=1.94$, $g=2.01$) (სურ. 11), თუმცა განსხვავებული ინტენსივობებით. რკინა-გოგირდოვანი ცენტრებისათვის დამახასიათებელი ეპრ-სიგნალის ($g=1.94$, $g=2.01$) შემცირება და თავისუფალი რადიკალებით გამოწვეული ეპრ-სიგნალის ($g=2.00$) მომატება შესაძლებელია გამოწვეული იყოს, ერთის მხრივ, $4Fe-4S$ -ის გარდაქმნით $3Fe-4S$ -ად, რაც თავის მხრივ განპირობებული უნდა იყოს ჟანგბადის აქტიური ფორმების გაძლიერებული წარმოქმნით და მათი ზემოქმედებით $Fe-S$ კლასტერებზე. მეორეს მხრივ კი, ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ თავისუფალარადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაცია განაპირობებს $Fe-S$ კლასტერებიდან რკინის იონების მოცილებას და მათ ჩართვას ფენტონის რეაქციაში, რაც თავის მხრივ ხელს უწყობს და აძლიერებს თავისუფალარადიკალურ პროცესებს.



სურ. 10 პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის ეპრ სპექტრი. სპექტრი ჩაწერილია $<100 K$ ტემპერატურის პირობებში



სურ. 11: პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის ეპრ სპექტრი. სპექტრი ჩაწერილია <math>< 100 K</math> ტემპერატურის პირობებში

კერძოდ, ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის ეპრ-სპექტრზე, კეთილ-თვისებიანთან შედარებით, მკვეთრადაა შემცირებული რკინა-გოგირდოვანი ცენტრებისათვის დამახასიათებელი სიგნალები, რაც როგორც ზემოთ იქნა აღნიშნული, განპირობებული უნდა იყოს რკინის იონების ჩართვით თავისუფალრადიკალურ რეაქციებში, რაც სავარაუდოდ გარდა იმისა რომ გამოიწვევს ჯანგბადის რეაქტიული ფორმების ინტენსიურ წარმოქმნას (ფენტონის რეაქცია), ასევე შეაფერხებს სუნთქვით ჯაჭვში ელექტრონების გადაცემის ნორმალურ პროცესს.

ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის ეპრ სპექტრზე, კეთილთვისებიან ქსოვილთან შედარებით, დაფიქსირდა თავისუფალი რადიკალებით განპირობებული სიგნალის ($g=2.00$) უფრო მაღალი ინტენსივობა. ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ აღნიშნული სიგნალი

გამოწვეულია სემიქინონის მსგავსი ნაერთებით (ან წარმოებულები) (ჰიდროქინონი, იონ-ჰიდროქინონი, რადიკალი, ქინონი).

ცნობილია ასევე ისიც, რომ თავისუფალი რადიკალების ძირითად წყაროს მიტოქონდრიაში წარმოადგენენ ფლავინშემცველი ფერმენტები ანუ ფლავოპროტეიდები და ასევე ელექტრონების ერთ-ერთი გადამტანი - კოფერმენტი Q (უბიქინონი). უბიქინონი სხვა გადამტანებთან შედარებით დიდი რაოდენობითაა მიტოქონდრიაში წარმოდგენილი. ფლავოპროტეიდები კი, გარდა იმისა რომ შედის მიტოქონდრიის ელექტრონ-გადამტანი ჯაჭვის სუნთქვითი კომპლექსების შემადგენლობაში, ასევე კოფაქტორის სახით წარმოდგენილია არაერთ ჟანგვით ფერმენტში მიტოქონდრიის გარეთ. მრავალი კვლევის შედეგად დადგენილია, რომ ბიოლოგიურ სისტემებში, კერძოდ კი, მიტოქონდრიაში თავისუფალი რადიკალების ერთ-ერთ წყაროს სწორედ ფლავინებისა და ფლავოპროტეიდების სემიქინონური მდგომარეობები (ფორმები) წარმოადგენს, რომელთა ეპრ სიგნალი ხასიათდება შემდეგი პარამეტრებით: $g=2.00 \Delta H=14-20$ მკვ.

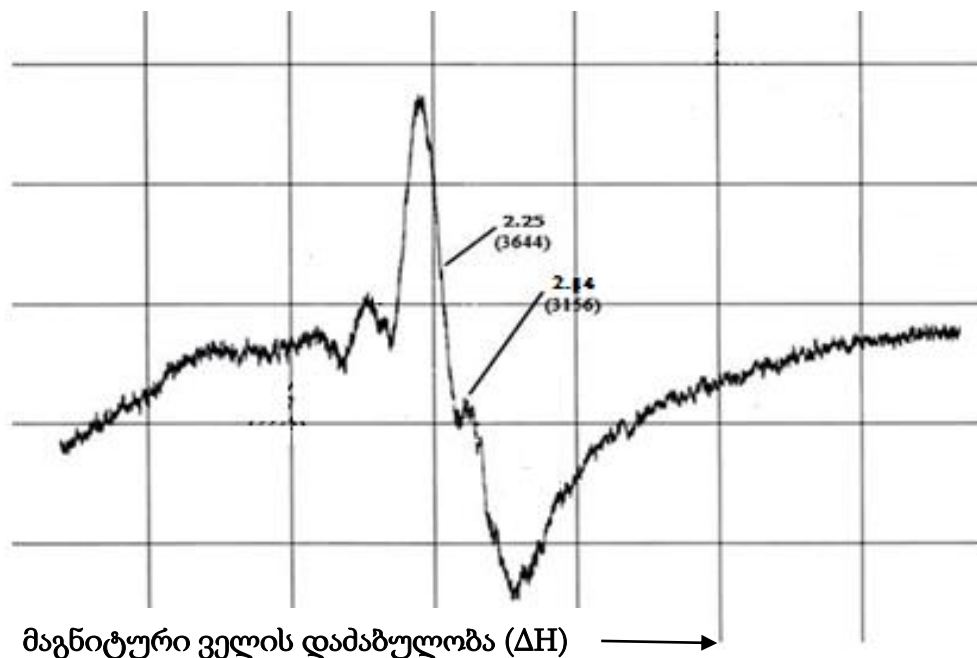
გარდა ამისა, ცნობილია რომ, ელექტრონების დონორის (NADPH) არსებობის პირობებში, ჟანგბადისა და ციტოქრომ P450-ს ურთიერთქმედება შედეგად იწვევს თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნას ციტოქრომის ცილოვანი ნაწილის ამინომჟავური ნაშთების მოდიფიკაციის გზით. აღნიშნული რეაქციისათვის კი საჭიროა პირველ ეტაპზე ჟანგბადისაგან წარმოიქმნას რეაქტიული ფორმები -სუპეროქსიდი (O_2^-) ან ჰიდროქსილის რადიკალი (OH^-), რომლებიც როგორც ცნობილია იძლევიან მათთვის დამახასიათებელ სიგნალს $g=2.007$ მნიშვნელობაზე. შესაბამისად, არ არის გამორიცხული რომ g ფაქტორის - 2.00 მნიშვნელობაზე დაფიქსირებულ სიგნალში ზემოთაღნიშნულ რადიკალებსაც (O_2^- , OH^-) შეჰქონდეთ თავიანთი წვლილი.

ამგვარად, პროსტატის სიმსივნური ქსოვილის ეპრ მეთოდით კვლევისას კეთილთვისებიან ქსოვილში დაფიქსირებულ იქნა 2Fe-2S, 3Fe-4S და 4Fe-4S კლასტერებისათვის დამახასიათებელი კარგად გამოხატული სიგნალები ($g=1.94$ და $g=2.01$ მნიშვნელობებზე) მაშინ როდესაც ავთვისებიან ქსოვილის სპექტრში ადგილი ქონდა აღნიშნული სიგნალების ინტენსივობის მკვეთრ შემცირებას. რაც შეეხება თავისუფალი

რადიკალებით განპირობებულ სიგნალს ($g=2.00$) დაავადების პროგრესირების პარალელურად დაფიქსირდა აღნიშნული სიგნალის შესამჩნევი მატება.

იქიდან გამომდინარე, რომ სუნთქვითი ჯაჭვის კომპლექსები განლაგებულია მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე, კვლევის შემდეგ ეტაპზე ეპრ მეთოდის გამოყენებით შესწავლილ იქნა პროსტატის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული სუსპენზიის ეპრ სპექტრები.

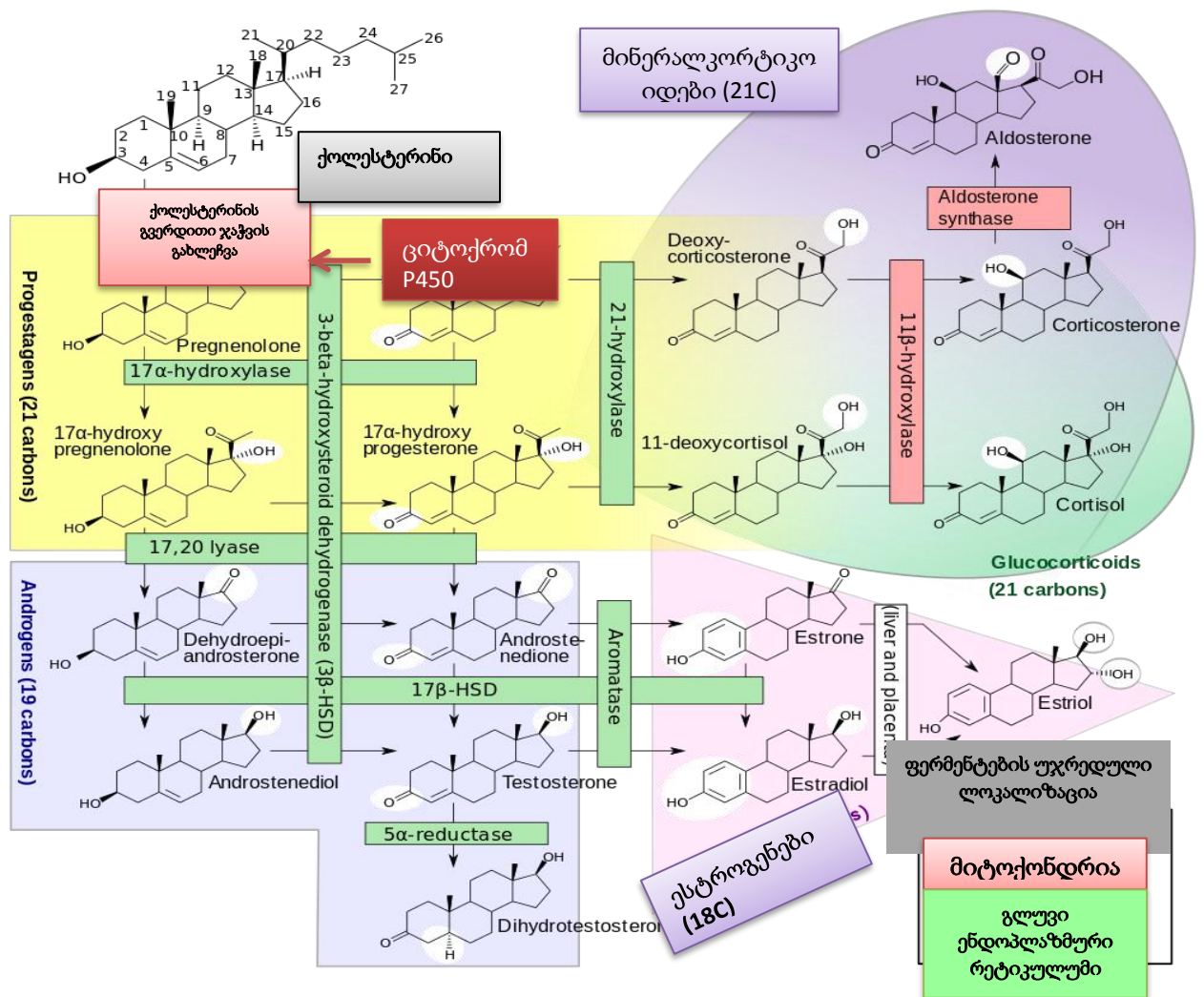
პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილიდან მიღებული მიტოქონდრიების ეპრ სპექტრზე დაფიქსირებულ იქნა ციტოქრომ P450-ისათვის დამახასიათებელი მაღალი ინტენსივობის პიკი ($g=2.25$) და ასევე Mn^{2+} შემცველი კომპლექსების სიგნალი ($g=2.14$) (სურ. 12) .



სურ. 12 პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული სუსპენზიის ეპრ სპექტრი. სპექტრი ჩაწერილია <100 K ტემპერატურის პირობებში

ცნობილია, რომ მიტოქონდრიული ციტოქრომ P450 წარმოადგენს დიდ ფერმენტულ კომპლექსს რომელიც ლოკალიზებულია მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე. იგი შედგება სამი სუბერთეულისაგან: FAD შემცველი ფლავოპროტეიდის (NADPH ან NADH-

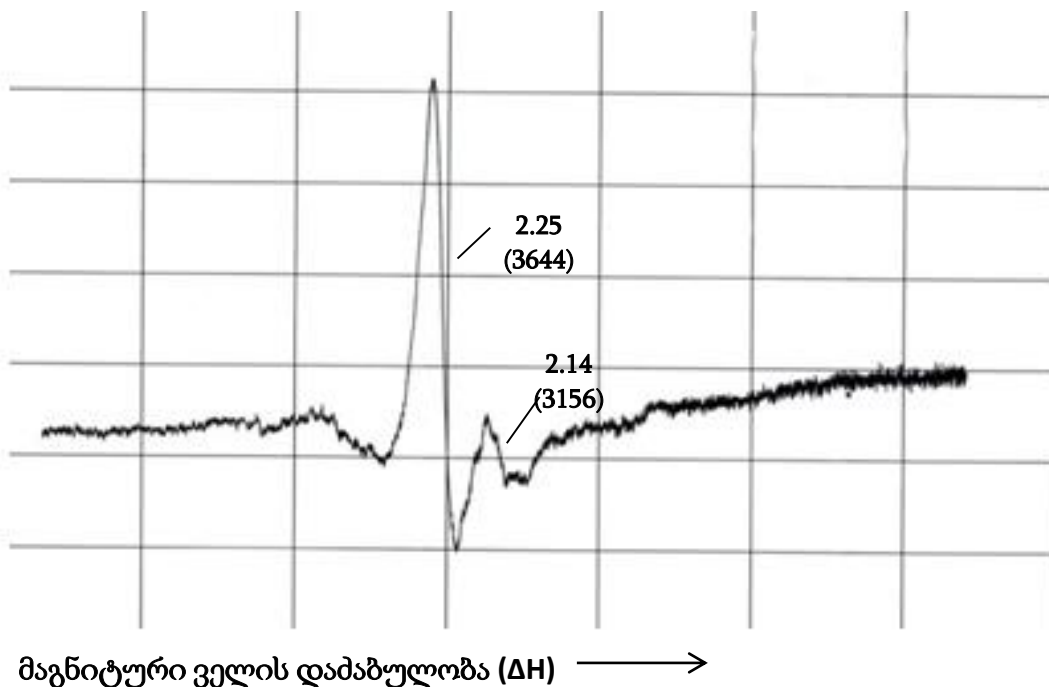
დამოკიდებული რედუქტაზა), რკინა გოგირდოვანი ცილისა და ჰემის შემცველი P-450 დომენისაგან [152]. მიტოქონდრიული ციტოქრომ P450 აკატალიზებს რა ჰიდროქსილირებისა და ოქსიგენაციის რეაქციებს, უზრუნველყოფს სტეროიდული ჰორმონების სინთეზის ერთ-ერთ ყველაზე მნიშვნელოვანი საფეხურის წარმართვას. ცნობილია რომ ყველა სტეროიდული ჰორმონის სინთეზის პირველ რეაქციას წარმოადგენს ქოლესტეროლიდან პრეგნენოლის წარმოქმნა, რასაც სწორედ მიტოქონდრიული ციტოქრომ P-450 ახორციელებს (სურ 13).



სურ. 13: სტეროიდოგენეზის პროცესის მიმდინარეობის სქემატური გამოსახულება

ფუნქციის შესასრულებლად საჭირო ელექტრონებს ციტოქრომ P-450 ადრენოლოქსინისაგან ანუ მიტოქონდრიული ფერედოქსინისაგან იღებს, რომელიც თავის მხრივ ელექტრონებს NADPH-ს ართმევს [153].

პროსტატის ავთვისებიანი ქსოვილიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიების ეპრ სპექტრზე ფიქსირდება ციტოქრომ P450 მკვეთრად მომატებული სიგნალი (2-ჯერ ძლიერი ინტენსივობის) კეთილთვისებიან ქსოვილის მიტოქონდრიების სპექტრთან შედარებით (სურ. 14).



სურ. 14: პროსტატის ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული სუსპენზიის ეპრ სპექტრი. სპექტრი ჩაწერილია <100 K ტემპერატურის პირობებში

ცნობილია რომ ციტოქრომ P450 ეპრ სიგნალს იძლევა დაჟანგულ მდგომარეობაში. აღნიშნულ ეპრ სპექტრზე ფერმენტის ძლიერ მაღალი ინტენსივობის სიგნალი არაპირდაპირ უნდა მიუთითებდეს სტეროიდოგენეზის პროცესის მკვეთრ შემცირებაზე პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში (ან სუნთქვით ჯაჭვში ელექტრონების სუსტ ნაკადზე).

რაც შეეხება ეპრ სიგნალს $g=2.14$, მიტოქონდრიული სუსპენზიის შემთხვევაში იგი განპირობებული უნდა იყოს მიტოქონდრიული Mn^{2+} -შემცველი სუპეროქსიდ დისმუტაზას მიერ.

პროსტატის კეთილთვისებიანი ქსოვილის მიტოქონდრიების ეპრ სპექტრზე აღნიშნული სიგნალი ფიქსირდება თუმცა გაცილებით ნაკლები ინტენსივობით ვიდრე პროსტატის ავთვისებიანი ქსოვილის მიტოქონდრიების შემთხვევაში. ავთვისებიანი სიმსივნის შემთხვევაში სუპეროქსიდდისმუტაზას სიგნალი კარგად გამოკვეთილია და მაღალ ინტენსივობით ხასიათდება.

ცნობილია, რომ მიტ. სუპეროქსიდ დისმუტაზა წარმოადგენს ერთ-ერთი ძლიერ ანტიოქსიდანტ ფერმენტს მიტოქონდრიის დაცვით სისტემაში, აკატალიზებს რა სუპეროქსიდანიონის (O_2^-) დისმუტაციას ნაკლებ რეაქტიული წყალბადის პეროქსიდის წარმოქმნის გზით.

პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის მიტოქონდრიულ ეპრ სპექტრში სუპეროქსიდდისმუტაზას სიგნალის ინტენსივობის ზრდა კეთილთვისებიანთან შედარებით მიუთითებს თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციის ფონზე სოდ-ის, როგორც ანტიოქსიდანტური სისტემის, ფუნქციონირების შესუსტებაზე.

ამგვარად, პროსტატის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილებიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული სუსპენზიის ეპრ სპექტრებზე დაფიქსირებულ იქნა ციტოქრომ P450-სათვის დამახასიათებელი ძლიერი სიგნალი, რაც განსაკუთრებით დიდი ინტენსივობით (~ 2 -ჯერ მეტი) გამოირჩეოდა ავთვისებიანი სიმსივნიდან მიღებული მიტოქონდრიების შემთხვევაში. აღნიშნული არაპირდაპირ უნდა მიუთითებდეს სტეროიდოგენეზის პროცესის მკვეთრ შემცირებაზე პროსტატის ეპითელური უჯრედებში. რაც შეეხება სუპეროქსიდდისმუტაზას შესაბამის სიგნალს, მისი ინტენსივობის შემცირება ავთვისებიანი სიმსივნის შემთხვევაში ცალსახად მიუთითებს თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციის ფონზე სოდ-ის შესუსტებულ სინთეზზე.

მიტოქონდრიული სუსპენზიის ეპრ სპექტრში არ დაფიქსირდა Fe-S ცილებისათვის დამახასიათებელი სიგნალები ($g=1.94$ და $g=2.01$).

3.2. ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის ცვლილების შესწავლა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში

ცნობილია, რომ ოქსიდაციური სტრესით გამოწვეული თვისუფალრადიკალური პროცესები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ უჯრედის ცხოველქმედებაში. აღნიშნული ფაქტი დაკავშირებულია ორ ძირითად მდგომარეობასთან: ერთი მხრივ, თავისუფალ-რადიკალური რეაქციები წარმოადგენენ ერთ-ერთ ძირითად და აუცილებელ ეტაპს სხვადასხვა მეტაბოლური პროცესებისათვის, მეორეს მხრივ კი თავისუფალ-რადიკალური პროცესების აქტივაცია წარმოადგენს უჯრედსა და ქსოვილში განვითარებული ამა თუ იმ პათოლოგიური ცვლილებების შედეგს, ან მიზეზს [154]. ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების (ROS) დამაზიანებელი ეფექტი გამოწვეულია აღნიშნული ფორმების წარმოქმნასა და ინაქტივაციას შორის ბალანსის რღვევით [155]. ორგანიზმში განვითარებული თავისუფალ-რადიკალური პროცესების ინაქტივაცია და მისი პროდუქტების მოცილება მნიშვნელოვნადაა დამოკიდებული რეაქციებზე, რომელშიც მონაწილეობს ანტიოქსიდანტური სისტემა [155]. აღნიშნული სისტემის მნიშვნელოვან კომპონენტებს წარმოადგენენ: გლუტათიონ დამოკიდებული სისტემის ფერმენტები - გლუტათიონ პეროქსიდაზა (**GSH-Px**), გლუტათიონ რედუქტაზა (**GR**), და აღდგენილი გლუტათიონის (**GSH**) რაოდენობა; სუპეროქსიდდისმუტაზა და კატალაზა.

ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე ჩვენი სამუშაოს მიზანს წარმოადგენდა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციის ფონზე ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (გლუტათიონ დამოკიდებული სისტემის ფერმენტების, სუპეროქსიდდისმუტაზასა და კატალაზას) აქტივობის ცვლილების შესწავლა ქსოვილის

ანტიოქსიდანტური სტატუსის შეფასების მიზნით. გარდა ამისა, ცნობილია, რომ აღნიშნული ფერემენტების აქტივობის ცვლილება დამოკიდებულია ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ინტენსივობის ცვლილებაზე [149]. ჩვენი სამუშაოს ერთ-ერთ მიზანს ასევე წარმოადგენდა აღნიშნული პათოლოგიების დროს ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ინტენსივობის შესწავლა პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილში.

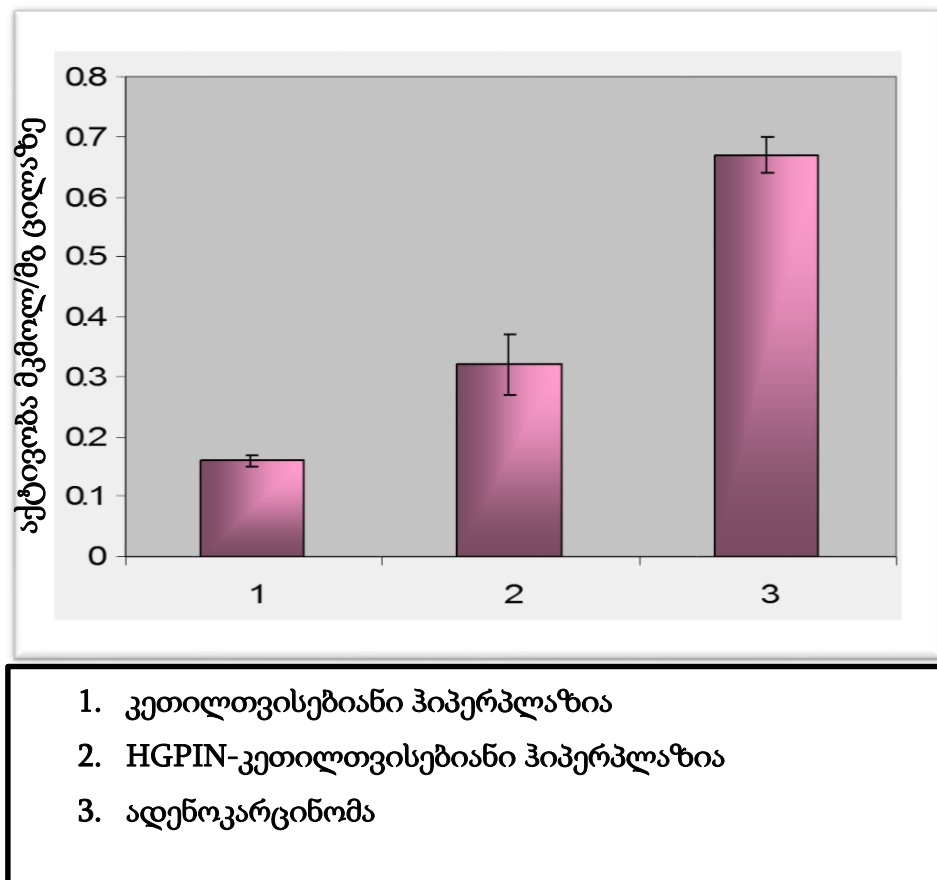
კვლევის პირველ ეტაპზე შესწავლილი იქნა პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილის ეპითელიური უჯრედების გლუტათიონ-რედოქს სისტემის შემდეგი კომპონენტები: გლუტათიონ პეროქსიდაზა (GSH-Px), გლუტათიონ რედუქტაზა (GR) და აღდგენილი გლუტათიონის რაოდენობა (GSH) (ცხრ.2).

ცხრილი 2

გლუტათიონ-დამოკიდებული რედოქს სისტემის ცვლილება პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში

ობიექტი	გლუტათიონ პეროქსიდაზას (GSH-Px) აქტივობა (μM/მლ, 1 მგ ცილაზე)	გლუტათიონ რედუქტაზას (GR) აქტივობა (μM/ მლ, 1 მგ ცილაზე)	აღდგენილი გლუტათიონის (GSH) რაოდენობა (μM/I)
პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია	0,16±0,01	0,008±0,002	0,184±0,02
პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია	0,32±0,05	0,019±0,001	0,336±0,05
პროსტატის ადენოკარცინომა	0,67±0,03	0,031±0,002	0,736±0,07

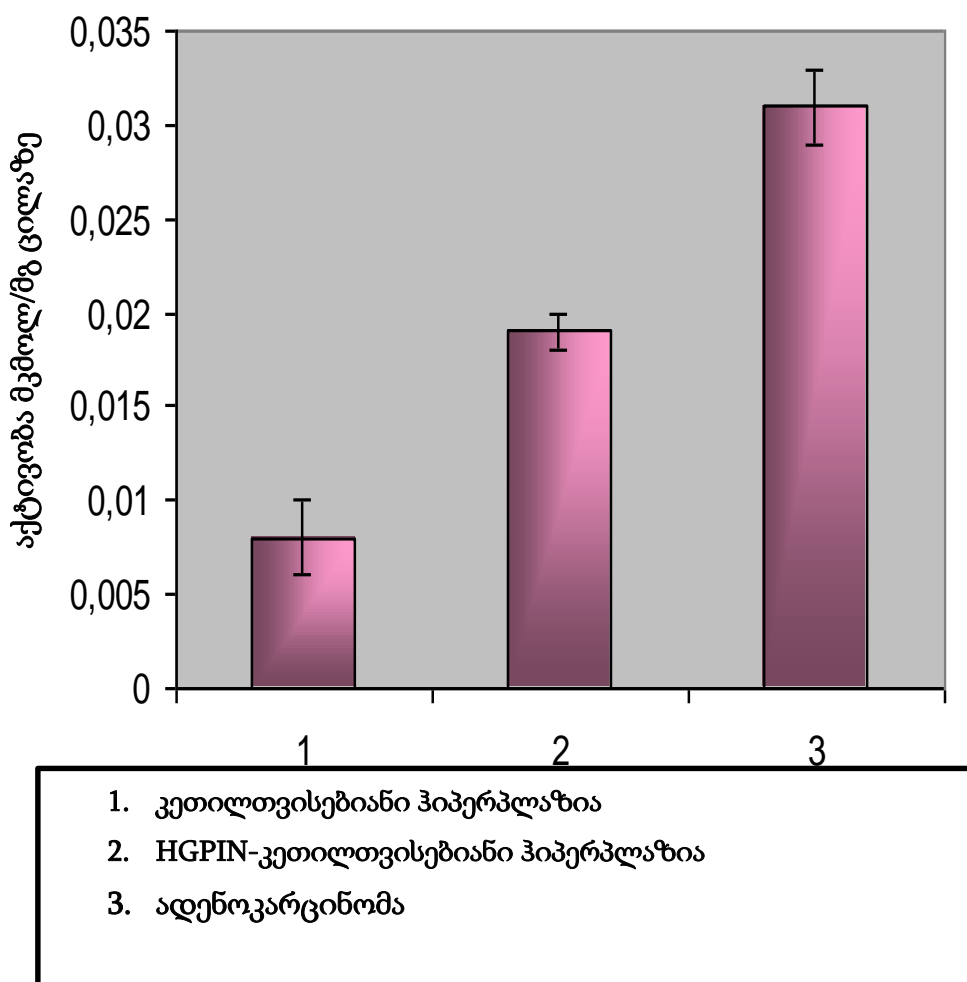
გამოკვლევებმა უჩვენა, რომ HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნით დაავადებული პაციენტების სიმსივნური ქსოვილის ეპითელური უჯრედებში კეთილთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილთან (BHP) შედარებით ადგილი ჰქონდა GSH-Px-ას აქტივობის მკვეთრ მატებას. რაც შეეხება ადენოკარცინომით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილს (CaP), ამ უკანასკნელში GSH-Px-ას აქტივობა ასევე მკვეთრად გაზრდილი: იგი ~3-ჯერ აღემატება BHP ქსოვილის მონაცემს და ~2-ჯერ მეტია ვიდრე HGPIN უბნებიან სიმსივნურ ქსოვილში მიღებული მონაცემი (ცხრ.2, სურ 15).



სურ 15: გლუტათიონ პეროქსიდაზას აქტივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში

კვლევის შემდგომ ეტაპზე შესწავლილ იქნა პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილის ეპითელური უჯრედების ანტიოქსიდანტური სისტემის კიდევ ერთი ფერმენტის - გლუტათიონ რედუქტაზას (GR) აქტივობის ცვლილება. გამოკვლევებმა უჩვენა, რომ

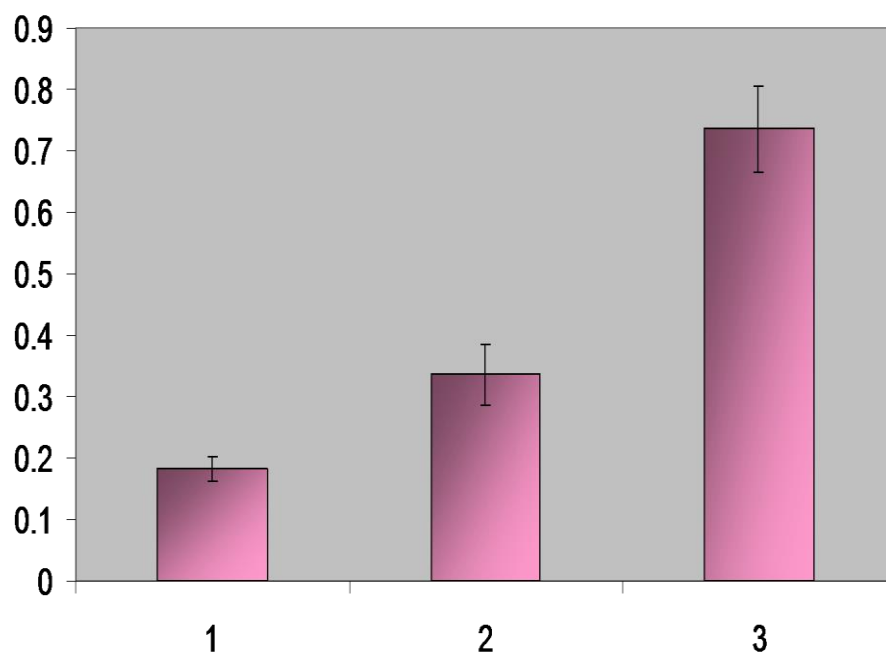
ადგილი ჰქონდა აღნიშნული ფერმენტის აქტივობის მატებას HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნით (~2-ჯერ) და პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნით (~4-ჯერ) დაავადებული პაციენტების სიმსივნური ქსოვილში კეთილთვისებიან ჰიპერპლაზიასთან შედარებით (ცხრ.2, სურ.16).



სურ 16: გლუტათიონ რედუქტაზას აქტივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში

პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიით, HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნითა და ადენოკარცინომით დაავადებული პაციენტების სიმსივნური ქსოვილის ეპითელური უჯრედების ანტიოქსიდანტური სისტემის კიდევ

ერთი რგოლის, კერძოდ აღდგენილი გლუტათიონის (GSH) რაოდენობის შესწავლამ უჩვენა, რომ HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნის შემთხვევაში ადგილი აქვს GSH რაოდენობის მატებას ~2-ჯერ, ხოლო CaP შემთხვევაში ~4-ჯერ, კეთილთვისებიან სიმსივნესთან შედარებით (ცხრ.2, სურ.17).



- | |
|--|
| <p>4. კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია</p> <p>5. HGPIN-კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია</p> <p>6. ადენოკარცინომა</p> |
|--|

სურ 17: აღდგენილი გლუტათიონის რაოდენობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში

ამგვარად, გამოკვლევებმა გამოავლინა, რომ პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი სიმსივნის და ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილის ეპითელიურ უჯრედებში ადგილი აქვს მიტოქონდრიული გლუტათიონ დამოკიდებული ფერმენტების (GSH-Px, GR) მკვეთრ აქტივაციას. აღნიშნული მიუთითებს განვითარებული

ოქსიდაციური სტრესის პირობებში პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური უჯრედების და ასევე ავთვისებიანი უბნების (HGPIN) მატარებელი სიმსივნური ქსოვილის უჯრედების თავდაცვის უნარის გაძლიერებაზე (შეწინააღმდეგოს თავისუფალი რადიკალებით ინიცირებული აპოპტოზის მიტოქონდრიალური გზის ჩართვას) [156].

როგორც უკვე ავლინებთ, ცნობილია, რომ პროსტატის ავთვისებიანი ქსოვილის ეპითელიურ უჯრედებს, პროსტატის ნორმალური ეპითელიუმის უჯრედებისა და სხვა ჰორმონ-დამოკიდებული სიმსივნეებისაგან განსხვავებით, ახასიათებთ კრებსის ციკლის სრულყოფილი ფუნქციონირება [8,10]. ცნობილია, რომ პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნური ქსოვილის უჯრედების მიტოქონდრიალურ კრებსის ციკლის ფერმენტების აქტივაცია განპირობებულია თუთიის კონცენტრაციის მკვეთრი შემცირებით, რის შედეგადაც წყდება თუთიის მაინკიბირებელი ზეგავლენა კრებსის ციკლის ზოგიერთ ფერმენტზე (აკონიტაზა) [157]. ვვარაუდობთ, რომ პროსტატის ავთვისებიანი ქსოვილის ეპითელიუმში კრებსის ციკლის აქტივაციამ უნდა გამოიწვიოს მთელი რიგი რეაქციების კასკადის ჩართვა, რაც თავის მხრივ უნდა იწვევდეს კრებსის ციკლის ერთ-ერთი ფერმენტის - იზოციტრატდეჰიდროგენაზას აქტივაციას და შესაბამისად არეში დიდი რაოდენობით NADP(H)-ის დაგროვებას, რაც ასევე თავის მხრივ მნიშვნელოვან ზეგავლენას უნდა ახდენდეს GSH დამოკიდებული სისტემის ფუნქციონირებაზეც. ცნობილია, რომ გლუტათიონ რედუქტაზა (GR) აქტიურად მოიხმარს NADP(H)-ს დაჟანგული გლუტათიონიდან (GSSG) აღდგენილი ფორმის GSH-ის წარმოქმნისათვის [159]. შესაბამისად, NADP(H)-ის დაგროვება გლუტათიონ რედუქტაზას გაზრდილი აქტივობის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მიზეზს უნდა წარმოადგენდეს. ცნობილია, რომ მიტოქონდრიის ელექტროსატრანსპორტო ჯაჭვში O_2^- -ისა და H_2O_2 -ს გენერაციის ძირითად წყაროს სუნთქვითი ჯაჭვის I და III სუნთქვითი კომპლექსები (ე.წ. უბისემიქინონ – ციტოქრომ **b** უბანი) წარმოადგენენ [158]. ზემოთაღწერილი მეტაბოლური ტრანსფორმაციის შედეგად პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური (BHP PING უბნებით და CaP) ქსოვილის ეპითელიურ უჯრედებში უნდა ძლიერდებოდეს ROS-ის, და მათ შორის H_2O_2 -ის წარმოქმნა, რაც

შესაძლოა ანტიოქსიდანტური ფერმენტ - გლუტათიონ პეროქსიდაზას აქტივაციის მიზეზს წარმოადგენდეს (ცხრ.2, სურ.15).

მიტოქონდრიებში GSH-ის გაძლიერებული ბიოსინთეზი შესაძლებელია წარმოადგენდეს პასუხს ავთვისებიანი უჯრედების მოთხოვნაზე დააგროვოს რაც შეიძლება მეტი რაოდენობით გლუტათიონის აღდგენილი ფორმა (GSH) (რომელიც მას ესაჭიროება, როგორც აპოპტოზისა და პროლიფერაციის პროცესების მარეგულირებელი რგოლი), და შეამციროს დაქანგული გლუტათიონის (GSSG) რაოდენობა [159], რამეთუ ცნობილია, რომ GSSG-ის რაოდენობის გაზრდა გამოიწვევდა პროლიფერაციის დამუხრუჭებას და უჯრედების დაღუპვას (აპოპტოზი), როგორც p53 ცილის სინთეზის ინდუქციის ხარჯზე, ასევე Ras-სასიგნალო გზის ფოსფოპროტეინკინაზურ კასკადზე მოქმედების გზით [159]. ყოველივე ზემოთ აღნიშნული (გლუტათიონ დამოკიდებული ფერმენტების აქტივობისა და GSH რაოდენობის ზრდა) კი კიდევ ერთხელ მიუთითებს ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის დროს სიმსივნური ქსოვილის უჯრედების და მთლიანად პროსტატის ავთვისებიანი ქსოვილის უჯრედების თავდაცვის მექანიზმის გაძლიერებაზე.

ამგვარად, GSH-დამოკიდებული სისტემის აქტივაცია (**GSH-Px, GR**) ერთი მხრივ უნდა განაპირობებდეს სიმსივნური უჯრედების მდგრადობას განვითარებული ოქსიდაციური სტრესის საპასუხოდ და მეორეს მხრივ უნდა უზრუნველყოფდეს ავთვისებიანი უჯრედების უნარს შეეწინააღმდეგოს თავისუფალი რადიკალებით ინიცირებული აპოპტოზის მიტოქონდრიული გზის ჩართვას (**GSH**).

კვლევის შემდგომ ეტაპზე შესწავლილ იქნა ანტიოქსიდანტი ფერმენტების - სუპეროქსიდდისმუტაზასა (SOD) და კატალაზას (CAT) აქტივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილში.

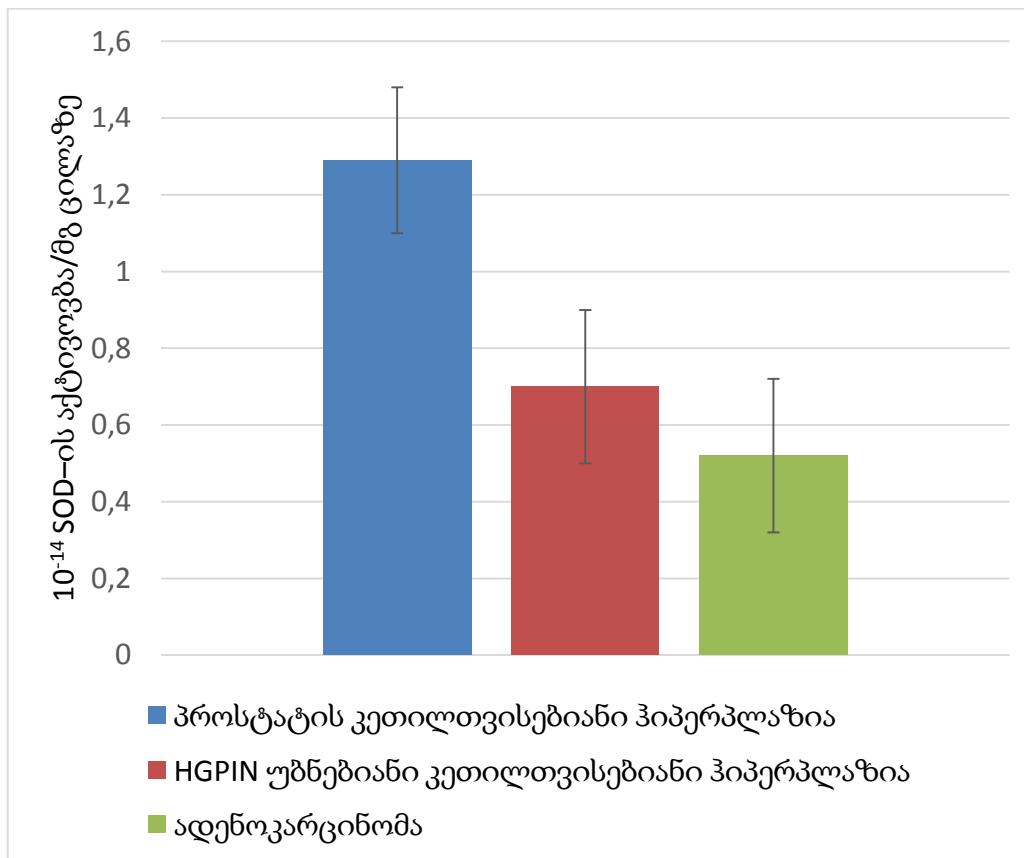
ცხრილი 3.

სუპეროქსიდდისმუტაზასა და კატალაზას აქტივობისა და ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ინტენსივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში

ობიექტი	სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობა მგ/ცილა (10^{-14})	კატალაზას აქტივობა MCAT/L (10^5)	ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ინტენსივობა $\mu\text{M/ml}$ (10^{-5})
პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია	1.29 ± 0.19	11.8 ± 2.9	0.31 ± 0.03
პროსტატის HGPIN უბნებიანი კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზია	0.7 ± 0.2	7.2 ± 1.5	0.5 ± 0.04
პროსტატის ადენოკარცინომა	0.52 ± 0.22	3.28 ± 2.2	0.59 ± 0.04

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ სუპეროქსიდდისმუტაზები (SOD) წარმოადგენენ მეტალო ფერმენტებს, რომლებიც ერთმანეთისგან განსხვავდებიან პირველადი სტრუქტურით და აქტიურ ცენტრში შემავალი მეტალის ტიპით [160]. განსაკუთრებით მაღალი აქტივობით ხასიათდება SOD I. ეს უკანასკნელი ლოკალიზებულია ციტოპლაზმაში ჰომოდიმერის სახით. SOD-ს გააჩნია სუპეროქსიდ-ანიონ რადიკალების დისმუტაციისა და გენერირების უნარი, წყალბადის ზეჟანგისა და ლიპოზეჟანგის გაზრდილი შემცველობის პირობებში [161]. ცნობილია, რომ სუპეროქსიდ-ანიონ რადიკალების შემცირებით, სუპეროქსიდდისმუტაზა აინჰიბირებს რა ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროცესებს, ამჟღავნებს მკვეთრად გამოხატულ ანტიოქსიდანტურ თვისებებს და ზრდის ორგანიზმის დამცველობით ფუნქციას [149].

პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობის შესწავლამ უჩვენა რომ პროსტატის ადენოკარცინომის შემთხვევაში ადგილი აქვს ფერმენტის აქტივობის კლებას ~2.5-ჯერ პროსტატის კეთილთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილთან და ~1.5-ჯერ HGPIN უბნებიან BHP-სთან შედარებით (ცხრ.3, სურ.18).

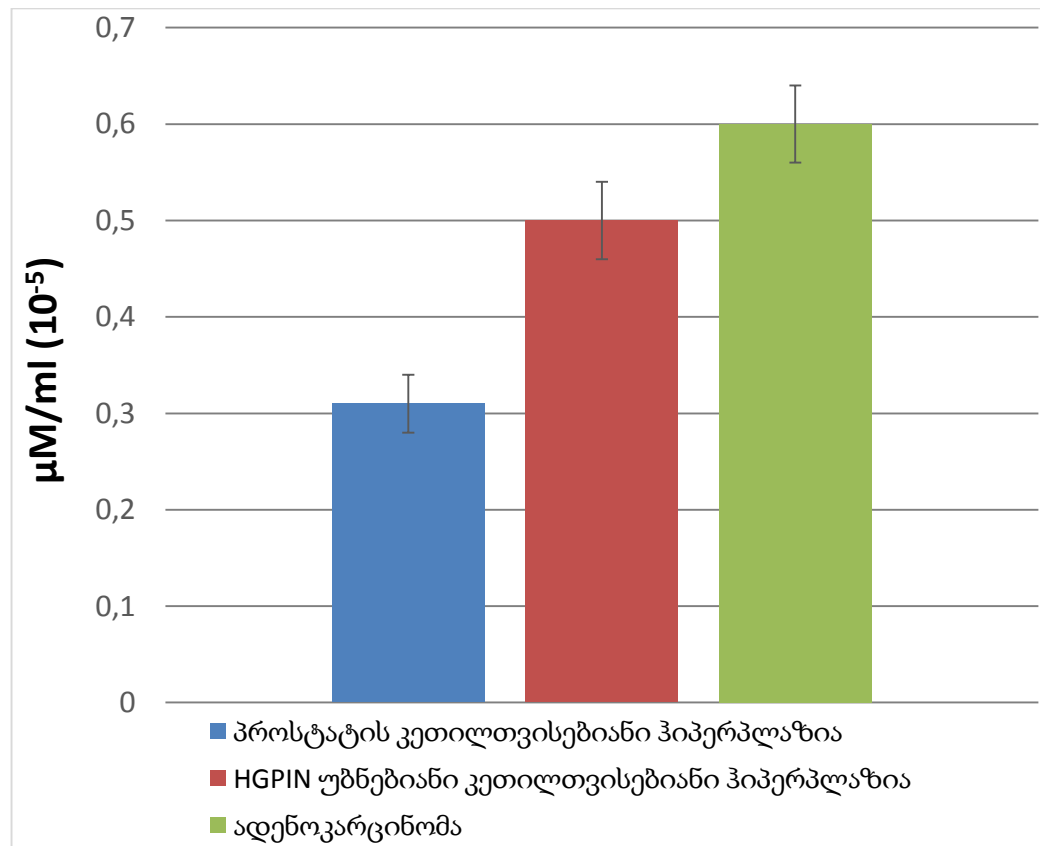


სურ 18: სუპეროქსიდდისმუტაზას (SOD) აქტივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში.

ცნობილია, რომ პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნეების განვითარებას, ისევე როგორც ნებისმიერ პათოლოგიურ მდგომარეობას, თან ახლავს ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ინტენსიფიკაცია [8]. ჩვენს კვლევაში კეთილთვისებიანი სიმსივნის შემთხვევაში დაფიქსირებული SOD-ის ფერმენტული აქტივობა, როგორც ორგანიზმის დამცველობითი

რგოლის ფუნქცია, კარაგადაა გამოხატული, ანუ პროსტატის კეთილთვისებიანი სიმსივნის შემთხვევაში ორგანიზმს ჯერ კიდევ შესწევს უნარი ეფექტურად ებრძოდეს თავისუფალ რადიკალურ პროცესებს.

ცნობილია, რომ SOD-ის აქტივობა მნიშვნელოვნადაა დამოკიდებული არემილიპიდების პეროქსიდაციის პროცესის ინტენსივობაზე [8], შესაბამისად ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა ასევე ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ინტენსივობის ცვლილება პროსტატის კეთილთვისებიან, HGPIN უბნებიან და ავთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში (ცხრ. 3, სურ 19).



სურ 19: ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ინტენსივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში.

ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის შესწავლამ პროსტატის სიმსივნურ ქსოვილში უჩვენა, რომ პროსტატის ადენოკარცინომის შემთხვევაში ადგილი აქვს პეროქსიდაციის ინტენსიფიკაციას ~2-ჯერ კეთილთვისებიან ქსოვილთან შედარებით და ~1.2-ჯერ HGPIN უბნებთან BHP-სთან შედარებით (ცხრ.3, სურ.19). ლოგიკურია ვივარაუდოთ, რომ პეროქსიდაციის მკვეთრად გაზრდილმა ინტენსივობამ ხელი უნდა შეუწყოს ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას პროსტატის HGPIN უბნებთან და ავთვისებიან ქსოვილში, რაც ხელსაყრელ მდგომარეობას წარმოადგენს სიმსივნური უჯრედებისათვის დამახასიათებელი ლიპოგენეზის აქტივაციისათვის [162]. ვვარაუდობთ, რომ SOD-ის აქტივობის დაქვეითება პროსტატის HGPIN უბნებთან და ავთვისებიან ქსოვილში ხელს უნდა უწყობდეს ზემოთაღწერილ პროცესს და შესაბამისად სიმსივნის პროგრესირებას.

გარდა ამისა ცნობილია, რომ ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროდუქტების დაგროვება, ლიპიდების მეტაბოლიზმის ცვლილებები და წარმოქმნილი ცვალებადი ვალენტობის მეტალები (რკინის იონების ჩართვა) ერთვებიან რა ფერმენტის აქტიურ ცენტრში, იწვევენ სუპეროქსიდ დისმუტაზას აქტივობის ცვლილებას [149].

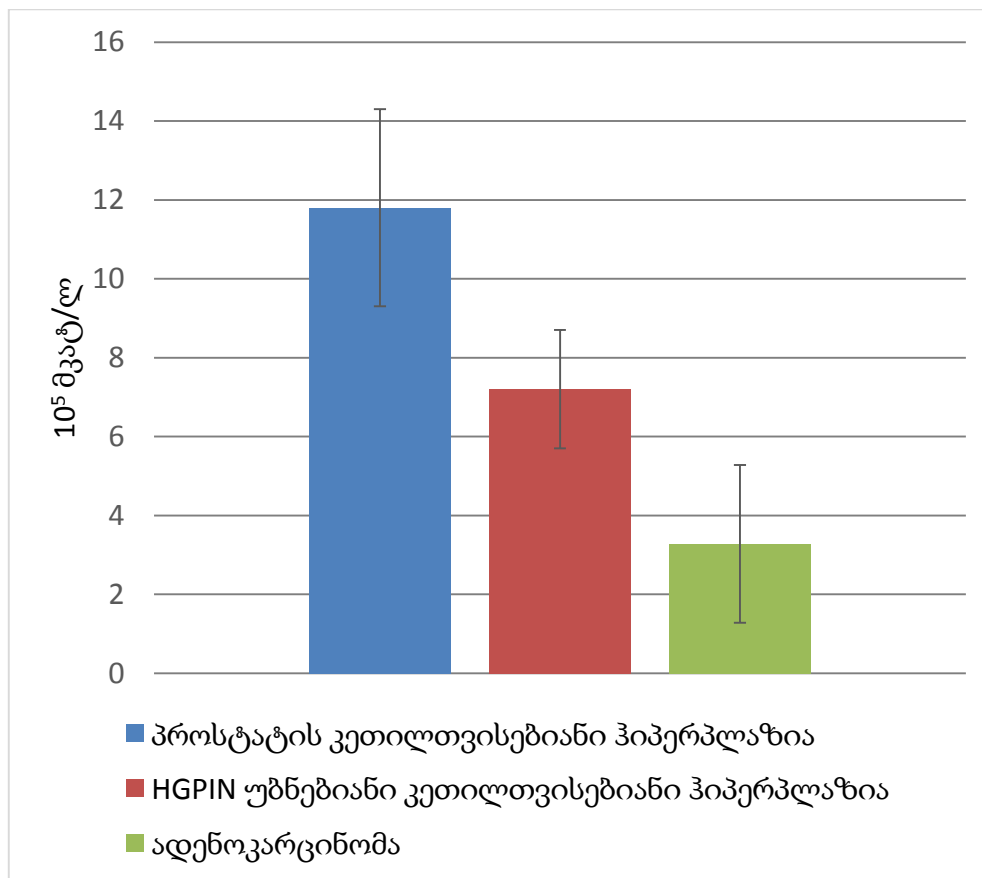
რაც შეეხება ანტიოქსიდანტური სისტემის მეორე მნიშვნელოვან ფერმენტ კატალაზას, ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ მისი მოლეკულა შედგება ოთხი სუბერთეულისაგან. თითოეული სუბერთეულის პროსტეტული ჯგუფს რკინაპროტოპორფირინ IX წარმოადგენს [163]. ცნობილია, რომ აღნიშნული ფერმენტი აკატალიზებს წყალბადის ზეჟანგის აღდგენის რეაქციებს [163].

გამოკვლევებმა უჩვენა, რომ პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნურ ქსოვილში ადგილი აქვს კატალაზას აქტივობის დაქვეითებას ~3.5-ჯერ პროსტატის კეთილთვისებიან ქსოვილთან შედარებით და ~2-ჯერ HGPIN უბნებთან ქსოვილთან შედარებით (ცხრ.3, სურ.20).

ვვარაუდობთ, რომ ფერმენტ კატალაზას აქტივობის მკვეთრი შემცირება პროსტატის HGPIN უბნებთან კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიისა და ადენოკარცინომის დროს გამოწვეული უნდა იყოს გაძლიერებული ოქსიდაციური სტრესითა და ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის მკვეთრად გამოხატული ინტენსიფიკაციის ფონზე წყალბადის

ზეჟანგის რაოდენობის მკვეთრი მატებით [8], რაც უარყოფითად აისახება კატალაზას ფერმენტულ აქტივობაზე.

ცნობილია, რომ პროსტატის სიმსივნეებისათვის დამახასიათებელია პროსტატ-სპეციფიური „სიმსივნური მარკერის“ - მჟავა ფოსფატაზას ცირკადული ცვლილებები. ჩვენმა წინა წლების გამოკვლევებმა უჩვენა, რომ მჟავა-ფოსფატაზას აქტივობა მკვეთრად და გაზრდილი პროსტატის ადენოკარცინომის შემთხვევაში [149].



სურ 20: კატალაზას (CAT) აქტივობის ცვლილება პროსტატის სიმსივნეების შემთხვევაში.

ასევე ცნობილია, მჟავა ფოსფატაზას შეუძლია გავლენა მოახდინოს ფერმენტ კატალაზას აქტივობაზე, კერძოდ, მოახდინოს მისი ინჰიბირება [164]. ვვარაუდობთ, რომ ჩვენ შემთხვევაში ფერმენტ კატალაზას აქტივობის შემცირება პროსტატის სიმსივნეების

დროს შესაძლებელია გამოწვეული იყოს მჟავა ფოსფატაზას აქტივობის მკვეთრი მატებით პროსტატის ადენოკარცინომის შემთხვევაში. ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის მკვეთრად გამოხატული ინტენსიფიკაციის ფონზე, ანტიოქსიდანტური ფერმენტების სუპეროქსიდდისმუტაზასა და კატალაზას აქტივობის ცვლილება, კიდევ ერთხელ მიუთითებს ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური სტატუსის ცვლილებაზე, დაავადების დამძიმების პარალელურად ორგანიზმის დამცველობითი ფუნქციის შესუსტებასა და დაავადების პროგრესირებაზე, რაც მკვეთრ ასახვას პოულობს პროსტატის ადენოკარცინომის შემთხვევაში.

ამგვარად, ანტიოქსიდანტური სისტემის მდგომარეობის ცვლილება ერთი მხრივ წარმოადგენს თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციის მიზეზს, რაც განპირობებული უნდა იყოს სუპეროქსიდდისმუტაზასა და კატალაზას აქტივობის მკვეთრი შემცირებით. ხოლო მეორეს მხრივ, გლუტათიონ-დამოკიდებული სისტემის შემთხვევაში აღნიშნული სისტემის აქტივობის მატება უნდა აძლიერებდეს ავთვისებიანი უჯრედების უნარს შეეწინააღმდეგოს ოქსიდაციურ სტრესის ფონზე აპოპტოზის მიტოქონდრიული გზის ჩართვას.

თავი IV

დასკვნები

პროსტატის სიმსივნეებით დაავადებული მამაკაცების სიმსივნური ქსოვილისა და შესაბამისი სისმინური ქსოვილიდან გამოყოფილი მიტოქონდრიული სუსპენზიის შესწავლის შედეგად გამოვლინდა:

- პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების ეპრ-სიგნალების ($g=1.94$, $g=2.01$) ინტენსივობის შემცირება თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციის ფონზე (ფლავოპროტეინებისა და უბიქინონური სემიქინონებისა და ჟანგბადის აქტიური ფორმების, $g=2.002$).
- თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაცია და რკინა-გოგირდოვანი კლასტერების დაზიანება პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ ქსოვილში სუნთქვითი ჯაჭვის I და II კომპლექსების (რკინა-გოგირდოვანი ცენტრების) ფუნქციონირების რღვევაზე მიუთითებს.
- პროსტატის ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილიდან გამოყოფილ მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში ციტოქრომ P450-ის ინტენსივობის ($g=2.25$) მკვეთრი მატება უკუკავშირის მექანიზმით მიუთითებს სტეროიდოგენეზის პროცესის დაქვეითებაზე პროსტატის ეპითელურ უჯრედებში.
- პროსტატის ავთვისებიან სიმსივნურ უჯრედებში ჟანგბადის აქტიური ფორმების (სუპეროქსიდი) გაძლიერებული პროდუქციის ფონზე, სუპეროქსიდდისმუტაზას ეპრ სიგნალის ($g=2.14$) ინტენსივობის შემცირება მიუთითებს ავთვისებიანი სიმსივნური ქსოვილიდან გამოყოფილ მიტოქონდრიულ სუსპენზიაში სუპეროქსიდდისმუტაზას, როგორც ანტიოქსიდანტური სისტემის, ფუნქციონირების შესუსტებაზე.

- გამოვლენილ იქნა GSH-დამოკიდებული სისტემის აქტივაცია (**GSH-Px, GR**), რაც ერთი მხრივ უნდა განაპირობებდეს სიმსივნური უჯრედების მდგრადობას განვითარებული ოქსიდაციური სტრესის საპასუხოდ და მეორეს მხრივ უნდა უზრუნველყოფდეს ავთვისებიანი უჯრედების უნარს შეეწინააღმდეგოს თავისუფალი რადიკალებით ინიცირებული აპოპტოზის მიტოქონდრიული გზის ჩართვას (**GSH**).
- ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის მკვეთრად გამოხატული ინტესიფიკაციის ფონზე ანტიოქსიდანტური ფერმენტების - სუპეროქსიდდისმუტაზასა და კატალაზას აქტივობის მკვეთრი შემცირება მიუთითებს ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური სტატუსის დაქვეითებაზე, ორგანიზმის დამცველობითი ფუნქციის შესუსტებასა და დაავადების პროგრესირებაზე.

თავი V

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Lin M.F., Meng TC, et al. Expression of human prostatic acid phosphatase correlates with androgen-stimulated cell proliferation in prostate cancer cell lines. *J. Biol. Chem.*, 1998, Vol. 273, p. 5939-47.
2. Higuchi M, Kudo T, Suzuki S, Evans TT. Mitochondrial DNA determines androgen dependence in prostate cancer cell lines. *Oncogene* (2006) 25, 1437-1445.
3. Coffey D.S., et al Prostate cancer. An overview of an increasing dilemma. *J. Cancer*. 1993. v.71:880-886.
4. Greenlee R.T., et al. Cancer statistics, 2001. *CA Cancer. J.Clin.* 2001, Vol. 51, p.15-36.
5. J.Z. Chen, N. Gokden, G.F. Greene, B. Green, F.F. Kadlubar. Simultaneous generation of multiple mitochondrial DNA mutations in human prostate tumors suggests mitochondrial hyper-mutagenesis, *Carcinogenesis* 24 (2003) 1481-1487.
6. Ripple, M.O., et al. Prooxidant-antioxidant shift induced by androgen treatment of human prostate carcinoma cells. *J. Antioxidant and Redox Signaling*, 1999, Vol. 1, p.71-81.
7. McNeal, J E; Redwine, E A; Freiha, F S. *et al.* Zonal distribution of prostatic adenocarcinoma. Correlation with histologic pattern and direction of spread. *Am J Surg Pathol.* vol.12. 1988 :897-906.
8. Khandrika Lakshmipathi , Kumar Binod, Koul Sweaty et al. Oxidative stress in prostate cancer. *Cancer Letters.* vol.282. 2009 :125-136.
9. Nijtmans L.G.J., Smeitink J.A.M. *Mitochondrial Medicine // Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk.* 32, #3. 2007: 188-191.
10. Dakubo GD, Parr RL, Costello LC, Franklin RB, Thayer RE. Altered metabolism and mitochondrial genome in prostate. *J Clin Pathol* 2006;59:10-16.
11. J.A. Petros, A.K. Baumann, E. Ruiz-Pesini, M.B. Amin, C.Q. Sun, J. Hall, S. Lim, M.M. Issa, W.D. Flanders, S.H. Hosseini, F.F. Marshall, D.C. Wallace. mtDNA mutations increase tumorigenicity in prostate cancer, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 102 (2005)719-24.
12. Malkin R, Bearden AJ. 1971. Primary reactions of photosynthesis: photoreduction of a bound chloroplast ferredoxin at low temperature as detected by EPR spectroscopy. *Proc Natl Acad Sci USA*68:16-19.
13. Evans MCW, Sihra CK, Bolton JR, Cammack R. 1975. Primary electron acceptor complex of Photosystem I in spinach chloroplasts, *Nature*256:668-670.
14. Beinert H, Sands RH. 1960. Studies on succinic and DPNH dehydrogenase preparations by paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy. *Biochem Biophys Res Commun*3:41-46.
15. Beinert H, Lee W. 1961. Evidence for a new type of iron containing electron carrier in mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun*5:40-45.
16. Orme-Johnson NR, Orme-Johnson WH, Hansen RE, Beinert H, Hatefi Y. 1971. EPR-detectable electron acceptors in submitochondrial particles from beef heart with special reference to iron-sulfur components of DPNH-ubiquinone reductase. *Biochem Bio-phys Res Commun*44:446-452.
17. Ohnishi T, Wilson DF, Chance B, Asakura T. 1972. Studies on iron-sulfur proteins in site I region of respiratory chain in pigeon heart mitochondria and submitochondrial particles. *Biochem Biophys Res Commun*46:1631-1638.
18. Beinert H, Albracht SPJ. 1982. New insights, ideas and unanswered questions concerning iron-sulfur clusters in mitochondria. *Biochim Biophys Acta*683:245-277.
19. Page CC, Moser CC, Chen XX, Dutton PL. 1999. Natural engineering principles of electron tunnelling in biological oxidation-reduction. *Nature*402:47-52.
20. Gray HB, Winkler JR. 1996. Electron transfer in proteins. *Ann Rev Biochem*65:537-561.
21. Svistunenko DA, Davies N, Brealey D, Singer M, Cooper CE. 2006. Mitochondrial dysfunction in patients with severe sepsis: an EPR interrogation of individual respiratory chain components. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*1757:262-272.

22. Atamna H, Walter PB, Ames BN. 2002. The role of heme and iron–sulfur clusters in mitochondrial biogenesis, maintenance, and decay with age. *Arch Biochem Biophys* 397:345–353.
23. Brown GC. 1999. Nitric oxide and mitochondrial respiration. *Biochim Biophys Acta Bioenerg* 1411:351–369.
24. Gibson JF, Hall DO, Thornley JHM, Whatley FR. 1966. The iron complex in spinach ferredoxin. *Proc Natl Acad Sci USA* 56:987–990.
25. Thornley JHM, Gibson JF, Whatley FR, Hall DO. 1966. Comment on a recent model of the iron complex in spinach ferredoxin. *Biochem Biophys Res Commun* 24:877–879.
26. Tsibris JCM, Woody RW. 1970. Structural studies of iron–sulfur proteins. *CoordChem Rev* 5:417–458.
27. Dunham WR, Palmer G, Sands RH, Bearden AJ. 1971. On the structure of the iron–sulfur complex in the two-iron ferredoxins. *Biochim Biophys Acta* 253:373–384.
28. Beinert H, Thomson AJ. 1983. 3-iron clusters in iron–sulfur proteins. *Arch Biochem Biophys* 222:333–361.
29. Ruzicka FJ, Beinert H. 1978. The soluble "high potential" type iron–sulfur protein from mitochondria is aconitase. *J Biol Chem* 253:2514–2517.
30. Richard Cammack and Fraser MacMillan Electron magnetic resonance of iron-sulfur proteins in electron transfer chains: resolving complexity.
31. Augenlicht, L H; Heerdt, B G. Mitochondria: integrators in tumorigenesis? *Nat Genet* 2001. 28:104–105.
32. Selak, M A; Armour, S M; Mackenzie, E D. *et al.* Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF- α prolyl hydroxylase. *Cancer Cell* 2005. 7:77–85.
33. Eng, C; Kiuru, M; Fernandez, MJ; Aaltonen, LA. A role for mitochondrial enzymes in inherited neoplasia and beyond. *Nat Rev Cancer*. 2003;3:193–202.
34. Zanssen, S; Gunawan, B; Fuzesi, L; Warburton, D; Schon, EA. Renal oncocyctomas with rearrangements involving 11q13 contain breakpoints near CCND1. *Cancer Genet Cytogenet*. 2004;149:120–124.
35. Zanssen S, Schon EA. Mitochondrial DNA mutations in cancer. *PLoS Med*, 2005, 2 (11):401.
36. Brandon M, Baldi P and Wallace DC. Mitochondrial mutations in cancer. *Oncogene* 2006. 25, 4647–4662.
37. Kulinsky V. I. and L. S. Kolesnichenko. Regulation of metabolic and energetic functions of mitochondria by hormones and signal transduction systems. *Biochemistry (Moscow) Supplemental Series B: Biomedical Chemistry* 2007, vol. 1, p.95-113
38. Joachim G. Liehr. Is Estradiol a Genotoxic Mutagenic Carcinogen? *Endocrine Reviews* 2000, 21 (1): 40-54.
39. Kipp J.L., et al. Effect of estradiol, diethylstilbestrol, and resveratrol on F₀F₁-ATPase activity from mitochondrial preparations of rat heart, liver, and brain. *J. Endocrinology*, 2001, Vol.15, p.165–175.
40. Borrás, C. et al. Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene expression and lower oxidative damage than males. *Free Radic. Biol. Med.*, 2003, 34:, 546–552.
41. Quentin Felty et al. // Estrogen, mitochondria, and growth of cancer and non-cancer cells //J. *Carcinog.*, 2005, Vol.4, p. 1-18.
42. Henze K, Martin W. Evolutionary biology: essence of mitochondria// *Nature*, 2003, 426 (6963): 127–8.
43. The mitochondrial genome. <http://herkules.oulu.fi/isbn9514255674/html/x287.html>
44. Mitochondrial genetics. http://www.wormbook.org/chapters/www_mitogenetics/mitogenetics.html
45. Sakr WA, Grignon DJ, Crissman JD, et al. High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20-69: an autopsy study of 249 cases. *In Vivo* 1994;8:439-43.
46. Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2002;52:23-47. [Errata, *CA Cancer J Clin* 2002;52:119, 181-2.]
47. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer — analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med* 2000;343:78-85.
48. Steinberg GD, Carter BS, Beaty TH, Childs B, Walsh PC. Family history and the risk of prostate cancer. *Prostate* 1990;17: 337-47.
49. Morganti G, Gianferrari L, Cresseri A, Arrigoni G, Lovati G. Recherches clinicostatistiques et génétiques sur les néoplasies de la prostate. *Acta Genet Stat Med* 1956;6: 304-5.
50. Lesko SM, Rosenberg L, Shapiro S. Family history and prostate cancer risk. *Am J Epidemiol* 1996;144:1041-7.
51. Ghadirian P, Howe GR, Hislop TG, Maisonneuve P. Family history of prostate cancer: a multi-center case-control study in Canada. *Int J Cancer* 1997;70:679-81.

52. Glover FE Jr, Coffey DS, Douglas LL, et al. Familial study of prostate cancer in Jamaica. *Urology* 1998;52:441-3.
53. Carter BS, Beaty TH, Steinberg GD, Childs B, Walsh PC. Mendelian inheritance of familial prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:3367-71.
54. Monroe KR, Yu MC, Kolonel LN, et al. Evidence of an X-linked or recessive genetic component to prostate cancer risk. *Nat Med* 1995;1:827-9.
55. Smith JR, Freije D, Carpten JD, et al. Major susceptibility locus for prostate cancer on chromosome 1 suggested by a genomewide search. *Science* 1996;274:1371-4.
56. Ostrander EA, Stanford JL. Genetics of prostate cancer: too many loci, too few genes. *Am J Hum Genet* 2000;67:1367-75.
57. Silverman RH, Jung DD, Nolan-Sorden NL, Dieffenbach CW, Kedar VP, SenGupta DN. Purification and analysis of murine 2-5A-dependent RNase. *J Biol Chem* 1988; 263:7336-41.
58. Carpten J, Nupponen N, Isaacs S, et al. Germline mutations in the ribonuclease L gene in families showing linkage with HPC1. *Nat Genet* 2002;30:181-4.
59. Rokman A, Ikonen T, Seppala EH, et al. Germline alterations of the RNASEL gene, a candidate HPC1 gene at 1q25, in patients and families with prostate cancer. *Am J Hum Genet* 2002;70:1299-304.
60. Casey G, Neville PJ, Plummer SJ, et al. RNASEL Arg462Gln variant is implicated in up to 13% of prostate cancer cases. *Nat Genet* 2002;32:581-3.
61. Xu J, Zheng SL, Komiya A, et al. Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. *Nat Genet* 2002;32:321-5.
62. Platt N, Gordon S. Is the class A macrophage scavenger receptor (SR-A) multifunctional? The mouse's tale. *J Clin Invest* 2001; 108:649-54.
63. Dejager S, Mietus-Snyder M, Frieria A, Pitas RE. Dominant negative mutations of the scavenger receptor: native receptor inactivation by expression of truncated variants. *J Clin Invest* 1993;92:894-902.
64. Edwards A, Hammond HA, Jin L, Caskey CT, Chakraborty R. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics* 1992;12:241-53.
65. Chamberlain NL, Driver ED, Miesfeld RL. The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucleic Acids Res* 1994;22:3181-6.
66. Kazemi-Esfarjani P, Trifiro MA, Pinsky L. Evidence for a repressive function of the long polyglutamine tract in the human androgen receptor: possible pathogenetic relevance for the (CAG)_n-expanded neuronopathies. *Hum Mol Genet* 1995;4:523-7.
67. Irvine RA, Ma H, Yu MC, Ross RK, Stallcup MR, Coetzee GA. Inhibition of p160-mediated coactivation with increasing androgen receptor polyglutamine length. *Hum Mol Genet* 2000;9:267-74.
68. Beilin J, Ball EM, Favalaro JM, Zajac JD. Effect of the androgen receptor CAG repeat polymorphism on transcriptional activity: specificity in prostate and non-prostate cell lines. *J Mol Endocrinol* 2000;25:85-96.
69. Bennett CL, Price DK, Kim S, et al. Racial variation in CAG repeat lengths within the androgen receptor gene among prostate cancer patients of lower socioeconomic status. *J Clin Oncol* 2002;20:3599-604.
70. Hsing AW, Gao YT, Wu G, et al. Polymorphic CAG and GGN repeat lengths in the androgen receptor gene and prostate cancer risk: a population-based case-control study in China. *Cancer Res* 2000;60:5111-6.
71. Latil AG, Azzouzi R, Cancel GS, et al. Prostate carcinoma risk and allelic variants of genes involved in androgen biosynthesis and metabolism pathways. *Cancer* 2001;92: 1130-7.
72. Chang B, Zheng SL, Isaacs SD, et al. Linkage and association of CYP17 gene in hereditary and sporadic prostate cancer. *Int J Cancer* 2001;95:354-9.
73. Makridakis NM, Ross RK, Pike MC, et al. Association of mis-sense substitution in SRD5A2 gene with prostate cancer in African-American and Hispanic men in Los Angeles, USA. *Lancet* 1999;354:975-8.
74. Makridakis N, Ross RK, Pike MC, et al. A prevalent missense substitution that modulates activity of prostatic steroid 5 α reductase. *Cancer Res* 1997;57:1020-2.
75. Nam RK, Toi A, Vesprini D, et al. V89L polymorphism of type-2, 5- α reductase enzyme gene predicts prostate cancer presence and progression. *Urology* 2001;57:199-204.
76. Elo JP, Visakorpi T. Molecular genetics of prostate cancer. *Ann Med* 2001;33:130-41.

77. Nupponen NN, Kakkola L, Koivisto P, Visakorpi T. Genetic alterations in hormone-refractory recurrent prostate carcinomas. *Am J Pathol* 1998;153:141-8.
78. Brooks JD, Bova GS, Ewing CM, et al. An uncertain role for p53 gene alterations in human prostate cancers. *Cancer Res* 1996; 56:3814-22.
79. Lin X, Tascilar M, Lee WH, et al. GSTP1 CpG island hypermethylation is responsible for the absence of GSTP1 expression in human prostate cancer cells. *Am J Pathol* 2001;159:1815-26.
80. Brooks JD, Weinstein M, Lin X, et al. CG island methylation changes near GSTP1 gene in prostatic intraepithelial neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:531-6.
81. Kinzler KW, Vogelstein B. Cancer-susceptibility genes: gatekeepers and caretakers. *Nature* 1997;386:761, 763.
82. Nelson CP, Kidd LC, Sauvageot J, et al. Protection against 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine cytotoxicity and DNA adduct formation in human prostate by glutathione S-transferase P1. *Cancer Res* 2001;61:103-9.
83. Bieberich CJ, Fujita K, He WW, Jay G. Prostate-specific and androgen-dependent expression of a novel homeobox gene. *J Biol Chem* 1996;271:31779-82.
84. Chen H, Nandi AK, Li X, Bieberich CJ. NKX-3.1 interacts with prostate-derived Ets factor and regulates the activity of the PSA promoter. *Cancer Res* 2002;62:338-40.
85. Bhatia-Gaur R, Donjacour AA, Scivolino PJ, et al. Roles for Nkx3.1 in prostate development and cancer. *Genes Dev* 1999; 13:966-77.
86. Emmert-Buck MR, Vocke CD, Pozzatti RO, et al. Allelic loss on chromosome 8p12- 21 in microdissected prostatic intraepithelial neoplasia. *Cancer Res* 1995;55:2959-62.
87. Ornstein DK, Cinquanta M, Weiler S, et al. Expression studies and mutational analysis of the androgen regulated homeobox gene NKX3.1 in benign and malignant prostate epithelium. *J Urol* 2001;165: 1329-34.
88. Bowen C, Bubendorf L, Voeller HJ, et al. Loss of NKX3.1 expression in human prostate cancers correlates with tumor progression. *Cancer Res* 2000;60:6111-5.
89. Wu X, Senechal K, Neshat MS, Whang YE, Sawyers CL. The PTEN/MMAC1 tumor suppressor phosphatase functions as a negative regulator of the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:15587-91.
90. McMenamin ME, Soung P, Perera S, Kaplan I, Loda M, Sellers WR. Loss of PTEN expression in paraffin-embedded primary prostate cancer correlates with high Gleason score and advanced stage. *Cancer Res* 1999;59:4291-6.
91. Ramaswamy S, Nakamura N, Vazquez F, et al. Regulation of G1 progression by the PTEN tumor suppressor protein is linked to inhibition of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:2110-5.
92. Suzuki H, Freije D, Nusskern DR, et al. Interfocal heterogeneity of PTEN/MMAC1 gene alterations in multiple metastatic prostate cancer tissues. *Cancer Res* 1998;58: 204-9.
93. Kim MJ, Cardiff RD, Desai N, et al. Cooperativity of Nkx3.1 and Pten loss of function in a mouse model of prostate carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99: 2884-9.
94. Yang RM, Naitoh J, Murphy M, et al. Low p27 expression predicts poor diseasefree survival in patients with prostate cancer. *J Urol* 1998;159:941-5.
95. Kibel AS, Faith DA, Bova GS, Isaacs WB. Loss of heterozygosity at 12P12-13 in primary and metastatic prostate adenocarcinoma. *J Urol* 2000;164:192-6.
96. Graff JR, Konicek BW, McNulty AM, et al. Increased AKT activity contributes to prostate cancer progression by dramatically accelerating prostate tumor growth and diminishing p27Kip1 expression. *J Biol Chem* 2000;275:24500-5.
97. Nakamura N, Ramaswamy S, Vazquez F, Signoretti S, Loda M, Sellers WR. Forkhead transcription factors are critical effectors of cell death and cell cycle arrest downstream of PTEN. *Mol Cell Biol* 2000;20: 8969-82.
98. Eisenberger MA, Blumenstein BA, Crawford ED, et al. Bilateral orchiectomy with or without flutamide for metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 1998;339: 1036-42.
99. Crawford ED, Eisenberger MA, Leod DG, et al. A controlled trial of leuprolide with and without flutamide in prostatic carcinoma. *N Engl J Med* 1989;321:419-24.

100. Laufer M, Denmeade SR, Sinibaldi VJ, Carducci MA, Eisenberger MA. Complete androgen blockade for prostate cancer: what went wrong? *J Urol* 2000;164:3-9.
101. Feldman BJ, Feldman D. The development of androgen-independent prostate cancer. *Nat Rev Cancer* 2001;1:34-45.
102. Zegarra-Moro OL, Schmidt LJ, Huang H, Tindall DJ. Disruption of androgen receptor function inhibits proliferation of androgen-refractory prostate cancer cells. *Cancer Res* 2002;62:1008-13.
103. Marcelli M, Ittmann M, Mariani S, et al. Androgen receptor mutations in prostate cancer. *Cancer Res* 2000;60:944-9.
104. Koivisto P, Kononen J, Palmberg C, et al. Androgen receptor gene amplification: a possible molecular mechanism for androgen deprivation therapy failure in prostate cancer. *Cancer Res* 1997;57:314-9.
105. Veldscholte J, Voorhorst-Ogink MM, Bolt-de Vries J, van Rooij HC, Trapman J, Mulder E. Unusual specificity of the androgen receptor in the human prostate tumor cell line LNCaP: high affinity for progestagenic and estrogenic steroids. *Biochim Biophys Acta* 1990;1052:187-94.
106. Sadar MD, Gleave ME. Ligand-independent activation of the androgen receptor by the differentiation agent butyrate in human prostate cancer cells. *Cancer Res* 2000; 60:5825-31.
107. Gardner WA Jr, Bennett BD. The prostate — overview: recent insights and speculations. In: Weinstein RS, Gardner WA Jr, eds. *Pathology and pathobiology of the urinary bladder and prostate*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1992:129-48.
108. Roberts RO, Lieber MM, Rhodes T, Girman CJ, Bostwick DG, Jacobsen SJ. Prevalence of a physician-assigned diagnosis of prostatitis: the Olmsted County Study of Urinary Symptoms and Health Status Among Men. *Urology* 1998;51:578-84.
109. Hayes RB, Pottern LM, Strickler H, et al. Sexual behaviour, STDs and risks for prostate cancer. *Br J Cancer* 2000;82:718-25.
110. Dennis LK, Dawson DV. Meta-analysis of measures of sexual activity and prostate cancer. *Epidemiology* 2002;13:72-9.
111. Xia Y, Zweier JL. Superoxide and peroxynitrite generation from inducible nitric oxide synthase in macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:6954-8.
112. Eiserich JP, Hristova M, Cross CE, et al. Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. *Nature* 1998;391:393-7.
113. Nelson JE, Harris RE. Inverse association of prostate cancer and non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): results of a case-control study. *Oncol Rep* 2000;7: 169-70.
114. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI, Nelson WG. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. *Am J Pathol* 1999;155: 1985-92.
115. Franks LM. Atrophy and hyperplasia in the prostate proper. *J Pathol Bacteriol* 1954; 68:617-21.
116. Ruska KM, Sauvageot J, Epstein JI. Histology and cellular kinetics of prostatic atrophy. *Am J Surg Pathol* 1998;22:1073-7
117. Putzi MJ, De Marzo AM. Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Urology* 2000;56: 828-32
118. Shah R, Mucci NR, Amin A, Macoska JA, Rubin MA. Postatrophic hyperplasia of the prostate gland: neoplastic precursor or innocent bystander? *Am J Pathol* 2001;158: 1767-73.
119. Nelson WG, De Marzo AM, Isaacs WB. Prostate Cancer (2003) *N ENGL J MED* 349:4
120. Gómez-Zaera M, Abril J, González L, Aguiló F, Identification of somatic and germline mitochondrial DNA sequence variants in prostate cancer patients. *Mutat Res.* 2006, 595:42-51.
121. Parr RL, Dakubo GD, Grandall KA, Maki J, Reguly B, Somatic mitochondrial DNA mutations in prostate cancer and normal appearing adjacent glands in comparison to age-matched prostate samples without malignant histology. *J Mol Diagn.* 2006, (3):312-9.
122. Sjöblom T, Jones S, Wood LD, Parsons DW, Lin J, Barber TD. The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science.* 2006, 314:268-74.
123. Jones S, Zhang X, Parsons DW, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, Mankoo P. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. *Science.* 2008, 321:1801-6.

124. Gekeler J, Zsurka G, Kunz WS, Preuss SF, Klussmann JP, Guntinas-Lichius O, Wiesner RJ. Clonal expansion of different mtDNA variants without selective advantage in solid tumors. *Mutat Res.* 2009, 662:28-32.
125. Ishikawa K, Takenaga K, Akimoto M, Koshikawa N, Yamaguchi A, ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis. *Science.* 2008, 320:661-4.
126. Kulawiec M, Owens KM, Singh KK. Cancer cell mitochondria confer apoptosis resistance and promote metastasis. *Cancer Biol Ther.* 2009, 8:1378-85.
127. Murata T, Hibasami H, Maekawa S, Tagawa T, Nakashima K. Preferential binding of cisplatin to mitochondrial DNA and suppression of ATP generation in human malignant melanoma cells. *Biochem Int.* 1990;20(5):949-55.
128. Parsons BL, Heflich RH. Genotypic selection methods for the direct analysis of point mutations. *Mutat Res.* 1997, 387:97-121.
129. Dean SW, Brooks TM, Burlinson B, Mirsalis J, Myhr B, Recio L, Thybaud V. Transgenic mouse mutation assay systems can play an important role in regulatory mutagenicity testing in vivo for the detection of site-of-contact mutagens. *Mutagenesis.* 1999, 14:141-51.
130. Jacobs HT. The mitochondrial theory of aging: dead or alive? *Aging Cell.* 2003, 2:11-7.
131. Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science.* 1999, 283:1482-8.
132. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res.* 1977, 37:646-50.
133. Gormally E, Caboux E, Vineis P, Hainaut P. Circulating free DNA in plasma or serum as biomarker of carcinogenesis: practical aspects and biological significance. *Mutat Res.* 2007, 635:105-17.
134. Sozzi G, Conte D, Mariani L, Lo Vullo S, Roz L, Lombardo C, Pierotti MA, Tavecchio L. Analysis of circulating tumor DNA in plasma at diagnosis and during follow-up of lung cancer patients. *Cancer Res.* 2001, 61:4675-8.
135. Umetani N, Kim J, Hiramatsu S, Reber HA, Hines OJ, Bilchik AJ, Hoon DS. Increased integrity of free circulating DNA in sera of patients with colorectal or periampullary cancer: direct quantitative PCR for ALU repeats. *Clin Chem.* 2006, 52:1062-9.
136. Huang ZH, Li LH, Hua D. Quantitative analysis of plasma circulating DNA at diagnosis and during follow-up of breast cancer patients. *Cancer Lett.* 2006, 243:64-70.
137. Chang HW, Lee SM, Goodman SN, Singer G, Cho SK, Sokoll LJ, Assessment of plasma DNA levels, allelic imbalance, and CA 125 as diagnostic tests for cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2002, 94:1697-703.
138. Jung K, Stephan C, Lewandowski M, Klotzek S, Jung M, Increased cell-free DNA in plasma of patients with metastatic spread in prostate cancer. *Cancer Lett.* 2004, 205:173-80.
139. : a key to understanding the pathogenesis and progression of prostate malignancy. *Oncology* 2000. 59:269-282.
140. Chan Bae Park and Nils-Göran Larsson. Mitochondrial DNA mutations in disease and aging. *JCB* 2011. Vol. 193 no. 5 809-818.
141. B.C. Jessie, C.Q. Sun, H.R. Irons, F.F. Marshall, D.C. Wallace, J.A. Petros, Accumulation of mitochondrial DNA deletions in the malignant prostate of patients of different ages, *Exp. Gerontol.* 37 (2001) 169-174.
142. J.Z. Chen, N. Gokden, G.F. Greene, B. Green, P. Mukunyadzi, F.F. Kadlubar. Extensive somatic mitochondrial mutations in primary prostate cancer using laser capture microdissection. *Cancer Res.* 62 (2002) 6470-6474
143. L.C. Costello, Y. Liu, J. Zou, R.B. Franklin, Evidence for a zinc uptake transporter in human prostate cancer cells which is regulated by prolactin and testosterone, *J. Biol. Chem.* 274 (1999) 17499-17504.
144. O. Warburg, *The Metabolism of Tumors*, Constable, London, 1930
145. Блюменфельд Л.А. Воеводский В.В. Семенов А.Г. Применение ЭПР в химии. Изд. СОАН СССР. Новосибирск. 1962.
146. Ингрэм Д. В кн: *Электронный парамагнитный резонанс в биологии*. М. Мир. 1972.
147. Federico Martínez et al. Structural and Functional Changes in Mitochondria Associated with Trophoblast Differentiation: Methods to Isolate Enriched Preparations of Syncytiotrophoblast Mitochondria. *Endocrinology* , 1997 Vol. 138, No. 5 2172-2183
148. Королук МА, Иванова ЛИ, Майрова ИГ, Токарев ВЕ. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное Дело*, 1988, 1:16-19.

149. მარინა ჭელიძე. პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიითა და პროსტატის ადენოკარცინოზით დაავადებული მამაკაცების სისხლის ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების შესწავლა. დისერტაცია, 1999, თბილისი.
150. Kanbagli Öznur et al. Hepatic Mitochondrial Prooxidant and Antioxidant Status in Ethanol-Induced Liver Injury in Rats. *B.P.B.*, No11. 2002:1482-1489.
151. Levêque Philippe P., Godechal Quentin, Gallez Bernard. EPR Spectroscopy and Imaging of Free Radicals in Food. *Israel Journal of Chemistry*, 2008, vol.48:19–26.
152. <http://minf.vub.ac.be/~fabi/edu/3degraad/HIV/cytochrome.html>
153. <http://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/IPR002399>
154. Зайцев В.Г., Закревский В.И.//Методологические аспекты исследований свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма//Тетрадь Исследователя, 2000, Пуб. №3
155. Andersen H.R., Nielsen J.B., Nielsen F. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem* 1997, 43:4, 562-568
156. Della Rovere F., et al. SH groups and glutathione in cancer patients. *J. Anticancer Res.*, vol.20, 2000:1595-98.
157. Singh Keshav K, Desouki Mohamed M, Franklin Renty B, Costello Leslie C. Mitochondrial aconitase and citrate metabolism in malignant and nonmalignant human prostate tissues. *Molecular Cancer* vol. 5. 2006 :14 – 17.
158. Balaban RS, Shino N, Finkel T. Mitochondria, oxidants and aging. *Cell*, 2005, Vol. 120, 483-495.
159. Balendiran G.K., et al. The role of glutathione in cancer. *J. Cell Biochem. Funct.*, vol. 22. 2004: 43-52.
160. Варганын Л.С. [<http://obi.img.ras.ru>]
161. Зваршхановский Ф.А. с др. Протективное действие супероксиддисмутазы при эмоционально-болевым стрессе. *Воп. Мед. Химии*, 1987, ст. 49-53
162. Theodore M. Brasky et al. Plasma Phospholipid Fatty Acids and Prostate Cancer Risk in the SELECT Trial. *JNCI J Natl Cancer Inst* (2013) djt174 doi: 10.1093/jnci/djt174 First published online July 10, 2013
163. Артемчик В.Д. и др. Пероксидазная активность каталазы модифицированной прогестероном. *Биохимия*, 1986, т.51, вып.8, с. 1355-1360
164. Alibegashvili M., Kotrikadze N., Chigogidze T. et al. Tumoral Transformations and Ferments. *Georgian Medical Bulletin*, 2000, 1-2, p.1355-1360