

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი
ფიზიკის დეპარტამენტი

ეკა შეყილაძე

**„DPPC და DPPA ლიპოსომებთან წარმოქმნილი სხვადასხვა ტიპის
ლიგანდების კომპლექსების კალორიმეტრული, სპექტროფოტომეტრული
და ციტომეტრული კვლევები“**

სადისერტაციო ნაშრომი შესრულებულია ფიზიკის დოქტორის
აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

თსუ ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა
ფაკულტეტის ფიზიკის დეპარტამენტის პროფესორი,
ფიზ-მათ. მეცნ. დოქტორი
თამაზ მძინარაშვილი

თსუ ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტის
ფიზიკის დეპარტამენტის ასისტენტ პროფესორი,
ბიოლოგიის მეცნ. დოქტორი
მარიამ ხვედელიძე

თბილისი 2017

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University

Faculty of Exact and Natural Sciences

Department of Physics

Eka Shekiladze

**"Calorimetric, Spectrophotometric and Cytometric Studies of Complexes of
Different Types of Ligands Formed with DPPC and DPPA Liposomes"**

The thesis work is performed to obtain a PhD degree in Physics

Scientific supervisors:

Tamaz Mdzinarashvili

Doctor of Phys-Math Sciences. Professor

Mariam Khvedelidze

Doctor of Biology, Assistant Professor

Department of Physics,

Faculty of Exact and Natural Sciences TSU

Tbilisi 2017

ანოტაცია

დიფერენციალური სკანირებადი მიკროკალორიმეტრული მეთოდით შესწავლილი იქნა ორი ტიპის ფოსფოლიპიდებისაგან (DPPC და DPPA) დამზადებული ლიპოსომების თერმოდინამიკური თვისებები. ეს ლიპიდები განსხვავდებიან მხოლოდ ლიპიდის პოლარული თავაკებით, ხოლო კუდების ქიმიური შემადგენლობა ერთნაირი აქვთ. კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ DPPA ლიპოსომების ფაზური გადასვლის ტემპერატურა შეადგენს 66°C , მაშინ როდესაც DPPC ლიპოსომების ტემპერატურა განისაზღვრება მხოლოდ 42°C -ით. აღმოჩნდა, რომ DPPC ლიპოსომების მთავარი, კოოპერატიული პიკის წინა ტემპერატურულ ინტერვალში კიდევ დაიმზირება ორი მცირე სითბოსშთანთქმის პიკი (ე.წ. წინა გადასვლის პიკები), რომლებიც არ შეიმჩნევა DPPA ლიპოსომების შემთხვევაში. ეს გვაძლევს საშუალებას დავასკვნათ, რომ DPPA ლიპიდებისაგან დამზადებული ნანონაწილაკები არიან უნილამელარული, ანუ ერთშირიანი ლიპიდური ბიშრე, ხოლო DPPC ლიპიდებისგან დამზადებული ნანონაწილაკების სტრუქტურა უნდა იყოს მულტილამელარული - მრავალშირიანი ლიპიდური ბიშრე. ასევე მიღებულია ექსპერიმენტული შედეგები, რომელიც ცალსახად აჩვენებს, რომ ტემპერატურით ზემოქმედებით ლიპოსომების სტრუქტურული მთლიანობა არ ირღვევა მაღალი (150°C) ტემპერატურის პირობებშიც კი.

ჩატარებული კვლევების საფუძველზე ჩვენს მიერ შემუშავებული იქნა ნანონაწილაკების დამზადების ახალი მარტივი ტექნოლოგია, რომელიც იძლევა საშუალებას დროის მოკლე ინტერვალში დამზადდეს, როგორც სუფთა სახის ნანონაწილაკები, ასევე კომპლექსური ნაწილაკები, რომლის სტრუქტურაშიც შესაძლებელია ინკორპორირებულნი იქნენ, მაგალითად, სამკურნალო წამლის მოლეკულები, როგორც ჰიდროფობული ასევე ჰიდროფილური, რითიც ასეთი შეფუთვის წამლები გაზრდიან მკურნალობის ეფექტურობას. ის რომ წარმოდგენილი მეთოდით მართლაც მიღებული იქნა კომპლექსური ლიპოსომები, დადასტურებული იქნა სხვადასვა ფიზიკური და ბიოლოგიური მეთოდების გამოყენებით. კონკრეტულად ჩვენი მეთოდით DPPC და DPPA ლიპიდებისაგან დავამზადეთ კომპლექსური

ლიპოსომები, რომლის შემადგენლობაშიც მოვათავსეთ ფლუორესცენინი, C და E ვიტამინები და ასევე 24 ნმ დიამეტრის ოქროს ნანონაწილაკები. შევისწავლეთ მათი ფიზიკური თვისებები და მოქმედება უჯრედებზე. კერძოდ, C და E ვიტამინიანი კომპლექსური ლიპოსომების ურთიერთქმედება სიმსივნურ Jurkat უჯრედებთან შესწავლილი იქნა MTT მეთოდით, რომლის შედეგად დადასტურდა კომპლექსური ლიპოსომების მოქმედების ეფექტურობა Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის ზრდის ხარისხზე. ასევე გამოცდილი იქნა კომპლექსური ფლუორესცენინიანი - DPFC ნანონაწილაკების სისხლის წითელ და სიმსივნის Caco 2 უჯრედებზე მოქმედება. დადგინდა, რომ ნანონაწილაკები შევიდა მხოლოდ სიმსივნის Caco 2 უჯრედების შიგნით, ხოლო ჯანმრთელ სისხლის წითელ უჯრედებში შეღწევა ვერ შეძლეს.

Abstract

Thermodynamic properties of two types of liposomes, prepared by DPPC and DPPA, were investigated using differential scanning microcalorimeter method. These two types of lipids differ from each other only by polar lipid's head and the chemical composition of the tails are the same for both of them. The carry out research reveal that the phase transition temperature for DPPA liposomes is 66°C, while for DPPC liposomes the phase transition temperature is only 42°C. It turned out that there are two small pretransition peaks before the main cooperative transition peak for DPPC liposomes, which are not observed in case of DPPA liposomes. This makes it possible to assert that liposomes made from DPPA are unilammellar, or in other words, they have only one lipid bilayer. In case of liposomes, made from DPPC lipids, the structure of liposomes are multilayer. Also the experimental results reveal that the structure of liposomes is not completely destroyed at such high temperature as 150°C.

On the basis of experiments it was developed by us a new simple methodology to prepare nanoparticle, which gives possibility to prepare them very fast. This method can be extended for both: as to simple liposomes, also to complex nanoparticles, inside of which hydrophobic and hydrophilic drugs can be incorporated. This gives possibility to increase the treatment efficiency. The preparation of complex liposomes by our method was confirmed with different physical and biological methods.

Particularly the complex liposomes made from DPPC and DPPA, inside of which the fluorescein, vitamin C, E and 24nm gold nanoparticles were incorporated by our method. We have investigated their physical properties and influence on cells. In particular, the interaction of complex liposomes with vitamin C and E incorporated inside them were investigated on Jurkat cells by MTT method. The results revealed the efficiency of influence of complex liposomes on Jurkat cells which increase the degree of proliferation. Also it was investigated the influence of DPPC-fluorescein complex liposomes on red blood cells and cancer Caco 2 cells, which reveal that nanoparticles uptake take place only in case of cancer Caco 2 cells. It should be mentioned that above mentioned nanoparticle does not influence on healthy red blood cells.

სარჩევი

შესავალი.....	3
აბრევიატურები და შემოკლებები.....	7
I თავი. ლიტერატურის მოძიება	8
1.1 ლიპოსომები და მისი გამოყენება მედიცინაში.....	8
1.2 ლიპოსომების მომზადების მეთოდები	13
1.3 ლიპოსომების სტრუქტურა	16
1.4 ლიპიდური ბიშრის სტაბილიზაციის ფიზიკური მექანიზმი	21
1.5 ფოსფოლიპიდის ფაზები წყალში და ფაზური გადასვლები მემბრანულ სისტემებში	23
1.6 ლიპოსომებში ფაზური გადასვლების თერმოდინამიკური კვლევები	31
1.7 ლიპოსომების ურთიერთქმედება უჯრედულ მემბრანასთან	34
II თავი. ექსპერიმენტული ნაწილი	41
2. გამოყენებული მასალები და მეთოდები	41
2.1 გამოყენებული მასალები	41
2.1.1 DPPA და DPPC ლიპოსომები.....	41
2.1.2 კომპლექსური ლიპოსომების დამზადებისას გამოყენებული ლიგანდები	42
2.1.3 ოქროს ნანონაწილაკი.....	42
2.2 კვლევებში გამოყენებული ფიზიკური მეთოდები	43
2.2.1 კალორიმეტრული მეთოდი	43
2.2.2 სპექტროფოტომეტრული მეთოდი	52
2.2.3 გამდინარე ციტომეტრიის მეთოდი	53
2.2.4 კვლევებში გამოყენებული სხვა მეთოდები	55
2.3 DPPA და DPPC ლიპოსომების მომზადების მეთოდი	55
2.4 კომპლექსური ლიპოსომების მომზადების ახალი მეთოდი	56

2.5 კომპლექსური ლიპოსომების მომზადება C და E ვიტამინების თანაობისას ...	62
III თავი. ჩატარებული კვლევები და მიღებული შედეგები	63
3.1 კალორიმეტრული კვლევა	63
3.1.1 სუფთა ლიპოსომების კალორიმეტრული კვლევა	63
3.1.2 კომპლექსური ლიპოსომების კალორიმეტრული კვლევა	71
3.2 სპექტროფოტომეტრული კვლევები	82
3.2.1 DPPC-ქოლესტერინიანი ლიპოსომების სპექტროფოტომეტრული კვლევა	82
3.2.2 ფლუორესცენიანი ლიპოსომების სპექტროფოტომეტრული კვლევა	83
3.2.3 ოქროს ნანონაწილაკებიანი ლიპოსომების სპექტროფოტომეტრული კვლევა	85
3.3 ციტომეტრული კვლევა	87
IV თავი. ლიპოსომების ურთიერთქმედება ცოცხალ უჯრედებთან	
4.1 DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომების და ოქროს ნაწილაკების ურთიერთქმედება სისხლის წითელ უჯრედებთან და Caco-2 უჯრედებთან	89
4.2 ლიპოსომებში მოთავსებული C და E ვიტამინის მოქმედება სიმსივნურ jurkat უჯრედებზე	91
V თავი. მიღებული შედეგების ანალიზი	93
დასკვნები	104
გამოყენებული ლიტერატურა	106

შესავალი

პრობლემის აქტუალობა. ცნობილია, რომ გარკვეული დაავადებები ლოკალურად მოიცავს ცალკეულ ორგანოებს და ქსოვილებს. მაგალითად, სიმსივნის დროს მთავარი მოვლენები ვითარდება სიმსივნის განლაგების ადგილას, მიოკარდის ინფაქტის დროს გულის კუნთში, დიზენტერიის დროს ნაწლავებში და ა.შ. წამლის მოქმედების ეფექტი გამოწვეულია სუბსტრატ-რეცეპტორთან მისი მოქმედებით. გასაგებია, რომ სისხლში მოხვედრილი სამკურნალო საშუალება ნაწილდება მთელ ორგანიზმში. ზოგიერთ შემთხვევაში დაიმზირება წამლის დაზიანებულ ორგანოზე მეტ-ნაკლები შერჩევითი მოქმედება, თანაც გასათვალისწინებელია, რომ რაც მეტია პრეპარატის შერჩევითი მოქმედება, მით ნაკლებია გვერდითი და არასასურველი ეფექტები. წამლის მოქმედების ეფექტურობა განისაზღვრება რამდენიმე ფაქტორით. მაგალითის სახით შეიძლება ითქვას პრეპარატის სიმცირე, ანუ წამლის ის სავარისი რაოდენობა (კონცენტრაცია), რომელიც ზუსტად მიტანილი უნდა იყოს დაავადების კერასთან, ისე რომ მინიმალურად შევეხოთ ორგანიზმის სხვა ნაწილებს. დღეს არსებული წამლების უმეტესობა რეალურად შორსაა ზემოთ ნახსენები თვისებისაგან, რამდენადაც არსებული მედიკამენტების უმრავლესობა, რა გზითაც არ უნდა შევიყვანოთ ორგანიზმში ვრცელდება მთელ ორგანიზმში მეტ-ნაკლებად თანაბრად. ეს განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია იმიტომ, რომ ზოგი სამკურნალო პრეპარატი, რომელიც შემადგენლობით საკმაოდ ტოქსიკურია, კურნავს რა თვით დაავადების წყაროს, ამავე დროს ძლიერ ზემოქმედებას ახდენს ჯანმრთელ ორგანოებზე, რის გამოც ეს ფაქტი გვაიძულებს უარი ვთქვათ ამგვარი წამლების გამოყენებაზე და ვისარგებლოთ უფრო ნაკლებად ეფექტური სამკურნალო საშუალებებით.

კვლევის მიზანია შესწავლილი იყოს დღესდღეობით ისეთ აქტუალური და მნიშვნელოვანი ობიექტები, როგორცაა წამლის გადამტანი ნაწილაკები (ლიპოსომები). ასევე დადგენილი იქნეს ნაწილაკების ლიგანდებთან კომპლექსის სტაბილობა სხვადასხვა გარემო პირობების თანაობისას.

წარმოდგენილი ნაშრომი ეძღვნება ნანოტექნოლოგიით დამზადებული ახალი ტიპის წამლების ბიოფიზიკურ კვლევებს. ვარაუდობთ, რომ შესასწავლი ობიექტები - ნანოზომის ნაწილაკები და მასთან კომპლექსში მყოფი სხვადასხვა სახის წამლები უნდა იყვნენ გაცილებით ეფექტური დღეს არსებულ წამლებთან მიმართებაში. აქედან გამომდინარე ნათელია თუ რამდენად აქტუალურია დადგენილი იყოს ახალი ტიპის წამლების (წამალი-ნანონაწილაკების კომპლექსი) ისეთი აუცილებელი და მნიშვნელოვანი თვისებები, როგორებიცაა: ნანონაწილაკებისა და წამლების კომპლექსების ტემპერატურული სტაბილობა და დადგინდეს იმ ნანონაწილაკების ტიპების ჩამონათვალი, რომლებიც დააკმაყოფილებს ყველა იმ პირობას რომელიც საჭირო იქნება მათი პრაქტიკაში გამოყენებისთვის.

მეცნიერული სიახლე: ნანოტექნოლოგიით დამზადებული იქნა ახალი ტიპის ფარმაკოლოგიური საშუალება, სადაც უჯრედისთვის არატოქსიკური ნივთიერებისგან დამზადებულ ნანონაწილაკებში ინკონპირებულია სამკურნალო, ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები (წამლები). განსხვავება ამჟამად ფარმაკოლოგიურ ქსელში არსებულ წამლებსა და ნანოტექნოლოგიით შექმნილ სამკურნალო საშუალებებს შორის მდგომარეობს იმაში, რომ წამლის შემცველი ნანონაწილაკები უნდა იყვნენ უფრო ეფექტური, ვინაიდან გარდა იმისა, რომ მათი მეშვეობით შესაძლებელი იქნება წამალი მიზანმიმართულად იყოს მიტანილი დაზიანებულ ქსოვილთან, მათ უნდა შეეძლოთ გადალახონ უჯრედის მემბრანა და შეაღწიონ უჯრედის ციტოპლაზმაში. უჯრედში მოხვედრილი ნანონაწილაკები უჯრედული ფერმენტების მოქმედებით უნდა დაიშალოს და ნანონაწილაკების სტრუქტურაში შემავალი წამალი აღმოჩნდება უჯრედის ციტოპლაზმაში.

ნაშრომის პრაქტიკული მნიშვნელობა. წარმოდგენილ ნაშრომში მოყვანილი ტექნოლოგიის მიხედვით მოხერხდა დამზადებულიყო კომპლექსური ლიპოსომები, რომელთა შემადგენლობაშიც მოთავსებული იქნა, როგორც ჰიდროფობული, ასევე ჰიდროფილური მოლეკულები. გარდა ამისა იგივე მიდგომით ლიპოსომებში მოვათავსეთ ოქროს ნანონაწილაკები. ყველა შემთხვევაში ასეთი კომპლექსური

ლიპოსომების მომზადებას დაჭირდა 30 წუთზე ნაკლები დრო. გარდა ამისა ავლნიშნავთ, რომ აღნიშნული კომპლექსური ლიპოსომების მომზადების მეთოდი განსხვავებულია აქამდე არსებული იგივე კომპლექსური ლიპოსომების მომზადების მეთოდებისაგან და არის უფრო სწრაფი, მარტივი და იაფი. ჩვენი აზრით აღნიშნული მეთოდი უნდა იყოს საყურადღებო ფარმაცოლოგებისთვის, რომლებიც შეძლებენ გამოიყენონ ჩვენი პროტოკოლები რათა დაამზადონ მათთვის სასურველი კომპლექსური ლიპოსომები.

ნაშრომის მოცულობა და სტრუქტურა:

სადისერტაციო ნაშრომი მოიცავს 105 გვერდს. შედგება შემდეგი ძირითადი თავებისაგან: შესავალი, ლიტერატურის მიმოხილვა, ექსპერიმენტული ნაწილი, ჩატარებული კვლევები და მიღებული შედეგები, ლიპოსომების ურთიერთქმედება ცოცხალ უჯრედებთან, მიღებული შედეგების ანალიზი, დასკვნები, ციტირებული ლიტერატურის ნუსხა 139.

ნაშრომში მოყვანილია 18 სურათი, 13 ნახაზი, 2 დიაგრამა და 1 ცხრილი.

პუბლიკაციები:

დისერტაციის მასალებზე გამოქვეყნებულია 3 სამეცნიერო სტატია, აქედან 1 იმპაქტ ფაქტორის მქონე ჟურნალში, 2 რეფერირებად და რეცენზირებულ ჟურნალში და 4 საერთაშორისო კონფერენციის თეზისების სახით.

დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებული პუბლიკაციების და თეზისების

საერთო სია:

1. **E.Shekiladze**, T.Mdzinarashvili, M.Khvedelidze, „Calorimetric study the stability of DPPC liposomes and C and E vitamins complexes“ *Experimental and Clinical medicine*, Vol.2, pp. 71-73, 2017.
2. T.Mdzinarashvili, M.Khvedelidze, **E.Shekiladze**, R.Machaidze ”Novel technology for the fast production of complex nanoliposomes” *Journal of Biological Physics and Chemistry*, Vol.16/4, pp. 172-176, 2016.
3. M.Khvedelidze, T.Mdzinarashvili, **E.Shekiladze**, M.Schneider, D.Moersdorf, I.Bernhardt ”Structure of drug delivery DPPA and DPPC liposomes with ligands and their permeability through cells” *Journal of Liposome Research*, Vol. 25, №1, pp. 20-31, 2015.
4. M. Khvedelidze , T. Mdzinarashvili, **E. Shekiladze**. „Incorporation of Vitamins in DPPC Nanoparticles as Novel Approach for Drug Delivery to Tumorous MDCK Cells“ The NutRedOx COST Action CA16112 & the 6 th NutriOx Atelier 2017 Preventing Age-Related Diseases with RedoxActive Compounds: a taste of controversy? Strasbourg, ECPM, University of Strasbourg, September 27th – 29th, p.60, 2017.
5. **E.Shekiladze**, T.Mdzinarashvili, M. Khvedelidze ” Calorimetric researches of stability of complexes DPPC liposomes with Vitamin C and Vitamin E” International Conference on Advances in Science and Arts, Istanbul, Turkey, March 29th-31th, p.116, 2017.
6. **E.Shekiladze**, T.Mdzinarashvili, M.Khvedelidze ”Study the permeability of liposomes loaded with different ligands through Caco-2 cells” IV International Scientific-practical Conference ”Chemistry, Bio- and Nanotechnology, Ecology and Economics in Food and Cosmetic industry”, Kharkov, Ukraine, October 17th-18 th, p.79, 2016.
7. T.Mdzinarashvili, M.Khvedelidze, **E.Shekiladze**, L.Cheishvili, “The new technology of preparing nanosized complex phospholipids” The First SDSU – Georgia STEM WORKSHOP on Nanotechnology and Environmental Sciences, Tbilisi , Georgia, September 4 th-5 th, p.19, 2015.

აბრევიატურები და შემოკლებები

DPPA - დიპალმიტოილფოსფატის მჟავა

DPPC - დიპალმიტოილფოსფატიდილ ქოლინი

DSC - დიფერენციალური სკანირებადი კალორიმეტრი

$T_{\text{გ}}$ - ფაზური გადასვლის ტემპერატურა

MLV - მულტი ლამელარული ვეზიკულები

OVV - ოლიგო-ლამელარული ლიპოსომები

SUV - პატარა უნილამელარული ვეზიკულები

LUV - დიდი უნილამელარული ვეზიკულები

MUV - საშუალო ზომის უნილამელარული ვეზიკულები

L_{α} - ლამელარული თხევადკრისტალური ფაზა

L_{β} - ლამელარული გელური ფაზა

I (H_I) - ჰექსაგონალური ფაზა

II (H_{II}) - ჰექსაგონალური ფაზა

P - გოფრირებული ფაზა

რეს - რეტიკულარულ ენდოთელიალური სისტემა

AuNp - ოქროს ნანონაწილაკები

I თავი. ლიტერატურის მოძიება

1.1 ლიპოსომები და მისი გამოყენება მედიცინაში

გარკვეული დაავადებები ლოკალურად მოიცავს ცალკეულ ორგანოებს და ქსოვილებს. სისხლში მოხვედრილი სამკურნალო საშუალება ნაწილდება მთელ ორგანიზმში. ზოგიერთ შემთხვევაში დაიმზირება წამლის დაზიანებულ ორგანოზე მეტ-ნაკლები შერჩევითი მოქმედება, თანაც გასათვალისწინებელია, რომ რაც მეტია პრეპარატის შერჩევითი მოქმედება, მით ნაკლებია გვერდითი და არასასურველი ეფექტები. წამლის მოქმედების ეფექტურობა განისაზღვრება რამდენიმე ფაქტორით, კერძოდ, მაგალითის სახით შეიძლება ითქვას პრეპარატის სიმცირე, ანუ წამლის ის საკმარისი რაოდენობა (კონცენტრაცია), რომელიც ზუსტად მიტანილი უნდა იყოს დაავადების კერასთან, ისე რომ მინიმალურად შევეხოთ ორგანიზმის სხვა ნაწილებს. დღეს არსებული წამლების უმეტესობა რეალურად შორსაა ზემოთ ნახსენები თვისებისაგან, რამდენადაც არსებული მედიკამენტების უმრავლესობა, რა გზითაც არ უნდა იყოს შევიყვანოთ ორგანიზმში ვრცელება მთელ ორგანიზმში მეტ-ნაკლებად თანაბრად. ხშირად ხდება ხოლმე, რომ სამკურნალო პრეპარატი, რომელიც შემადგენლობით საკმაოდ ტოქსიკურია, ძლიერ ზემოქმედებას ახდენს ჯანმრთელ ორგანოებზე, მაგრამ კურნავს თვით დაავადების წყაროს. ამის გამო, ხშირად ეს ფაქტი გვაიძულებს უარი ვთქვათ ამგვარი წამლების გამოყენებაზე და ვისარგებლოთ უფრო ნაკლებად ეფექტური სამკურნალო საშუალებებით [1,2].

მეცნიერები აქტიურად მუშაობენ ისეთი ტიპის წამლების შექმნაზე, რომლებიც იმოქმედებენ მხოლოდ სამიზნე ორგანოზე. ამის მიღწევა შესაძლებელია წამლის გადამტანი სხვადასხვა ნაწილისტემების საშუალებით, რომლებიც გამოირჩევიან მოქმედების სელექტიურობით და მკურნალობის ეფექტურობით. არსებული პრობლემის მოგვარების ერთ-ერთ ყველაზე რეალურ გზად საჭიროა წამლის

მატარებლების შექმნა, რომლებიც სამკურნალო საშუალებებს ზუსტად დანიშნულების ადგილას მიიტანენ [3].

წამლის გადამტანი ნანონაწილაკები კლასიფიცირდებიან ორ ძირითად ჯგუფად არაორგანული და ორგანული ნანოგადამტანები. არაორგანულ ნანოგადამტანებში ერთიანდებიან ოქროს ნანონაწილაკები, კვანტური წერტილები, რკინის ოქსიდის ნანონაწილაკები, კვარცის ნანონაწილაკები, პარამაგნეტური ლანთანიდური იონები და მაგნიტური ნანონაწილაკები. ხოლო ორგანული ნანონაწილაკებში კი ერთიანდებიან დენდრიმერები, პოლიმერული მიცელები, ლიპოსომები და ფერიტინი.

არაორგანული ნანონაწილაკებიდან აღსანიშნავია ოქროს ნანონაწილაკები, რომლებიც წარმატებით გამოიყენება როგორც ბიოლოგიაში ასევე ტექნოლოგიაში მათ უნიკალური ოპტიკური შესაძლებლობების გამო. აღსანიშნავია და სუპერპარამაგნეტური რკინის ოქსიდის ნანონაწილაკები (სპიონ), რომლებიც ფართოდ გამოიყენება ბიოლოგიასა და მედიცინაში, თუმცა დაუფარავი რკინის ოქსიდის ნანონაწილაკს აქვს დაბალი ხსნადობა, შედეგად მასზე მოქმედებს გრავიტაციული ძალები და ხდება მათი აგლომერაცია ფიზიოლოგიურ ერთეულებში. იმისათვის, რომ რკინის ოქსიდის ნანონაწილაკები გამოყენებული იქნეს ეფექტურად კლინიკური მიზნებისთვის ეს ნანონაწილაკები უნდა მოთავსდნენ შედარებით დიდი დიამეტრის ორგანულ ნანონაწილაკებში, რომელთა მართვაც ორგანიზმში შესაძლებელი იქნება მაგნიტური ველის მეშვეობით[4,5].

სამკურნალო პრეპარატების სელექტურობის გასაუმჯობესებლად დღეისათვის მსოფლიოს ბევრ კვლევით ცენტრებში აქტიურად მიმდინარეობს კვლევები, რომელთა მიზანიც არის უჯრედული მემბრანის რეცეპტორების გამოყენებით წამალი მიზანმიმართულად იყოს მიტანილი დაავადებულ ქსოვილებთან. წამლის გადამტანი საშუალებების შემადგენლობის მიმართ ერთ-ერთი უმთავრესი მოთხოვნაა მათი არატოქსიკურობა, ისევე როგორც მნიშვნელოვანია, რომ წამალ-გადამტანის კომპლექსის სტრუქტურის ცოდნა, რომელიც დაზიანებულ ქსოვილთან მიტანის შემთხვევაში უნდა იყოს მაქსიმალურად შენარჩუნებული, ანუ წამალ-გადამტანი კომპლექსის სტაბილობა

ორგანიზმში არსებულ გარემო პირობების ფიზიკო-ქიმიური თვისებებიდან გამომდინარე უნდა იყოს გარანტირებული. გარდა ამისა კომპლექსის დაავადებულ უჯრედში მოხვედრის შემდეგ კი უჯრედში არსებული ფერმენტების მეშვეობით უნდა ხდებოდეს კომპლექსიდან წამლის გამონთავისუფლება [6-9].

წამალ-გადამტანი კომპლექსის ეფექტურობისთვის მნიშვნელობა აქვს კომპლექსის ზომებსაც, რომელიც გასაგები მიზეზების გამო უნდა იყოს მნიშვნელოვნად (ერთი რიგით) მცირე, ვიდრე უჯრედის ზომები. ლაპარაკია რამდენიმე ათეულ ზომის ნაწილაკებზე, რომლის ზომებიც ნანომეტრების რიგისაა. ამავე დროს ნაწილაკის ზომაზეა დამოკიდებული, თუ რა კონცენტრაციის სამკურნალო საშუალება მოთავსდება ნანონაწილაკების სტრუქტურაში, რომელიც საკმარისი უნდა იყოს უჯრედის სამკურნალოდ, ისე რომ ციტოპლაზმაში მოხვედრის წინ ნაკლებად შეშფოთდეს (ან დაზიანდეს) უჯრედის მემბრანა. მეცნიერებმა დაადგინეს, რომ საშუალოდ 100-200 ნანომეტრის დიამეტრის ნანონაწილაკების ზომა არის ოპტიმალური ზომა მათი პრაქტიკული გამოყენების თვალსაზრისით [10-14].

ნანოტექნილიგიით შეფუთული წამალები არ განიცდიან არანაირ სტრუქტურულ ცვლილებას და ყოველგვარი ქიმიური მოდიფიცირების გარეშე მიიტანება დაზიანებულ ქსოვილებთან. მნიშვნელოვანია, რომ ასეთნაირად შეფუთული წამლის გამოყენებას თან არ ახლავს ე.წ. გვერდითი ეფექტები, რადგანაც შემცირებულია წამლით გამოწვეული ტოქსიურობა. შესაბამისად ისინი უფრო ეფექტურ ანტიბიოტიკურ და ანტივირუსულ საშუალებას წარმოადგენენ. აგრეთვე შესაძლებელია დამზადდეს ნანონაწილაკები, რომლის სტრუქტურაში მოთავსებული იქნება ჰორმონები, პროტეინები, დნმ, ანტისხეულები და სხვა საჭირო მოლეკულები. უნდა აღინიშნოს, რომ ზოგიერთი ასეთი ტიპის ნანონაწილაკები მეცნიერებმა უკვე შექმნეს, რომლებიც შემქმნელების აზრით გამოირჩევა მკურნალობის ეფექტურობით [15-19]. ნანოსისტემების შექმნაში ხშირად გამოიყენება ფოსფოლიპოსომები, რომლებიც ორგანიზმში მოძრაობისას იცავს წამალს გარეშე ფაქტორების ზემოქმედებისგან და ამავე დროს რადგანაც ისინი მზადდება ორგანიზმისთვის უსაფრთხო ქიმიური

მოლეკულებისაგან, შესაბამისად ორგანიზმისთვის არიან უსაფრთხო. მთავარი უპირატესობა ასეთი შემადგენლობის ლიპოსომებისა მდგომარეობს იმაში, რომ ხელოვნურად დამზადებული ლიპოსომები ვერ გამოიწვევს ნეგატიურ რეაქციებს ადამიანის ორგანიზმში მოხვედრისას [20,21].

წამლის ერთ-ერთი პერსპექტიულ გადამტან საშუალებად განიხილავენ ლიპოსომებს, ვინაიდან ლიპოსომური პრეპარატები კლინიკურად გამოცდილია და ზოგიერთ მათგანს გააჩნიათ ფარმაცოლოგიური ლიცენზიაც კი [22,23].

ლიპოსომების, როგორც წამლების გადამტანის სახით გამოყენების მცდელობა სათავეს იღებს გასული საუკუნის 70-იანი წლების დასაწყისიდან. ნაჩვენები იქნა, რომ ლიპოსომებს შეუძლიათ გარკვეულ პირობებში მიმართონ მათში ჩართული ფერმენტები სპეციფიკურ უჯრედშიგა ცენტრებისაკენ, ასევე შეიყვანონ წამლები უჯრედებში და ზეგავლენა იქონიონ მათ მეტაბოლიზმზე [24]. პირველად ლიპოსომები გამოყენებული იქნა სიმსივნური უჯრედების საწინააღმდეგოდ და დადგენილი იქნა, რომ ციტოტოქსიკური წამლების ტრანსპორტი ავთვისებიან უჯრედებში ლიპოსომების საშუალებით არა მხოლოდ თრგუნავს წამლის მოქმედებით გამოწვეულ გვერდით ეფექტებს ჯანსაღ ქსოვილებზე, არამედ ამცირებს წამლის დანაკარგს და მის ინაქტივაციას [25,26].

ლიპოსომები ეფექტური აღმოჩნდა ანტიმიკრობული პრეპარატების მატარებლების სახითაც. მაგალითად, ნაჩვენები იქნა, რომ პენიცილინის შემცველი ლიპოსომები ახანგრძლივებენ წამლის ცირკულაციას სისხლში და ცვლიან მის განაწილებას ქსოვილებში [25].

ინტრავენური ინექციისას ლიპოსომები ლოკალიზდებიან უმეტესად ღვიძლსა და ელენთაში. რიგ შემთხვევაში საჭირო ხდება ლიპოსომების მიმართვა ალტერნატიული სამიზნეებისაკენ. ამის მიღწევა შესაძლებელია ლიპოსომების ზომის, ზედაპირის მუხტის და შემადგენლობის ვარირებით. დაადგენილი იქნა, რომ დადებითად დამუხტული ან ნეიტრალური ლიპოსომები ლოკალიზდებიან უმეტესად მიოკარდის ინფაქტურ ქსოვილებში, უარყოფითად დამუხტულ ლიპოსომებთან შედარებით [27].

ასევე ნაჩვენები იქნა, რომ პატარა ზომის ლიპოსომები სისხლში ცირკულირებენ დიდი ხნის განმავლობაში, გადიან კაპილარებში და აღწევენ მრავალ უბანს. სიმსივნით დაავადებულ თაგვებზე ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა აჩვენა, რომ დიდი ზომის ლიპოსომებს არ შესწევთ ამის უნარი, ისინი ძირითადად შთაინთქმება ღვიძლსა და ელენთაში[28].

მაინც რა უპირატესობა აქვთ ლიპოსომებს სხვა წამლების მატარებლებთან შედარებით?

პირველ რიგში ეს არის მათი ნათესავობა ბუნებრივ უჯრედულ მემბრანასთან ქიმიური შემადგენლობით. ცნობილია, რომ ლიპიდები, რომლებიც უჯრედის მემბრანის მთავარი კომპონენტია შეადგენს მისი მასის 20-80%-ს. სწორედ, ამის გამო ლოგიკურია, რომ ლიპიდების უჯრედთან ურთიერთქმედებისას ორგანიზმის მხრიდან არავითარი უარყოფითი რეაქციები არ დაიმზირება [29,30].

ლიპოსომების მნიშვნელოვანი თვისებაა მათი უნივერსალობა, რაც იმაში გამოიხატება, რომ მათი მომზადების სხვადასხვა ტექნოლოგიები იძლევა საშუალებას მათი ზომების ფართო ინტერვალში ვარიაციისა (დიამეტრი შეიძლება იცვლებოდეს ათეულობით ნანომეტრიდან ათეულობით მიკრომეტრამდე), ისევე როგორც შესაძლებელია დამზადდეს სხვადასხვა ქიმიური შემადგენლობის, ზედაპირის მუხტის, ჩაჭერის მოცულობის, შრების რაოდენობის ლიპოსომები. ყველა ეს ტექნოლოგია უნდა ითვალისწინებდეს იმას, რომ იყოს შესაძლებლობა ისინი კონსტრუირდეს ისე, რომ მოხდეს ნივთიერებების ჩაჭერა, როგორც მათ წყლიან გარემოში, ასევე ის შეიძლება განთავსდეს ბიშრის შიგნით, ისევე როგორც შესაძლებელია მათი განთავსება ლიპოსომების ზედაპირზე (მსგავსად მემბრანული ცილებისა მემბრანაზე). მსგავსება ლიპოსომებსა და ბუნებრივ მემბრანებს შორის შეიძლება გაზრდილი იყოს ლიპოსომური მემბრანის ქიმიური მოდიფიკაციით. ეს ყველაფერი საშუალებას აძლევს ლიპოსომებს გადაიტანონ ფართე წრე ფარმაკოლოგიურად აქტიური ნივთიერებებისა: ანტისიმსივნური, ანტიმიკრობული პრეპარატები, ისევე როგორც ჰორმონები, ფერმენტები, ვაქცინები და სხვა [29,30].

1.2 ლიპოსომების მომზადების მეთოდები

ამჟამად ლიპოსომების დამზადების პროცესი ხორციელდება სხვადასხვა პროტოკოლების გამოყენებით, რომლის მიხედვით შესაძლებელია დამზადდეს განსხვავებული ქიმიური შემადგენლობის და განსხვავებული ფიზიკური თვისებების (ზომა, ლამელების რაოდენობა, ზედაპირული მუხტის სიდიდე, შიდა წყლიანი მოცულობა და სხვა) ვეზიკულები [31]. ფოსფოლიპიდებისაგან შესაძლებელია დამზადებული იყოს როგორც პატარა დიამეტრის ვეზიკულა, რომელიც გარშემორტყმული იქნება ერთი ფოსფოლიპიდური ბიშრით, ასევე შესაძლებელია დამზადდეს დიდი ზომის ვეზიკულა, რომელიც იქნება რამდენიმე ბიშრის ფენისაგან შედგენილი. გასაგებია, რომ რაც უფრო მეტი ბიშრისაგან იქნება წარმოქმნილი ვეზიკულა მით უფრო დიდი იქნება მისი ზომა. ასევე გაწერილია პროცედურები თუ როგორ არის შესაძლებელი ვეზიკულაში მოთავსდეს როგორც ჰიდროფობური ასევე ჰიდროფილური ბუნების წამლებიც [32,33,34].

ლიპოსომების მომზადებამდე აუცილებელია შეირჩეს სწორი მეთოდი, რისთვისაც გათვალისწინებული უნდა იქნეს ლიპოსომების შემადგენელი კომპონენტების თავისებურებანი და იმ ნივთიერებების ფიზიკო-ქიმიური თვისებები, რომლის ენკაფსულირებაც უნდა მოხდეს ლიპოსომის სტრუქტურაში. ასევე გასათვალისწინებელია იმ გარემო არის ბუნება, რომელშიც უნდა მოხდეს ლიპიდური ვეზიკულების დისპერსია. გარდა ამისა უნდა შეირჩეს ვეზიკულების ოპტიმალური ზომა და ენკაფსულირებული ნივთიერების ეფექტური კონცენტრაცია. [40,41]

როგორც უკვე ავლინებთ ლიპოსომების დასამზადებლად გამოიყენება სხვადასხვა მეთოდი, თუმცა აღსანიშნავია, რომ ლიპოსომების მომზადების მეთოდი ოთხი ძირითადი საფეხურისაგან შედგება. საწყის ეტაპზე ლიპიდების განსაზღვრულ რაოდენობას ხსნიან ორგანულ გამხსნელში, მიღებულ ხსნარს ასხავენ ევაპორატორის სპეციალურ, სფერული ფორმის ჭურჭელში, რომელიც 50°C ტემპერატურის წყლიან აბაზანაშია მოთავსებული. ევაპორაცია 30-40 წუთის განმავლობაში მიმდინარეობს და

ბრუნვის სიხშირის შერჩევა ხდება იმდაგვარად, რომ ნაკადში რაც შეიძლება ნაკლები ტურბულენტობა იყო (დაახლოებით 70-90 ბრუნი წუთში). ამის შედეგად მიიღება ამომშრალი ლიპიდების ფენა ევაპორატორის მრგვალი ფორმის ჭურჭლის ფსკერზე. შემდგომ, მიღებულ სისტემაში ასხავენ 60°C-მდე გამთბარი დისტილირებული წყალს, რის შედეგადაც წარმოიქმნება ლიპოსომების თეთრი ფერის რძისებრი სუსპენზია. სასურველი ზომის ლიპოსომების მისაღებად მიღებულ სუსპენზიას ატარებენ სხვადასხვა დიამეტრის მემბრანულ ფილტრში [38,39].

რაც შეეხება ლიპოსომური საშუალებით წამლის გადატანას, ის ხორციელდება ლიპოსომებში წამლის მოლეკულების ენკაფსულიზაციის გზით. ლიპოსომური ენკაფსულიზაციის ტექნოლოგია არის უახლესი გადამტანი ტექნიკა, რომელიც გამოიყენება სამედიცინო კვლევებში, რათა წამლის მიზანმიმართული მიწოდება მოხდეს უშუალოდ იმ ადგილას, სადაც ყველაზე მეტადაა მედიკამენტის მოქმედება საჭირო [37,38].

ცნობილია ლიპოსომებში წამლის მოთავსების ე.წ. პასიური და აქტიური მეთოდები, რომელთა მეშვეობითაც შესაძლებელია წამლის მოლეკულები მოთავსებულნი იყვნენ ლიპოსომურ ვეზიკულებში. კომპლექსური ლიპოსომების მომზადების პასიური მეთოდის პროტოკოლი მოიცავს ორგანულ გამხსნელში, საჭირო თანაფარდობით ლიპიდებისა და წამლის მოლეკულების გახსნას, რომლის შემდეგაც ხდება ხსნარის ევაპორაცია. ორგანული გამხსნელის სრული აორთქლების შედეგად ჭურჭლის ზედაპირზე წარმოიქმნება ლიპიდ-წამლის თხელი ფენა. ამის შემდეგ ჭურჭელში ხდება წყლის დამატება და მექანიკური გზით იხსნება ლიპიდური ფენა წყალში. ხდება ნარევის ინტენსიური შენჯღრევა და ექსტრუდერის გამოყენებით მიიღება სასურველი ზომის ვეზიკულები, რომლის სტრუქტურაშიც წამლის მოლეკულებია ინკორპორირებული [35,36,37]. რაც შეეხება წამლის მოლეკულების ლიპოსომების სტრუქტურაში მოთავსების აქტიურ მეთოდს ის განსხვავებულია ზემოთ მოყვანილი მეთოდისაგან. აქტიური მეთოდი გულისხმობს უკვე მზა, საჭირო ზომის ვეზიკულების წყალხსნარში წამლის მოლეკულების გახსნას და ინტენსიური ნჯღრევის

შედეგად ხდება მოლეკულების ადსორბცია ლიპოსომების ზედაპირზე. ამ მეთოდში მთავარია შეირჩეს ისეთი თვისების (სტრუქტურის) ლიპოსომები, რომელზედაც მოხდება წამლის მოლეკულების ადსორბცია (მაგალითად, ნივთიერების და ლიპოსომების ზედაპირის ელექტროსტატიკური პოტენციალის მეშვეობით) [38,39].

ქვემოთ განხილულია სხვადასხვა ზომის ლიპოსომების დამზადებისას გამოყენებული ის მეთოდები და მიდგომები, რომლებიც ყველაზე აქტიურად გამოიყენება ლიპოსომების დამზადებისას.

მცირე ზომის (15–50 ნმ დიამეტრის) უნილამელარული ვეზიკულების მომზადებისას ყველაზე ხშირად გამოყენება სონიკაციის მეთოდი, ანუ დიდი ზომის მულტილამელარული ვეზიკულების სუსპენზიის ბგერითი ენერგიით დამუშავება. სონიკაციის დროს ძირითადად იყენებენ ზონდის სონიკატორს პასიური ატმოსფეროს ქვეშ. ამ მეთოდის უარყოფითი მხარე იმაში მდგომარეობს, რომ შიდა მოცულობა ანუ ენკაპსულირების ეფექტურობა არის ძალიან დაბალი. ასევე შესაძლებელია მოხდეს: ფოსპოლიპიდების დეგრადაცია, ზონდის წვეროდან მეტალური დაბინძურება და მცირე უნილამელარულ ვეზიკულებთან ერთად მულტილამელარული ვეზიკულების არსებობა [35,42].

მცირე ზომის ვეზიკულების მისაღებად ასევე გამოიყენება ფრენჩ პრესის მეთოდი, რომლის დროს ადგილი აქვს მულტილამელარული ვეზიკულების ექსტრუდირებას მცირე ზომის ნახვრეტებში [35]. ამ მეთოდს რამდენიმე უპირატესობა აქვს სინიკაციის მეთოდთან შედარებით, კერძოდ მიღებული ლიპოსომები არის უფრო დიდი, ვიდრე სონიკაციის შედეგად მიღებული მცირე უნილამელარული ვეზიკულები. ეს მეთოდი არის მარტივი, სწრაფი, განმეორებადი და არასტაბილურ მატერიალთან ფაქიზი მოპყრობის საშალებსაც იძლევა. ამ მეთოდის უარყოფითი მხარე ისაა, რომ რთულია ასეთი ტემპერატურის მიღება და სამუშაო მოცულობა არის შედარებით მცირე (მაქსიმუმ 50 მლ) [35,36,43].

რაც შეეხება დიდი ზომის უნილამელარული ვეზიკულების დამზადებას, ამისათვის გამოიყენება ლიპოსომების გაყინვა–გაღობის მეთოდი. ეს მეთოდი საშუალებას იძლევა

მოხდეს, როგორც სწრაფი გაყინვა მცირე უნილამელარული ვეზიკულების ასევე შემდგომში მათი თანდათანობით გაღობა. მცირე დროით სონიკაციით ახდენენ აგრეგაცირებული, ანუ შეწყებებული მასალების დისპერსია. მთელი პროცედურის მიმდინარეობისას ადგილი აქვს დიდი ზომის უნილამელარული ვეზიკულების წარმოქმნას, რაც განპირობებულია მცირე ზომის უნილამელარული ვეზიკულების შერწყმის მაღალი უნარით. სინთეზის მაინჰიბირებელ ფაქტორად გვევლინება ფოსფოლიპიდების კონცენტრაციის და ასევე გარემოს იონური ძალების ზრდა. ამ შემთხვევაში ენკაპსულირების ეფექტურობა განისაზღვრება 20–30%-ით. [44,45,46].

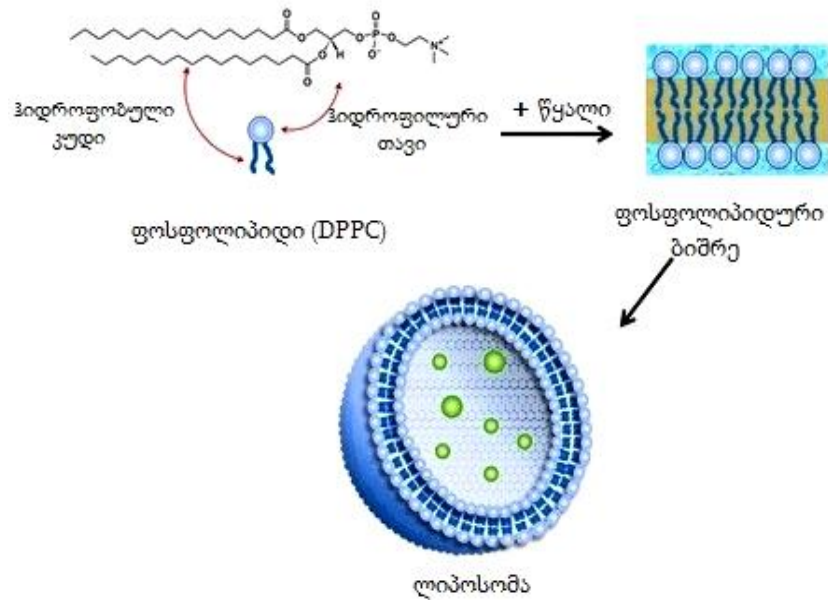
დიდი ზომის უნილამელარულ ვეზიკულების დასამზადებლად ასევე გამოიყენება დიალიზის მეთოდი. ამ მეთოდის დროს ლიპიდების ხსნადობისთვის იყენებენ დეტერგენტებს, გადათვლილს (კრიტიკულ) მიცელურ კონცენტრაციებზე. როგორც კი მოხდება დეტერგენტების მოცილება, მიცელები ერთდებიან და წარმოქმნიან დიდი ზომის უნილამელარულ ვეზიკულებს. დეტერგენტების მოცილება სწორედ დიალიზით ხდება. ამ მეთოდის უპირატესობა ის არის, რომ წარმოქმნება ლიპოსომების ჰომოგენური პოპულაციები ზომის მიხედვით. რაც შეეხება უარყოფითი მხარეს, მდგომარეობს იმაში, რომ ადგილი აქვს დეტერგენტების შეკავებას ლიპოსომების სტრუქტურაში [47,48,49].

1.3 ლიპოსომების სტრუქტურა

ლიპოსომები მცირე ზომის ვეზიკულებია, რომელშიც წყლიანი მოცულობა მთლიანად გარშემორტმულია ერთი, ან რამოდენიმე ლიპიდური ბიშრით. ლიპოსომები, ბიოლოგიური მემბრანის მსგავსად წარმოადგენენ ლიპიდებისგან შექმნილ ბიშრულ სტრუქტურას, რომლებშიც წყლიანი მოცულობა მთლიანად გარშემორტმულია

მემბრანული ლიპიდური ბიშრით. ჩვეულებრივ მემბრანები აგებულია ფოსფოლიპიდებისაგან, რომლებიც წარმოადგენენ ამფიფილურ მოლეკულებს, რომლებიც ხშირად განისაზღვრებიან, როგორც წყალში უხსნადი, ან ცუდად ხსნადი ორგანული ნივთიერებები [50,51,]; მათ გააჩნიათ ჰიდროფილური, ანუ პოლარული, წყალში ხსნადი თავი და ჰიდროფობური-არაპოლარული, წყალში უხსნადი ცხიმოვანმჟავური კუდი. თავები იზიდავენ წყლის მოლეკულებს, ხოლო კუდები, რომლებიც აგებულია გრძელი ნახშირწყალბადური ჯაჭვებისგან, რომელთა ზოგადი ფორმულაა R-COOH, სადაც R წარმოადგენს ნახშირწყალბადურ ჯაჭვს, განიზიდავენ წყლის მოლეკულებს [52,53].

სტრუქტურულად ლიპოსომები არიან ერთმანეთში ჩაწყობილი კონცენტრული ვეზიკულები, რომელისთვისაც წყლიანი გარემო აუცილებელია, რადგან ლიპიდები წყალში დამატებისას სპონტანურად წარმოქმნიან ლიპიდურ მონომრეს. ეს ფნომენი ცნობილია ჰიდროფობული ეფექტის სახელწოდებით [60]. ვინაიდან წყლის მოწესრიგებულ სტრუქტურაში ლიპიდების ცხიმოვანი მჟავების ნახშირბადური ჯაჭვების ლოკალიზაცია ენერგეტიკულად არ არის მომგებიანი, ლიპიდების ჰიდროფობული კუდები განიდევენებიან წყლის მიერ, მაშინ როდესაც ლიპიდების ჰიდროფილური თავები მიიზიდავენ წყლის მოლეკულებს [55-57]. წყლიანი გარემოს შემთხვევაში ჰიდროფილური თავები განლაგდებიან ერთმანეთის პარალელურად და წარმოქმნიან ზედაპირს, რომელიც წყალბადური ბმებით არის დაკავშირებული წყლის მოლეკულებთან. რადგანაც ლიპიდური კუდები განიზიდავენ წყლის მოლეკულებს, თითოეული ცხიმოვანმჟავური ჯაჭვი განლაგდება ბიშრის შიგნით და წარმოქმნის ჰიდროფობულ ფაზას, რომელიც წყლის მოლეკულებთან არ იქნება კონტაქტში [61]. უჯრედში, ერთი ლიპიდური მონომრის თავები მიმართულია უჯრედის გარეთ და იზიდავენ უჯრედგარე არეში არსებულ წყლის მოლეკულებს, ხოლო მეორე მონომრის თავები-უჯრედის შიგნით და იზიდავენ უჯრედშიგა არეში არსებულ წყლის მოლეკულებს. ორივე მონომრის ნახშირწყალბადური ჯაჭვები ერთმანეთს უყურებენ და კომბინირებულ სტრუქტურას წარმოადგენს ბიშრის სახით (სურ.1). [50,51,52,54]



სურათი 1. ლიპოსომის სტრუქტურა

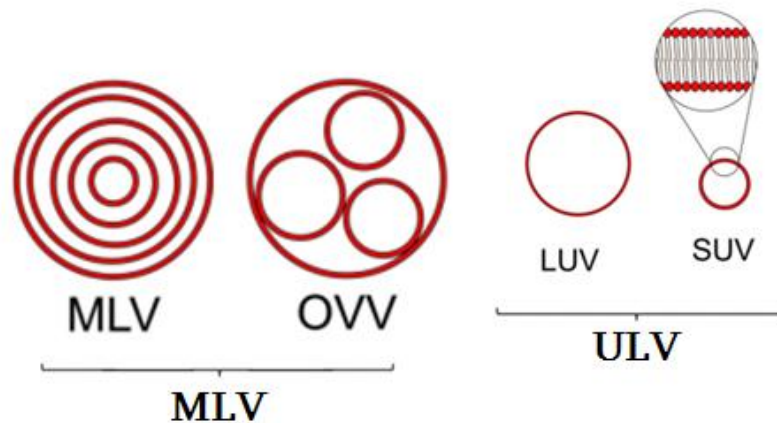
ყველაზე გავრცელებული ლიპოსომები შედგენილი არიან ფოსფოლიპიდებისაგან, რომლის შემადგენლობა წარმოდგენილია ფოსფატიდილქოლინის, ამფიფილური მოლეკულებისაგან. მისი სტრუქტურისთვის დამახასიათებელია ორი წყვილი ჰიდროფობური აცილური ნახშირწყალბადური ჯაჭვი, რომლებიც გლიცეროლის ხიდაკით უკავშირდება ფოსფოქოლინის პოლარულ, ჰიდროფილურ თავაკს [50,51,54].

გარდა ლიპოსომების ქიმიური შემადგენლობისა, რომელიც განსაზღვრავს ისეთ თვისებებს, როგორცაა მემბრანის დენადობა, მუხტის სიმკვრივე და განვლადობა, ლიპოსომები შეიძლება დახასიათდნენ მათი ზომების და ფორმის მიხედვითაც [60]. შესაძლებელია სხვადასხვა ზომის ლიპოსომების მიღება. თეორიულად გამოთვლილი უმცირესი მიღებადი ლიპოსომების ზომიდან (დიამეტრით 15 ნმ) ლიპოსომებამდე, რომლთა დანახვაც შესაძლებელია სინათლის მიკროსკოპით 1000 ნმ-ის (1 მიკრონის ტოლი დიამეტრით), ანუ რომელის ზომაც ცოცხალი უჯრედების ზომის ტოლია.

ლიპოსომები შეიძლება შედგებოდნენ ერთი, რამოდენიმე, ან მრავალი კონცენტრული ბიშრისაგან [58,59].

შრეების რაოდენობისა და ზომების მიხედვით ლიპოსომებს ყოფენ ორ ჯგუფად- მულტილამელარულ და უნილამელარულ ლიპოსომებად.

მულტილამელარული (ან ოლიგო-ლამელარული) ვეზიკულები შედგებიან ვეზიკულების პოპულაციისაგან, რომლებიც მოიცავს ზომების ფართო ინტერვალს (100-1000 ნმ), ხოლო უნილამელარულ ვეზიკულებს აქვთ მხოლოდ ერთი ბიშრე, რომლებიც არიან ახლოს ფოსფოლიპიდებისაგან შექმნილი ლიპოსომების ყველაზე მცირე შესაძლო ზომასთან (დიამეტრით დაახლოებით 155ნმ) (სურ.2) [70,71]. უნილამელარული ვეზიკულებისათვის ფოსფოლიპიდური შემადგენლობა განსაზღვრავს ვეზიკულის ზედაპირის ფართობს, რომელიც რადიუსის კვადრატის პროპორციულია, მაშინ როდესაც წამლის ჩაჭერის მოცულობა იცვლება რადიუსის კუბის პროპორციულად [54].



სურათი 2. ლიპოსომების კლასიფიკაცია

1. მულტი ლამელარული ვეზიკულები (MLV) - ჩვეულებრივ შედგებიან ვეზიკულების პოპულაციისაგან, რომლებიც მოიცავს ზომების ფართო ინტერვალს (100-1000 ნმ). თითოეული ვეზიკულა შედგება ხუთი ან მეტი კონცენტრული ლამელისაგან.

ვეზიკულებს რომლებიც შედგება რამოდენიმე ლამელისაგან, ზოგჯერ უწოდებენ ოლიგო-ლამელარულ ლიპოსომებს (OVV)[53,62,72].

2. პატარა უნილამელარული ვეზიკულები (SUV) – ანუ პატარა ვეზიკულები, რომელთაც აქვთ მხოლოდ ერთი ბიშრე განისაზღვრებიან, როგორც ლიპოსომები, რომლებიც არიან ახლოს ფოსფოლიპიდებისაგან შექმნილი ლიპოსომების ყველაზე მცირე შესაძლო ზომასთან. ეს ზღვარი მცირედ იცლება წყლიანი გარემოს იონურ ძალის მოქმედებით და მემბრანების ლიპიდური შემადგენლობით. ვინაიდან, განმარტების თანახმად, ეს ლიპოსომები არიან უმცირეს ზღვართან ახლოს, ისინი არიან შედარებით ჰომოგენურები ზომების მიხედვით [64,65,6672].

3. დიდი უნილამელარული ვეზიკულები (LUV) - ამ ლიპოსომების დიამეტრი დაახლოებით 1000 ნმ-ის რიგისაა.

4. საშუალო ზომის უნილამელარული ვეზიკულები (MUV) - ეს ტერმინი ლიტერატურაში ფართოდ არ გამოიყენება, მაგრამ ის აღნიშნავს ლიპოსომებს, რომელთა დიამეტრი დაახლოებით არის 100 ნმ [51,53]. უნილამელარული ვეზიკულებისათვის ფოსფოლიპიდური შემადგენლობა განსაზღვრავს ვეზიკულის ზედაპირის ფართობს, რომელიც რადიუსის კვადრატის პროპორციულია, მაშინ როდესაც ჩაჭერის მოცულობა იცვლება რადიუსის კუბის პროპორციულად. მემბრანის განსაზღვრული სისქის გამო, ვეზიკულების მოცულობის შემცირებასთან ერთად, მათი წყლიანი მოცულობებიც მცირდება, ვინაიდან ფოსფოლიპიდები იკავებენ უფრო მეტ შიდა სივრცეს. შესაბამისად, ლიპიდების მოცემული რაოდენობისას, დიდი ლიპოსომები ჩაიჭერენ გაცილებით დიდ წყლიან მოცულობას, ვიდრე მცირე ლიპოსომები [53,54,67].

განსაკუთრებულ ინტერესს მათთვის ვინც იკვლევს ლიპოსომების უნარს, მოათავსოს მასში სხვადასხვა ნივთიერებები იწვევს ისეთი პარამეტრები, როგორცაა: წყალში ხსნადი ნივთიერების რაოდენობა, გადათვლილი ერთ მოლ ლიპიდებზე და ჩაჭერის ეფექტურობა, ანუ წილი წყლიანი მოცულობისა, რომელიც მოქცეულია ვეზიკულის შიგნით. პირველი პარამეტრი იზრდება ლიპოსომების დიამეტრის გაზრდის პარალელურად, ხოლო მეორე პარამეტრი ლიპოსომების კონცენტრაციის

პირდაპირპროპორციულად იზრდება [54,73]. ერთი ზომის და ლამელარობის ლიპოსომებიც კი შეიძლება განსხვავდებოდნენ წყლიანი ფაზის შიდა განაწილებით და ვეზიკულების კონსტრუქციისათვის გამოყენებული ლიპიდების რაოდენობით[68,70].

1.4 ლიპიდური ბიშრის სტაბილიზაციის ფიზიკური მექანიზმი

მემბრანულ ფოსფოლიპიდურ ბიშრეს თხევადკრისტალური სტრუქტურა გააჩნია. გარემომცველი არის ფიზიკური პარამეტრების (ტემპერატურა, წნევა) შეცვლასთან ერთად იცვლება მემბრანული ფოსფოლიპიდების აგრეგაციული მდგომარეობა, ისინი მყარ, კრისტალურ ან თხევად მდგომარეობაში გადადიან. დაბალ ტემპერატურაზე ლიპიდური ბიშრე “იყინება” და გელის, ანუ მყარ მდგომარეობაში გადადის. მყარ მდგომარეობაში ლიპიდები მჭიდროდ არიან ჩალაგებული მემბრანაში და მათი მოძრაობა შეზღუდულია. ლიპოსომებში ლამელარული გელური ფაზა წარმოიქმნება დაბალი ტემპერატურისას იმ ლიპიდებით, რომელთა საშუალებით ფორმირდება ფენური სტრუქტურები. ამ ფაზაში მოლეკულები ჩაწყობილია უფრო მჭიდროდ (ერთ მოლეკულაზე მოდის ზედაპირის ნაკლები ფართი), ხოლო აცილური ჯაჭვები (ჰიდროფობური ნაწილი) ბევრად უფრო მოწესრიგებულია და იმყოფებიან უმეტესწილად მთლიანად ტრანს კონფიგურაციაში, ისევე როგორც ლიპიდურ კრისტალებში. რადგანაც ჯაჭვები მაქსიმალურად გაჭიმულია, გელის ფაზაში ბიშრის სისქე უფრო მეტია, ვიდრე თხევად კრისტალურ ფაზაში [75,76,79].

ტემპერატურის ზრდასთან ერთად ლიპიდების მოძრაობის უნარიანობა იზრდება, ლიპიდური ბიშრე თხევად მდგომარეობაში გადადის და დენადობის მაღალი მაჩვენებლით ხასიათდება. ფიზიოლოგიურ ტემპერატურაზე (36-37°C) მემბრანის სტრუქტურა ამორფული, არახისტია. ტემპერატურის გარდა მემბრანის თხევადობა დამოკიდებულია ლიპიდური კუდების თავისუფალ მოცულობაზე, მემბრანულ პოტენციალზე, წნევაზე, გარემომცველი არის მჟავიანობაზე და კალციუმის იონების

შემცველობაზე. ეს პარამეტრები თავის მხრივ განისაზღვრება მემბრანის შემადგენელი ფოსფოლიპიდების სტრუქტურით, კერძოდ:

- ფოსფოლიპიდების აცილური ჯაჭვების სიგრძით, ანუ აცილურ ჯაჭვებში ნახშირბადის (წყლის არამოყვარული CH ქიმიური ჯგუფები) ჯგუფების რაოდენობით;
- უჯერი (ორმაგი) ბმების რაოდენობით;
- ფოსფოლიპიდების პოლარული (წყლის მოყვარული) “თავების” მუხტით;
- სტერინების, ანუ ქოლესტეროლის ქიმიური სტრუქტურით, ასევე მემბრანაში ფოსფოლიპიდ/ქოლესტეროლის ფარდობით
- ფოსფოლიპიდებსა და ცილებს შორის ურთიერთქმედების ხასიათით.

შესაბამისად, სხვადასხვა ტიპის უჯრედულ მემბრანას განსხვავებული თხევადობა და დენადობა ახასიათებს [74,77].

ვინაიდან წყლის მოლეკულები - პოლარული ასიმეტრიული მოლეკულებია, ისინი წარმოქმნიან დიპოლს. წყლის მოლეკულები ურთიერთქმედებს ერთმანეთთან წყალბადური ბმების საშუალებით. წყლის მოლეკულების დიპოლური, ანუ იგივე წყალბადური ურთიერთქმედება გაცილებით ძლიერია (დაახლოებით 10 ჯერ), ვიდრე ლიპიდების წყლის მოლეკულებთან, რის გამოც წყლის მოლეკულები წარმოქმნის წყალბადური ბმების მაქსიმალურ რაოდენობას, ხოლო ლიპიდების მოლეკულები აგრეგაციების სახით ნაწილდება წყლის მოლეკულებს შორის [77,78,79]. შედეგად წყალში წარმოიქმნება ლიპოსომების სუსპენზია. ცნობილია რომ წყალხსნარში, როგორც წესი, ლიპოსომებს გააჩნიათ ზედაპირული პოტენციალი (დადებითი/უარყოფითი) [139], რის გამოც შეუძლებელი ხდება ხსნარში გაჩნდეს აგრეგატები და შესაბამისად მიიღება სუსპენზია.

1.5 ფოსფოლიპიდის ფაზები წყალში და ფაზური გადასვლები მემბრანულ სისტემებში

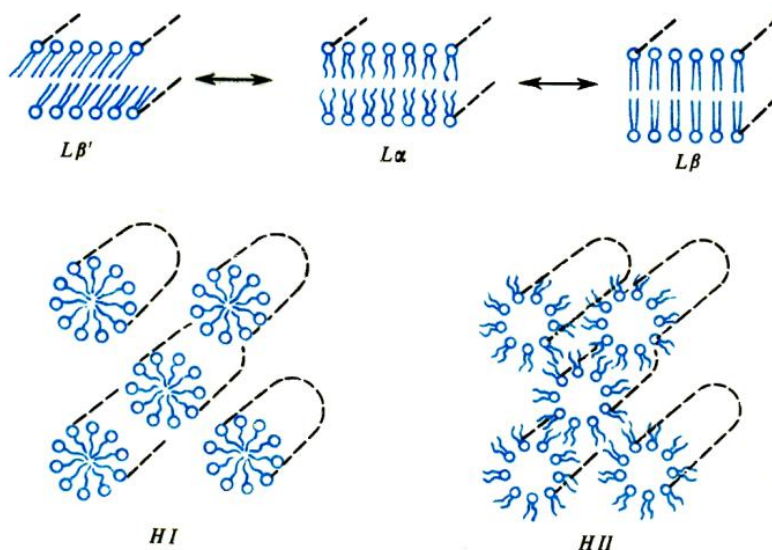
ლიპიდების წყალთან ნარევი გამოირჩევა გამოკვეთილი პოლიმორფიზმით. ინდივიდუალური გაწმენდილი ლიპიდებიც კი ჰიდრატირებულ მდგომარეობაში შეიძლება იმყოფებოდნენ რამოდენიმე სტრუქტურული მოდიფიკაციის სახით. წყალ-ლიპიდური სისტემის ფაზური საზღვრების დასადგენად ხშირად იყენებენ დიფერენციალურ სკანირებად კალორიმეტრს (DSC) [73,80,83]. ფოსფოლიპიდები თხევად კრისტალურ მდგომარეობაში პირობების შეცვლისას შეიძლება აღმოჩნდეს სხვადასხვა თხევად კრისტალური ფაზების სახით: ლამელარული, ცილინდრული, კუბური, სფერული და ასე შემდეგ. მაგალითად ტემპერატურის შემცირებით, ფაზური გადასვლის წერტილის (კრაფტის წერტილის) დაბლ ტემპერატურაზე წარმოიქმნება კრისტალები [81,82,91]. თავის მხრივ ფაზური გადასვლის ტემპერატურა (T_m) დამოკიდებულია ლიპიდების მოლეკულაში ცხიმოვანი ნაშთების უჯერობის ხარისხზე და აგრეთვე სისტემაში წყლის პროცენტულ შემცველობაზე. ლიპიდების ფაზური გადასვლის ტემპერატურა T_m უწყლო მდგომარეობაში ბევრად უფრო მაღალია, ვიდრე წყალში დისპერსირებული ლიპიდებისათვის. თუ გავზრდით ლიპიდების მოლეკულების უჯერობის ხარისხს T_m მცირდება [80,81,84,90,91].

სხვადასხვა ტემპერატურაზე ფოსფოლიპიდის მოლეკულაში ნახშირწყალბადური ჯაჭვები შეიძლება იმყოფებოდნენ $\alpha, \beta, \beta', \gamma$ და δ კონფიგურაციაში. T_m ტემპერატურაზე მაღლა ფოსფოლიპიდის მოლეკულაში ნახშირწყალბადური ჯაჭვები იმყოფება α კონფიგურაციაში, რომელიც ხასიათდება დიდი ძვრადობით და დიდი მოცულობით, რასთან დაკავშირებითაც ფოსფოლიპიდები α კონფიგურაციაში მყოფი ნახშირწყალბადოვანი კუდებით წარმოქმნიან გაიშვიათებულად (თავისუფლად) ჩალაგებულ ბიშრეს. დაბალ ტემპერატურაზე არსებული β კონფიგურაციისთვის დამახასიათებელია ფოსფოლიპიდის მოლეკულაში ბოლომდე გაჭიმული მჭიდროდ ჩალაგებული ნახშირწყალბადური ჯაჭვები, რომლებიც განლაგებულნი არიან მემბრანის

ზედაპირის პერპენდიკულარულად. β' კონფიგურაციაში, ისევე როგორც β კონფიგურაციაში, ნახშირწყალბადური ჯაჭვები ბოლომდე გაჭიმულია, მაგრამ რაღაც კუთხით დახრილია მემბრანის ზედაპირის მიმართ. γ კონფიგურაცია ფოსფოლიპიდური შრეები შეიცავს ნახშირწყალბადურ ჯაჭვების ნაწილს α კონფიგურაციაში, ხოლო ნაწილს - β კონფიგურაციაში. რაც შეეხება δ კონფიგურაციას, ამ კონფიგურაციაში მყოფ ჯაჭვებში CH_2 - ჯგუფების 3/4 ნაწილი დახვეულნი არიან ღერძის გარშემო [81,86,87,99].

თერმოტროპული პოლიმორფიზმის გამო L ლამელარულ ფაზაში, რომელიც წარმოადგენს ერთმანეთზე დაფენილ ბიშრეებს, რომლებიც გამოყოფილი არიან წყლიანი გარსით შესაძლებელია მრავალრიცხოვანი გადასვლები [81,99].

წყალ-ლიპიდური სისტემების სტრუქტურულ ორგანიზაციაში გამოყოფენ რამოდენიმე ძირითადი ფაზას (სურ. 3).



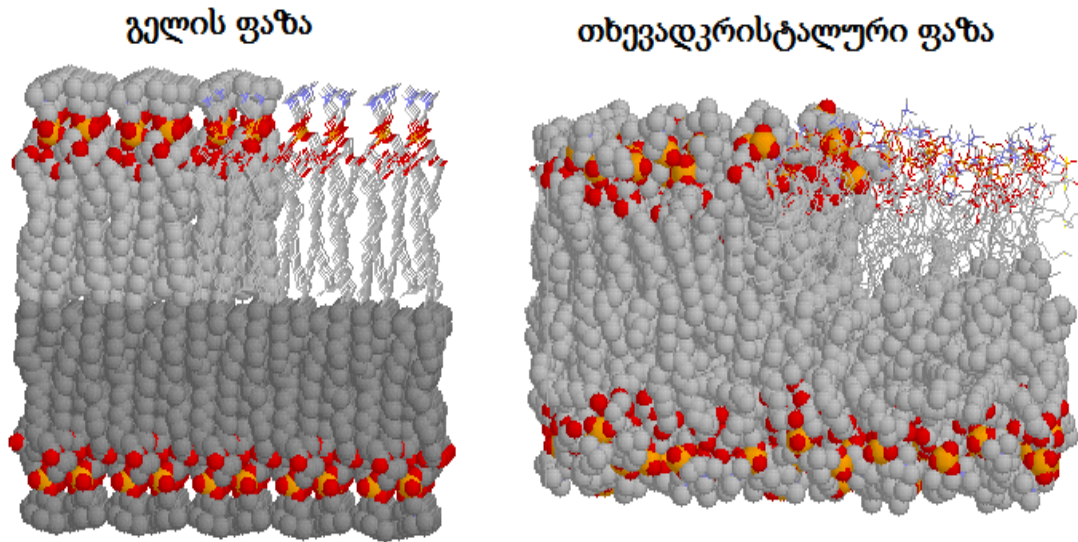
სურათი 3. ლიპიდების $L\beta'$, $L\alpha$, $L\beta$, H_I და H_{II} ფაზების სქემატური გამოსახულება

1. ლამელარული თხევადკრისტალური ფაზა (L_α) - ითვლება, რომ ზუსტად ლამელარულ თხევად კრისტალურ (L_α) ფაზაშია მოთავსებული ბიოლოგიურ მემბრანებში ლიპიდების ძირითადი მასა [83,87]. როგორც ამას აჩვენებს რენტგენული სხივების დიფრაქციიდან მონაცემები, ამ ფაზისათვის დამახასიათებელია ფენური სტრუქტურების მოწესრიგებული განლაგება აცილური ჯაჭვების მნიშვნელოვან მოუწესრიგებლობასთან ერთად. რამდენადაც L_α ფაზა არის მთავარი სტრუქტურული ფაზა, რომელსაც ემნიან ლიპიდები ბიომემბრანებში ფიზიოლოგიურ პირობებში, ამიტომ მისი სტრუქტურა განსაზღვრავს ისეთ მნიშვნელოვან თვისებებს, როგორიცაა დენადობა და განვლადობა [81,87,99].
2. ლამელარული გელური ფაზა (L_β) - წარმოიქმნება დაბალი ტემპერატურისას იმ ლიპიდებით, რომელთა საშუალებით ფორმირდება ფენური სტრუქტურები. ამ ფაზაში მოლეკულები ჩაწყობილია უფრო მკვრივად (ერთ მოლეკულაზე მოდის ზედაპირის ნაკლები ფართი), ხოლო აცილური ჯაჭვები ბევრად უფრო მოწესრიგებულია და იმყოფებიან უმეტესწილად მთლიანად ტრანს კონფიგურაციაში, ისევე როგორც ლიპიდურ კრისტალებში [85,86]. რადგანაც ჯაჭვები მაქსიმალურად გაჭიმულია, გელის ფაზაში ბიშრის სისქე უფრო მეტია, ვიდრე თხევად კრისტალურ ფაზაში. გელის ფაზის სიმკვრივე რამდენადმე მეტია თხევად-კრისტალური ფაზის სიმკვრივეზე. მოცულობითი პოლარული თავაკების მქონე ლიპიდების შემთხვევაში (მაგ: დიპალმიტოილფოსფატიდილ-ქოლინი - DPPC) აცილური ჯაჭვები დახრილია ბიშრის ზედაპირის მიმართ იმის მსგავსად, როგორც ეს დაიმზირება ზოგიერთ ლიპიდურ კრისტალებში. ჯაჭვების დახრას ჩვეულებრივ აღნიშნავენ შტრიხით (L_β') [84,85,86].
3. ჰექსაგონალური ფაზა I (H_I) – ამ შემთხვევაში მოლეკულები ფორმირდებიან ცილინდრული სტრუქტურების სახით, რომელთა ზედაპირი წარმოქმნილია პოლარული თავაკებით და ეს ზედაპირი კონტაქტშია წყალთან. თვითონ ცილინდრები ჩალაგდებიან ისე, რომ წარმოქმნიან ჰექსაგონალურ მესერს [73,89,98]. ვინაიდან ფაზა ფორმირდება ცილინდრული სტრუქტურებით ლიტერატურაში მის აღსანიშნავად ხანდამ იყენებენ აღნიშვნას “C” (ინგლისური სიტყვიდან Cylinder).

4. ჰექსაგონალური ფაზა II (H_{II}) – ამ ფაზაში, ისევე როგორც H_I -ში ლიპიდები წარმოქმნიან აგრეთვე ცილინდრებს, მაგრამ ამ შემთხვევაში პოლარული ჯგუფები მიმართულია ცილინდრის შიგნით და აფორმირებენ წყლის არხს. თვითონ ცილინდრების ჩაწყობა აგრეთვე არის ჰექსაგონალური [99]. ამ ფაზისათვის დამახასიათებელია ნახშირწყალბადოვანი ჯაჭვები α კონფიგურაციაში. ამ ფაზას ლიტერატურაში ასევე აღნიშნავენ, როგორც H_α [89, 97,98].
5. P “გოფრირებული ფაზა” - L ფაზისგან განსხვავებით P ფაზაში დაიკვირვება α და β კონფიგურაციის ნახშირწყალბადური კუდების თანაარსებობს ერთი და იმავე შრის საზღვრებში, რის შედეგადაც მემბრანა სისქის მიხედვით ხდება არაერთგვაროვანი. ცნობილია, რომ კვერცხის ფოსფატიდილქოლინი, რომელიც შეიცავს 18% წყალს, ქმნის $P_{\alpha\beta}$ ფაზას [81,88].

გარდა ჩამოთვლილი ლამელარული (L და P) და ჰექსაგონალური (H) ფაზებისა, კვერცხის ფოსფატიდილქოლინის ფაზურ დიაგრამაზე ვარირებული პირობის დროს კონცენტრაციის და ტემპერატურების ფართო ინტერვალში შეიძლება წარმოიქმნას კუბური (Q) და მართხუთხა (R) ფაზებიც. თუმცა ფიზიოლოგიურ პირობებში ლიპიდები მემბრანაში ძირითადად ორგანიზებულები არიან ლამელარულ ფაზაში (L_α და L_β) [86,87].

ბუნებრივი და ხელოვნური მემბრანული სისტემები შეიძლება იმყოფებოდნენ ორ ძირითად ფაზურ მდგომარეობაში: მყარი ორგანზომილებიანი კრისტალის სახით (გელი) და თხევადკრისტალურ (გამდნარ) მდგომარეობაში (სურ.4).



სურათი 4. ლიპიდური ბიშრის გელური და თხევადკრისტალური ფაზები

ფაზური გადასვლის არეში ბიოლოგიურ და ხელოვნურ მემბრანებში ნახტომისებურად იცვლება მემბრანების ისეთი თვისებები როგორცაა: თხევადობა და განვლადობა. გადასვლას გელურ და თხევადკრისტალურ ფაზურ მდგომარეობებს შორის შეესაბამება მკვეთრი ნახტომი სითბოტევადობისა, რომელიც ხდება ვიწრო ტემპერატურულ ინტერვალში. ლიპიდების გადასვლა გელური ფაზიდან თხევადკრისტალურში მოითხოვს სითბოს დახარჯვას და ამ პროცესს არც თუ ისე იშვიათად ადარებენ ჩვეულებრივ ლღობას, მაგალითად ყინულის გადასვლას წყლის მდგომარეობაში. სითბური გადასვლის შუა წერტილს ხშირად უწოდებენ ლღობის წერტილს. ეს გადასვლა ითვლება პირველი გვარის გადასვლად და თეორიულად ის ხასიათდება უსასრულო სითბოტევადობით გადასვლის ტემპერატურის დროს. მაგრამ, პრაქტიკაში ასეთი გადასვლები ხშირად სრულდება რამოდენიმე გრადუსის სიგანის მქონე ტემპერატურულ ინტერვალში. მთავარი მიზეზი მრავალი გადასვლის გაფართოებისა არის მცირე რაოდენობით მინარევების არსებობა. ამგვარად, ფაზური გადასვლა ძალიან გასუფთავებული დიპალმიტოილფოსფატიდილქოლინისა არის

საკმაოდ მახვილი, მაგრამ ის ძალიან მგრძობიარეა მინარევების არსებობის მიმართ [73,92-95].

ლიპიდების ლღობის ტემპერატურა განისაზღვრება მთელი რიგი საპირისპიროდ მოქმედ ფაქტორების ურთიერთდამოკიდებულებით. ენტროპიის თვალსაზრისით მოუწესრიგებელი ჯაჭვები თხევადკრისტალურ მდგომარეობაში, რომლებიც ხასიათდებიან გომ-კონფორმაციის არსებობით, გაცილებით ხელსაყრელია, ვიდრე მაღალმოწესრიგებული ჯაჭვები გელურ მდგომარეობაში, რომელთაც აქვთ ჯაჭვები მთლიანად ტრანს-კონფიგურაციაში [93,94]. მაგრამ, გაცილებით მოწესრიგებულ გელურ ფაზასთან შედარებით იქმნება ხელსაყრელი პირობები ვანდერვაალსური ურთიერთქმედებისათვის. აგრეთვე აცილური ჯაჭვების გვერდითი კვთის ფართობის შემცირებას მოწესრიგებულ მდგომარეობაში მივყავართ მეზობელი პოლარული თავაკების დაახლოებამდე. ასეთი დაახლოება შეიძლება ხელსაყრელი იყოს მოლეკულათშორისი წყალბადური კავშირების წარმოქმნისათვის, იონური კავშირებისათვის ორვალენტური კატიონებთან (მაგალითად Ca^{2+} -თან), ან არახელსაყრელი იყოს, თუ მას თან სდევს სტერიული ურთიერთქმედება მოცულობით ჯგუფებს შორის, ან ელექტროსტატიკური განზიდვა ერთნაირად დამუხტული ჯგუფებისა. ასეთ შემთხვევებში ამა თუ იმ ლიპიდის Tგ-ის სიდიდეზე ძლიერი გავლენა შეიძლება მოახდინონ PH-მა, იონურმა ძალამ და ორვალენტური კატიონების არსებობამ. ტემპერატურის მატებასთან ერთად ენტროპიული ეფექტები საბოლოოდ ხდება უპირატესი, რასაც მივყავართ იმ მდგომარეობის სტაბილიზაციამდე, როდესაც მომატებულია გომ-როტამერების შემცველობა [73,99].

პოლარულ თავაკებს შორის ურთიერთქმედების ხასიათის შეცვლა გავლენას ახდენს $T_{გ}$ -ზე, რადგან პოლარულ თავაკებს შორის ურთიერთქმედებზეა დამოკიდებულია ΔH , ხოლო $T_{გ} = \Delta H / \Delta S$ (სადაც ΔH და ΔS არის ფაზური გადასვლის ენტალპია და ენტროპიის ცვლილებები შესაბამისად). მაგალითად, იონური ძალის მომატებისას სუსტდება ელექტროსტატიკური განზიდვა ფოსფატურ ჯგუფებს შორის ფოსფატური მჯავების ბიშრებში. მაგრამ, ეს ეფექტი უფრო მეტადაა გამოსახული

გელური ფაზის შემთხვევაში, რამდენადაც სიმკვრივე პოლარული ჯგუფებისა ამ ფაზაში უფრო მეტია, ვიდრე თხევადკრისტალურ მდგომარეობაში. ამიტომ იონური ძალის მომატებისას დაიშორება გადასვლის ენტალპიის, ΔH -ის მომატება და შესაბამისად იზრდება $T_{ფგ}$ ($\Delta S = \Delta H/T_{ფგ}$ მუდმივია). ამგვარად შეიძლება მოვახდინოთ ფაზური გადასვლის ინდუცირება იზოთერმულ პირობებში, იონური ძალის ან სხვა პარამეტრების შეცვლით, რომლებიც გავლენას ახდენენ პოლარული ჯგუფების ურთიერთქმედებაზე [100,101,102].

სხვადასხვა ექსპერიმენტულ მონაცემებზე დაყრდნობით ცნობილია, რომ მემბრანულ სისტემებში ფაზური გადასვლის ტემპერატურა დამოკიდებულია ცხიმოვანი მჟავების ჰიდროფობული კუდის ჯაჭვების თავისებურებებზე (ქიმიური შემადგენლობა, სიგრძე), რამდენადაც ფარდობითი სტაბილურობა გელური და თხევადკრისტალური ფაზისა განისაზღვრება ვანდერვაალსური ურთიერთქმედებით. კერძოდ, ნაჩვენებია იყო, რომ რაც უფრო გრძელია ჰიდროფობული ლიპიდის ჯაჭვის კუდი, მით უფრო მაღალია ფაზური გადასვლის ტემპერატურა ($T_{ფგ}$), რამდენადაც კუდის ჯაჭვის დაგრძელებით იზრდება ლიპიდის კუდებს შორის ვანდერვაალსური ურთიერთქმედების ძალები [73,102].

აღსანიშნავია, რომ ტრანს-ორმაგი კავშირების არსებობა პირიქით ამცირებს $T_{ფგ}$ -ს, ვინაიდან ისინი არღვევენ ჯაჭვების ოპტიმალურ ურთიერთქმედებას გელურ მდგომარეობაში, რაც შეეხება ცის-ორმაგი კავშირების არსებობას, ისინი ახდენენ უფრო დიდ ეფექტს, რომელიც დამოკიდებულია ორმაგი ბმის მდებარეობაზე ჯაჭვში. კერძოდ, მაქსიმალური ეფექტი დაიშორება, როდესაც ცის-ორმაგი კავშირი არის ჯაჭვის შუაში. ამას მივყავართ გელური მდგომარეობის დესტაბილიზაციამდე და $T_{ფგ}$ -ის შემცირებამდე [73,83].

რაც შეეხება ლიპოსომებს, რომელთაც აქვთ ზედაპირის დიდი ფართობი, რომლებსაც იკავებს პოლარული თავაკი (მაგალითად, ფოსფატიდილქოლინის შემთხვევაში), დაიშორება გადასვლა ორ გელურ მდგომარეობას შორის (L_{β} და P_{β}) [73,102].

$T_{\text{ფ}}$ -ის დროს გელური და თხევად კრისტალური ფაზები თანაარსებობენ. ექსპერიმენტულად ეს ვლინდება ვეზიკულების განვლადობის მომატებით ფაზური გადასვლის მომენტში. ამასთან წარმოქმნილი ფლუქტუირებადი “ფორის” დიამეტრი მრავალფენიან ლიპოსომებში აღწევს 18\AA -ს. ფორები შეიძლება წარმოვიდგინოთ, როგორც ჩაწყობის დეფექტები ბიშრის თხევადკრისტალურ და გელურ დომენების საზღვარზე [100,101,102].

არსებობს ლიპიდურ ბიშრეში ფაზური გადასვლის ანალიზის თეორიული მიდგომები. ყველაზე პოპულარული მოდელები გამომდინარეობენ ვარაუდიდან იმის შესახებ, რომ ჯაჭვების სეგმენტების მდგომარეობა შეიძლება აღიწეროს ტრანს და გომ-როტამერებს შორის თანაფარდობით (გომ(+) და გომ(-)). თუ ყურადღებას მივაქცევთ იმას, რომ ჯაჭვის ფრაგმენტების მიახლოებისას ხდება მათი ურთიერთ განზიდვა, როგორც უკუმშვადი სფეროების შემთხვევაში, ხოლო დაშორებისას მიზიდვა, მაშინ “ლღობა” ფოსფოლიპიდური ბიშრისა შეიძლება ადეკვატურად წარმოვიდგინოთ, როგორც გომ-კონფორმერების წილის გაზრდა. მსგავსი მიდგომა შეიძლება გავავრცოთ გარკვეული დაშვებებით ბინარული ლიპიდური ნარევების აღწერისთვის [73,102].

ბუნებრივი ლიპიდების ცხიმოვანი მჟავური ჯაჭვები ჩვეულებრივ შეიცავენ უჯერ კავშირებს. ამის შედეგად უმრავლეს ბუნებრივ მემბრანებში $T_{\text{ფ}}$ ტემპერატურა მოთავსებულია უარყოფითი ტემპერატურულ დიაპაზონში ბუნებრივ პირობებში ისინი იმყოფებიან “თხევად” მდგომარეობაში. ასეთ მემბრანებში მთავარი ფაზური გადასვლა ხდება მხოლოდ მას მერე, რაც ისინი აღმოჩნდებიან “გაყინულნი” წყლიან ფაზაში [76,100,101].

ხელოვნურ ან რეკონსტრუირებულ მემბრანულ სისტემებში, რომლებიც აგებულნი არიან ინდივიდუალური სინთეტური ნაჯერი ლიპიდებისაგან, ფაზური გადასვლის წერტილები მოთავსებულია დადებით ტემპერატურულ უბანში. სტრუქტურულ გადაწყობასთან მიმართებაში, გადასვლა გელი-თხევადკრისტალური მდგომარეობა წარმოადგენს ნახშირწყალბადური ჯაჭვების გადასვლას მთლიანად ტრანს-მდგომარეობიდან მოუწესრიგებელ მდგომარეობაში (თხევადის მსგავს -

მდგომარეობაში). ასეთი გადასვლებისას ერთ ლიპიდზე მოსული ფართობი იცვლება. მოცულობის ფარდობითი ცვლილება ფაზური გადასვლისას არ არის დიდი $\Delta V/V \approx 1.5\%$ ეს ნიშნავს, რომ ლატერალური გაფართოება კომპენსირდება შრის გათხელებით [82,100,101].

1.6 ლიპოსომებში ფაზური გადასვლების თერმოდინამიკური კვლევები

თერმოდინამიკის თვალსაზრისით მთავარი ძალები, რომლებიც ახდენენ ჰიდრატირებული ლიპიდური აგრეგატების სტაბილიზაციას, არიან ჰიდროფობური ძალები, რომლებიც წარმოიქმნება ლიპიდების აცელურ ჯაჭვებს შორის. ასევე პოლარული ტიპის ძალები, რომლებიც წარმოდგენილია წყალბადური ან ელექტროსტატიკური კავშირებით ლიპიდების პოლარულ თავაკებს შორის (მაგალითად, ფოსფოლიპიდების შემთხვევაში ფოსფატიდილ-ეთანოლამინის მოლეკულებს შორის).

ასევე ცნობილია, რომ ორვალენტური კათიონების დახმარებით წარმოიქმნება ხიდაკები ფოსფოლიპიდების თავაკებს შორის, რომელიც ლიპოსომის სტრუქტურას დამატებით სტაბილობას ანიჭებს. უნდა აღინიშნოს, რომ ჰიდროფობური ძალით შექმნილი სტაბილობის ბუნება, არის ენტროპიული ხასიათის და დაკავშირებულია წყლის მოლეკულების განლაგებასთან არაპოლარული ნახშირწყლების გარშემო [73,102].

სხვა მასტაბილიზირებელ ფაქტორებად გვევლინებიან ვანდერვალსის ძალები, ანუ ახლოქმედი სუსტი მიზიდვის ძალები მეზობელ ჰიდროფობურ ჯაჭვებს შორის. მიზიდვა აღიმკრება ინდუცირებულ დიპოლებს შორის ურთიერთქმედებით [102]. ასევე წყალბადური კავშირები, რომლებიც წარმოიქმნება ზოგიერთი ლიპიდის პოლარულ თავაკს შორის (მაგალითად, ფოსფატიდილ-ეთანოლამინის მოლეკულებს შორის). რიგ შემთხვევებში ხიდაკები უარყოფითად დამუხტულ ლიპიდებს შორის წარმოიქმნება ორვალენტური კათიონების დახმარებით [102]. ეს ორივე ძალა თავისი

მასტაბილიზირებელი უნარით მნიშვნელოვნად ჩამორჩება ჰიდროფობულ ურთიერთქმედებას. ჰიდროფობული ძალების მოქმედებით სისტემა იძენს ისეთ სტრუქტურულ ორგანიზაციას, რომლის დროსაც კონტაქტი ლიპიდების მოლეკულების არაპოლარულ ნაწილებსა და წყალის მოლეკულებს შორის მინიმუმამდე დაიყვანება. ამ ძალებს აქვთ ენტროპიული ბუნება და დაკავშირებულნი არიან შეზღუდვასთან, რომელიც ეხება წყლის მოლეკულების ჩალაგებას არაპოლარული ნახშირწყალბადების გარშემო [73,102].

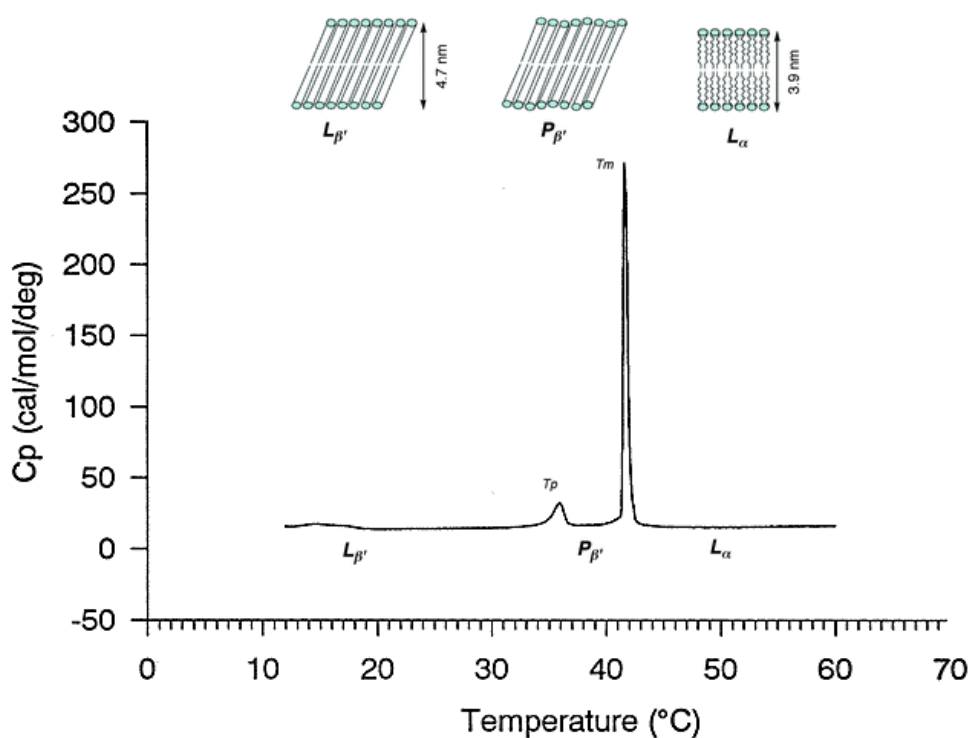
დღემდე ბოლომდე არაა ცნობილი თუ როგორია ლიპოსომების შემადგენლობაში არსებული ლიპიდების მოლეკულების ურთიერთ განლაგება ბიშრეში. თუმცა უფრო ხშირად განიხილავენ მოუქნელ (მყარ) კრისტალურ სტრუქტურას - გელური ფაზას და თხევადკრისტალურ (თხევად) სტრუქტურას, ან არაკრისტალური ფაზა.

ლიპოსომებში ლამელარული გელური ფაზა წარმოიქმნება დაბალ ტემპერატურისას იმ ლიპიდებით, რომელთა საშუალებით ფორმირდება ფენური სტრუქტურები. ამ ფაზაში მოლეკულები ჩაწყობილია უფრო მკვრივად (ერთ მოლეკულაზე მოდის ზედაპირის ნაკლები ფართი), ხოლო აცილური ჯაჭვები (ჰიდროფობური ნაწილი) ბევრად უფრო მოწესრიგებულია და იმყოფებიან უმეტესწილად მთლიანად ტრანს კონფიგურაციაში, ისევე როგორც ლიპიდურ კრისტალებში. რადგანაც ჯაჭვები მაქსიმალურად გაჭიმულია, გელის ფაზაში ბიშრის სისქე უფრო მეტია, ვიდრე თხევად კრისტალურ ფაზაში. ნაჩვენებია, რომ გელის ფაზის სიმკვრივე რამდენადმე მეტია თხევად-კრისტალურ ფაზის სიმკვრივეზე. მოცულობითი პოლარული თავაკების მქონე ლიპიდების შემთხვევაში (მაგ: დიპალმიტოილფოსფატიდილ-ქოლინი; DPPC) აცილური ჯაჭვები დახრილია ბიშრის ზედაპირის მიმართ იმის მსგავსად, როგორც ეს დაიშვინება ზოგიერთ ლიპიდურ კრისტალებში [101].

თუ ლიპიდების ბიშრეში ხდება ფაზური გადასვლა, მაშინ როგორც ბიოლოგიურ და ხელოვნურ მემბრანებში ადგილი აქვს მემბრანების ისეთი თვისებების

ნახტომისებურად შეცვლას როგორცაა მემბრანის სიხისტის ცვლილება, ასევე მისი განვლადობა, რასაც დიდი მნიშვნელობა აქვს უჯრედის ფუნქციონირებაში.

ლიტერატურული მონაცემების თანახმად ტემპერატურის ზემოქმედებით ადგილი აქვს სითბოს შთანთქმას (პირველი გვარის ფაზური გადასვლა), როდესაც ხდება გადასვლა გელურ და თხევადკრისტალურ ფაზურ მდგომარეობებს შორის, რომელიც გამოიხატება ლიპოსომის სითბოტევადობის ცვლილება ვიწრო ტემპერატურულ ინტერვალში. სტრუქტურულად ამ დროს ხდება ლიპიდებისგან შექმნილი ბიშრის სტრუქტურის ცვლილება, როდესაც ბიშრეში ადგილი აქვს გადასვლას გელური ფაზიდან თხევადკრისტალურ ფაზაში. როგორც ითქვა ამ პროცესს თან ახლავს სითბოს შთანთქმა, რომელიც გამოიხატება ჩანაწერში სითბოსშთანთქმის პიკისა, რომელიც ხასიათდება ფართით, ფორმით და გადასვლის ტემპერატურით (სურ.5) [102].



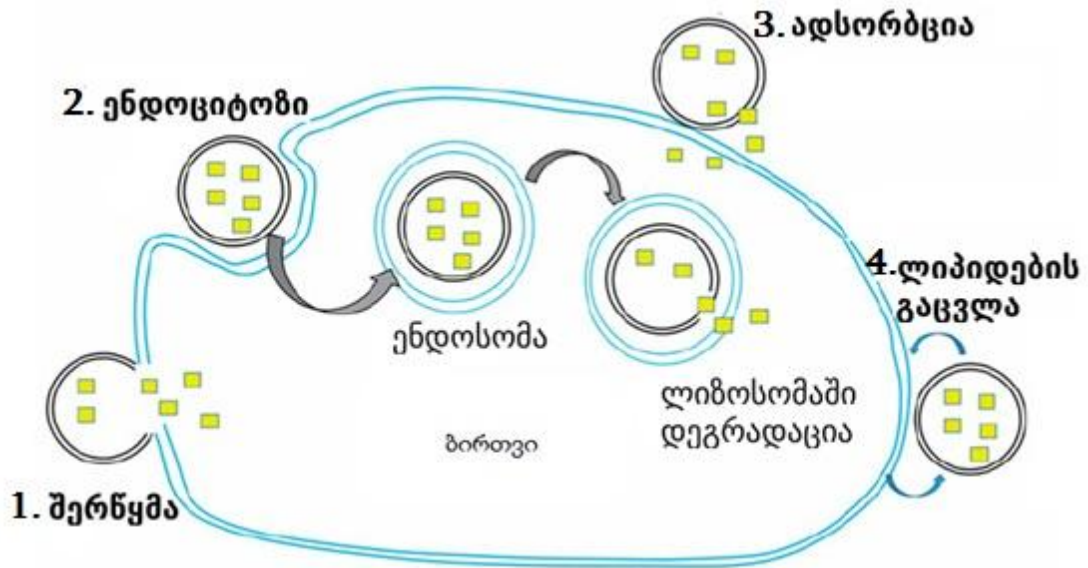
სურათი 5. ფოსფოლიპოსომების კალორიმეტრული მრუდი

თერმოდინამიკური გაზომვების დახმარებით შეიძლება რაოდენობრივად შევაფასოთ არაპოლარული ნივთიერებების სწრაფვა, რომ მოახდინონ წყალთან კონტაქტის მინიმალიზაცია. ჰიდროფობული ძალები არიან პრაქტიკულად ყველა ბიოლოგიური მოლეკულის სტრუქტურის სტაბილიზაციის მთავარი ფაქტორები, მათ შორის გლობულარული ცილების და ასევე ფოსფოლიპიდური ბიშრეებისა [102].

1.7 ლიპოსომების ურთიერთქმედება უჯრედულ მემბრანასთან

ლიპოსომების უჯრედებთან ურთიერთქმედების შესწავლა მნიშვნელოვანია არა მხოლოდ წამლების მიწოდების თვალსაზრისით, არამედ უჯრედ-უჯრედების ურთიერთქმედების შესწავლისთვისაც. ლიპოსომების ურთიერთქმედებამ უჯრედულ მემბრანასთან შეიძლება მიიღოს სხვადასხვა ფორმა: ყველაზე მარტივია, როდესაც ლიპოსომები ადსორბირდება უჯრედის ზედაპირზე, მაგრამ შეიძლება უჯრედმა შთანთქოს ლიპოსომა (ფაგოციტოზი/ენდოციტოზი) და უჯრედის შიგნით მოხვდეს ის ნივთიერებები, რომლებიც ლიპოსომებთან ერთად გადაიტანება. ასევე ლიპოსომა შეიძლება შეერწყას უჯრედის მემბრანას და გახდეს მისი ნაწილი, ხოლო მის მიერ მიტანილი ნივთიერებები “ჩაიღვაროს” უჯრედის ციტოპლაზმაში. ზემოთ აღწერილმა პროცესებმა შეიძლება შეიცვალოს მემბრანის ისეთი თვისებები, როგორცაა, მაგალითად, მათი სიბლანტე, განვლადობა, ელექტრული მუხტის სიდიდე, შეიძლება ასევე გამოიწვიოს მემბრანული არხების რაოდენობის გაზრდა ან შემცირება. ამგვარად, ჩნდება ახალი საშუალება ლიპოსომების წყალობით უჯრედზე მიმართული მოქმედებისა, რომელსაც შეიძლება დავარქვათ “მემბრანული ინჟინერია” [103,104].

ლიპოსომების ურთიერთქმედებამ უჯრედულ მემბრანასთან შეიძლება მიიღოს ოთხი სხვადასხვა ფორმა (სურ. 6):



სურათი 6. ლიპოსომების უჯრედის მემბრანასთან ურთიერთქმედების სახეები

სადაც I. არის “კონტაქტური გამოთავისუფლება”; II. ურთიერთქმედების მნიშვნელოვანი ფორმაა უჯრედის მიერ ლიპოსომის შთანთქმა, ამ შემთხვევაში ნივთიერება, რომელიც მოიტანა ლიპოსომამ, ხვდება უშუალოდ უჯრედში; III. შეიძლება ლიპოსომა მიემაგროს მემბრანას, ანუ ადსორბირდეს; IV. ზოგიერთ შემთხვევაში უჯრედული მემბრანა და ლიპოსომა ცვლიან ლიპიდებს. ასევე შესაძლებელია ლიპოსომის მემბრანა შეერწყას უჯრედულ მემბრანას [103-106]. განვიხილოთ თითოეული მათგანი ცალ-ცალკე.

I. ლიპოსომის წყლიანი შემცველობის “კონტაქტური გამოთავისუფლება” ხდება რთულად გასაგები მექანიზმით, რომელშიც კონტაქტი უჯრედთან იწვევს ლიპოსომის მემბრანის განვლადობის ზრდას, რასაც მივყავართ წყალში ხსნადი ნივთიერებების გამოთავისუფლებასთან მაღალი კონცენტრაციით უჯრედული მემბრანის მახლობლობაში. თუმცა რომელ ნივთიერებას შეუძლია შემდგომ გავიდეს უჯრედულ მემბრანაში, გასარკვევია. უცნაურია, მაგრამ უჯრედით ინდუცირებული გაჟონვა ლიპოსომის წყლიან მოცულობაში გახსნილი ნივთიერებებისა მეტია ისეთ მემბრანებში,

რომლებიც შეიცავენ ქოლესტეროლს 30 მოლ %-ზე მეტს [103]. არსებობს მოსაზრება, რომ ლიპოსომამ თვითონ შეიძლება გაზარდოს უჯრედის მემბრანის განვლადობა - გამოიწვიოს დამატებითი არხების გაჩენა [103].

II. უჯრედები, რომელთაც ახასიათებთ ფაგოციტოზური აქტივობა, ლიპოსომებს პლაზმური მემბრანის ჩაზნექვით ჩაიჭერენ ენდოსომებში, სუბუჯრედულ ვაკუოლებში, რომელთაც მემბრანაში არსებული პროტონური ტუმბოების მოქმედების გამო აქვს pH 5,0 - 5,5. ეს ენდოსომები შემდგომ ერწყმიან ლიზოსომებს, რომ წარმოქმნან მეორადი ლიზოსომები, სადაც ადგილი აქვს უჯრედულ მონელებას გარემოში რომლის pH დაახლოებით 4,5 ტოლია. ლიზოსომური ფერმენტები შლიან ლიპოსომებს, ხდება ფოსფოლიპიდების ჰიდროლიზი ცხიმოვან მჟავებამდე, რომლებიც შეიძლება შემდგომ ინკორპორირდნენ მასპინძელ ფოსფოლიპიდში. ლიპოსომური ცხიმოვანი მჟავების ბედი შეიძლება დავადგინოთ მონიშნული DMPC-ის (დიმირისტოილფოსფატიდილქოლინი) გამოყენებით, ვინაიდან მოკლე ჯაჭვიანი მირისტინის მჟავა არის ადვილად გამოსარჩევი მასპინძელი უჯრედების გრძელი ცხიმოვანი ჯაჭვებისგან. მაგალითად, ძუძუმწოვართა ღვიძლში ქოლესტეროლი მეტაბოლიზირდება ნაღვლის მარილებამდე [104-106].

აღსანიშნავია, რომ ყველაზე წარმატებულად ლიპოსომების გამოყენება მოხდა მაშინ, როდესაც გამოყენება “მოერგო” ლიპოსომების შესაძლებლობებს, და როდესაც მხედველობაში მიიღეს ფაქტი, რომ *in vivo* მემბრანის შემადგენლობის ვარიაციის გარეშე ლიპოსომები თითქმის უკლებლივ ურთიერთქმედებენ მონოციტ-ფაგოციტოზის სისტემის (MPS – ასევე ცნობილია, როგორც რეს- რეტიკულარულ ენდოთელიალური სისტემა) ორგანოებთან, კერძოდ ღვიძლთან, ელენთასთან, ფილტვებთან, ლიმფურ კვანძებთან და ძვლის ტვინთან, ვინაიდან სწორედ ამ ორგანოების ფუნქციაა სხეულში შესული სხვადასხვა აგენტების დამუშავება რაიმე გზით. ლიპოსომები ძალიან სწრაფად ჩაიჭირება ფაგოციტოზური უჯრედების მიერ და დეგრადირდება ლიზოსომაში. ლიპოსომების ლიზოსომებში დაშლის პროცესის დროს, წყლიანი კომპონენტის შემცველობა გამოთავისუფლდება, რის შემდეგაც ის ან რჩება ლიზოსომაში

იზოლირებული ეკზოციტოზამდე, კერძოდ, თუ ისინი არიან ძალიან დამუხტულები დაბალი pH-ის დროს, ან ისინი გამოჟონავენ ლიპოსომებიდან და გავრცელდებიან უჯრედის სხვა ნაწილებშიც. ლიპოსომები შეიძლება ასევე ჩაჭერილ იქნან რეცეპტორის შუამავლობით ენდოციტოზით [101,104-106]. ამგვარად, თუ ლიპოსომების ორგანიზმში შეყვანისას ჩვენი მიზანია მათი კონტაქტი რეს-ის უჯრედებთან, მაშინ პრობლემა თითქმის არ არსებობს: ლიპოსომა სამიზნესთან უპრობლემოდ ურთიერთქმედებს. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ინფექციური დაავადებების გამომწვევეები იმყოფებიან ზუსტად ასეთ უჯრედებში [103].

III. ლიპოსომების ადსორბცია უჯრედის ზედაპირზე შეიძლება ხშირად მოხდეს წყლიანი ან ლიპიდური კომპონენტების მცირე, ან საერთოდ არ არსებული ინტერნალიზაციის გამო. ის შეიძლება მოხდეს ან ფიზიკური მიზიდვის ძალების შედეგად, ან სპეციფიური რეცეპტორების მიხედვით ვეზიკულების მემბრანებზე არსებულ ლიგანდებთან. ფიქრობენ, რომ ლიპოსომების ფიზიკური ადსორბცია შეიძლება მოხდეს სპეციფიური უჯრედის ზედაპირული ცილის დაკავშირებით. საკვირველია, რომ მაქსიმალური ჩაჭერა ხდება ტემპერატურაზე რომელიც ტოლია ლიპოსომური მემბრანის ფაზური გადასვლის ტემპერატურის, ან უფრო დაბალ ტემპერატურებზე. კერძოდ, როდესაც ლიპიდები არიან გელურ ფაზაში, სავარაუდოდ იმიტომ, რომ ამ პროცესში ჩართული მიმაგრების საიტებს წარმოადგენენ მემბრანული დეფექტები, რომლებიც არიან უფრო სტაბილური დაბალ ტემპერატურებზე. ადსორბცია არის მნიშვნელოვანი წინა პირობა უჯრედის მიერ ლიპოსომის შთანთქმისთვის, მაგრამ კონკრეტულად რა ფაქტორები განსაზღვრავენ შემდგომ ლიპოსომა ჩაჭირება პინოციტოზით, თუ ფაგოციტოზით, ჯერ-ჯერობით ბოლომდე ცხადი არ არის [107, 108].

IV. ლიპიდური კომპონენტების ინტერმემბრანული ტრანსფერი ხდება ორი ფოსფოლიპიდური ბიშრის ძალიან მიახლოების დროს, ის არ საჭიროებს ლიპოსომების დაშლას ან მემბრანის მთლიანობის დარღვევას. უფრო მეტიც შესაძლებელია, რომ მოხდეს ასეთი ტრანსფერი (ხშირად ორივე მიმართულებით) ლიპოსომების წყლიანი კომპონენტის შემცველობის სრული შენარჩუნებით [104-106].

ფიქრობენ, რომ ფოსფოლიპიდების გაცვლა უჯრედებთან ხდება უჯრედის ზედაპირის სპეციფიური გამცვლელი ცილის მეშვეობით, ვინაიდან იცვლებიან მხოლოდ განსაზღვრული ფოსფოლიპიდები (ფოსფატიდილქოლინი და ფოსფატიდილეთანოლამინი) და ეს პროცესი ნელდება ტრიფსინის მოქმედებით [101,104].

მსგავსი ურთიერთქმედება შეიძლება მოხდეს ლიპოსომებსა და ლიპოპროტეინებს შორის. კერძოდ, მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების შემთხვევაში და განსაზღვრულ პირობებში ზრდის მთლიანად ლიპოსომების დაშლის ხარისხს. ლიპოსომების დესტრუქციის ხარისხი დამოკიდებულია ლიპოპროტეინების და ლიპოსომების თანაფარფობაზე და სისტემა არის გაჯერებადი ლიპოსომების მაღალ კონცენტრაციაზე. ლიპიდების დაბალი კონცენტრაციისას, ორივეგან *in vivo* და *in vitro*, მცირე უნილამელარული ვეზიკულები, რომლებიც შედგებიან მხოლოდ კვერცხის ლეციტინისაგან (ქოლესტერინის გარეშე) სწრაფად დეზინტეგრირდებიან პლაზმაში, ლიპიდური კომპონენტები გადანაწილდებიან ლიპოპროტეინებს შორის. კვერცხის ლეციტინის მემბრანაში ქოლესტეროლის ინკორპორაცია ნაწილობრივ აინჰიბირებს დეზინტეგრაციას და სფინგომიელინის მცირე უნილამელარული ვეზიკულები, რომლებიც 30 მოლ % ან მეტ ქოლესტეროლს შეიცავენ რჩებიან დაუზიანებლები და ინარჩუნებენ სრულად წყლიან შემცველობას. მეორეს მხრივ, დიდი ლიპოსომებისთვის, ორივე მულტილამელარულის და უნილამელარულის შემთხვევებშიც, ფოსფოლიპიდების ტრანსფერი პლაზმის ლიპოპროტეინებზე დაბალია, ქოლესტეროლის შემცველობის მიუხედავად [106-108].

ქოლესტეროლი თავისთავად გადადის ძალიან ადვილად ბიშრებს შორის, რათა მიაღწიოს წონასწორობას, ისე, რომ მისი მოლეკული კონცენტრაცია გათანაბრდეს ყველა არსებულ მემბრანაში. ამგვარად, ლიპოსომები გამოიყენება უჯრედის მემბრანებისთვის ქოლესტეროლის დასამატებლად, ან მემბრანის ქოლესტეროლისაგან გაწმენდისათვის ინ ვიტრო, მარტივად უჯრედების ინკუბირებით ლიპოსომებთან სტეროლების დაბალი და

მაღალი შემცველობით. ასეთ მანიპულაციებს შეუძლია დიდი ეფექტი იქონიოს უჯრედის ფუნქციონირებაზე [104-107].

ინტერმემბრანულმა ტრანსფერისა და “კონტაქტური გამოთავისუფლების” მოვლენებმა შეიძლება შემოგვთავაზონ საკმაოდ ეფექტური მეთოდები სპეციფიურ უჯრედებში ნივთიერებების შეტანისათვის მთლიანი ლიპოსომის შთანთქმის საჭიროების გარეშე, რომელთაც ექნება მნიშვნელოვანი ღირებულება არა აქტიურად ფაგოციტური უჯრედებისთვის. მეთოდები კარგად გამოიყენება ისეთ პირობებში, სადაც უჯრედის გარემომცველ გარემოში დინება და ტურბულენტობა შემცირებულია, და სადაც ფიზიკური ურთიერთქმედება ლიპოსომებსა და უჯრედებს შორის გამყარებულია რეცეპტორ/ლიგანდის გადაბმით ორ მემბრანას შორის. ექნება თუ არა ამ პროცესებს ადგილი, მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული მემბრანების შემადგენლობაზე ისევე, როგორც თავად ლიპოსომაში მოთავსებული ნაერთების ბუნებაზე [106-108].

ლიპოსომებისა და უჯრედული მემბრანის მჭიდრო დაახლოებამ შეიძლება მიგვიყვანოს მათ შერწყმამდე, შედეგად ვიღებთ ლიპოსომური ლიპიდების სრულ შერევას უჯრედული პლაზმური მემბრანის ლიპიდებთან და ლიპოსომური შემცველობის გამოთავისუფლებას ციტოპლაზმურ მემბრანაში. მულტილამელარული ვეზიკულების შემთხვევაში ლიპოსომების შიდა დაუზიანებელი მემბრანული ლამელები შევლენ ციტოპლაზმაში, ისე რომ ზევით აღწერილი ურთიერთქმედება შეიძლება განმეორდეს ისევ ლიპოსომებსა და სუბუჯრედულ ორგანელებს შორის. *In vitro* სიტუაციებში, შერწყმა შეიძლება მოხდეს გაცილებით ადვილად მემბრანაში ფუზოგენების ინკორპორაციით მაგალითად: ლიზოლეციტინი, ფოსფატიდილ სერინი, დეტერგენტები, ზედაპირულად აქტიური აგენტები, მაგრამ ეს ნივთიერებები შეიცავენ რისკს. ისინი შეიძლება იყვნენ საკმაოდ ტოქსიკურები უჯრედებისთვის, სავარაუდოდ იმიტომ, რომ ისინი აგრძელებენ თავისი არა სპეციფიური მემბრანის “შემაშფოთებელი” ეფექტების გამოვლენას უჯრედში ინკორპორაციის შემდგომ. დღემდე ყველაზე ეფექტური მეთოდი უჯრედებში ლიპოსომური ნივთიერებების *in vitro* მიტანისა შერწყმით არის სენდაი ვირუსის შერწყმის ცილების გამოყენება, რომლის

საშუალებითაც არა მხოლოდ წყალში ხსნადი კომპონენტები შედიან ციტოპლაზმაში, არამედ შეიძლება ფუნქციონალური მემბრანული ცილებიც ჩავრთოთ (მოვათავსოთ) პლაზმურ მემბრანაში. სხვა შერწყმის მეთოდები, შეიძლება შეიცავდნენ ფოსფატიდილეთანოლამინის და ოლეინის მჟავის გამოყენებას, ან დადებითად დამუხტულ ლიპიდებს [104-108].

თუმცა *in vitro* შერწყმის პროცესი იკავებს მეორე ადგილს უჯრედული ჩაჭერის ინდუცირების მიხედვით ფაგოციტოზის შემდგომ. უმრავლეს შემთხვევაში სისხლის მიმოქცევიდან ლიპოსომები სწრაფად ჩაიჭირებიან ფაგოციტური უჯრედების მიერ მანამ, სანამ მოხდება შერწყმის პროცესი ნებისმიერი მნიშვნელოვანი ხარისხით. გაცილებით ხელსაყრელი პირობები შერწყმის პროცესისთვის ან კაპილარების კედლებზე პასიური ადსორბციისთვის ლოკალიზებულია ისეთ საიტებში, როგორებიცაა მაგალითად თვალის წყლიანი სითხე, ცერებროსპინალური სითხე, ანუ სადაც ნაკლებადაა ჩართული რეტიკულარულ ენდოთელიალური სისტემა (რეს)[104-108].

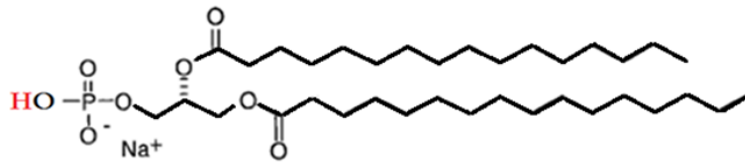
II თავი. ექსპერიმენტული ნაწილი

2. გამოყენებული მასალები და მეთოდები

2.1 გამოყენებული მასალები

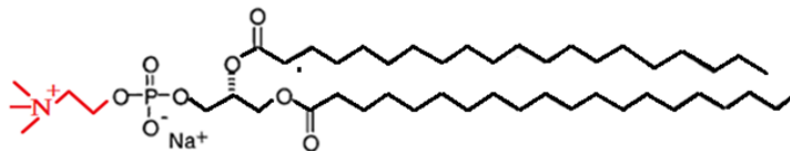
2.1.1 DPPA და DPPC ლიპოსომები

ლიპოსომების დასამზადებლად გამოვიყენებულ იქნა ორი ტიპის ფოსფოლიპიდი, ესენია: დიპალმიტოილფოსფატის მჟავა - DPPA (L- α -Phosphatidic Acid, Dipalmitoyl-Sodium Salt, დიპალმიტოილფოსფატის მჟავა-) (სურ.7), რომლის ქიმიური ფორმულა შესაბამისად არის $C_{35}H_{69}O_8P \cdot Na^+$ და მოლეკულური წონა შეადგენს 648,89 გ/მოლი.



სურათი 7. DPPA ლიპიდის სტრუქტურა

რაც შეეხება მეორე ლიპიდს, ეს არის დიპალმიტოილფოსფატიდილ ქოლინი-DPPC (L- α -Phosphatidylcholine, Dipalmitoyl - დიპალმიტოილფოსფატიდილ ქოლინი) (სურ. 8), მისი ქიმიური ფორმულა არის $C_{40}H_{80}NO_8P$ (DPPC) და მოლეკულური წონა - 734.039 გ/მოლი.



სურათი 8. DPPC ლიპიდის სტრუქტურა

2.1.2 კომპლექსური ლიპოსომების დამზადებისას გამოყენებული ლიგანდები

ქოლესტეროლი. ქოლესტეროლი შედის ეუკარიოტული უჯრედების მემბრანის შემადგენლობაში და ფართოდ გამოიყენება მოდელოვანი მემბრანულ სისტემებშიც. მიჩნეულია, რომ ქოლესტეროლი ანიჭებს ლიპოსომების ლიპიდურ ბიშრეს მედეგობას და სტაბილურობას.

ქოლესტეროლის ქიმიური ფორმულა არის $C_{27}H_{45}OH$ და მოლეკულური მასა არის 386,65 გ/მოლი.

ფლორესცინი. ფლორესცინის ქიმიური ფორმულა არის $C_{20}H_{12}O_5$ და მოლეკულური მასა არის 332.306 გ/მოლი.

ვიტამინი C. ვიტამინი C, იგივე ასკორბინის მჟავა, მისი ქიმიური ფორმულაა $C_6H_8O_6$ და მოლეკულური მასა 176.12 გ/მოლი.

ვიტამინი E. ვიტამინი E მისი ქიმიური ფორმულაა $C_{29}H_{50}O_2$ და მოლეკულური მასა 430.71 გ/მოლი.

2.1.3 ოქროს ნანონაწილაკი

ოქროს ნანონაწილაკების დამზადება მოხდა გერმანიაში, საარბრუკენის ფარმაკოლოგიის ლაბორატორიაში, რისთვისაც გამოყენებული იქნა კოლოიდური ოქროს ნანონაწილაკების მომზადების თურქევიჩის (1951) და ფრენსის (1973) მეთოდი. მილიფორის წყალში ხსნიან ოქროს ქლორიდის ჰიდრატს, მიღებული ხსნარი გადაიტანება მრგვალ ძირიან კოლბაში და ხდებოდა წყლიანი მენზურით ინტენსიური რეცხვა. შემდეგ ხსნარს ურევენ რეფლუქსის ქვეშ ($100^{\circ}C$) და ამატებენ ტრი-სოდიუმ ციტრატ-2-ჰიდრატს. 5 წუთის განმავლობაში ხსნარის ფერი იცვლება ღია ყვითელიდან

უფერო, ვარდისფერი და წითლი ფერისკენ, ამასთან ხსნარი თანდათან ცივდება. მომზადებული ოქროს ხსნარი შედგება ძირითადად გამოყოფილი, სფერული ფორმის ოქროს ნაწილაკებისაგან, რომელთა საშუალო დიამეტრით 15 ± 2 ნმ-ია. [109,110,111].

2.2 კვლევებში გამოყენებული ფიზიკური მეთოდები

2.2.1 კალორიმეტრული მეთოდი

პირველი დიფერენციალური სკანირებადი მიკროკალორიმეტრი, რომელმაც შესაძლებელი გახდა გაზომილი ყოფილიყო ბიოპოლიმერების ენერგეტიკული პარამეტრები, შექმნილი იქნა საქართველოში, თბილისში, ელევთერ ანდრონიკაშვილის სახელობის ფიზიკის ინსტიტუტში პეტრე პრივალოვის და თანაავტორების მიერ [112].

დიფერენციალური სკანირებადი მიკროკალორიმეტრია გამოიყენება სხვადასხვა ტიპის ბიოპოლიმერთა შესწავლისათვის, ისეთები როგორებიცაა: გლობულური და ფიბრილარული ცილები, ნუკლეინის მჟავები, ფოსფოლიპიდები, ბიოლოგიური მემბრანები და სხვა.

სხვადასხვა ფაქტორების (ტემპერატურა, PH, იონური ძალა და ა.შ) მოქმედების შედეგად ბიოლოგიური სტრუქტურების დაშლის პროცესის კალორიმეტრული კვლევა განპირობებულია იმით, რომ ეს ერთადერთი პირდაპირი მეთოდია ამ პროცესების ენერგეტიკული პარამეტრების განსასაზღვრავად. ტემპერატურა როგორც, ბიომოლეკულურ სტრუქტურაზე ზემოქმედების ფაქტორი გასხვავდება სხვა ფაქტორებისაგან იმით, რომ ის წარმოადგენს ინტენსიურ პარამეტერს, რომელიც თერმოდინამიკურად შეუღლებულია ენთალპიასთან, რომელიც წარმოადგენს სისტემის ექსტენსიურ პარამეტერს. ეს ნიშნავს, რომ სისტემის მდგომარეობის ყველა ცვლილებას, რომელიც განპირობებულია ტემპერატურეს ცვლილებით, თან უნდა ახლდეს ენთალპიის ცვლილება. ასე რომ, სისტემის ენთალპიასა და ტემპერატურას შორის ფუნქციონალური დამოკიდებულება გულისხმობს თერმოდინამიკურ ინფორმაციას იმ

მდგომარეობებზე, რომლებიც დასაშვებია სისტემისათვის ტემპერატურათა განხილულ უბანში [113,114,116].

მაკრომოლეკულური და პოლიმოლეკულური სტრუქტურები ნატიურ მდგომარეობაში დაფიქსირებულია უამრავი სუსტი კავშირებით, რომლებიც გაცხელებისას და გაციებისას დაახლოებით -20° - 130°C ინტერვალში განიცდიან კონფორმაციულ და/ან ფაზურ გადასვლებს. შესაბამისად, სითბოტევადობის ცვლილების მიხედვით შეიძლება ვიმსჯელოთ მოლეკულის სტრუქტურულ და კონფორმაციულ ცვლილებებზე. ამიტომ, ჩვენს ექსპერიმენტებში სითხეების გამოსაკვლევად ვიყენებთ კალორიმეტრულ მეთოდს, კერძოდ მაღალ მგრძნობიარე დიფერენციალურ სკანირებად მიკროკალორიმეტრს (DSC). ეს მეთოდი საშუალებას გვაძლევს მივიღოთ განსაკუთრებულად მნიშვნელოვანი ინფორმაცია მოდელოური და ბიოლოგიური მემბრანების თერმოდინამიკაზე. მისი დახმარებით არეგისტრირებენ და იკვლევენ ლიპიდების ფაზური მდგომარეობის ცვლილებას და ასევე ახასიათებენ ამ მდგომარეობის დარღვევას ლიპიდების ურთიერთქმედებისას სხვა ნივთიერებებთან (ცილებთან, იონებთან ან პატარა ჰიდროფობურ მოლეკულებთან). DSC-ს დროს ნიმუშს და ინერტულ სტანდარტს ათბობენ დამოუკიდებლად, ისე რომ მათი ტემპერატურა იყოს ერთიდაიგივე. ამასთან სითბოს რაოდენობა რომელიც საჭიროა ბიშრის ენდოთერმული გადასვლისათვის გელის მდგომარეობიდან თხევადკრისტალურ მდგომარეობაში, აღემატება იმ სითბოს რაოდენობას, რომელიც საჭიროა სტანდარტის შენარჩუნებისათვის იგივე ტემპერატურაზე. შემდგომ აგებენ სითბოს ნაკადების სხვაობის დამოკიდებულებას ტემპერატურაზე. მაღალმგრძნობიარე კალორიმეტრების საშუალებით შეიძლება ჩავატაროთ გაზომვები ლიპიდების განზავებულ წყლიან სუსპენზიებში (1მგ/მლ ნიმუშის სრულ მოცულობაში 1 მლ). ამ მეთოდით განისაზღვრება ჩვეულებრივ შემდეგი პარამეტრები [72, 115-118]:

1. ფაზური გადასვლის ტემპერატურა T_{33} (გადასვლის საშუალო წერტილი, რომელსაც ლიტერატურაში ასევე აღნიშნავენ როგორც T_m), შეესაბამება გადასვლის შუა

წერტილს. ორ მდგომარეობას შორის გადასვლისას T_m განისაზღვრება, როგორც წერტილი სადაც $\Delta G^0 = 0$:

$$\Delta G^0 = 0 = \Delta H - T_m \Delta S$$

$$T_m = \Delta H / \Delta S$$

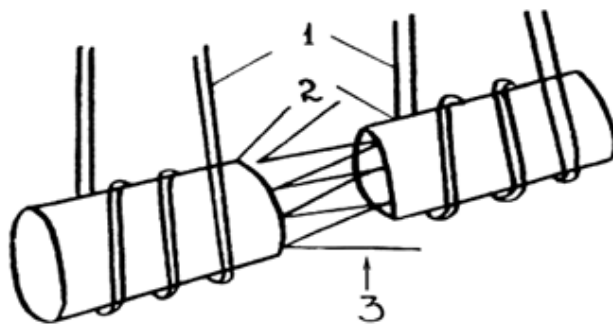
ეს თანაფარდობა შეიძლება გამოვიყენოთ გადასვლის ენტროპიის ΔS -ის მოსაძებნად, T_m -ის და ΔH -ის გაზომვის შემდეგ [72, 115-117].

2. გადასვლის T_c ტემპერატურა , რომელიც შეესაბამება გადასვლის დასაწყისს

3. გადასვლის ენტალპია ΔH - სითბოს რაოდენობა, რომელიც საჭიროა გადასვლის განსახორციელებლად გათვლილი ნივთიერების ერთ მოლზე ან ერთეულ მასაზე [72,118].

4. სითბოტევადობა C_p - სითბოს რაოდენობა (გადათვლილი ერთ გრამზე ან მოლზე), რომელიც აუცილებელია ნიმუშის ტემპერატურის მოსამატებლად ერთი გრადუსით [72, 119].

განვიხილოთ მისი მოქმედების პრინციპი უფრო დაწვრილებით. დიფერენციალური სკანირებადი კალორიმეტრი შედგება ორი კამერისაგან: (სურ.9) მათგან ერთში თავსდება გამხსნელი, მეორეში – გამხსნელისა და გამოსაკვლევ ნივთიერების ნარევი. ვინაიდან კალორიმეტრის კამერები აბსოლუტურად იდენტური ვერ იქნება, გაზომვის სიზუსტისათვის თავდაპირველად კამერებს ავსებენ ერთი და იგივე სტანდარტული სითხით (გამხსნელით) და იწერენ ე.წ. ბაზისურ ხაზს ტემპერატურის საჭირო ინტერვალში. გასაგებია, რომ ბაზისური ხაზი გამოდის სწორხაზოვანი.



სურათი 9. DASM 4A კალორიმეტრის კამერა

1. პლატინის კაპილარები
2. უჟანგავი ფოლადის თხელი მილები
3. თერმოზატარეა

როდესაც იწყება კამერებისათვის სითბოს გადაცემა (ტემპერატურის გაზრდისას), კალორიმეტრის კამერებს შორის ტემპერატურული წონასწორობის შესანარჩუნებლად, ნიმუშის კამერას მიეწოდება ნაკლები ან მეტი სიმძლავრე, იმის და მიხედვით პროცესი ენდოთერმულია, თუ ეგზოთერმული, ანუ პროცესი სითბოს შთანთქმით მიმდინარეობს თუ გამოყოფით – ამ პრინციპით კალორიმეტრი ათანაბრებს ტემპერატურებს კამერებში. კალორიმეტრი იწერს იმ ელექტრული სიმძლავრის სიდიდეს, რომელიც მას დასჭირდა გადაეცა ნიმუშის კამერისათვის ტემპერატურული ბალანსის დასამყარებლად. ეს სიდიდე პროპორციულია სითბოტევადობების სხვაობისა კამერებში მოთავსებულ ხსნარებს შორის და წარმოადგენს ტემპერატურის ფუნქციას.

ამ ზოგად პრინციპზე დაყრდნობით არსებობს სხვადასხვა ტიპის კალორიმეტრები. ჩვენ ვიყენებთ DASM 4A (ცხრილი№1) ტიპის მიკროკალორიმეტრს. გარემოსთან სითბოცვლის გამოსარიცხად მისი ორივე კამერა გარშემორტყმულია ადიაბატური გარსით, რომლის ტემპერატურაც კამერების ტემპერატურის ტოლია. ტემპერატურათა თუნდაც მცირე სხვაობას კალორიმეტრი აღმოაჩენს არა მარტო კამერებს შორის, არამედ გარსსა და კამერას შორისაც, ეს კი ააქტივებს გაცხელების მექანიზმს და აღადგენს ტემპერატურულ ბალანსს ზემოთ აღწერილი პრინციპით. ასეთი სისტემა კიდევ უფრო ზუსტად იცავს ტემპერატურული წონასწორობას [116].

კალიბრებისთვის ერთ-ერთი კამერა აღჭურვილია დამატებითი ელექტრული გამაცხელებლით. ასეთი კალორიმეტრის სიზუსტე საკმაოდ მაღალია (ცდომილება <0.1%). ეს ნიშნავს, რომ ის შეიძლება გამოვიყენოთ განზავებული ხსნარებისთვის, (<10-4 M ნიმუში), სადაც საჭიროა ჰომოგენურ მაკრომოლეკულებს შორის ურთიერთქმედებების თავიდან აცილება. ასეთი კალორიმეტრი ასახავს მხოლოდ თერმულად ინდუცირებულ მოვლენებს, რომლებსაც ადგილი აქვს ნიმუშში, და არა სხვა პარამეტრებს, მაგ; კამერების არაიდენტური გათბობა და სხვა. ყველა ზემოთჩამოთვლილი თვისებების გამო საბაზისო ხაზი გამოდის მდგრადი.

ხმაურის დონე	$5 \times 10^{-7} \text{ W}$
ბაზისური ხაზის განმეორებადობა	$3 \times 10^{-6} \text{ W}$
ბაზისური ხაზის გადახრა სწორი ხაზიდან	$15 \times 10^{-6} \text{ W}$
საშუალო ტემპერატურული ინტერვალი	0-150°C
ტემპერატურის გაზომვის აბსოლუტური ცდომილება	$\pm 0.1^\circ\text{C}$
კალორიმეტრული უჯრების გაცხელების სიჩქარე	0.125; 0.25; 0.5; 1.0; 2.0; 4.0 %/min
სკანირების სიჩქარის ფარდობითი ცდომილება	$\pm 2\%$
წნევა ამბილის თავზე	500-600 კპა
თითოეული კამერის მიცულობა	0.8 ml
სასუალო მოცულობა	0.46 ml
Kკალიბრების სიმძლავრე	25; 50; 100 μW

ცხრილი №1. DASM 4A კალორიმეტრის ტექნიკური მონაცემები

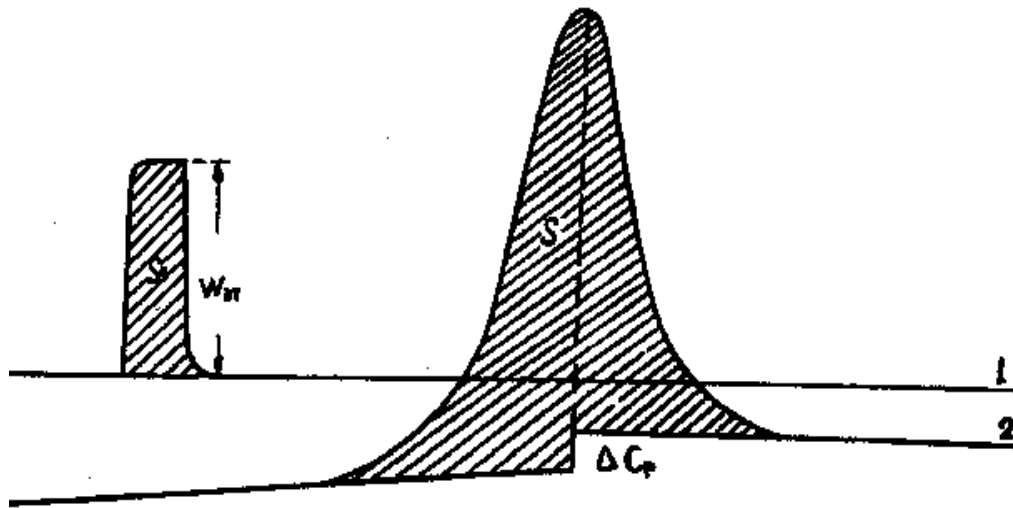
დიფერენციალურ კალორიმეტრთან მუშაობის ერთ-ერთი ყველაზე რთული პრობლემაა კამერების ჩატვირთვა განსაზღვრული, თანაბარი რაოდენობით: კამერებში ნიმუშის რაოდენობის ჩატვირთვის სიზუსტე არ უნდა აღემატებოდეს 10-5-ს. ცხადია, ასეთი სიზუსტის დაცვა ნიმუშების აწონვით შეუძლებელია. გარდა ამისა, არ შეიძლება კამერის ბოლომდე გავსება, რადგან სითხისა და კამერის სითბური გაფართოების კოეფიციენტი სხვადასხვაა. მეორეს მხრივ, თუ კამერაში თავისუფალ მოცულობას დავტოვებთ, მაშინ სითხის გახურებისას ხდება დამატებით ორთქლწარმოქმნა, რაზეც დამატებითი ენერგია იხარჯება. არსებობს კიდევ ერთი პრობლემა: მიუხედავად იმისა, რომ გამხსნელსა და ხსნარის ზევით ორთქლის დრეკადობა მცირედ განსხვავდება, ორთქლის წარმოქმნის დიდი კუთრი სითბოს გამო, სხვაობრივი სითბური ეფექტი შესამჩნევი ხდება. ამიტომ კამერაში არ უნდა დარჩეს ჰაერის ბუშტუკები.

ამ უზუსტობების თავიდან ასაცილებლად, კამერაში ნიმუში შეყავთ კაპილარული მილის საშუალებით ისე, რომ ის ავსებს კამერას. გახურების პროცესში კამერაში ბუშტუკების გამოსარიცხად კაპილარული მილების გარე გამოსასვლელებს მოდებული აქვთ ჭარბი წნევა (რამდენიმე ატმ.). რადგან მოდებული წნევა არც ისე დიდია, იგი არ მოქმედებს ხსნარის სითბურ თვისებებზე. სითხეში არსებული აირის წნევასა და ჭარბ წნევას შორის სხვაობას მონოსტატი არეგულირებს. ასე რომ, ხსნარის შესაძლო გაფართოება, აორთქლება ან კონდენსაცია გაზომვის პროცესში გავლენას არ ახდენს კუთრი სითბოტევადობის განსაზღვრაზე (ΔC_p).

როგორც ავღნიშნეთ, DASM 4A კალორიმეტრი დიფერენცირებული ტიპის ხელსაწყოა, ანუ ის ზომავს არა აბსოლუტურ სითბოტევადობებს, არამედ კამერებში მოთავსებულ ხსნარებს შორის სითბოტევადობების სხვაობას. თუ კამერებში მოთავსებული სითხეების სითბური თვისებები განსხვავებულია, მათი ერთნაირი სიჩქრით გაცხელებისას წარმოიშვება კამერათა შორის ტემპერატურული სხვაობა. ეს სხვაობა კამერებს შორის.

არსებული თერმოწყვილების მიერ გარდაიქმნება ელექტრულ სიგნალად. მას აძლიერებს გამაძლიერებელი და ხვდება გამახურებლის სქემაში. გამახურებლის სქემა

ისე არეგულირებს გახურების დენებს, რომ კამერებს შორის ტემპერატურათა სხვაობა იყოს მინიმალური. მაკომპენსრებელი სიმძლავრის პროპორციული ძაბვა რეგისტრირდება ორკოორდინატიანი თვითჩამწერის ორდინატაზე, ხოლო აბსცისაზე ფიქსირდება ტემპერატურა ტემპერატურის ინდიკაციის ბლოკიდან.



სურათი 10. ტიპიური კალორიმეტრული ჩანაწერი სითბოშთანთქმის პიკით.

1-საბაზისო ხაზი.

2 -ჩანაწერის მრუდი ნიმუშისათვის.

მე-10 სურათზე გამოსახულია ტიპიური კალორიმეტრული მრუდი, რომელიც მიიღება ბიოპოლიმერების (ცილების, ნუკლეინის მჟავების და ა.შ) ხსნარების გაცხელებისას. პიკი ქვემოდან შემოსაზღვრულია ნატიური და დენატურირებული ბიოლოგიური სტრუქტურის სითბოტევადობების ექსტრაპოლაციური მნიშვნელობებით. პიკის ქვეშ მოხვედრილი ფართობის მიხედვით შეგვიძლია დავთვალოთ სითბო, რომელიც გამოიყოფა ან შთაინთქმება მაკრომოლეკულების სტრუქტურული დენატურაციის დროს: $Q=K_1S$, სადაც Q არის სითბოს რაოდენობა (დენატურაციის სითბო), S - პიკის ფართობი, K_1 - ჩანაწერის ერთეულოვანი ფართობის

ფასი ენერგეტიკულ ერთეულებში. $K_1 = W_{et} \cdot t / S_{et}$, W -ეტალონური სიმძლავრე, რომელიც t დროში გადაეცემა ერთერთ კამერას. მრუდის მიხედვით შეგვიძლია დავითვალოთ გახსნილი ნივთიერების პარციალური სითბოტევადობა ნებისმიერ ტემპერატურაზე შემდეგი ფორმულის მიხედვით:

$$-\Delta C = [C]_p^p \cdot m_p - [C]_p^s \cdot \Delta m_s,$$

სადაც $[C]_p^p$ და $[C]_p^s$ გახსნილი ნივთიერების და გამხსნელი ნივთიერებების პარციალური სითბოტევადობებია შესაბამისად. m_p – გახსნილი ნივთიერების მასა კამერის სამუშაო მოცულობაში, ხოლო Δm_s – მის მიერ გამოდევნილი გამხსნელის მასა.

ცხადია, $m_s = m_p \frac{[V]^p}{[V]^s}$, აქ $[V]^p$ და $[V]^s$ ნიმუშის და ხსნარის პარციალური

მოცულობებია შესაბამისად.

ბოლო ფორმულის გათვალისწინებით,

$$[C]_p^p = [C]_p^s \frac{[V]^p}{[V]^s} - \frac{\Delta C}{m_p}$$

სადაც, $\Delta C = k_2 h$ არის გამხსნელსა და ხსნარს შორის სითბოტევადობების სხვაობა, h -წერტილის გადახრა ბაზისური ხაზიდან ნებისმიერ ტემპერატურაზე, ხოლო k_2 – წრფიდან გადახრის ერთეული.

რადგან, $k_2 = W_{et} / V_{let}$ სადაც W - კალიბრული სიმძლავრეა, V – გაცხელების სიჩქარე და l_{et} – საკალიბრო ნიშნის გადახრა, საბოლოოდ მივიღებთ:

$$[C]_p^p = [C]_p^s \frac{[V]^p}{[V]^s} - \frac{W_{et} \cdot h}{V_{let} \cdot m_p}$$

კალორიმეტრულ გაზომვებში ბიოპოლიმერების ტემპერატურული გადასვლის სითბურ ეფექტებს განსაზღვრავს ენტალპიის ცვლილება (ΔH), რომელიც თან ახლავს ამ გადასვლებს

$$\Delta H = \int_{T_1}^{T_2} C_p(T) dT$$

სადაც, $C_p(T)$ –სითბოტევადობა მუდმივი წნევის დროს, იგი ტემპერატურის ფუნქციაა, ხოლო T_1, T_2 –ტემპერატურის შუალედი, რომელშიც ტარდება გაზომვები. სითბური დენატურაციის დროს ნატიურიდან დენატურირებულ მდგომარეობაში გადასვლისას ბიოპოლიმერების სითბოტევადობა იცვლება. ამ გადასვლის ენტალპიის ცვლილება გამოითვლება შემდეგი ფორმულით

$$\Delta H_{den} = \int_{T_1}^{T_2} C_p dT - \int_{T_1}^{T_d} C_p^n dT - \int_{T_d}^{T_2} C_p^d dT = \Delta H_d - \int_{T_1}^{T_d} \Delta C_p dT$$

სადაც, ΔH_d – გადასვლის მოლარული ენტალპიაა; T_d – გადასვლის ტემპერატურა (ღობის პიკის მაქსიმუმი); C_p^n და C_p^d – ბიოპოლიმერების პარციალური სითბოტევადობებია შესაბამისად ნატიურ და დენატურირებულ მდგომარეობებში. $\Delta C_p = C_p^d - C_p^n$ არის პარციალური სითბოტევადობების სხვაობა გადასვლის T_d ტემპერატურაზე. ამავე პროცესში ენტროპიის ცვლილება შემდეგი ფორმულით გამოითვლება:

$$\Delta S_{den} = \int_{T_1}^{T_d} \frac{C_p^n}{T} dT + \frac{\Delta H_d}{T_d} + \int_{T_d}^{T_2} \frac{C_p^d}{T} dT = \frac{\Delta H_d}{T_d} - \int_{T_1}^{T_d} \frac{\Delta C_p}{T} dT$$

2.2.2 სპექტროფოტომეტრული მეთოდი

ოპტიკური შთანთქმის სპექტროსკოპია ითვლება, როგორც ბიომოლეკულების ფიზიკო-ქიმიური ანალიზის ერთ-ერთი უძველეს მეთოდად. მეთოდის მოქმედების პრინციპი მარტივია - გარკვეული ტალღის სიგრძის ფოტონები ეჯახება რა საკვლევ მოლეკულას, ახდენს ურთიერთქმედებას მასთან, რომლის შედეგის მიხედვით შეგვიძლია ვიმსჯელოთ შესასწავლი მოლეკულის თვისებებზე. კერძოდ, თუ მოხდება სინათლის ტალღის შთანთქმა მოლეკულის მიერ, მაშინ შთანთქმული ენერჯის სიდიდის და ხასიათის მიხედვით შესაძლებელია მივიღოთ ინფორმაცია მოლეკულის თვისებების შესახებ.

მოლეკულის სპექტროსკოპულად დახასიათებისას, როგორც წესი იყენებენ ორ პარამეტრს - სინათლის ტალღის სიგრძეებს, სადაც დაიმზირება შთანთქმის მაქსიმუმები და მოლეკულის მიერ სინათლის შთანთქმის ინტენსივობის მნიშვნელობები. მოლეკულის მიერ სინათლის ენერჯის შთანთქმის ეფექტურობა დამოკიდებულია მოლეკულების ქიმიურ შემადგენლობაზე, სტრუქტურაზე და გარემო პირობების თვისებებზე [122-124].

მოლეკულის მიერ სინათლის შთანთქმის რაოდენობრივი აღწერისათვის გამოიყენება კანონი, რომელიც ცნობილია ლამბერტ-ბერის კანონის სახელით. ხსნარის მიერ შთანთქმული სინათლე და კიუვეტიდან გამოსული სინათლის ინტენსივობა ემორჩილება შემდეგ კანონს:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon d c}$$

სადაც ϵ - შთანთქმის კოეფიციენტი, რომელსაც სხვანაირად შთანთქმის ექსტინციის კოეფიციენტს უწოდებენ. იმისათვის, რომ დაგინდეს მოლეკულისათვის ექსტინციის კოეფიციენტი, საჭიროა მოცემული ტალღის სიგრძეზე განისაზღვროს მოლეკულის შთანთქმა ($d = 1$ სანტიმეტრის სიგრძის კიუვეტაში), რომელიც ნორმირებული იქნება ხსნარის კონცენტრაციაზე (გაყოფილი c -ზე). მიღებული რიცხვი იქნება მოცემულ ტალღის სიგრძეზე მოლეკულის ექსტინციის კოეფიციენტის

მნიშვნელობა. თუ წინა ფორმულას ჩავწერთ შემდეგნაირად $I_0/I=10^{\epsilon dc}$ და გავალოგარიტმებთ ტოლობას, მივიღებთ:

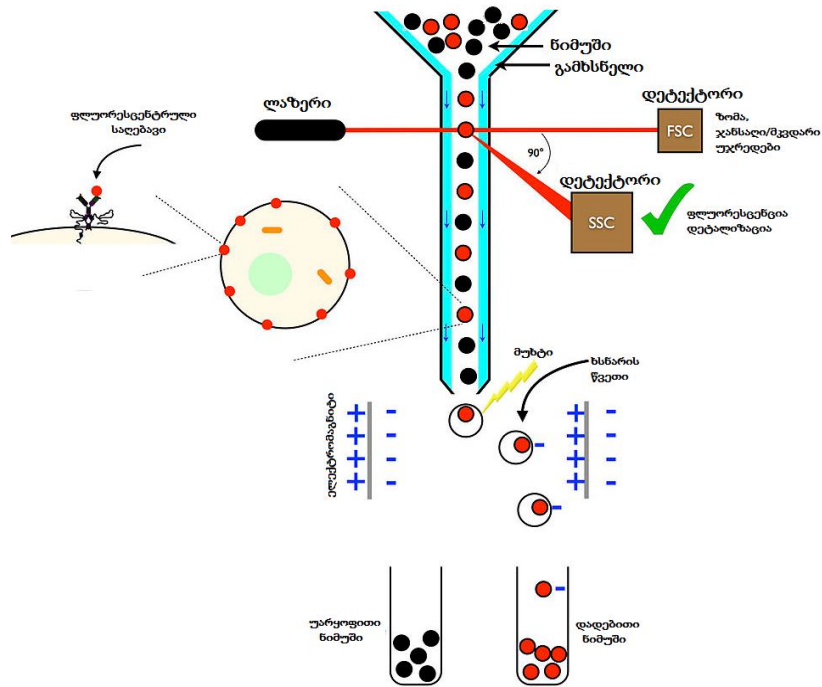
$$lgI_0/I=\epsilon dc$$

lgI_0/I ავლნიშნოთ OD -თი, რომლის განისაზღვრაც ხდება სპექტროფოტომეტრის გამოყენებით და უწოდებენ შთანთქმას. გასაგებია, რომ OD პარამეტრით შესაძლებელია დახასიათდეს საკვლევი ობიექტის შთანთქმის უნარიანობა. შთანთქმის კოეფიციენტის აბრევიატურა გამომდინარეობს ინგლისური სიტყვისაგან - *optical density*, ანუ ოპტიკური სიმკვრივე $OD=lgI_0/I$, რაც განისაზღვრება სპექტროფოტომეტრზე, მოცემული ტალღის სიგრძის დროს [120-124].

ლამბერტ-ბერის კანონი იძლევა შესაძლებლობას განისაზღვროს ბიომოლეკულების კონცენტრაცია, რისთვისაც საჭიროა ცნობილი იყოს ბიომოლეკულის ექსტინციის კოეფიციენტი.

2.2.3 გამდინარე ციტომეტრის მეთოდი

გამდინარე ციტომეტრია - თანამედროვე ტექნოლოგიაა, რომელიც საშუალებას გვაძლევს დავახასიათოდ და გავანალიზიროთ უჯრედები. ამ ტექნოლოგიით ერთდროულად ხდება თითოეული ნაწილაკის, ძირითადად უჯრედების, რამდენიმე ფიზიკური მახასიათებლის აღრიცხვა და გაანალიზირება. ამ მახასიათებლების აღრიცხვა იმ მომენტში ხდება, როცა სითხის ნაკადში ნაწილაკები გადაკვეთავენ სინათლის (ლაზერის) სხივს. გამდინარე ციტომეტრით შესაძლებელია ნებისმიერი 0.2-50 მიკრომეტრის ზომის ნაწილაკების ან უჯრედების სუსპენზიის შესწავლა. ეს მეთოდი გვაძლევს ინფორმაციას უჯრედის (ან ნაწილაკის) ზომის, გრანულარობის და ფლოუორესცენციის შესახებ (სურ.11) [125-127].



სურათი 11. გამდინარე ციტომეტრის მეთოდის სქემატური გამოსახულება

უჯრედების სუსპენზიის გამდინარე ციტომეტრით გაანალიზების დროს უპირველეს ყოვლისა ხდება უჯრედების ზომის და გრანულარობის აღრიცხვა. მიღებული მონაცემები გრაფიკულად გამოისახება წერტილოვანი გრაფიკის სახით (“დოტ პლოტ”), სადაც თითოეული უჯრედი წერტილის სახით არის გამოსახული. ყველა წერტილს გააჩნია ორი კოორდინატი, X- და Y ღერძზე. X-ზე გამოსახულია ზომა (FSC), Y-ზე – გრანულარობა (SSC). ზომის და გრანულარობის მიხედვით, მაგალითად, პერიფერიულ სისხლში, ერითროციტების ლიზირების შემდეგ, ადვილად შესაძლებელია ლიმფოციტების, მონოციტების და ნეიტროფილების პოპულაციების გარჩევა, რადგანაც ლიმფოციტები ყველაზე მცირე ზომით და ყველაზე ნაკლები გრანულარობით ხასიათდებიან, ნეიტროფილები კი პირიქით მაღალი გრანულარობით და დიდი ზომით განირჩევიან, მონოციტებს – შუალედური პოზიცია უჭირავთ [125,127].

უმრავლეს შემთხვევაში გამდინარე ციტომეტრის მეთოდი გულისხმობს ფლოურესცენტული სინჯით უჯრედში რომელიმე სპეციფიური მოლეკულების

მონიშვნას. ამისთვის გამოიყენება ფლოუროქრომთან კონიუგირებული მონოკლონური ანტისხეულები, რომლებიც მიმართული შეიძლება იყოს ამა თუ იმ მოლეკულის წინააღმდეგ. სამიზნე ანტიგენი შეიძლება იყოს, როგორც ზედაპირული, ასევე ციტოპლაზმური. გაანალიზების დროს აღრიცხული ფლოუორესცენცია გამოისახება ან ერთპარამეტრიანი ჰისტოგრამის სახით, ან, ასევე შესაძლებელია წერტილოვანი გრაფიკების სახითაც გამოისახოს, თუ არჩეული იქნება რომელიმე მეორე პარამეტრიც – ან მეორე ფერის ფლოუორესცენცია (თუ ერთდროულად ხდებოდა ერთზე მეტი ანტიგენის შესწავლა), ზომა, ან გრანულარობა [127,128].

2.2.4 კვლევებში გამოყენებული სხვა მეთოდები

კონფუკალური მიკროსკოპი გამოყენებული იქნა სიმსივნურ უჯრედებში ფლოუორესცენციანი ლიპოსომების შეღწევის დასადგენად.

ნანონაწილაკების ზომის და ზედაპირული მუხტის დასადგენად გამოყენებული იქნა ზეტასაიზერი.

აღნიშნული კვლევები ჩატარებული იქნა გერმანიის, საარბრუკენის ფარმაკოლოგიის ლაბორატორიაში.

უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შეფასებისათვის გამოყენებული იქნა MTT ტესტი.

2.3 DPPA და DPPC ლიპოსომების მომზადების მეთოდი

ექსპერიმენტებში გამოყენებული იყო ლიპოსომები, რომლის დამზადება ხდებოდა როგორც თბილისის ივ.ჯავახიშვილის სახელობის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ბაზაზე, ასევე გერმანიის, საარბრუკენის ფარმაკოლოგიის

ლაბორატორიაში. ლიპოსომების დასამზადებლად გამოყენებული იყო ორი ტიპის ფოსფოლიპიდები: დიპალმიტოილფოსფატის მჟავა - DPPA და დიპალმიტოილფოსფატიდილ ქოლინი –DPPC. ლიპოსომების მიღება ხორციელდებოდა ცნობილი მეთოდით, რომელიც ლიტერატურაში არის აღწერილი.

ლიპოსომების დამზადებისას ვიყენებით მბრუნავ ევაპორატორს. ორივე ლიპიდისათვის დამზადების ტექნოლოგია იყო მსგავსი. ლიპიდების განსაზღვრული რაოდენობა (100 მგ) ვხსნიდით ორგანულ გამხსნელთა, კერძოდ, ქლოროფორმ-ეთანოლის ნარევიში (პროპორცია მოცულობის მიხედვით იყო შესაბამისად 2:1, გამოვიყენეთ 6 მლ ქლოროფორმი და 3 მლ ეთნოლი). მიღებული ხსნარის ევაპორაცია მოვახდინეთ დაახლოებით 40 წუთის განმავლობაში (წყლიან აბაზანაში ვინარჩუნებდით 50°C ტემპერატურას). მიღებული ამომშრალი ლიპიდების ფენას ემატებოდა დაახლოებით 60°C-მდე გამთბარი დისტილირებული წყლი და მსუბუქი არევით ვღებულობთ ლიპოსომების თეთრი ფერის რძისებრ სუსპენზიას.

2.4 კომპლექსური ლიპოსომების მომზადების ახალი მეთოდი

წარმოგიდგინთ ტექნოლოგიას, რომლის მეშვეობითაც შესაძლებელია დამზადდეს ჯანმრთელობისათვის უსაფრთხო წამლის გადამტანი ნანონაწილაკები, რომლის სტრუქტურაშიც სამკურნალო წამლის მოლეკულები იქნება მოთავსებული. ავლნიშნავთ, რომ ეს ტექნოლოგია განსხვავებულია აქამდე არსებული ტექნოლოგიისაგან, არის სწრაფი და ამავე დროს იაფიც. ჩვენ შემთხვევაში გამოყენებულია DPPC და DPPA ფოსფო-ლიპიდები, რომლებიც იქნება გამოყენებული როგორც წამლის გადამტანები. გასაგებია ისიც, რომ საბოლოო პროდუქტი უნდა იყოს წყლის გარემოცვაში თუ გვსურს, რომ ისინი გამოვიყენოთ როგორც ორგანიზმში წამლის გადამტანებათ (ორგანიზმში ხომ წყლის რაოდენობა მაღალია). ამავე დროს გასაგებია, რომ წამლები არსებობენ წყალში ხსნადი და უხსნადები, ამიტომაც ნანონაწილაკების

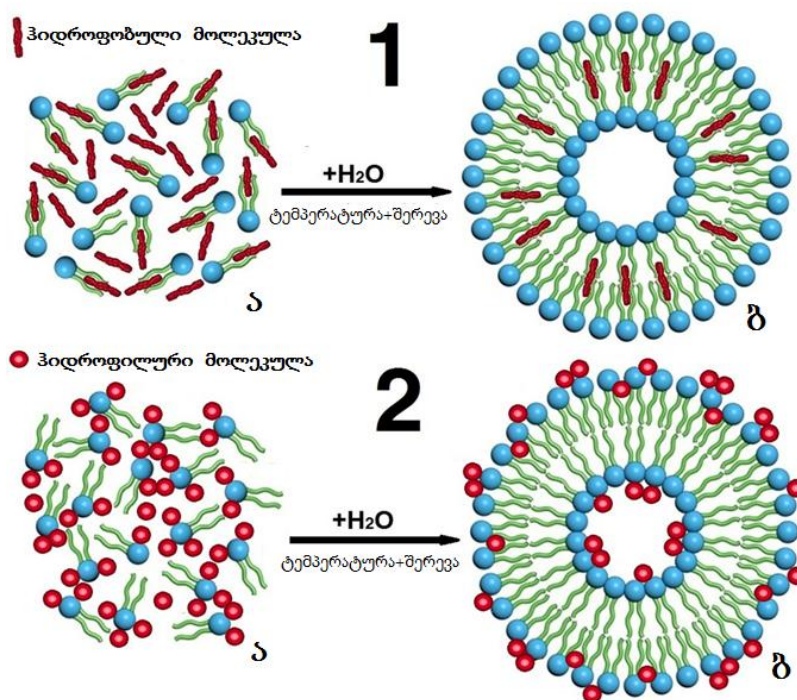
წამალთან კომპლექსის მიღების სხვადასხვა გზა არსებობს. ამით იმის თქმა გვსურს, რომ ჩვენ ტექნოლოგიაში არსებობს ორი მეთოდი - ერთი ჰიდროფობული და მეორე ჰიდროფილური თვისების მატარებელი წამლების ლიპოსომების სტრუქტურაში ჩასმისა.

გვანტერესებდა შევძლებდით თუ არა ევაპორატორის გამოყენების გარეშე DPPC ლიპოსომების სტრუქტურაში ჩაგვეწერა ჰიდროფობული ქოლესტერინი. ასევე საინტერესო იყო თუ რამდენად შესაძლებელი იყო არა მოლეკულების, არამედ მცირე ზომის (ვიდრე თვითონ საბოლოო ზომს ნანონაწილაკები) ნანონაწილაკების მოთავსება ფოსფოლიპიდების შიდა მოცულობაში (ან სტრუქტურაში). ასეთი კომპლექსის დასამზადებლად გამოვიყენეთ DPPA და ოქროს მცირე დიამეტრის (245მ) ნანონაწილაკები.

გვინდა ავღნიშნოთ, რომ წარმოდგენილი ტექნოლოგიის შექმნაში მნიშვნელოვანი როლი ითამაშა ფოსფოლიპოსომების კალორიმეტრულმა კვლევებმა, რომლის მიხედვიდაც დადგინდა თუ რამდენად დიდი მიშვნელობა აქვს ტემპერატურით ინიცირებულ ფოსფოლიპოსომებში (DPPC და DPPA) სტრუქტურული ცვლილებების არსის გაგებას.

ადრეული შრომების თანახმად ტემპერატურით ინიცირებულ უკომპლექსო DPPC ლიპოსომების ფაზური გადასვლას (გელ-თხევადი კრისტალი) ადგილი აქვს 50 გრადუსის ტემპერატურის მახლობლობაში [129-131], რომლის დროსაც, ჩვენი მოსაზრებით ადგილი უნდა ქონდეს ვეზიკულის სტრუქტურის “გახსნას”. ყოველ შემთხვევაში ფაზური გადასვლის დროს ლიპოსომების კუთრისითბოტევადობის ცვლილება ცალსახად მიუთითებს გამხსნელისა და ლიპოსომის ჰიდროფობული ურთიერთქმედების ცვლილებაზე. ასეთი მოსაზრება გამოყენებული იქნა იმისთვის, რომ ტემპერატურული ეფექტი გამოყენებული ყოფილიყო ქოლესტერინის მოლეკულის DPPC ლიპოსომების სტრუქტურაში ჩასმისათვის. ვინაიდან ქოლესტერინი არის წყალში უხსნადი მოლეკულა, ამიტომაც მისი ლიპოსომების სტრუქტურაში ჩასმისათვის საჭიროა რამდენიმე ეტაპიანი პროცედურის განხორციელება. საწყის ეტაპზე გარკვეული

თანაფარდობით DPPC ლიპიდი და ქოლესტერინი (3.1მგ DPPC და 0.8მგ ქოლესტერინი; თანაფარდობა ლიპიდი/ქოლესტერინი 3:1) გახსნილი იქნა რამდენიმე მიკროლიტრ ორგანულ გამხსნელში (50მკლ ეთანოლი), რომლის შემდეგ ნარევეს დაემატა 2 მილილიტრი 50 გრადუსამდე გაცხელებული წყალი. მიღებული ნარევის 2 წუთის განმავლობაში ინტენსიური ნჯღრევის შედეგად ნათელი გახდა, რომ მიღებული იქნა ნათლად ჩანს, რომ მიიღება ერთგვაროვანი ლიპოსომური სუსპენზია, რომელიც ქოლესტერინის მოლეკულების აგრეგატები არ არსებობს. სუსპენზიაში ქოლესტერინის აგრეგატების არ არსებობა ნიშნავს იმასაც, რომ ქოლესტერინმა DPPC ლიპიდის ჰიდროფობულ კუდებთან წარმოქმნა კონტაქტი (სურ. 12). რაც შეეხება სასურველი ზომის ლიპოსომების მიღებას მომზადებული სუსპენზია გატარებული იქნა 200 ნმ დიამეტრის ფილტრის მქონე ექსტრუდერში, რომლითაც დამთავრდა საბოლოო კომპლექსური ლიპოსომების მიღების პროცედურა. აღსანიშნავია, რომ ასეთი პროტოკოლით 200ნმ დიამეტრის კომპლექსური ქოლესტერინი-DPPC ლიპოსომების მიღების პროცედურისთვის საჭირო დრო არ აღემატება 30 წუთს.



სურათი 12. ლიპოსომების მომზადების ახალი მეთოდის სქემატური გამოსახულება

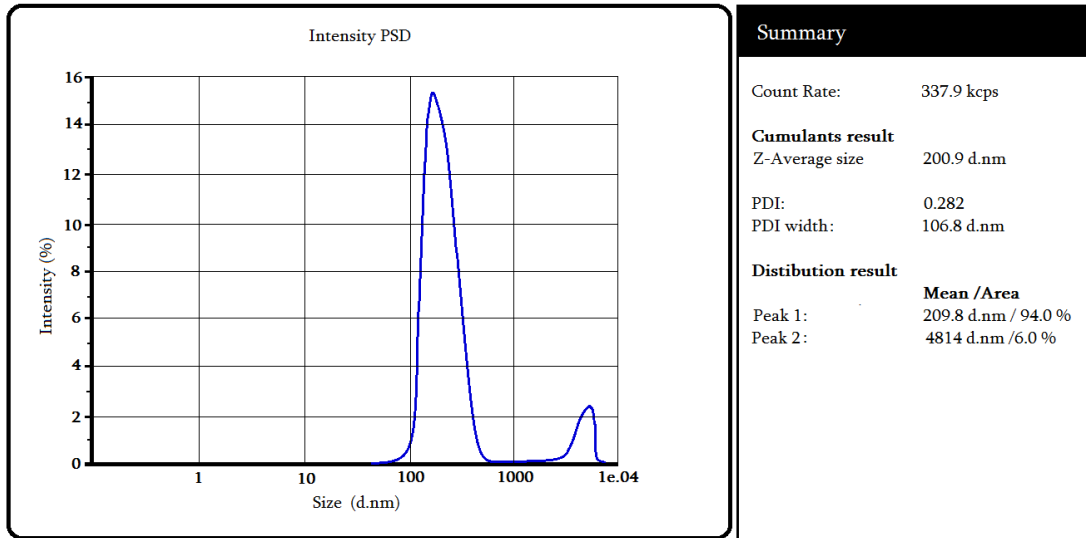
აქვე გვინდა აღინიშნოს, რომ საწყისი ეტაპის გარეშე, ანუ ორგანული გამხსნელის გამოყენების გარეშე შეუძლებელია მიღებული იყოს ქოლესტერინ-DPPC კომპლექსური ლიპოსომა.

უფრო გამარტივებულია ზემოთ მოყვანილი ტექნოლოგიით ჰიდროფილური ბუნების მოლეკულების ლიპოსომების სტრუქტურაში მოთავსება. ამ შემთხვევისთვის არ არის საჭირო ორგანული გამხსნელის გამოყენება, ვინაიდან წყლის გარემოცვაში ლიპიდებისა და პოლარული ბუნების მოლეკულებს შორის ლიპოსომების შექმნამდე წარმოიქმნება ურთიერთ კავშირი.

მეტად პრინციპული იყო აღნიშნული პროტოკოლით თუ მოხერხდებოდა ისეთი ლიპოსომების დამზადება, რომლის სტრუქტურაშიც იქნებოდა არა მხოლოდ განსხვავებული ბუნების (ჰიდროფობული/ჰიდროფილური) ლიგანდური მოლეკულები, არამედ მცირე ზომის ნანონაწილაკები. დღესდღეობით მეცნიერები სხვადასხვა დაავადების წინააღმდეგ უკვე იყენებენ მცირე დიამეტრის ისეთი ნანონაწილაკებს, როგორებიცაა ოქროს, ვერცხლის, რკინის და სხვა. გასაგებია, რომ განსხვავებული სამკურნალო თვისების მატარებლები იქნებიან ეს ნანონაწილაკები თუ ისინი შეფუთული იქნებიან ლიპოსომებში. მაგალითად, არსებობს მონაცემები იმის შესახებ, რომ ლიპოსომებში შეფუთული ოქროს ნაწილაკები აღმოჩნდნენ როგორც სადიაგნოსტიკოთ ასევე სამკურნალოდ გაცილებით ეფექტურნი, ვიდრე მხოლოდ ოქროს ნაწილაკები [132,133]. ეფექტის გაძლიერება შეიძლება აიხსნას იმით, რომ ოქროს ნანონაწილაკებს, რომლებიც შეფუთულია ლიპოსომების სტრუქტურაში შეუძლიათ შეაღწიონ დაზიანებულ უჯრედების შიგნით, განსხვავებით სუფთა ოქროს ნანონაწილაკებისაგან.

ფარმაკოლოგებს ვთავაზობთ ისეთ პროტოკოლს, რომლის მიხედვითაც შესაძლებელია დამზადდეს ლიპოსომები, რომლის სტრუქტურაშიც იქნება ოქროს, ვერცხლის და სხვა ნანონაწილაკები მოთავსებული. ჩვენ შემთხვევაში დამზადებული იქნა ლიპოსომები, რომლის სტრუქტურაშიც ოქროს ნანონაწილაკები იქნა

მოთავსებული. ამისათვის გამოყენებული იქნა უკვე მზა 245მ -ი დიამეტრის ოქროს ნანონაწილაკები და DPPA ლიპიდები. 1მლ მოცულობის 245მ დიამეტრის სუსპენზიას დაემატა 3 მგ DPPA ლიპიდი და მიღებული ნარევი გაცხელებული იქნა 70-80 გრადუსიან წყლის აბაზანაში და პარალელურად 2 წუთის განმავლობაში ხდებოდა ნარევის ინტენსიური შენჯღრევა. ამ პროცედურის შედეგად თვალნათლი გახდა, რომ სუსპენზია მოწითალო ფერიდან გახდა ლურჯი ფერის, რაც ნიშნავდა იმას, რომ ოქროს ნაწილაკები მოთავსდა DPPA ლიპოსომებში. ცნობილია, რომ ოქროს ნანონაწილაკების სუსპენზიის ფერი დამოკიდებულია ნაწილაკების დიამეტრის ზომებზე, კერძოდ, რაც უფრო მცირეა ნანონაწილაკების დიამეტრი (<405მ) სუსპენზიის ფერი მოწითალოა, ხოლო დიდი დიამეტრის (>505მ) ნაწილაკების სუსპენზია ლურჯი ფერისაა [133]. აქედან გამომდინარე ჩვენს მიერ მომზადებული კომპლექსური ლიპოსომების ლურჯი ფერი ნიშნავს იმას, რომ ოქროს ნანონაწილაკების დიამეტრი გახდა უფრო დიდი. ამის მიზეზი შეიძლება იყოს ოქროს ნანონაწილაკების მიერ ელექტროსტატიკური კონტაქტების წარმოქმნა DPPA ლიპოსომის შიგა და გარე დიამეტრის ჰიდროფილურ თავაკებთან. მიღებული სუსპენზია დამუშავებული იქნა ექსტრუდერით, 2005მ დიამეტრის მემბრანული ფილტრით. ადვილი წარმოსადგენია, რომ მცირე დიამეტრის (24 ნმ) ოქროს ნანონაწილაკები ლიპოსომების ჰიდროფილურ ზედაპირებთან წარმოქმნის კონტაქტს და სუსპენზია შეიცავს 200 ნმ-იან ლიპოსომებს, რომლის ზედაპირზე იმყოფებიან 24 ნმ-იანი დიამეტრის ოქროს ნანონაწილაკები. ამის დასტურად გამოდგება მე-13 სურათზე მოყვანილი DPPA/ოქროს ნანონაწილაკების ზეტასაიზერით გადაღებული მრუდი, რომელიც ცალსახად ადასტურებს სუსპენზიაში 2005მ-ნი დიამეტრის DPPA ლიპოსომების არსებობას.



სურათი 13. ზეტასაიზერით მიღებული კომპლექსური DPPA-ოქროს ლიპოსომების მრუდი

ამრიგად, წარმოდგენილ ნაშრომში მოყვანილი ტექნოლოგიის მიხედვით მოხერხდა დამზადებულიყო კომპლექსური ლიპოსომები, რომელთა შემადგენლობაშიც მოთავსებული იქნა, როგორც ჰიდროფობული, ასევე ჰიდროფილური მოლეკულები. გარდა ამისა იგივე მიდგომით ლიპოსომებში მოვითავსეთ ოქროს ნანონაწილაკები. ყველა შემთხვევაში ასეთი კომპლექსური ლიპოსომების მომზადებას დაჭირდა 30 წუთზე ნაკლები დრო. გარდა ამისა ავლნიშნავთ, რომ აღნიშნული კომპლექსური ლიპოსომების მომზადების მეთოდი განსხვავებულია აქამდე არსებული იგივე კომპლექსური ლიპოსომების მომზადების მეთოდებისაგან და არის უფრო სწრაფი, მარტივი და იაფი. ჩვენი აზრით აღნიშნული მეთოდი უნდა იყოს საყურადღებო ფარმაცოლოგებისთვის, რომლებიც შეძლებენ გამოიყენონ ჩვენი პროტოკოლები რათა დაამზადონ მათვის სასურველი კომპლექსური ლიპოსომები.

2.5 კომპლექსური ლიპოსომების მომზადება C და E ვიტამინების თანაობისას

ახალი ნანოტექნოლოგია გამოყენებული იქნა DPPC ლიპოსომებში ვიტამინების (C, E) ინკაპსულირებისათვის. შერჩეული იქნა ვიტამინებისა და DPPC ლიპიდების ისეთი თანაფარდობა, სადაც ლიპოსომში ერთ ლიპიდზე მოდიოდა საშუალოდ ერთი ვიტამინის მოლეკულა. ნაჩვენები იქნა, რომ ლიპოსომში ჰიდროფობული E ვიტამინი მოთავსდა ლიპოსომის სტრუქტურის ჰიდროფობულ ნაწილში, ხოლო ჰიდროფილური ვიტამინი C ლიპოსომების მემბრანის ბიშრის ზედაპირზე.

საწყის ეტაპზე შევარჩიეთ ლიპიდებისა და ლიპოსომების კონცენტრაციები ისე, რომ მოლური თანაფარდობა გვექონოდა 1:1. ნიმუშის ბუნების გათვალისწინებით, ჰიდროფილური ლიგანდის (ვიტამინი C) შემთხვევაში ლიპიდების და ვიტამინის ნარევს ვამატებდით 50 გრადუსამდე გაცხელებულ დისტილირებულ წყალს, ხოლო ჰიდროფობური ლიგანდის (ვიტამინი E) ლიპოსომში მოთავსებისათვის ნარევს ჯერ ვამატებდით მცირე რაოდენობის (მიკროლიტრის რიგის) ორგანულ გამხსნელს და შემდეგ 50 გრადუსამდე გაცხელებულ დისტილირებულ წყალს. მიღებულ სუსპენზიას ინტენსიური ნჯღრევის შემდეგ სასურველი ზომის კომპლექსური ლიპოსომების მიღების მიზნით ვატარებდით ექსტრუდერში.

III თავი. ჩატარებული კვლევები და მიღებული შედეგები

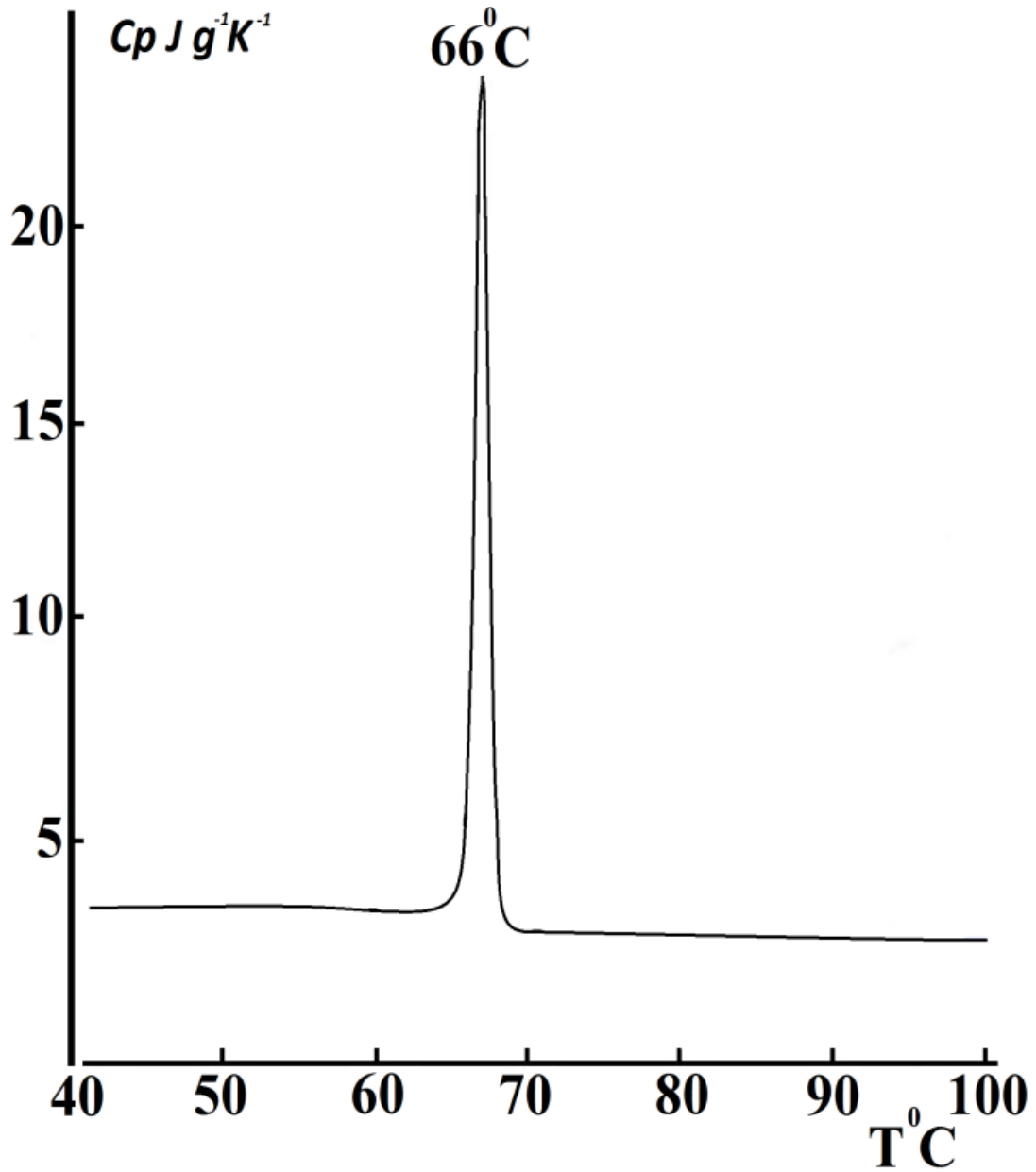
3.1 კალორიმეტრული კვლევა

3.1. სუფთა ლიპოსომების კალორიმეტრული კვლევა

ლიპოსომების, როგორც წამლის გადამტანი ნანოზომის ნაწილაკები, შესაძლებელია გამოყენებული იყოს მხოლოდ იმ შემთხვევაში თუ მათი თერმოსტაბილობა იქნება უფრო მეტი, ვიდრე იმ ორგანიზმის თერმოსტაბილობა, რისთვისაც იგეგმება მათი გამოყენება. სწორედ ამიტომ ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი პარამეტრი არის ლიპოსომების თერმული სტაბილობა, ისევე როგორც მნიშვნელოვანია განისაზღვროს თუ რა გავლენას ახდენს ლიპიდების ტიპი მათ თერმოსტაბილობაზე. ამ მიზნით ჩვენს ექსპერიმენტებში გამოყენებულია ფოსფოლიპიდების ორი ტიპი, კერძოდ DPPA (დიპალმიტოილფოსფატის მჟავა) და DPPC (დიპალმიტოილფოსფატიდილ ქოლინი) ლიპიდები, რომლებისაგანაც დამზადებულ იქნა ლიპოსომები. ჩატარებული იყო კალორიმეტრული ექსპერიმენტები ლიპოსომებზე, რომლის მიხედვით განისაზღვრა როგორც ლიპოსომების კონცენტრაცია, ასევე განისაზღვრა ის პირობები, რომელიც მაქსიმალურად გამოავლენდა ლიპოსომების თერმოდინამიკურ თვისებებს.

ლიპოსომების დიფერენციალურ სკანირებად მიკროკალორიმეტრზე გაზომვებისთვის შეირჩა 0-150 °C ტემპერატურული ინტერვალი და გამოყენებული იყო ლიპოსომები, რომლიც დამზადებული იყო ორი სახის ფოსფოლიპიდით - DPPA (დიპალმიტოილფოსფატის მჟავა) და DPPC (დიპალმიტოილფოსფატიდილ ქოლინი) ლიპიდებით. ნახაზ 1-ზე მოცემულია DPPA ლიპიდებისაგან დამზადებული ლიპოსომების კალორიმეტრული ჩანაწერი, რომლის მიხედვითაც დაიმზირება ერთი სითბოსშთანთქმის პიკი, ტემპერატურის მაქსიმუმით 66°C-ით. აღსანიშნავია, რომ მიღებული პიკის ფორმა, პირველ რიგში კი ე.წ. ტემპერატურული გადასვლის ნახევარ სიგანის მნიშვნელობა ($\Delta T_{1/2} \approx 1^\circ\text{C}$), იძლევა საშუალებას ვილაპარაკოთ პროცესის კოოპერატიულობაზე. პროცესის მაღალი კოოპერატიულობა მიაჩნება იმას, რომ

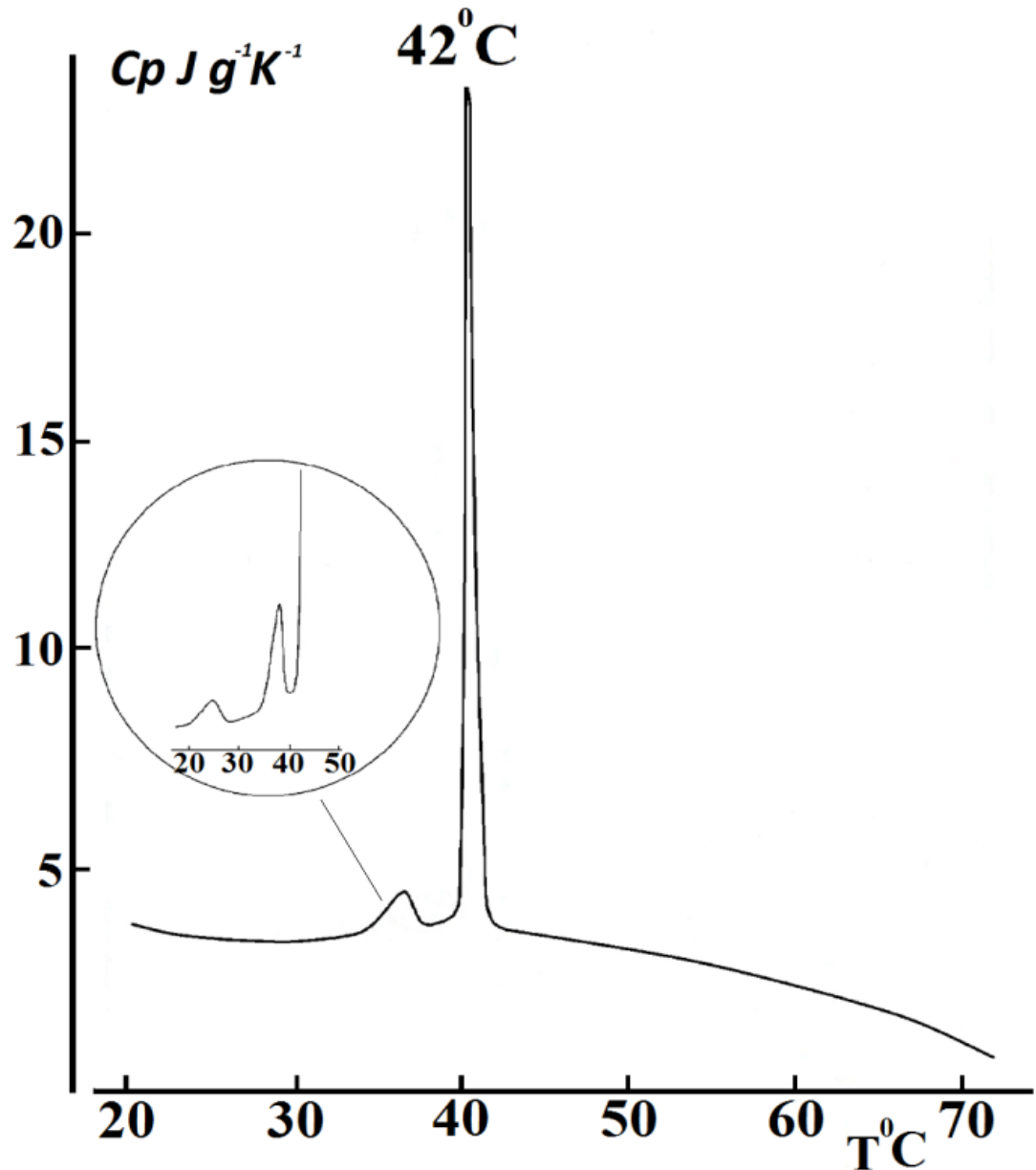
გადასვლის ტემპერატურაზე ($T_{\max} = 66^{\circ}\text{C}$), ადგილი აქვს ლიპოსომაში ერთი ტიპის კავშირების გაწყვეტას, რომელიც ტემპერატურის მცირე ინტერვალში მიმდინარეობს.



ნახაზი 1. DPPA ლიპოსომების სუსპენზიის კალორიმეტრული ჩანაწერი. $V=2^{\circ}\text{C}/\text{წმ}$,

$C_{\text{lip}}=0,34\text{მგ/მლ}$

DPCC ლიპოსომების სუსპენზიის კალორიმეტრული ჩანაწერი მოცემულია ნახაზ 2-ზე. რომელიც გვიჩვენებს, რომ განსხვავებით DPPA ლიპოსომებისაგან, DPCC ლიპოსომების მოწესრიგებული სტრუქტურა განიცდის სითბურ დანგრევას რამდენიმე ტემპერატურულ ინტერვალში, კერძოდ - 24°C, 37°C და 42°C ტემპერატურის მახლობლობაში.



ნახაზი 2. DPCC ლიპოსომების სუსპენზიის კალორიმეტრული ჩანაწერი. $V=2^{\circ}C/წმ$,

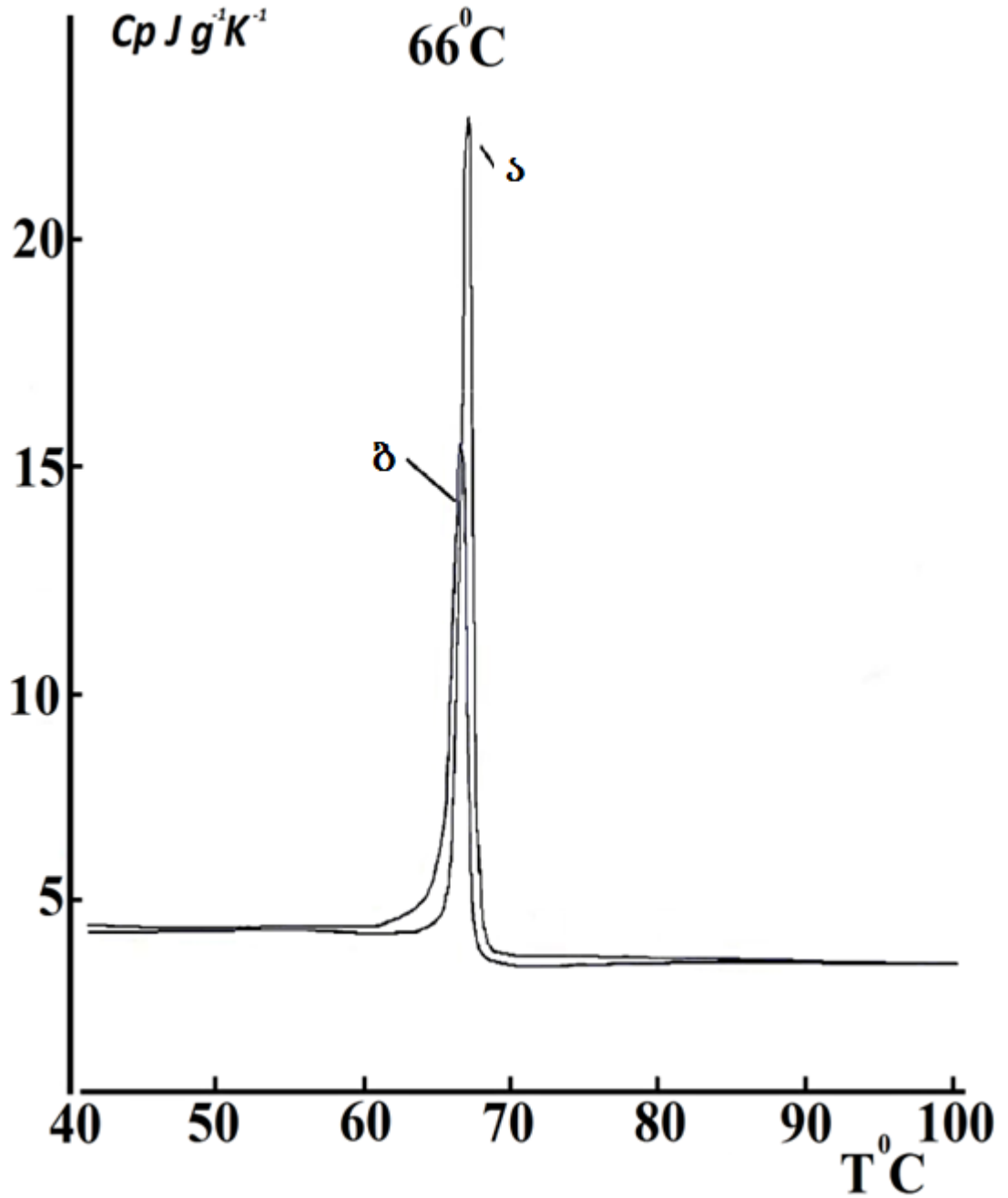
$C_{lip}=0,34მგ/მლ$

ავლიშნავთ, რომ განსხვავება 24 და 42 გრადუსიან სითბოსშთანთქმის პიკის სიმაღლეებს შორის იმდენად დიდია, რომ მხოლოდ დიდი კონცენტრაციის და ხელსაწყოს მაღალი გარჩევადობის პარამეტრების დაყენებით გახდა შესაძლებელი ამ სითბოს შთანთქმის პიკის აღმოჩენა. აღმოჩნდა კიდევ ერთი საინტერესო თვისება, რომელიც დაკავშირებულია 24°C სითბოსშთანთქმის პიკთან. მხედველობაში გვაქვს შემდეგი, რომ ეს სითბოსშთანთქმის პიკი არსებობს მხოლოდ ახლად დამზადებული ლიპოსომებისთვის. საკმარისია მოხდეს ლიპოსომების გათბობა 24°C-ზე მეტ ტემპერატურაზე, მაშინ ასეთი ლიპოსომების კალორიმეტრულ ჩანაწერზე აღარ დაიშვრება ეს სითბოსშთანთქმის პიკი. იგივე თვისებით არ ხასიათდება დანარჩენ ორ სითბოსშთანთქმის პიკი, ანუ ლიპოსომებს თუ გავაცხელებთ 42°C-ზე მეტ ტემპერატურაზე, ასეთი ლიპოსომების კალორიმეტრულ გაზომვისას დაიშვრება მხოლოდ 37°C და 42°C პიკების არსებობა. თუ გავითვალისწინებთ იმ გარემოებას, რომ თითოეული სითბოსშთანთქმის პიკი დაკავშირებულია ლიპოსომში შესაბამის სტრუქტურულ ცვლილებებთან. აქედან გამოდინარეობს, რომ ლიპოსომებში მხოლოდ 24°C-იანი პიკის შესაბამისი სტრუქტურული ცვლილებები არის შეუქცევადი.

კალორიმეტრული ექსპერიმენტები ჩატარდა ნიმუშის გაცხელების სიჩქარის სხვადასხვა ინტერვალით, კერძოდ 1°C/წმ, 2°C/წმ და 4°C/წმ. ექსპერიმენტებმა აჩვენა, რომ DPPC და DPPA ლიპოსომების ფაზური გადასვლის ტემპერატურა არ იცვლება. კერძოდ სხვადასხვა გაცხელების სიჩქარეზე აღნიშნული ლიპოსომების გადასვლის ტემპერატურა და ენტალპია არ იცვლება, რაც იმას ნიშნავს რომ ფაზური გადასვლის პროცესი წონასწორულია.

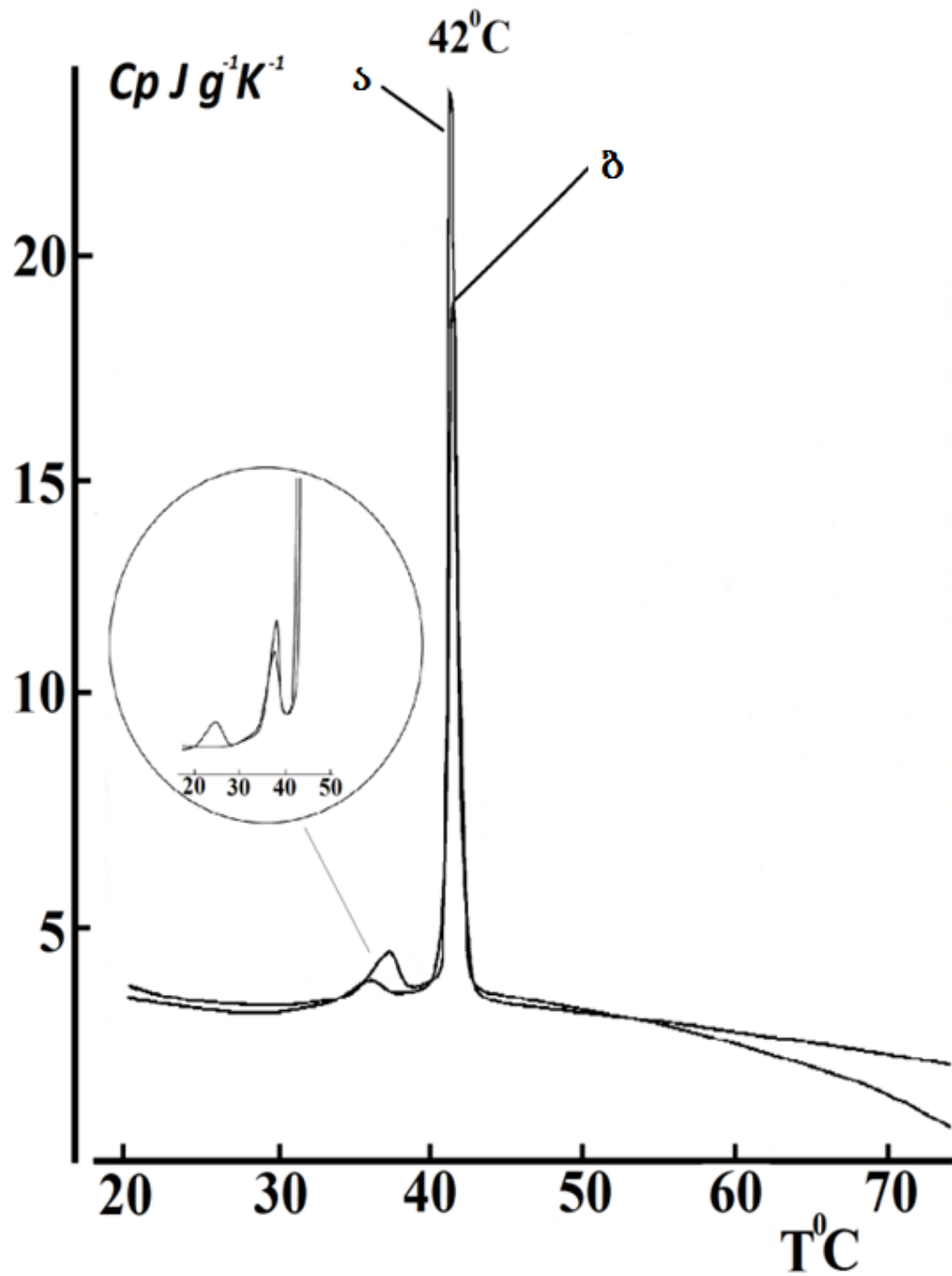
კალორიმეტრის მუშაობის პრინციპიდან გამომდინარე, შესაძლებელია საკვლევ ნიმუშზე გაზომვების ჩატარება ციკლურ რეჟიმში, ანუ საწყისი და საბოლოო ტემპერატურების მითითების შემდეგ, ხელსაწყოს მრავალჯერადად შეუძლია განახორციელოს ნიმუშის სითბოტევადობების გაზომვები მითითებულ ტემპერატურულ ინტერვალში. ჩვენ ექსპერიმენტებში ლიპოსომების კვლევა მიმდინარეობდა ციკლურ რეჟიმში 7-150°C ტემპერატურული ინტერვალში.

ჩატარებულმა კალორიმეტრულმა ექსპერიმენტებმა ცალსახად დააფიქსირა, რომ მაღალტემპერატურამდე გაცხელებული ლიპოსომები არ ინგრევიან და მათი გაციების შემდეგ ისინი აღიდგენენ (თითქმის ბოლომდე) მოწესრიგებულ სტრუქტურას. ნახაზ 3 - ზე და ნახაზ 4 მოცემულია ლიპოსომების სუსპენზიის მიკროკალორიმეტრული ჩანაწერი, რომელთა გაცხელებაც მოხდა კალორიმეტრში მაღალ ტემპერატურამდე (მაგალითად 150°C-მდე კალორიმეტრულ ამპულაში) ისე, რომ ნიმუში არ ამოგვიღია კალორიმეტრის ამპულიდან. გაციების მერე განხორციელდა კალორიმეტრული ჩანაწერის გაკეთება, როგორც DPPA ასევე DPPC ლიპოსომებზე (ნახ. 3,4).



ნახაზი 3. DPPA ლიპოსომების სუსპენზიის კუთრისითბოტევადობის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდები:

- ა) პირველი გავლა-გაცხელებამდ
- ბ) მეორე გავლა-გაცხელების შემდეგ



ნახაზი 4. DPPC ლიპოსომების სუსპენზიის კუთრისითბოტევადობის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდები:

- ა) პირველი გავლა-გაცხელებამდ
- ბ) მეორე გავლა-გაცხელების შემდეგ

ნახაზ 3-ზე და ნახაზ 4-ზე მოყვანილი კალორიმეტრული ჩანაწერით ცალსახად დასტურდება, რომ აღგილი აქვს ლიპოსომების მოწესრიგებული სტრუქტურების აღდგენას, თუმცა მიღებული ჩანაწერის თანახმად პიკების სრულად აღდგენას აღგილი არ აქვს. კერძოდ DPPC ლიპოსომების შემთხვევაში, მთავარი გადასვლის პიკამდე 24°C -ზე დაიმზირებოდა მცირე ზომის პიკი (ნახ.4), რომელიც ნიმუშის გაცხელების და გაცივების შემდეგ აღარ აღდგება, განსხვავებით 37°C და 42°C პიკების, რომლებიც თითქმის სრულად აღიდგენენ სტრუქტურას. თუ გავითვალისწინებთ იმ გარემოებას, რომ თითოეული სითბოსშთანთქმის პიკი დაკავშირებულია ლიპოსომში შესაბამის სტრუქტურულ ცვლილებებთან, გამოდის, რომ ლიპოსომებში 37° და 42°C-ზე არსებული სტრუქტურული ცვლილებები არის შექცევადი, მაშინ როცა 24°C-იანი პიკის შესაბამისი სტრუქტურული ცვლილებები შეუქცევადია.

ასევე კალორიმეტრული ექსპერიმენტების ჩატარების დროს გამოიკვეთა ერთი საინტერესო ფაქტი, თუ გავაგრძელებთ DPPC და DPPA ლიპოსომების გაცივება-გაცხელებას ციკლურ რეჟიმში, მაშინ ნიმუშების კალორიმეტრული ჩანაწერების შედარებისას ვნახავთ რომ მესამე, მეოთხე და ასე შემდეგ კალორიმეტრული ჩანაწერები თითქმის იდეალურად იმეორებს მეორედ გაცივებისას ჩაწერილ კალორიმეტრულ ჩანაწერებს.

ჩვენს მიერ დათვლილი იქნა DPPA და DPPC ლიპოსომების სითბოსშთანთქმის კუთრი სითბოს მნიშვნელობები, რომელიც გადათვლილი იქნა ლიპიდების კონცენტრაციაზე და მიღებული იქნა მნიშვნელობები, რომელიც ორივე ტიპის ლიპოსომებისთვის მსგავსია და შეადგენენ, საშუალოდ DPPA ლიპოსომებისთვის 31ჯ/გრ-ს, ხოლო DPPC ლიპოსომებისთვის იგი 38 ჯ/გრ-ს. რაც შეეხება ლიპოსომებში ფაზური გადასვლის ენტალპიების მნიშვნელობების ცვლილებას პირველი და მეორე გაცივებების დროს DPPC-ს ლიპოსომების შემთხვევაში 38 ჯ/გრ-დან მცირდება 35 ჯ/გრ-მდე, ხოლო DPPA ლიპოსომებს განსხვავება პირველ და მეორე გაცივებებს შორის 31ჯ/გრ-დან 25 ჯ/გრ-მდე მცირდება. ასევე დაიმზირება განსხვავება ლიპოსომების ფაზური გადასვლის კუთრი ენტალპიებს შორის, რომელიც პირველი და მეორედ

გაცხელებისას DPPC ლიპოსომების შემთხვევაში უფრო ნაკლებად იცვლება, ვიდრე იგივე მაჩვენებლები DPPA ლიპოსომების შემთხვევაში.

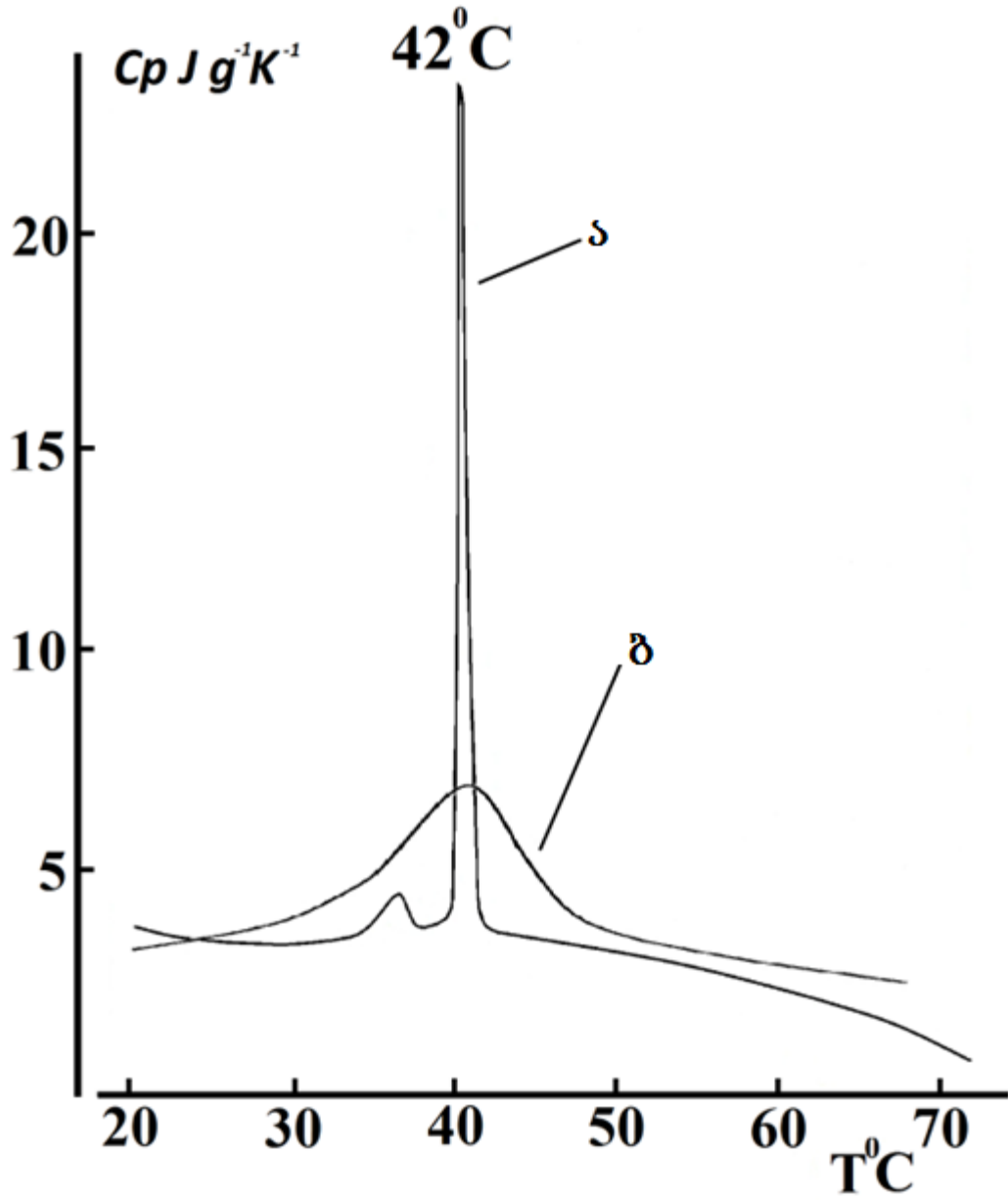
აღსანიშნავია, რომ DPPC ლიპოსომების კალორიმეტრიულ მრუდზე განსხვავებით DPPA ლიპოსომებისაგან, მთავარი გადასვლის პიკამდე დაახლოებით 5°C-ით ადრე იწერება მცირე ზომის პიკი, ე.წ. პრე-გადასვლის პიკი. პრე-გადასვლის სითბო არის გაცილებით ნაკლები ვიდრე მთავარი გადასვლის სითბო (ენტალპია) და შეადგენს 4,58 ჯ/გრ. ჩვენი ვარაუდით DPPC ლიპოსომების შემთხვევაში ამ 5°C-ის ტოლ ტემპერატურულ ინტერვალში ხდება DPPC ლიპიდების მოზრდილი თავაკების ორიენტაციის ცვლილება და ისინი ორიენტირდებიან ისე, რომ სტრუქტურაში ფაზური გადასვლის ტემპერატურის დროს უზრუნველყონ წყლის შესვლა. აღსანიშნავია, რომ პრე-გადასვლის პიკი აღარ აღდგება სუსპენზიის ხელმეორედ გაცხელების შემთხვევაში. ანუ ხდება შეცვლილი ორიენტაციის შენარჩუნება წყლის ნაწილობრივი გამოდევნის შემდგომ. DPPA ლიპოსომების შემთხვევაში მეორედ გაცხელებისას ჩაწერილი პიკი თითქმის იდეალურად მეორდება მესამედ და მეოთხედ გაცხელებისასაც კი მაღალ ტემპერატურებამდე.

3.1.2 კომპლექსური ლიპოსომების კალორიმეტრიული კვლევა

იმისათვის, რომ დაგვედგინა DPPA და DPPC ლიპოსომების სტრუქტურის ორგანიზებაში და სტაბილობაში, რა წვლილი შეაქვთ ჰიდროფობულ და ჰიდროფილურ ძალებს, ლიპოსომები დამზადდა ქოლესტეროლის (ჰიდროფობული) და ფლორესცეინის (ჰიდროფილური) მოლეკულების თანაობისას. ჰიდროფობული ქოლესტერონის მოლეკულა, რომელიც წყალში უხსნადი მოლეკულაა, გამორიცხავს მათ ლიპოსომის შიგნითა თავისუფალ მოცულობაში არსებობას, სადაც წყალი უნდა იყოს ჩაკეტილი. შესაბამისად იგი აუცილებლად განთავსდება ლიპოსომებში არსებულ

ჰიდროფობულ უბანში, ანუ ლიპიდების აცელურ კუებთან და ქოლინის ჯგუფთან, ეს მიდგომა ემთხვევა ლიტერატურაში არსებულ მონაცემებს [132]. ასეთი კომპლექსის კალორიმეტრული შესწავლით შესაძლებელი იქნება დადგინდეს ჰიდროფობული კავშირების როლი ლიპოსომების სტრუქტურის ორგანიზებაში, ვინაიდან ჰიდროფობული ქოლესტერონის მოლეკულები აუცილებლად მოახდენს გავლენას ლიპოსომებში არსებული ჰიდროფობულ უბანზე, რითიც იქნება შესაძლებელი დადგინდეს ჰიდროფობული ურთიერთქმედების როლი ლიპოსომების სტაბილობაზე.

კალორიმეტრული ექსპერიმენტი, რომლის ჩანაწერიც მოყვანილია ნახაზ 5-ზე, გვიჩვენებს DPPC-ქოლესტერინიანი ლიპოსომების მრუდს, რომელიც მნიშვნელოვნად განსხვავდება სუფთა, ქოლესტერინის გარეშე დამზადებული DPPC ლიპოსომების კალორიმეტრულ მრუდისაგან. DPPC ლიპოსომების სამპიკიანი, მათ შორის 42 გრადუსიანი კოოპერატიული პიკის ნაცვლად, ვღებულობთ ერთ, არა კოოპერატიულ კალორიმეტრულ მრუდს (იხ. ნახ. 5), რაც ნიშნავს, რომ ქოლესტეროლმა მნიშვნელოვანი გავლენა მოახდინა ლიპოსომების სტრუქტურულ ორგანიზაციაზე, ანუ მიღებული იქნა სხვა ტიპის ლიპოსომები. რაც აშკარად მიუთითებს ლიპოსომებში განსხვავებული სტრუქტურულ ორგანიზაციაზე ქოლესტოროლის თანაობისას.

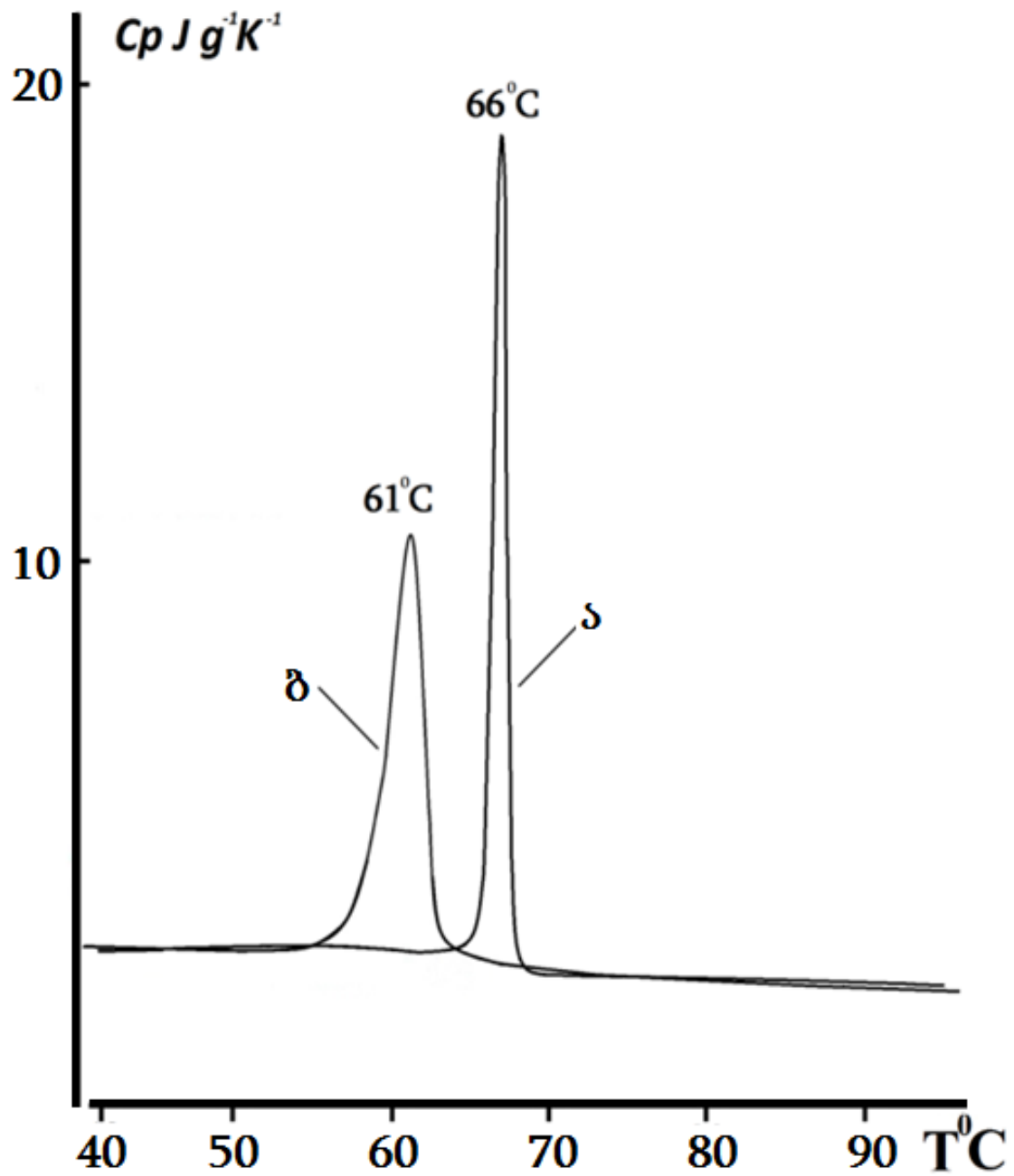


ნახაზი 5. კუთრისითბოტევადობის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდები:

- ა) სუფთა DPPC ლიპოსომებისათვის
- ბ) DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომებისათვის

მიღებული კალორიმეტრული მრუდიდან შეიძლება დავასკვნათ, რომ ქოლესტეროლი მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ლიპოსომების სტრუქტურულ ორგანიზაციაზე. ამას ადასტურებს DPPC-ქოლესტეროლის სითბოშთანთქმის კუთრი სითბოს მნიშვნელობა ($\Delta H_{\text{DPPC-Chol}} = 16$ ჯ/გრ), რომელის მნიშვნელობაც ნაკლებია სუფთა DPPC ლიპოსომების სითბოშთანთქმის კუთრი სითბოს მნიშვნელობაზე ($\Delta H_{\text{DPPC}} = 38$ ჯ/გრ).

ჩვენს მიერ ასევე შესწავლილი იქნა DPPA-ქოლესტერინიანი კომპლექსური ლიპოსომების სუსპენზია (ლიპიდი/ქოლესტერინის თანაფარდობა 3:1), რომელთა კალორიმეტრულმა გაზომვებმა დაადასტურა რომ ქოლესტერინის მოლეკულა ინკორპორირებულია DPPA ლიპოსომების სტრუქტურაში. ნახ.6 ა-ზე მოცემულია DPPA-ქოლესტერინის კალორიმეტრული მრუდი, რომლის ფაზური გადასვლის ტემპერატურა შეადგენს 61 გრადუსს და ეს ტემპერატურა განსხვავებულია ნახ.6 ბ-ზე სუფთა DPPA ლიპოსომების ფაზური გადასვლის ტემპერატურისგან (66 გრადუსი). გარდა ტემპერატურისა განსხვავებულია სითბოშთანთქმის პიკების ფორმაც. კერძოდ, კომპლექსური ლიპოსომების ფაზური გადასვლა არის ნაკლებად კოოპერატიური, რომლის პიკის ნახევარსიგანე მეტია, ვიდრე უკომპლექსო (სუფთა) DPPA ლიპოსომების (შეადარე ნახ.6 ა და 6 ბ).

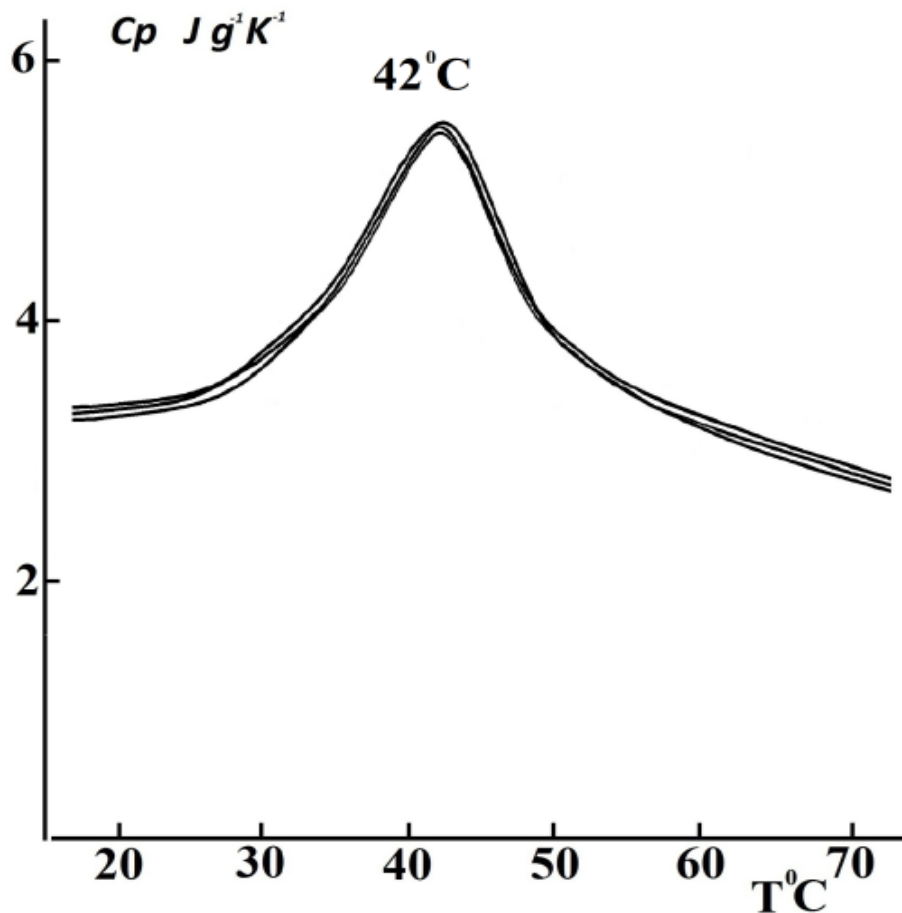


ნახაზი 6. კუთრისითბოტევადობის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდები.

ა) სუფთა DPPA ლიპოსომები

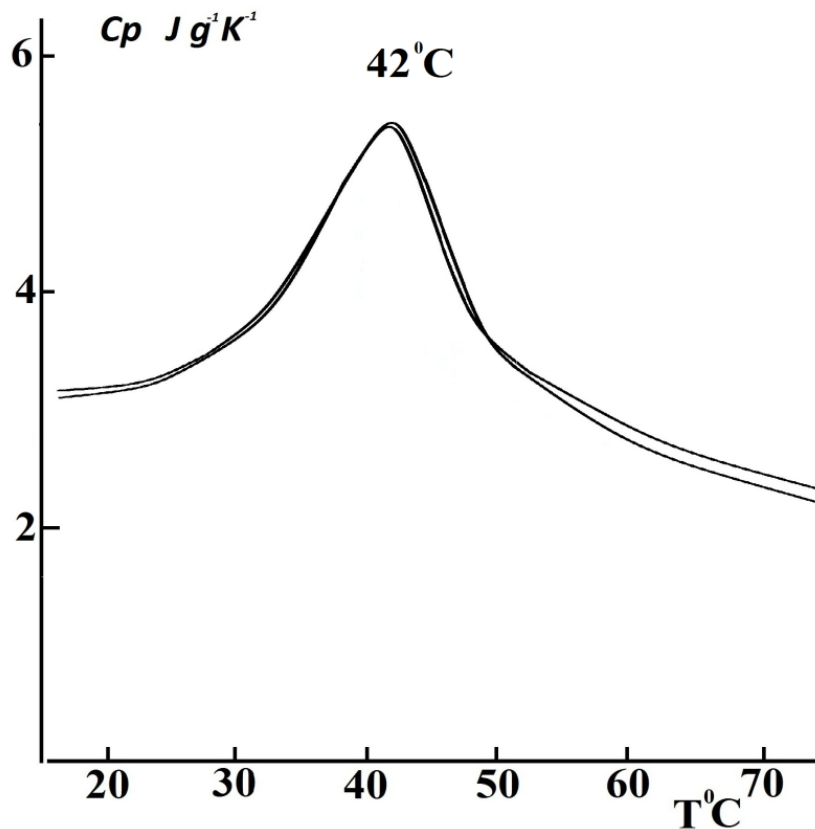
ბ) DPPA-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომები

ჩვენს მიერ მომზადებული იქნა განსხვავებული ზომის ლიპოსომები ქოლესტერინის თანაობისას და შესწავლილი იქნა მათი დნობის პროცესი. კალორიმეტრულმა კვლევებმა აჩვენა, რომ 200, 400 და 1000 ნმ-იანი DPPC-ქოლესტერინიანი ლიპოსომები with PI=0.18, PI=0.20 and PI=0.10, respectively (-ეს PI რას ნიშნავს არ ვიცი), გაცხელებისას ფაზურ გადასვლას განიცდიან 42°C ტემპერატურაზე, მიუხედავად იმისა, რომ დნობის პროცესი იწყება 30°C (ნახ.7). აღსანიშნავია აგრეთვე, რომ მათი კალორიმეტრული მრუდები ემთხვევა ერთმანეთს და გააჩნიათ ერთნაირი სტაბილობა.



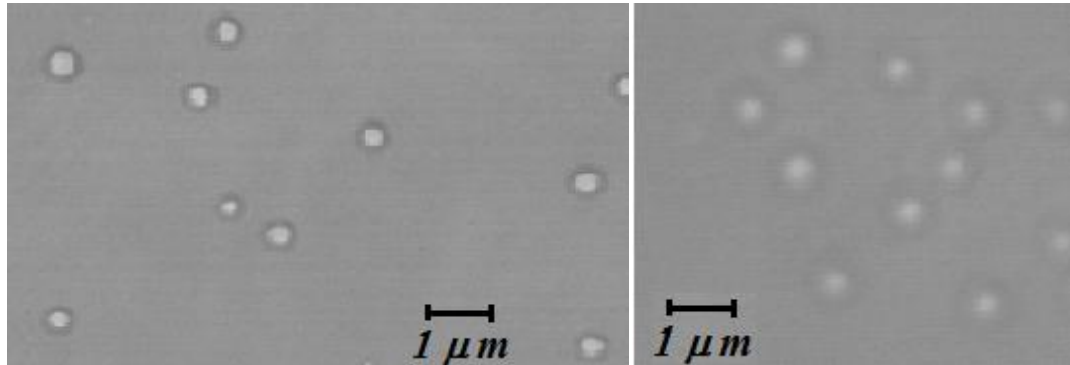
ნახაზი 7. 200 ნმ, 450 ნმ და 1000 ნმ დიამეტრის DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომების სითბოტევადობის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდები

ვინაიდან ჩვენი მიზანი იყო შეგვესწავლა აღნიშნული ლიპოსომების თერმული სტაბილურობა, ჩავატარეთ შემდეგი ექსპერიმენტი. მას შემდეგ რაც თვითმწერმა დააფიქსირა DPPC-ქოლესტერინიანი ლიპოსომების სუსპენზიის კალორიმეტრული ჩანაწერი, მოვახდინეთ სისტემის გაცივება ისე რომ სუსპენზია არ ამოგვიღია კალორიმეტრის კამერიდან. ექსპერიმენტი გავიმეორეთ და ვნახეთ, რომ 150°C-მდე გაცხელების და 70°C-მდე გაცივების მიუხედავად DPPC-ქოლესტერინიან ლიპოსომებს შესწევს უნარი სრულიად აღიდგინოს თავისი პირვანდელი სტრუქტურა (იხ. ნახ.8). ჩვენს მიერ დადგენილი იქნა, რომ მაღალ ტემპერატურებზე ლიპოსომების სტრუქტურული მთლიანობა არ ირღვევა და ის მთლიანად აღიდგენს სტრუქტურას ხელმეორედ გაცხელებისას. ეს კი თავის მხრივ ასეთი კომპლექსური ლიპოსომების სტაბილობაზე მეტყველებს.



ნახაზი 8. 200 ნმ დიამეტრის DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომების სითბოტევადობის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მრუდები გაცხელებამდე და გაცხელების შემდეგ

როგორც ზემოთ ავღნიშნეთ, ლიპოსომები გაცხელების შემდეგ მთლიანად აღიდგენენ სტრუქტურას, რაც თვალნათლივ ჩანს კონფოკალურ მიკროსკოპზე გადაღებულ სურათებზე. რომელზეც გადაღებული იქნა ლიპოსომები ქოლესტერინის თანაობისას გაცხელებამდე და გაცხელების შემდეგ (სურ.14 ა, ბ).

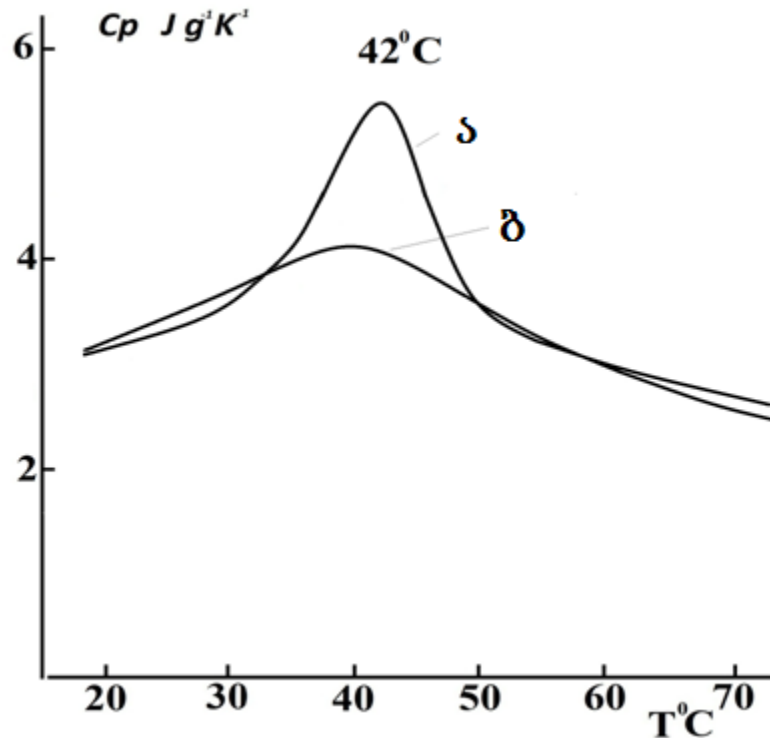


სურათი 14. ა. DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომები გაცხელებამდე

ბ. DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომები გაცხელების შემდეგ

(ვიზუალიზაციისთვის ლიპოსომებს დამზადების დროს დაემატა ფლუორესცენი)

იმისათვის, რომ დაგვედგინა ჰიდროფილური ძალების ზეგავლენა ლიპოსომების სტრუქტურაზე, დავამზადეთ DPPC-ქოლესტერინიანი ლიპოსომები ფლუორესცენინის (ჰიდროფილური) მოლეკულების თანაობისას. ამისათვის მზა DPPC-ქოლესტერინიან ლიპოსომებს დავუმატეთ 2.5 მმ ფლუორესცენინი. ნახ.9-ზე ნაჩვენებია განსხვავება DPPC-ქოლესტერინიან ლიპოსომას, რომელიც მომზადებულია წყლის თანაობისა (ა) და DPPC-ქოლესტერინიან ლიპოსომას შორის, რომელიც მომზადებულია ფლუორესცენინის თანაობისას (ბ).

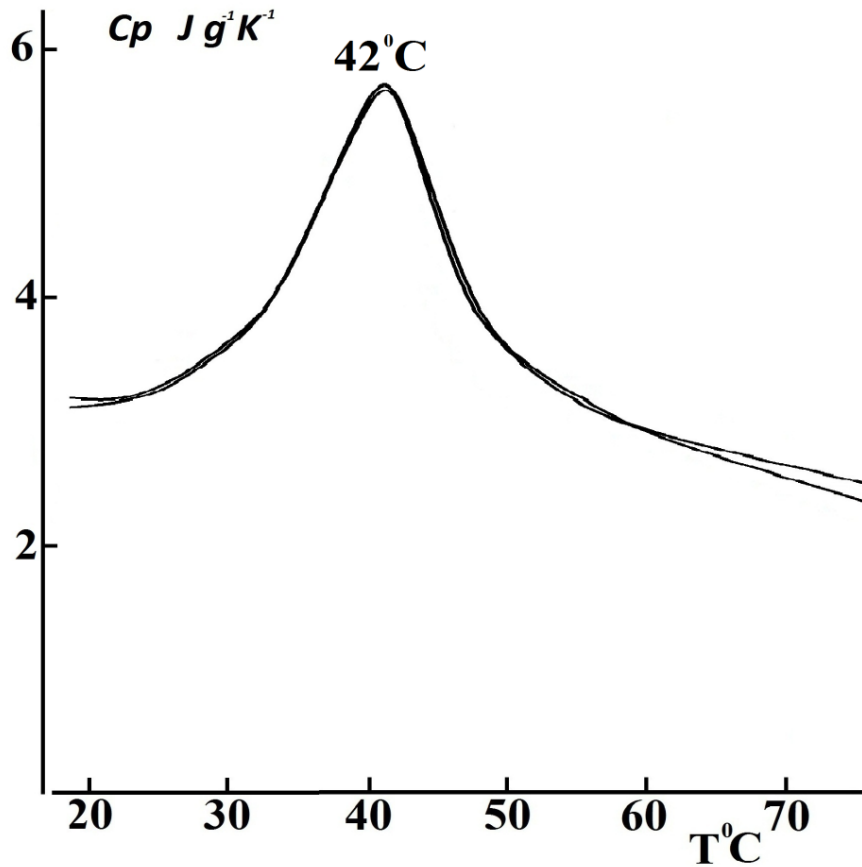


ნახაზი 9. კომპლექსური DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომები:

- ა) მომზადებული წყალში
- ბ) მომზადებული წყალში 2.5 მლმ ფლუორესცეინის თანაობისას

როგორც მიღებული მრუდებიდან ჩანს პოლარული ტიპის ფლუორესცეინის მოლეკულებმა მნიშვნელოვნად შეცვალა DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომების სრუქტურა და რაც ყველაზე თვალში საცემია შემცირდა სტრუქტურული ცვლილებებზე დახარჯული სითბოშთანთქმის კუთრი სითბოს მნიშვნელობა ($\Delta H_{DPPC-Chol-Fluor}=2.2$ ჯ/გრ). ეს კი თავის მხრივ იმაზე მიუთითებს, რომ DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომების სტაბილობა ფლუორესცეინის თანაობისას მცირდება DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომასთან შედარებით (იხ. ნახ.9), მიუხედავად იმისა, რომ გადასვლის ტემპერატურა არის იგივე $42^{\circ}C$ და ფლუორესცეინიანი კომპლექსი მთლიანად აღიდგენს სტრუქტურას გაცხელების შემდეგ.

კარგად არის ცნობილი ოქროს ნანონაწილაკების გამოყენების მრავალმხრივი შესაძლებლობა მედიცინაში, როგორც წამლების და მაკრომოლეკულების მიზანმიმართული გადამტანები. იმისათვის რომ დაგვედგინა რა სახის კავშირები არსებობს ოქროს ნანონაწილაკებსა და ლიპოსომებს შორის, შევისწავლეთ სუფთა DPPC-ქოლესტერინიან ლიპოსომების ოქროს (AuNp) ნანონაწილაკებთან კომპლექსი. ვინაიდან ჩვენი კვლევის საბოლოო მიზანს ლიპოსომების თერმული სტაბილობა წარმოადგენს მოვამზადეთ შემდეგი ნიმუში: ოქროს ნანონაწილაკები ზომით 14.43 ნმ და ზედაპირული პოტენციალით -36,1 მვ ინკორპორირებული იქნა ლიპოსომებში. მიღებულ იქნა კომპლექსი ლიპოსომების ოქროს ნანონაწილაკებთან ერთად, ზომით 172 ნმ და ზედაპირული პოტენციალი -26 მვ. თერმოდინამიკური პარამეტრების დასადგენად ჩატარდა ოქროს ნანონაწილაკებთან ერთად მომზადებული ქოლესტეროლიანი DPPC ლიპოსომებისგან დამზადებული ლიპოსომების დიფერენციალური სკანირებადი მიკროკალორიმეტრული კვლევები ციკლურ რეჟიმში. ნახაზ 10-ზე მოცემულია ამ ექსპერიმენტების ჩანაწერები, რომლის მიხედვით ოქროს ნანონაწილაკებიანი DPPC-ქოლესტერინის კალორიმეტრული სითბოსშთანთქმის მრუდის ფორმა მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება ოქროს ნანონაწილაკების გარეშე, სუფთა DPPC-ქოლესტერინიან ლიპოსომების სითბოსშთანთქმის პიკისგან (იხ.ნახ. 10).



ნახაზი 10. DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომების და DPPC-ქოლესტეროლიან ლიპოსომები ოქროს ნანონაწილაკების თანაობისას

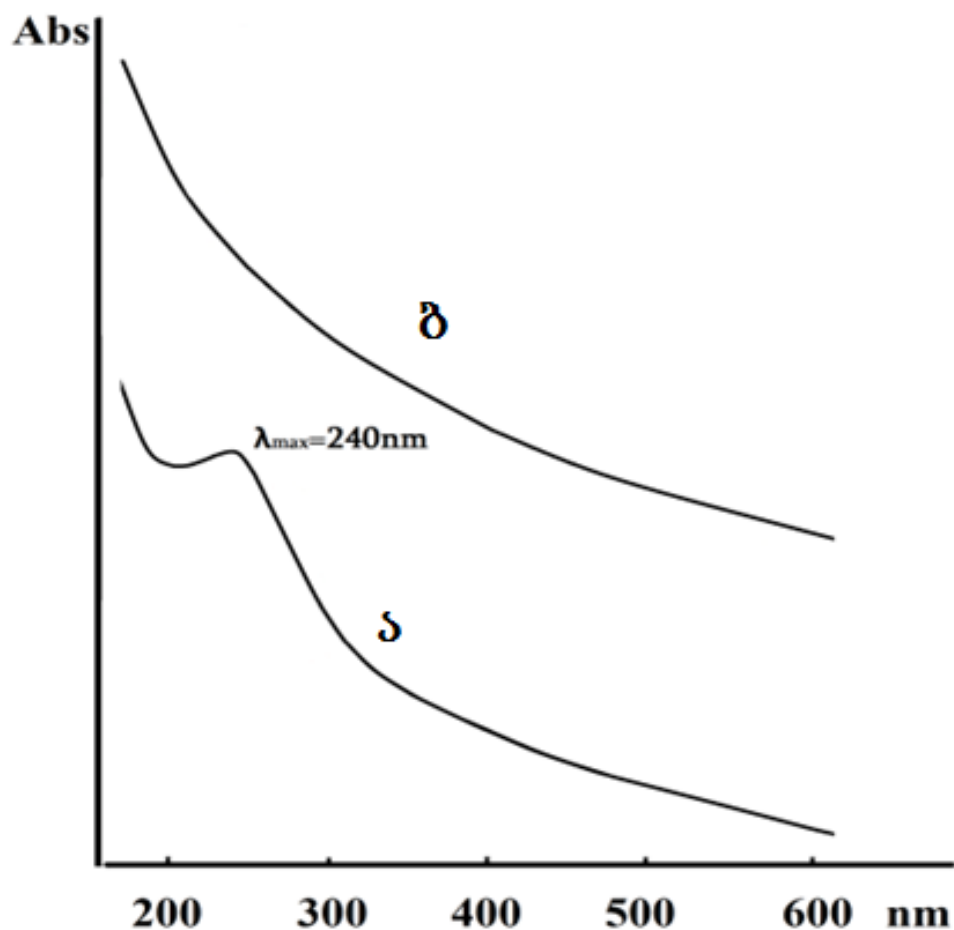
ექსპერიმენტიდან ნათლად ჩანს, რომ DPPC-ქოლესტერინიანი ლიპოსომები და DPPC-ქოლესტერინის კომპლექსში ინკორპორირებული ოქროს ნანონაწილაკები ხასიათდებიან ერთნაირი სტაბილობით. მიღებული შედეგი შეიძლება მიანიშნებდეს, რომ ოქროს ნანონაწილაკები მოთავსდა ლიპოსომების შიგა მოცულობაში, ისე რომ ისინი არ არიან ჩართულნი ლიპოსომების სტრუქტურულ ორგანიზაციაში, წინააღმდეგ შემთხვევაში შეიცვლებოდა კალორიმეტრული პიკის ფორმა ან პარამეტრები.

3.2 სპექტროფოტომეტრული კვლევები

3.2.1 DPPC-ქოლესტერინიანი ლიპოსომების სპექტროფოტომეტრული კვლევა

ჩატარებული იქნა სპექტროფოტომეტრული ექსპერიმენტები კალორიმეტრულად შესწავლილი ლიპოსომებისთვის, რომელიც დაგვეხმარა გაგვერკვია თუ როგორია DPPC ლიპოსომების სტრუქტურის ორგანიზებაში ქოლესტეროლის, ფლუოროსცეინის და ოქროს ნანონაწილაკების როლი.

ნახ. 11-ზე მოცემულია ქოლესტერიანი და მის გარეშე დამზადებული ლიპოსომების სპექტრები. მიღებული ლიპოსომების სპექტრების ანალიზით შეგვიძლია ვთქვათ, რომ $\lambda=240\text{ნმ}$ ტალღის სიგრძეზე მიღებული შთანთქმა დაკავშირებულია ქოლესტეროლის მოლეკულასთან, უფრო სწორედ ქოლესტეროლ-ლიპიდების კომპლექსთან (ნახ.11ა), ვინაიდან უქოლესტერინო ლიპოსომებს მოცემულ ტალღის სიგრძეზე არავითარი შთანთქმა არ გააჩნია (იხ. ნახ.11ბ). მიღებული შედეგი მიაჩნებს იმაზე, რომ მართლაც არსებობს ქოლესტეროლის და ლიპიდების კომპლექსი DPPC ლიპოსომაში.

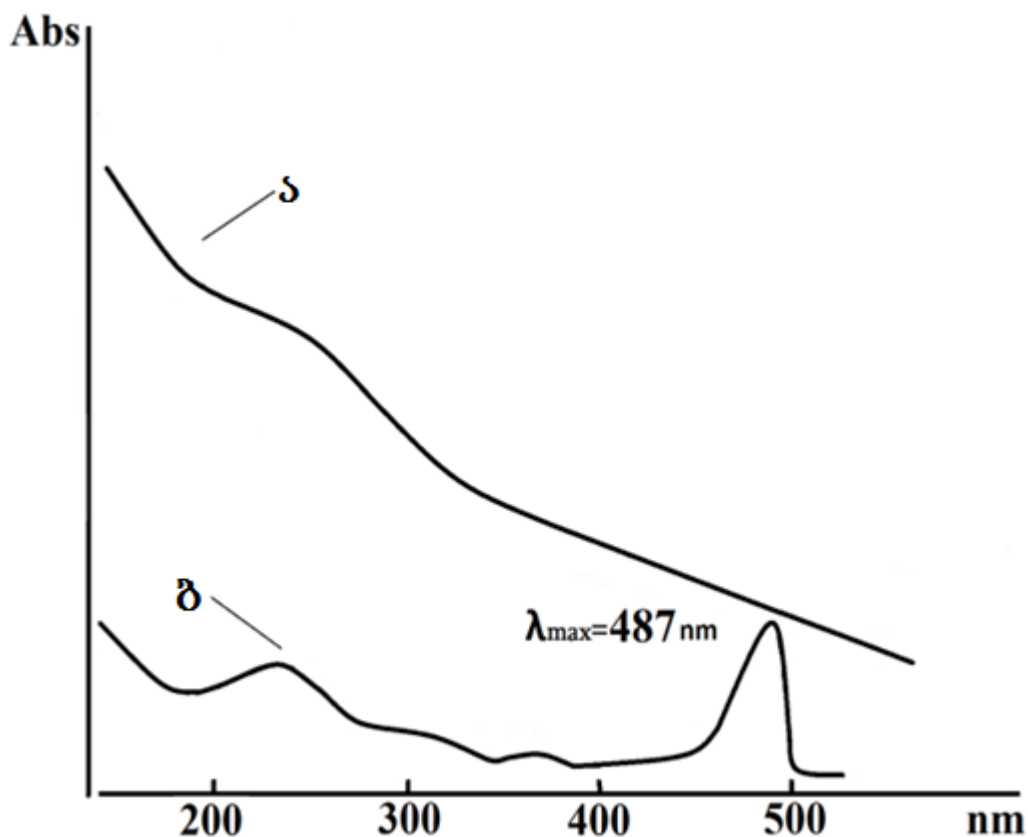


ნახაზი 11. ა) DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომების სპექტრი
 ბ) DPPC ლიპოსომების სპექტრი ქოლესტეროლის გარეშე

3.2.2 ფლოუორესცენიანი ლიპოსომების სპექტროფოტომეტრული კვლევა

ნახაზ 12-ზე მოცემულია სუფთა ფლოუორესცენინისა და ფლოუორესცენინის და ქოლესტეროლიანი DPPC ლიპოსომების კომპლექსის სპექტრები. როგორც მიღებული სპექტრიდან ჩანს თავისუფალ ფლოუორესცენინს გააჩნია შთანთქმის სპექტრი $\lambda=487\text{nm}$

ტალღის სიგრძეზე (ნახ.12ბ), ხოლო ფლოუორესციინის მოლეკულებთან დამზადებული ქოლესტერიანი DPPC ლიპოსომების სპექტრის მიხედვით დაიმზირება მხოლოდ ქოლესტეროლის სპექტრი მაქსიმუმით $\lambda=240\text{nm}$ ტალღის სიგრძეზე (ნახ.12ა), ხოლო ფლოუორესციინისთვის დამახასიათებელი შთანთქმა აღარ დაიმზირება. მიღებული შედეგი ნიშნავს, რომ ფლოუორესციინი არის კომპლექსში ლიპოსომებთან, რასაც კალორიმეტრული გაზომვებიც ადასტურებს, რაზეც ზემოთაც იყო საუბარი.

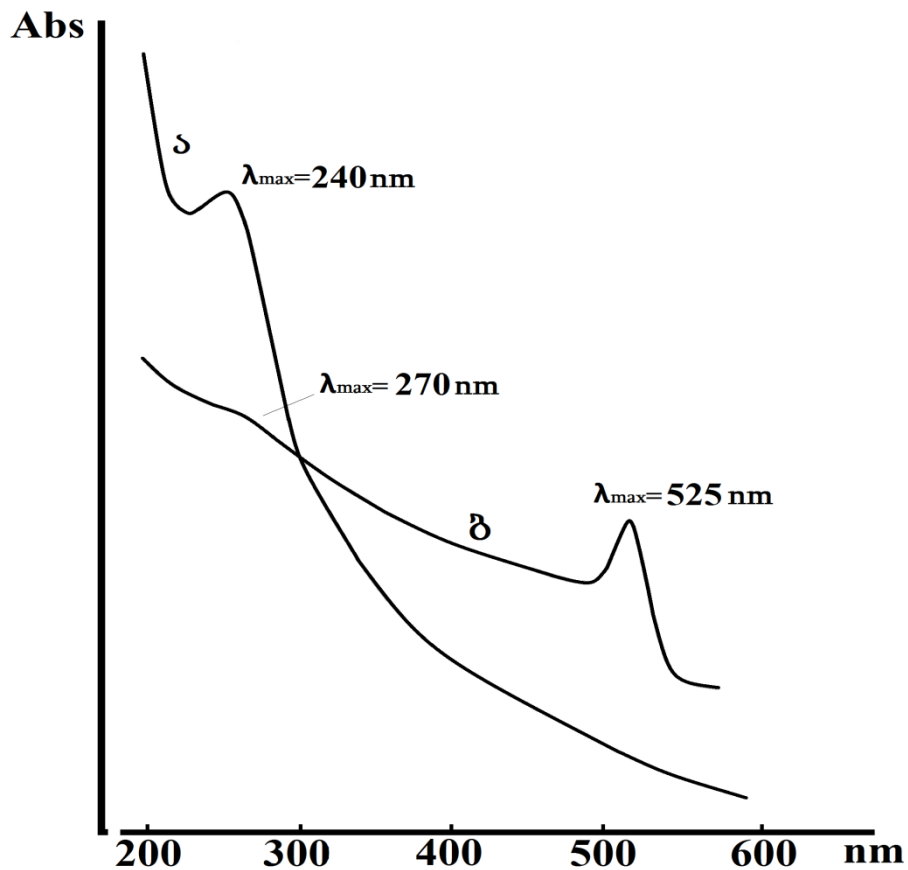


ნახაზი 12. ა) კომპლექსური DPPC-ქოლესტეროლიანი ლიპოსომები ფლოუორესციინის თანაობისას

ბ) სუფთა ფლოუორესციინის სპექტრი

3.2.3 ოქროს ნანონაწილაკებიანი ლიპოსომების სპექტროფოტომეტრული კვლევა

სპექტროფოტომეტრულად ასევე გაზომილ იქნა სუფთა ოქროს (AuNp) ნანონაწილაკების (ნახ.13 ბ) და DPPC-ქოლესტეროლის და ოქროს ნანონაწილაკებთან ერთად დამზადებული კომპლექსური ლიპოსომები, რომლის სპექტრებიც მოცემულია (ნახ.13 ა).



ნახაზი 13. ა) სპექტრი DPPC-ქოლესტეროლიან ლიპოსომები ოქროს (AuNp) ნანონაწილაკების თანაობისას
ბ) სუფთა ოქროს ნანონაწილაკების სპექტრი

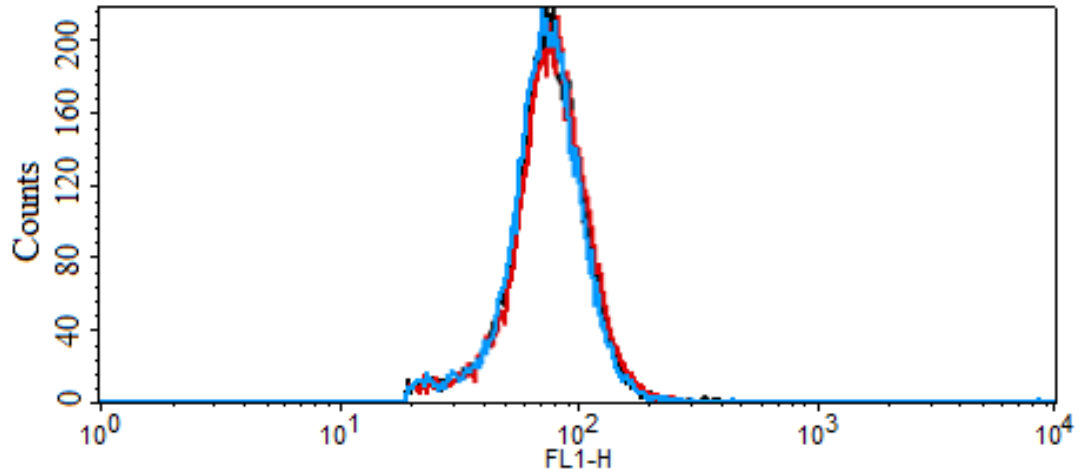
მიღებული სპექტრების თანახმად თუ სუფთა ოქროსნანონაწილაკებს გააჩნიათ მაქსიმუმი შთანთქმა $\lambda=520\text{ნმ}$ ტალღის სიგრძეზე (ნახ. 13.ბ), ხოლო DPPC-ქოლესტეროლის ოქროს ნანონაწილწკებთან ერთად დამზადებული კომპლექსური ლიპოსომების სპექტრის მიხედვით დაიმზირება მხოლოდ ქოლესტეროლის სპექტრი მაქსიმუმით $\lambda=240\text{ნმ}$ ტალღის სიგრძეზე. ისევე, როგორც ფლუორსცენის და ლიპოსომების კომპლექსის სპექტრის შემთხვევაში, რაზეც ზემოთ იყო საუბარი, მისი (ქროსნანონაწილაკებს) შთანთქმაც გაქრა, რაც ასევე ადასტურებს იმას, რომ ოქროსნანონაწილაკები წარმოქმნის კომპლექსს ლიპოსომებში, განსხვავებით კალორიმეტრული ექსპერიმენტებში გამოთქმული მოსაზრებისგან. მიღებული ერთი შეხედვით საწინააღმდეგო შედეგების დასამლევად გვრჩება ერთი ვარიანტი, რომლის მიხედვითაც ოქროსნანონაწილაკები წარმოქმნის კავშირებს ლიპოსომების იმ უბნებთან, რომლებიც არ მონაწილეობს კალორიმეტრული პიკების მიღებაში.

3.3 ციტომეტრული კვლევა

წარმოდგენილი სამუშაოს მიზანს შეადგენდა მოსინჯულიყო ლიპოსომების გამოყენების შესაძლებლობა სიმსივნური დაავადებების შემთხვევაში, კერძოდ, Caco-2 ტიპის უჯრედების შემთხვევაში. ამისათვის კონტროლად გამოყენებულ იქნა სისხლის წითელი უჯრედები. სისხლის წითელ და Caco-2 უჯრედებზე ლიპოსომში მოთავსებული ოქროსნანონაწილაკების მოქმედების დადგენის მიზნით გამოყენებული იყო ერთ-ერთ თანამედროვე დანადგარი ფლუოროციტომეტრი. ციტომეტრული ანალიზი ჩატარდა იმისათვის, რომ დაგვედგინა შიდაუჯრედულ Ca^{2+} იონი, რომელიც შედის როგორც სისხლის წითელ უჯრედებში ასევე Caco-2 უჯრედების შემადგენლობაში, ზიანდებოდა თუ არა ნანონაწილაკებთან ინკუბაციით.

ციტომეტრზე მიღებული სისხლის წითელი უჯრედების ჰისტოგრამის ანალიზის შედეგად დადგინდა, რომ სისხლის წითელი უჯრედების სიმრავლიდან, მხოლოდ 2/3 იღებება სპეციფიური საღბავით. მიღებული ჰისტოგრამის თანახმად 10^2 ინტენსივობის უჯრედების რაოდენობა აღწევს 250 ერთულს. ასევე შესწავლილი იქნა სისხლის წითელ უჯრედებზე ოქროს ნანონაწილაკების გავლენის ექსპერიმენტული მონაცემები, რომლის თანახმადაც აშკარაა რომ ადგილი არა აქვს მიღებული ჰისტოგრამას რაიმე სახის ცვლილებას საკონტროლო სისხლის წითელი უჯრედების გამოსახულებასთან შედარებით. მიღებული შედეგები აშკარად მიანიშნებს იმაზე, რომ ოქროს ნანონაწილაკები არ მოქმედებს სისხლის წითელი უჯრედების კომპონენტებთან. ასევე შესწავლილი იქნა სისხლის წითელი უჯრედებზე ოქროს ნანონაწილაკების და ლიპოსომების ერთდროული გავლენა, რომლის მიხედვითაც სისხლის წითელი უჯრედების სიმრავლიდან, დაახლოებით ნახევარი იღებება სპეციფიური საღბავით, რაც ადასტურებს ოქროს ნანონაწილაკებიანი ლიპოსომების სისხლის წითელ უჯრედებთან ურთიერთქმედებას. თუმცა მიღებული ჰისტოგრამის ანალიზის შედეგად 10^2 ინტენსივობის უჯრედების რაოდენობა არ არის შეცვლილი და ისევე აღწევს 250

ერთულს, ეს შედეგები შეჯამებულია მე-15 სურათზე მიღებული ჯამური მრუდებით, რომლებიც ერთმანეთს ემთხვევა.



სურათი 15. სისხლის წითელი უჯრედების ჰისტოგრამა

შავი - კონტროლი.

ლურჯი - ოქროს ნანონაწილაკები.

წითელი - ლიპოსომა ოქროს ნანონაწილაკები.

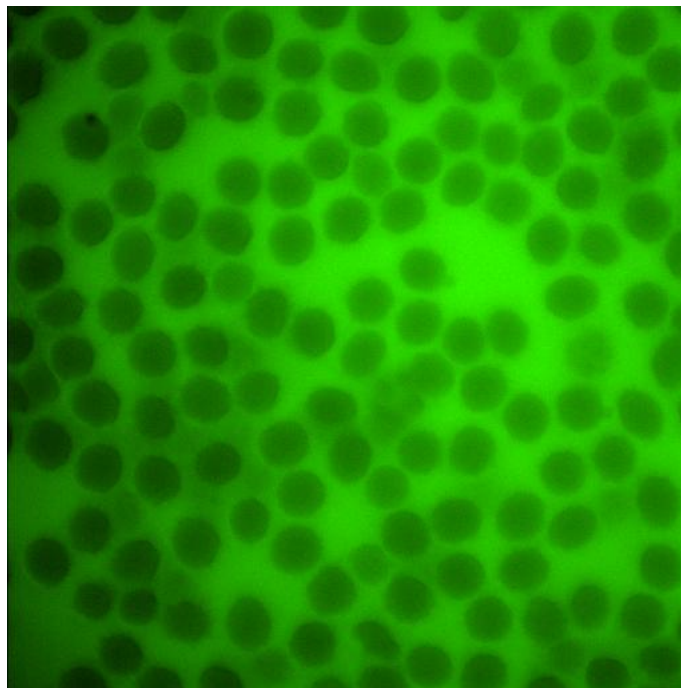
რაც შეეხება Caco-2 უჯრედების ფლუოროციტომეტრზე გაზომვის ჰისტოგრამებს, რომლის მიხედვითაც აშკარაა, რომ ლიპოსომებმა, უფრო მეტად კი ლიპოსომაში მოთავსებულმა ოქროს ნანონაწილაკებმა, მნიშვნელოვნად შეცვალა Caco-2 უჯრედების ჰისტოგრამა. ამის დასტურია ის, რომ ლიპოსომების დამატებით მოხდა Caco-2 უჯრედების დანგრევა (დაშლა), რომელებიც ხელსაწყოს მიერ იყო გაფილტრული და შესაბამისად დაშლილი უჯრედები არ არიან ასახულნი მიღებულ ჰისტოგრამაში. რჩება შთაბეჭდილება, რომ ლიპოსომების (ლიპოსომების და ოქროს ნანონაწილაკების) ზეგავლენით მიღებული ჰისტოგრამის თანახმად თითქმის არ ფიქსირდება Caco-2 უჯრედების არსებობა.

IV თავი. ლიპოსომების ურთიერთქმედება ცოცხალ უჯრედებთან

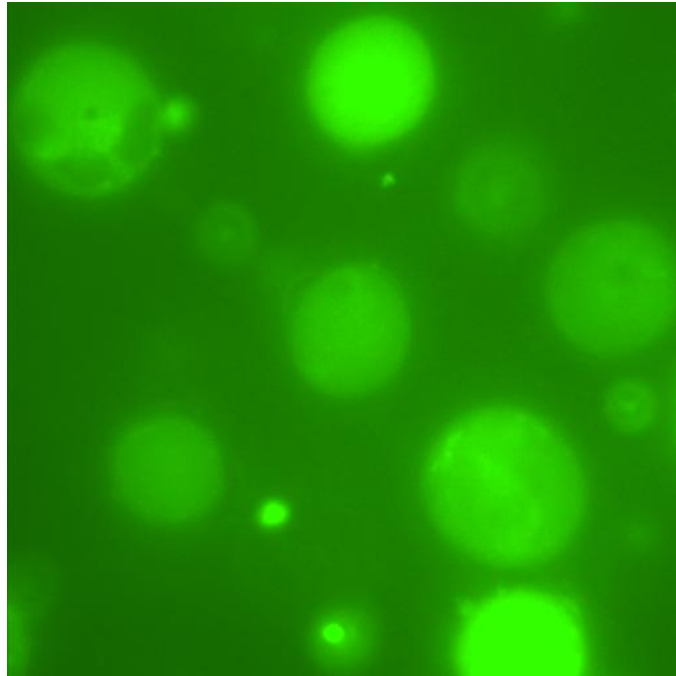
4.1 DPPC- ქოლესტეროლიანი ლიპოსომების და ოქროს ნაწილაკების ურთიერთქმედება სისხლის წითელ უჯრედებთან და Caco-2 უჯრედებთან

წარმოდგენილი სამუშაოს მიზანს შეადგენდა მოსინჯულიყო ლიპოსომების გამოყენების შესაძლებლობა სიმსივნური დაავადებების შემთხვევაში, კერძოდ, Caco2-ს ტიპის უჯრედებში. კონტროლად აღებული იქნა სისხლის წითელი უჯრედები.

კონფუკალური მიკროსკოპით გადაღებულ სურათზე (სურ. 16) ჩანს სისხლის წითელი უჯრედები ლიპოსომში მოთავსებულ ოქროს ნანონაწილაკებთან ინკუბაციის შემდეგ. როგორც სურათიდან ჩანს ლიპოსომში მოთავსებული ოქროს ნანონაწილაკები ვერ შევიდა სისხლის უჯრედებში და ფლუორესცენის ნათება შეიმჩნევა მხოლოდ უჯრედების გარშემო.



სურათი 16. ფლუოროცენტრული სურათი სისხლის წითელი უჯრედების ლიპოსომში მოთავსებულ ოქროს ნანონაწილაკებთან ინკუბაციის შემდეგ.



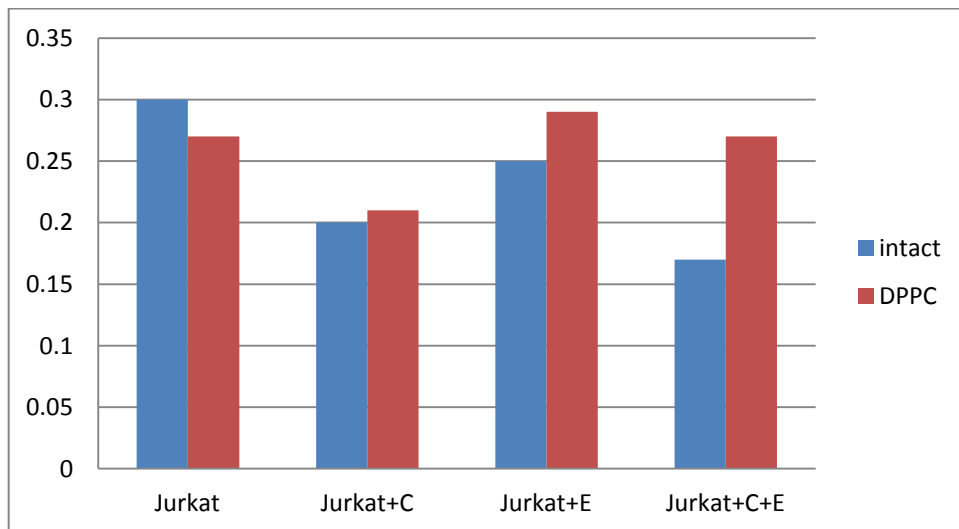
სურათი 17. ფლუოროცენტრული სურათი Caco-2 უჯრედები ლიპოსომში მოთავსებულ ოქროს ნანონაწილაკებთან ინკუბაციის შემდეგ.

მე-17 სურათზე გამოსახულია Caco-2 უჯრედები ლიპოსომში მოთავსებულ ოქროს ნანონაწილაკებთან ინკუბაციის შემდეგ. გაზრდილი ფლუორესცენის სიგნალი მიანიშნებს იმას, რომ ნაწილაკებმა შეაღწიეს უჯრედში, შესაბამისად მეტნაკლებად ყველა უჯრედი აჩვენებს გაზრდილ ფლუორესცენის სიგნალს. კონტროლად ჩატარებულ ექსპერიმენტებში სხვა ტიპის ფლუოროცენტრული ნანონაწილაკით გაზრდილი ფლუორესცენციის სიგნალი შეიძლება აღმოჩნდეს მხოლოდ Caco-2 უჯრედებში 1% -ზე ნაკლებში, რაც შეიძლება აღქმული იყოს დაზიანებული უჯრედების მიერ.

4.2 ლიპოსომებში მოთავსებული C და E ვიტამინის მოქმედება

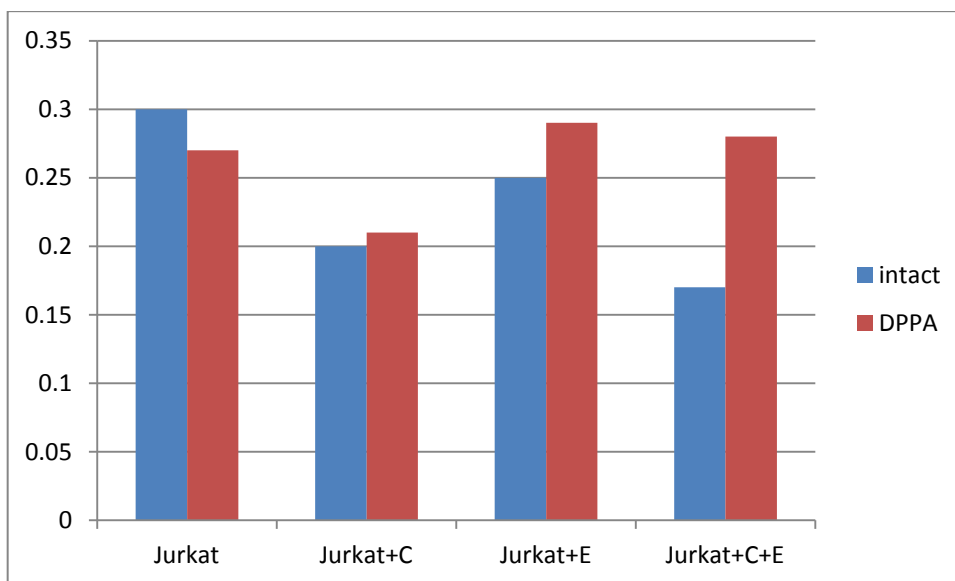
jurkat უჯრედებზე

ჩვენს მიერ დამზადებული ვიტამინიანი ლიპოსომების კომპლექსი დაემატა მუდამ პროლიფერირებადი ადამიანის ლეიკემია ტრანსფორმირებული T ლიმფოციტების (Jurkat უჯრედები) უჯრედებს, რომლებიც წარმოადგენენ სიმსივნური უჯრედების ექსპერიმენტულ მოდელს, რომლის შედეგად დადასტურდა კომპლექსური ლიპოსომების მოქმედების ეფექტურობა Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის ზრდის ხარისხზე სუფთა E და C ვიტამინების უჯრედებთან ურთიერთქმედებასთან შედარებით. კვლევების შედეგად დადგინდა, რომ Jurkat უჯრედების საინკუბაციო არეში C, E და C+E ვიტამინების დამატება უარყოფითად მოქმედებს Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე განსხვავებით კომპლექსური ლიპოსომების მოქმედებისგან. კერძოდ Jurkat უჯრედების საინკუბაციო არეში C, E და C+E ვიტამინების DPPC ლიპოსომასთან კომპლექსში დამატება იწვევს ვიტამინების ზემოქმედების ეფექტის დოზადამოკიდებულ ზრდას სუფთა C, E და C+E ვიტამინებთან შედარებით (დიაგრამა №1)



დიაგრამა №1. კომპლექსური DPPC-ვიტამინებიანი ლიპოსომების მოქმედება Jurkat უჯრედებზე

ასევე შესწავლილი იქნა კომპლექსური DPPA ლიპოსომების მოქმედების ეფექტურობა Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის ზრდის ხარისხზე სუფთა E და C ვიტამინების უჯრედებთან ურთიერთქმედებასთან შედარებით. კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ Jurkat უჯრედების საინკუბაციო არეში C, E და C+E ვიტამინების DPPA ლიპოსომასთან კომპლექსში დამატება იწვევს C, E და C+E ვიტამინების კომპლექსის ეფექტის გაძლიერებას ლიპოსომის დოზის შემცირების პროპორციულად, ასევე DPPA ლიპოსომის და C, E და C+E ვიტამინებთან კომპლექსი ზრდის ინტაქტური Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობას (დიაგრამა №2).



დიაგრამა №2. კომპლექსური DPPA-ვიტამინებიანი ლიპოსომების მოქმედება Jurkat უჯრედებზე.

V თავი. მიღებული შედეგების ანალიზი

ჩატარებული ექსპერიმენტები გვაძლევს საშუალებას დავადგინოთ თუ რა პროცესები და რა სტრუქტურულ ცვლილებები ხდება ლიპოსომებში ტემპერატურის ზემოქმედებისას. როგორც DPPC, ასევე DPPA ლიპიდებისაგან დამზადებული ლიპოსომების მომზადების ტექნოლოგიის გათვალისწინებით ლიპოსომების შიგა მოცულობაში წყალი უნდა იყოს ჰერმეტიულად ჩაკეტილი. ტემპერატურის მომატებით ლიპოსომში ჩაკეტი წყალი იწყებს გაფართოებას და შესაბამისად ნანონაწილაკებიც იწყებენ ზომაში მატებას, გაბერვას. შედეგადაც ლიპიდური ბიშრე დაიძაბება და როდესაც ეს დაძაბულობა მიაღწევს კრიტიკულ მნიშვნელობას, იწყება ნანონაწილაკების სტრუქტურული ცვლილებები. გასაგებია, რომ კრიტიკული მნიშვნელობა, რომლის დროსაც ლიპოსომებში დაიწყება სტრუქტურული ცვლილებები, დამოკიდებულია ლიპოსომებში ლიპიდებს შორის არსებული, როგორც ჰიდროფილური ასევე ჰიდროფობული ძალების სიდიდეზე და თვისებებზე.

ჩვენს მიერ დიფერენციალური სკანირებადი მიკროკალორიმეტრით გაზომილი DPPA და DPPC ლიპოსომების ტემპერატურული სტაბილობა არის ლიტერატურაში არსებული მონაცემების ანალოგიური [134-138.], თუმცა გაკეთებული ანალიზი, რომელიც ეხება ლიპოსომების სტრუქტურულ ორგანიზაციას და იმ ძალების ბუნებას, რომლებიც ლიპოსომების სტრუქტურას ასტაბილიზებს არის განსხვავებული. კალორიმეტრული ექსპერიმენტების მიხედვით DPPA ლიპოსომები დაახლოებით 25°C - ით უფრო თერმოსტაბილურია, ვიდრე DPPC ლიპოსომის სტაბილობა (ნახ.1 და ნახ.2). მიუხედავად იმისა, რომ DPPA და DPPC ლიპიდებისგან დამზადებული ლიპოსომების გეომეტრიული ფორმა და ზომები თითქმის ერთნაირია (200ნმ), ამიტომაც ნაწილაკების ზომით არ განისაზღვრება ლიპოსომების სტაბილობა. კალორიმეტრულმა კვლევებმა აჩვენა, რომ სხვადასხვა (200-1000 ნმ) დიამეტრის DPPC ლიპოსომის თერმოდინამიკური თვისებები მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება ერთმანეთისაგან (ნახ.7). ნახაზ 7-ზე მოყვანილი კალორიმეტრული ექსპერიმენტებიდან შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ

ნანონაწილაკების ზომა გავლენას არ ახდენს თერმოდინამიკური პარამეტრების ცვლილებაზე. კერძოდ ლიპოსომების დნობის კუთრი სითბოტევადობა, ასევე ფაზური გადასვლის ტემპერატურა და ენტალპია არ იცვლება, როგორც DPPA ასევე DPPC ლიპოსომების შემთხვევაში.

ჩვენს მიერ შესწავლილი იყო სხვადასხვა ფოსფოლიპიდებისგან დამზადებული ლიპოსომების თერმოდინამიკური თვისებები, რომლის მიხედვითაც დავადგინეთ, რომ ლიპოსომებში ჰიდროფობული კავშირების რიცხვი (გარკვეული ჰიდროფობული რიცხვის მერე) არ განსაზღვრავს მათ სტრუქტურის თერმულ სტაბილობას. კერძოდ, ჰიდროფობული კავშირების წარმოქმნის შესაძლებლობა DPPA ($C_{35}H_{69}O_8P$) ლიპოსომში უფრო მცირეა, ვიდრე DPPC ($C_{40}H_{80}NO_8P$) ლიპოსომში. DPPA ლიპიდის ჰიდროფობული უბნის სიგრძე არის უფრო მოკლე, ვიდრე DPPC ($C_{40}H_{80} > C_{35}H_{69}$), მიუხედავად ამისა კალორიმეტრულ ექსპერიმენტებში ცალსახად ჩანს, რომ DPPA ლიპოსომები უფრო თერმოსტაბილურია, ვიდრე DPPC ლიპოსომები (ნახ.1 და ნახ.2). ლოგიკურია ვიფიქროთ, რომ ლიპოსომების კალორიმეტრულ კვლევებში სითბოსშთანთქმის პიკების მიღება დაკავშირებული უნდა იყოს არა DPPA და DPPC ლიპიდებისგან დამზადებული ლიპოსომების ჰიდროფობულ კავშირებთან, არამედ ის უნდა იყოს გამოწვეული თავაკებს შორის არსებული ჰიდროფილური კავშირების დაშლასთან. ექსპერიმენტებმა ცალსახად აჩვენა, რომ ლიპოსომების ნაწილაკების მთლიანობა არ ირღვევა ისეთ ტემპერატურებზეც კი, როგორცაა 150 გრადუსი (DASM-4A კალორიმეტრის მაქსიმალური ტემპერატურა), რაც ნიშნავს იმას, რომ DPPA, DPPC, DPPC-ქოლესტეროლიან ლიპოსომებში არსებული ჰიდროფობული ურთიერთქმედების ენერჯია არის საკმაოდ დიდი (იხ. ნახ.3; ნახ.4; ნახ.8 და სურათი 14ა,ბ). თუ კალორიმეტრულ ამპულაში მოხდებოდა მაღალ ტემპერატურაზე ლიპოსომის დაშლა შემადგენელ ლიპიდებად მაშინ ასეთი ნიმუშის მეორედ გაცხელებისას არ მივიღებდით არავითარ სითბოსშთანთქმის პიკებს. როგორც კალორიმეტრული ექსპერიმენტებიდან ჩანს ნიმუშის (DPPA და DPPC) კალორიმეტრული ამპულიდან ამოუღებლად 150 გრადუსიდან 7 გრადუსამდე გაციებული ნიმუშის ხელმეორედ გაცხელებისას,

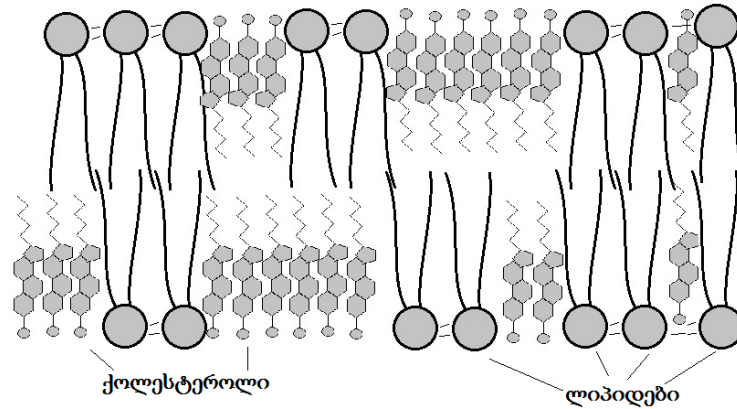
ფიქსირდება თითქმის იგივე ზომის და ფორმის სითბოსშთანთქმის პიკები, რომელიც ფიქსირდებოდა ნიმუშის პირველად გაცხელებისას (იხ. ნახ.3 და ნახ.4).

კვლევებში გამოყენებული იყო ლიპოსომები (DPPC ლიპიდებისაგან დამზადებული), რომელთა მომზადებისას გარკვეული თანაფარდობით ლიპიდებში შერეული იყო პოლარული ტიპის (ფლოუროსცენინი, ოქროს ნანონაწილაკები), ისევე როგორც ჰიდროფობული ქოლესტეროლი. ორივე ტიპის ნივთიერებებს შეუძლიათ წარმოქმნან კავშირები ლიპოსომების სტრუქტურაში, როგორც ლიპიდების ჰიდროფობულ (აცელურ კუდი) ასევე ჰიდროფილურ (თავაკებთან) ნაწილებთან. გასაგებია, რომ ლიპოსომების პოლარულ და არაპოლარულ უბნებზე კომპლექსში მყოფი მოლეკულები, სუფთა ლიპოსომების მიმართ, გამოიწვევს ჰიდროფობულ/ჰიდროფილურ კავშირების ცვლილებებს, რამაც მოგვცა საშუალება გაგვერკვია თუ რომელ კავშირებს აქვს პრიორიტეტი ლიპოსომების ტემპერატურულ სტაბილობაში.

ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა ცალსახად გვიჩვენა, რომ ჰიდროფობული ქოლესტეროლთან და ჰიდროფილური ფლოუროსცენინთან ერთად მომზადებულ DPPC ლიპოსომების თავისუფალი შიგნითა მოცულობა არ შეიცავს არც ქოლესტერის და არც ფლოუროსცენინის მოლეკულებს. წინააღმდეგ შემთხვევაში კალორიმეტრული ექსპერიმენტებში ასეთი შემადგენლობის ლიპოსომების ღლობის მრუდი არ უნდა ყოფილიყო განსხვავებული სუფთა ლიპოსომების სითბოსშთანთქმის მრუდებისაგან (იხ. ნახ.5 და ნახ.6). მიღებული კალორიმეტრული მრუდის ფორმებით თუ ვიმსჯელებთ (კოოპერატიული, ანუ ვიწრო ფორმის მრუდი გახდა არაკოოპერატიული, განიერი და დაბალი), შეგვიძლია გარკვეული დასკვნის გაკეთება თუ როგორი სტრუქტურული ცვლილებები მოხდა ნანონაწილაკში. კერძოდ, ლოგიკურია რომ ჰიდროფობული ქოლესტეროლის მოლეკულა ლიპოსომის სტრუქტურაში განთავსდება ლიპიდის პოლარულ ნაწილში (სურ.18), რითიც შეიცვლება არა მარტო აცელური კუდების განლაგება, არამედ ადგილი აქვს ლიპიდის თავაკებს შორის არსებული პოლარული

კავშირების ცვლილებასაც. ამის შედეგად, მიიღება კალორიმეტრული მრუდი, რომელიც არის მნიშვნელოვნად შეცვლილი, როგორც ფორმით ასევე პიკის ზომით (ნახ.5 და ნახ.6).

ლიპიდური ბიშრე



სურათი 18. ლიპიდურ ბიშრეში ქოლესტეროლის განლაგების სქემატური გამოსახულება.

უფრო მეტიც, თუ კალორიმეტრული მრუდის ფორმებით ვიმსჯელებთ (პიკის სიმაღლე და სიგანე, ანუ ტემპერატურის ინტერვალი ნახევარ სიმაღლეზე), შესაძლებელია ლიპოსომების სტრუქტურის და მისი ცვლილებების შესახებ გარკვეული დასკვნების გაკეთებაც. ლოგიკურია ვიფიქროთ, რომ ჰიდროფობული ქოლესტეროლის მოლეკულის ლიპოსომის სტრუქტურაში განთავსებით ხდება DPPC ლიპოსომების სტრუქტურის ცვლილება, რამაც შეიძლება ასახვა პოვოს ლიპიდის თავაკებს შორის არსებული პოლარული კავშირებზეც. მიგვაჩნია, რომ ამ კავშირების ცვლილების შედეგია ქოლესტეროლიანი DPPC ლიპოსომების კალორიმეტრული სითბოსშთანქმის პიკის არაკოოპერატიული ფორმა, რომელიც მნიშვნელოვნად განსხვავდება უქოლესტეროლიანი ლიპოსომების კალორიმეტრულად მიღებულ სითბოსშთანქმის პიკი ფორმისაგან (ნახ.5). თუმცა აქვე გვინდა ავღნიშნოთ, რომ მნიშვნელოვნად შემცირდა ლიპოსომაში ჰიდროფობული ურთიერთქმედების ენერგია, კერძოდ სუფთა DPPC ლიპიდებისაგან დამზადებული ლიპოსომებისთვის $\Delta H_{DPPC} = 29.1$ ჯ/გრ, ხოლო

ქოლესტეროლის თანაობისას დამზადებული DPPC ლიპოსომებისათვის ΔH_{DPPC} -ქოლესტეროლი = 16 ჯ/გრ.

თუმცა აქვე ავლნიშნის ღირსია ის გარემოება, რომ ლიპოსომების სტრუქტურაში ქოლესტეროლის არსებობა მნიშვნელოვნად არ ცვლის ლიპოსომში ჰიდროფობული ურთიერთქმედების ენერგიას, კერძოდ ქოლესტეროლიანი ნანონაწილაკების გაცხელებას 150-მდე, არ გამოუწვევია ნანონაწილაკების მთლიანობის დარღვევა (იხ. ნახ.5), ანუ ქოლესტეროლის თანაობისას დამზადებული ლიპოსომები ისევე სტაბილურია ტემპერატურის მიმართ, როგორც უქოლესტერინო ლიპოსომები.

სპექტროფოტომეტრულმა ექსპერიმენტებმა მნიშვნელოვნად გააფართოვა წარმოდგენა ლიპოსომური ნანონაწილაკების სტრუქტურაზე. კერძოდ, საყურადღებო შედეგია, რომ ქოლესტერინის არსებობა ლიპოსომების ბიშრის სტრუქტურაზე შეიძლება დადგინდეს 240 ნმ ტალღის სიგრძეზე სინათლის შთანთქმის არსებობით და პირიქით, თუ ლიპოსომებში არ შედის ქოლესტერინის მოლეკულა მაშინ არავითარი პიკი 240ნმ-ის ტალღის მახლობლობაში არ დაიშვირება (ნახ.11). მიღებული შედეგის საფუძველზე შესაძლებელია შეფასდეს ქოლესტერინის ხვედრითი წილიც, ანუ განისაზღვროს ქოლესტეროლი რაოდენობა, რომელიც მოდის ლიპოსომის ბიშრეზე, რაც მეტად საყურადღებო შედეგია ბუნებრივ ლიპოსომებში (შეიძლება ზოგადად უჯრედებში) ქოლესტეროლის რაოდენობის განსაზღვრის მნიშვნელობით.

რაც შეეხება ლიპოსომების კალორიმეტრულ მრუდებს, რომელშიც მონაწილეობს ფლოუროსცენინის მოლეკულები, ბუნებრივია ფლოუროსცენინის ლიპოსომებში განთავსების ადგილად მოისაზრება ლიპიდის თავაკები, სადაც, ჩვენი აზრით, წარმოქმნება წყალბადური კავშირები მეზობელ ლიპიდებს შორის. როგორც მიღებული კალორიმეტრული მრუდებიდან ჩანს (ნახ.9), ჰიდროფილური ფლოუროსცენინის მოლეკულამ მნიშვნელოვნად შეცვალა მრუდის ფორმა, კერძოდ, კალორიმეტრული მრუდები მნიშვნელოვნად შემცირდა, ისევე როგორც შემცირებულია პიკის ზომა (ფართი), რაც ჩვენი აზრით, განპირობებული უნდა იყოს ფლოუროსცენინის მნიშვნელოვანი გავლენით ლიპიდის ფოსფატურ ნაშთებზე.

ნახაზ 12-ზე მოცემულია სუფთა ფლოურესცენისა და კომპლექსური DPPC-ქოლესტერინიანი ლიპოსომების სპექტრები ფლოურესცენის თანაობისას. როგორც მიღებული სპექტრიდან ჩანს თავისუფალ ფლოურესცენის გააჩნია შთანთქმის სპექტრი $\lambda=487\text{ნმ}$ ტალღის სიგრძეზე (ნახ.12ბ), ხოლო ფლოურესცენის მოლეკულებთან დამზადებული ქოლესტერინიანი DPPC ლიპოსომების სპექტრის მიხედვით დაიმზირება მხოლოდ ქოლესტეროლის სპექტრი მაქსიმუმით $\lambda=240\text{ნმ}$ ტალღის სიგრძეზე (ნახ.12ა), ხოლო ფლოურესცენისთვის დამახასიათებელი შთანთქმა აღარ დაიმზირება. მიღებული შედეგი ნიშნავს, რომ ფლოურესცენი არის კომპლექსში ლიპოსომებთან, რასაც კალორიმეტრული გაზომვებიც ადასტურებს, რაზეც ზემოთაც იყო საუბარი.

ჩატარებული ექსპერიმენტები და მიღებული შედეგების ანალიზი, გვამღვეს შესაძლებლობას დავამტკიცოთ, რომ ლიპიდების პოლარულ თავაკებს შორის კავშირები არის წყალბადური ტიპის, რომელიც წარმოიქმნება მეზობელ ლიპიდის თავაკში არსებული ფოსფორმჟავას ნაშთებს შორის. ლიპიდის თავაკის ქიმიური შემადგენლობიდან გამომდინარე, რომელიც ორივე ტიპის ლიპიდებს (DPPA და DPPC) აქვთ საერთო, რაც გამოიხატება ფოსფორმჟავას არსებობით, რომლებიც მეზობელ ლიპიდების თავაკებს შორის წარმოქმნიან $\text{P} - \text{O} - \text{H} \dots \text{O} = \text{P}$ ტიპის წყალბადურ კავშირებს (იხილეთ ქიმიური ფორმულა), ისეთივე როგორც არსებობს კონცენტრირებულ ორთოფოსფორმჟავაში, რომლის სიბლანტეც განპირობებულია მოლეკულებს შორის ზემოთ მოყვანილი ძლიერი წყალბადური კავშირების არსებობით.

ვინაიდან DPPC და DPPA ლიპოსომების თავაკებს შორის განსხვავება მარტო ქოლინის ქიმიური ჯგუფია, რომელიც შედის DPPC-ლიპიდის თავაკის შემადგენლობაში, შესაბამისად ამ ლიპიდებისაგან დამზადებული ლიპოსომების სტაბილობაში განსხვავება დაკავშირებული უნდა იყოს ამ ქიმიურ ჯგუფთან. ჩვენ ვფიქრობთ, რომ DPPC-ლიპიდის ქოლინები წარმოქმნიან მარტო ჰიდროფობულ კავშირებს, შესაბამისად ისინი არ უნდა მონაწილეობენ ფაზურ გადასვლებში, რომლებიც კალორიმეტრულად დაიმზირება. თუმცა, მეორე მხრივ, სტერეოქიმიურად ქოლინის ჯგუფებს შეუძლიათ ხელი შეუშალონ მეზობელ ლიპიდების ფოსფატებს

წარმოქმნან ძლიერი წყალბადური კავშირები, ვინაიდან ქოლინის გამო გაზრდილია მანძილები მეზობელ ფოსფატის ჯგუფებს შორის. ისევე როგორც, მანძილი მეზობელი ფოსფატის ნაშთებს შორის შეიძლება გაიზარდოს ქოლინის სტრუქტურაში არსებული დადებითად დამუხტული აზოტის ატომებს შორის წარმოქმნილმა განზიდვის ძალებმა. ორივე ზემოთ მოყვანილი მოსაზრების გამო მეზობელი ლიპიდის მოლეკულის თავაკებს შორის მანძილი უნდა იყოს გაზრდილი (უქოლესტერინო ლიპიდებისგან განსხვავებით), რაც ამცირებს წყალბადური კავშირების ენერგიას. შესაბამისად, ამ მოსაზრებიდან გამომდინარე DPPC-ლიპოსომის თერმოსტაბილობა DPPA ლიპოსომასთან შედარებით უნდა იყოს შემცირებული, რასაც ჩატარებული ექსპერიმენტებიც ადასტურებს.

როგორც მიღებული კალორიმეტრული მრუდებიდან ჩანს, განსხვავებაა არა მარტო DPPA და DPPC-ლიპოსომის თერმოსტაბილობაში, არამედ ისინი განსხვავდებიან პიკების ფორმებითაც. კერძოდ, თუ DPPA ლიპოსომების კალორიმეტრული გაზომვისას დაიმზირება მხოლოდ ერთი კოოპერატიული სითბოსშთანთქმის პიკი (იხ.ნახ.1), DPPC ლიპოსომების შემთხვევაში კოოპერატიულ სითბოსშთანთქმის პიკს წინ უსწრებს კიდევ ორი, უფრო მცირე სითბოსშთანთქმის პიკები ე.წ. წინა გადასვლის პიკები (pre-transition) პიკები (იხ. ნახ.2).

ლიტერატურაში არსებობს მოსაზრებები ე.წ. pre-transition პიკების წარმომავლობის შესახებ, რომელთა არსებობაც დაკავშირებულია ლიპოსომებში სტრუქტურულ ცვლილებებთან, რაც სრულიად ბუნებრივია, თუმცა ავტორთა აზრით ეს ცვლილება დაკავშირებული უნდა იყოს ლიპოსომის აცილურ უბნებში ურთიერთქმედებების სხვადასხვა ხასიათთან [134].

ჩვენს მიერ ჩატარებულ DPPC ლიპოსომების ექსპერიმენტებშიც, გარდა ძირითადი სითბოსშთანთქმის პიკისა კიდევ დაიმზირებოდა ორი უფრო მცირე ზომის (ვიდრე მაღალტემპერატურული სითბოსშთანთქმის პიკი) დაბალტემპერატურული პიკები, შესაბამისად 24°C და 37°C ტემპერატურული მაქსიმუმებით (ნახ.2). თუმცა, ჩვენი აზრით, ე.წ. კალორიმეტრულ პრე-პიკების არსებობა, უნდა იყოს დაკავშირებული

ლიპოსომის მულტილამელარული სტრუქტურასთან, უფრო სწორედ ტემპერატურის ზემოქმედებით ამ მიმართებით გამოწვეულ ნანონაწილაკების სტრუქტურულ ცვლილებებთან.

თუ ჩვენ განვიხილავთ DPPC ლიპოსომის სტრუქტურას, როგორც მულტილამელარულს, რომელიც შედგება მრავალი ბიშრისგან, რომლებიც ერთმანეთისაგან წყლითაა გამოყოფილი. წყალს ასევე შეიცავს ნანონაწილაკის შიგნითა მოცულობა, რომელიც ჰერმეტიკულია ნანონაწილაკის გარემოსგან. ნანონაწილაკების სუსპენზიის გაცხელებისას, ჰერმეტიკულად ჩაკეტილი წყალი იწყებს გაფართოებას, რასაც, ბუნებრივია თან დაერთვის ნაწილაკების ზომის მატება და ბიშრეების გაჭიმვა, დაიძაბვა. მაგრამ, ნაწილაკების მულტილამინარული სტრუქტურიდან და გეომეტრიიდან გამომდინარე, ბიშრეები სხვადასხვა ძალით იქნებიან გაჭიმული, კერძოდ, უფრო მცირე დიამეტრის ბიშრეები იქნება უფრო მეტი ძალით დაჭიმული, ვიდრე დიდი დიამეტრის. შედეგად, გარკვეული დამაბულობის დროს შესაძლებელია გამოიწვიოს პატარა დიამეტრის ბიშრის შერწყმა/ინტეგრირება მეზობელ ბიშრესთან. ვფიქრობთ, რომ წარმოდგენილი მიდგომით აიხსნება უფრო დაბალტემპერატურული სითბოსშთანთქმის კალორიმეტრული პიკების (პრე-პიკის) წარმოქმნაც და მათი შექცევადობის/შეუქცევადობის ახსნაც. როგორც უკვე ავლნიშნე მულტილამელარული ლიპოსომის გაცხელებისას მის შიდა მოცულობაში არსებული წყალი იწყებს გაფართოებას, შედეგად ბიშრე ფართოვდება, როდესაც დამაბულობა მიაღწევს კრიტიკულ ზღვარს, ბიშრის ლიპიდებს შორის კავშირები გაწყდება და შემადგენელ ლიპიდებად დაიშლება, გაცივებისას კი ეს ლიპიდები შეერწყმებიან შედარებით დიდი დიამეტრის ბიშრეს, რაც გამოიწვევს ლიპიდური ბიშრის რაოდენობის შემცირებას, ვფიქრობთ სწორედ ამ მიდგომით აიხსნება 24°C პიკის გაქრობა. (იხ.ნახ.4)

თუ ზემოთ გამოთქმულ მოსაზრებას რეალურად აქვს ადგილი (სტრუქტურაში ბიშრეთა რიცხვის შემცირება ან საკითხი ლიპოსომების ჰერმეტიკულობის შესახებ), მაშინ ეს ინფორმაცია უნდა იყოს ცნობილი, როგორც ნანონაწილაკების წამლის გადამტანების პრაქტიკული გამოყენების დროს, რადგანაც ამაზე იქნება დამოკიდებული თუ

რამდენად ეფექტურად შეიძლება იყვნენ გამოყენებული ისინი პრაქტიკული თვასაზრისით.

ცალკე აღნიშვნის ღირსია ოქროს ნანონაწილაკებიანი ლიპოსომების კვლევები, რომელიც ცალსახად აჩვენებს, რომ ლიპიდებთან ერთად (ქოლესტერინის თანაობისას) გარკვეული თანაფარდობით დამზადებული DPPC ლიპოსომები, თერმოდინამიკური თვისებებით, მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება ოქროს გარეშე დამზადებული ლიპოსომების თერმოდინამიკური თვისებებისგან (იხ. ოქროს ნანონაწილაკებიანი კალორიმეტრული მრუდი ნახ.10). ოქროს ნანონაწილაკებიანი ლიპოსომების კალორიმეტრული ჩანაწერებიდან ჩანს, რომ ოქროს ნანონაწილაკებმა ვერ შეცვალა ლიპოსომების თერმული ღებობის ხასიათი (ნახ.10). როგორც ჩანს ამ შემთხვევაში მიიღება ისეთივე მრუდი, როგორც მიიღება ქოლესტერიანი ლიპოსომების შემთხვევაში (შეადარე ნახ.8 და ნახ.10). კალორიმეტრულ კვლევების თანახმად ოქროს ნანონაწილაკებიანი ლიპოსომების გაცხელებით მაღალ ტემპერატურებზე (150-მდე), ადგილი არ აქვს ლიპოსომების დაშლას. უფრო მეტიც, მეორედ გაცხელებისას მიიღება სითბოსშთანთქმის ისეთივე ზომის და ფორმის პიკი, როგორც იყო ნიმუშის პირველი გაცხელების შემთხვევაში. ანუ ოქროს ნანონაწილაკებიანი ლიპოსომების თერმოდინამიკური ქცევა, არაფრით არ განსხვავდება არა ოქროსნაწილაკებიანი ლიპოსომების თერმოდინამიკური ქცევებისაგან, რაც შეიძლება ნიშნავდეს იმას, რომ ოქროსნანონაწილაკებმა არ შექმნა კომპლექსი ქოლესტერიან ლიპოსომებთან.

მაგრამ როგორც ამ ნაწილაკების სპექტროფოტომეტრულმა კვლევებმა გვიჩვენეს, ასეთი დასკვნა არ არის სწორე. კერძოდ, ჩატარებული სპექტროფოტომეტრული ექსპერიმენტები ცალსახად ადასტურებენ, რომ მხოლოდ ოქროს ნანონაწილაკებს, რომელთაც გააჩნიათ შთანთქმის სპექტრი 520 ნმ მაქსიმუმი ტალღის სიგრძეზე (ნახ.13ბ), ქრება მისი შთანთქმა, როცა ოქროს ნანონაწილაკები შერეულია ლიპოსომებთან (ნახ.13ა). მიღებული შედეგი ცალსახად ადასტურებს, რომ ოქროს ნანონაწილაკი კომპლექსშია ლიპოსომებთან, ანუ ისინი არიან ლიპოსომების სტრუქტურის ნაწილი. ლიპიდების სტრუქტურაში თუ სად შეიძლება ოქროს ნანონაწილაკმა წარმოქმნას კავშირები, ამის

გაგებაც არ იქნება ძალიან რთული. DPPC ლიპიდის თავაკის შემადგენლობაში მყოფი ქოლესტერინის ჯგუფი შეიცავს აზოტის გაუწყვილებელ ატომს (იხ. მოლეკულის სტრუქტურული ფორმულა), რომლის მუხტიც არის დადებითი. როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული ზეტა-საიზერიტ გაზომილი იქნა ოქროს ნანონაწილაკების ზედაპირის პოტენციალი (ზეტა-პოტენციალი), რომელიც უარყოფითია და შეადგენს -36 მვ-ს. გამომდინარე ამ მონაცემებიდან სრულიად ბუნებრივია ვიფიქროთ რომ ოქროს ნანონაწილაკებს ელექტროსტატიკური კავშირებით შეუძლია დაუკავშირდეს ქოლინის შემადგენლობაში არსებულ დადებით მუხტაინ აზოტის ატომს, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს ოქროს ნანონაწილაკების ენერგეტიკული დონეების ისეთი ცვლილება ან მოახდინოს მისი ელექტრონული დონეების მნიშვნელოვანი წანაცვლება, რომ მთლიანად დაიკარგოს მისი შთანქმის სპექტრი.

საინტერესოა ციტომეტრზე ჩატარებული კვლევა და იმის შეფასება თუ რატომ არის შესაძლებელი ლიპოსომებით (უფრო უკეთესად ლიპოსომებში ჩასმული ოქროს ნანონაწილაკებით) მოხდეს Caco-2 უჯრედების დაშლა, მაშინ როცა იგივე ლიპოსომებს, მათ შორის ლიპოსომებში ჩასმული ოქროს ნანონაწილაკებს არ ძალუძთ სისხლის წითელი ნაწილაკებზე მოქმედება (იხ. სურ.16, სურ.17). მიზეზი შეიძლება ვეძებოთ სისხლის წითელი ნაწილაკების და Caco-2 უჯრედების მემბრანის განსხვავებაში. ლიტერატურულ მონაცემებში ავლნიშნავდით, რომ განსხვავებით სისხლის წითელი უჯრედებისაგან caco-2 უჯრედების მემბრანა არის უფრო გამჭოლი და გაუხეშებული, ვინაიდან მისი მემბრანა შეიცავს Ca^{2+} -ს იონებს და ასეთი ადგილების დენადობა, რომელიც დამახასიათებელია ნორმალური უჯრედებისათვის არის მნიშვნელოვნად შემცირებული. თუ ასეთ მემბრანას დაემატება ლიპოსომები, რომელიც თითქმის იგივე შემადგენლობისაა რაც ცოცხალი უჯრედის მემბრანა, ერთ-ერთი ყველაზე მოსალოდნელი შედეგი იქნება დენადობის შეცვლა იმ ადგილას სადაც მოხდა მისი ჩანაცვლება Caco-2 უჯრედის მემბრანაში. მემბრანის ეს ნაწილი ბუნებრივია იქნება მოქნილი უბანი, რომელსაც მოენაცვლება მემბრანის გაუხეშებული ადგილი, გამოწვეული ამ უბანზე Ca^{2+} -ს იონების არსებობით (მემბრანის სტრუქტურაში

წარმოქმნის ძლიერ იონურ კავშირებს), რომელიც მემბრანის ამ უბანს ხდის მოუქნელს, გაუხეშებულს. საზღვრი მემბრანის მობილურ და გაუხეშებულ უბნებს შორის უჯრედისთვის არის სუსტი ადგილი, რომელიც ადვილად შეიძლება დაირღვეს და უჯრედის შიგ თავსი გამოვიდეს გარეთ. თუ ეს თავისთავად არ ხდება მაშინ ამ საზღვარს, დიდი ალბათობით ადვილად დაანგრევს ციტომეტრი - ვინაიდან ხელსაწყო ისეა მოწყობილი, რომ კაპილარში მიღებული იყოს უჯრედების მონო ნაკადი, რისთვისაც კაპილარზე მოდებულია მაღალი წნევა, რომელიც კაპილარში წარმოქმნის დიდ სიჩქარის გრადიენტს. დინების დიდ გრადიენტს კი სულ ადვილად შეუძლია უჯრედების მთლიანობა დაარღვიოს, ვინაიდან უჯრედზე იმოქმედებს დიდი ჰიდროდინამიკური ძალები. უჯრედის მთლიანობის დარღვევის ყველაზე მოსახერხებელი ადგილი კი არის Caco-2 უჯრედის მემბრანის მობილური და გაუხეშებული უბნების საზღვარი (რაზეც ზემოთ იყო ლაპარაკი), ვინაიდან არამობილური მემბრანული უბნების არსებობა ხელს უშლის უჯრედებს ჰიდროდინამიკურ ნაკადში დეფორმირდნენ, რის შედეგადაც უჯრედის მთლიანობა იქნება დარღვეული. თუ ეს მოხდა და უჯრედები დაინგრა, შემდეგ ციტომეტრი ავტომატურად ახდენს დანგრეული უჯრედების გაფილტვრას და ისინი ვერ მონაწილეობენ ჰისტოგრამის მიღებაში.

ყოველ შემთხვევაში Caco-2 უჯრედების რიცხვის შემცირება ლიპოსომების დამატებისას ასეთი მიდგომით შეიძლება იყოს ახსნილი.

რაც შეეხება ჯანმრთელ სისხლის წითელ ნაწილაკებს ლიტერატურული მონაცემებით მისი მემბრანა არის ისედაც მოქნილი და მას შეუძლია გაუძლოს დიდ დეფორმაციას, რის გამოც მათი დაშლა ციტომეტრში ვერ ხდება და ლიპოსომების დამატება ამ შემთხვევაში ვერავითარ გავლენას ვერ მოახდენს.

C და E ვიტამინიანი კომპლექსური ლიპოსომების ურთიერთქმედება სიმსივნურ Jurkat უჯრედებთან შესწავლილი იქნა MTT მეთოდით, რომლის შედეგად დადასტურდა კომპლექსური ლიპოსომების მოქმედების ეფექტურობა Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის ზრდის ხარისხზე.

დასკვნები:

1. DPPC და DPPA ფოსფოლიპიდების (ლიპოსომების) კალორიმეტრული ექსპერიმენტების თანახმად ნანონაწილაკების სხვადასხვა თერმოსტაბილობა (მაქსიმუმი სითბოს სშთანთქმა 42° და 66° შესაბამისად) აიხსნება ლიპიდის თავაკების განსხვავებული ქიმიური შემადგენლობით, რის გამოც ლიპოსომების ფორმირებისას ლიპიდების ჰიდროფილურ თავაკებს შორის ენერგეტიკულად განსხვავებული კავშირები წარმოიქმნება.
2. DPPC და DPPA ლიპიდების კალორიმეტრული სითბოს შთანთქმის პიკების ანალიზით დავადგინეთ, რომ DPPA ლიპიდებისაგან დამზადებული ლიპოსომები არიან უნილამელარული სტრუქტურის, მაშინ როდესაც DPPC ლიპიდებისგან დამზადებული ნანონაწილაკები მულტილამელარული სტრუქტურისაა.
3. ჩვენს მიერ შემუშავებული იქნა წამლის გადამტანი კომპლექსური ლიპოსომების დამზადების ახალი ნანოტექნოლოგია, რომლის გამოყენებითაც შესაძლებელია დროის მოკლე ინტერვალში დამზადებული იყოს ახალი ტიპის ეფექტური ნანონაწილაკური სტრუქტურის წამლები.
4. ჩვენს მიერ მომზადებული იქნა ფლუოროსცენინის და მცირე დიამეტრის ოქროს ნანონაწილაკებიანი კომპლექსური DPPC ლიპოსომები და შემოწმებული იქნა მათი უჯრედებთან ურთიერთქმედება. კომფოკალური მიკროსკოპით და ციტომეტრილი მეთოდებით ცალსახად ნაჩვენები იქნა, რომ ფლუოროსცენინმა და ოქროს ნანონაწილაკებმა შეადწიეს მხოლოდ სიმსივნის Caco-2 უჯრედების შიგნით, მაშინ როდესაც ჯანმრთელ სისხლის წითელ უჯრედებში მათ ვერ შეადწიეს.

5. ჩვენს მიერ შემუშავებული ახალი ტექნოლოგიით მომზადებული C და E ვიტამინიანი კომპლექსური ლიპოსომების ურთიერთქმედება სიმსივნურ Jurkat უჯრედებთან შესწავლილი იქნა MTT მეთოდით, რომლის შედეგად დადასტურდა კომპლექსური ლიპოსომების მოქმედების ეფექტურობა Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის ზრდის ხარისხზე.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Bejjani RA, Benezra D, Cohen H, et al. Nanoparticles for gene delivery to retinal pigment epithelial cells. *Mol Vis* 11:124–32. (2005).
2. Brown MD, Schatzlein AG, Uchegbu IF. Gene delivery with synthetic (non viral) carriers. *Int J Pharm* 229:1–21. (2001).
3. Douglas SJ, Davis SS, Illum L. Critical reviews in therapeutic drug carrier systems. *Nanoparticles Drug Deliv* 3:233–361. (1987).
4. Gupta AK, Gupta M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials* 2005; 26: 3995–4021.
5. Mahmoudi M, Simchi A, Milani AS, Stroeve P. Cell toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *J Colloid Interface Sci* 2009; 336: 510–58.
6. Hasadsri L, Kreuter J, Hattori H, et al. (2009). Functional protein delivery into neurons using polymeric nanoparticles. *J Biol Chem* 284: 6972–81.
7. Kamps JA, Scherphof GL. (2004). Biodistribution and uptake of liposomes in vivo. *Methods Enzymol* 387:257–66.
8. Kreuter L, Tauber U, Illi V. Distribution and elimination of poly(methyl methacrylate) nanoparticles after subcutaneous administration to rats. *J Pharm Sci* 68:1443–9. (1979).
9. Li S, Huang L. Nonviral gene therapy: promises and challenges. *Gene Ther – Nature* 7:31–4. (2000).
10. Moghimi SM, Hunter AC, Murray JC. Long circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice. *Pharmacol Rev* 53: 283–318. (2001).
11. Nishikawa M, Huang L. Nonviral vectors in the new millennium: delivery barriers in gene transfer. *Hum Gene Ther* 12:861–70. (2001).
12. Panyam J, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Adv Drug Deliv Rev* 55:329–47. (2003).

13. Patil Y, Panyam J. Polymeric nanoparticles for siRNA delivery and gene silencing. *Int J Pharm* 367:195–203. (2009a).
14. Patil Y, Toti U, Khdair A, et al. Facile single-step multi functionalization of nanoparticles for targeted drug delivery. *Biomaterials* 30:859–66. (2009b).
15. Gabizon A: Liposomes as a drug delivery system in cancer therapy. In *Drug Carrier Systems*. Edited by Roerdink FHD, Kron AM. Chichester: Wiley;185-211. (1989).
16. Storm G, Roerdink FH, Steerenberg PA, de Jong WH, Crommelin DJA: Influence of lipid composition on the antitumor activity exerted by doxorubicin containing liposomes in a rat solid tumor model. *Cancer Res*, 47:3366-3372. (1987).
17. Akbarzadeh A, Asgari D, Zarghami N, Mohammad R, Davaran S: Preparation and in vitro evaluation of doxorubicin-loaded Fe₃O₄ magnetic nanoparticles modified with biocompatible co-polymers. *Int J Nanomedicine*, 7:511-526. (2012).
18. Akbarzadeh A, Zarghami N, Mikaeili H, Asgari D, Goganian AM, Khiabani HK, Samiei M, Davaran S: Synthesis, characterization, and in vitro evaluation of novel polymer-coated magnetic nanoparticles for controlled delivery of doxorubicin. *Nanotechnol Sci Appl*, 5:13-25. (2012).
19. Bejjani R.A., Benezra D., Cohen H., Rieger J., Andrieu C., Jeanny J., Golomb G., Behar-Cohen F.F. Nanoparticles for gene delivery to retinal pigment epithelial cells. *Molecular Vision*, 11:124-132. (2005).
20. Brown M.D., Schatzlein A.G., Uchegbu I.F. Gene delivery with synthetic (non viral) carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, 229:1-21. (2001).
21. Douglas. S.J., Davis S.S., Illum L. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*. Nanoparticles in drug delivery, 3:233-361. (1987).
22. Al-Jamal T., Kostarelos K. Liposome-nanoparticle hybrids for multimodal diagnostic and therapeutic applications. *Nanomedicine*, 2:85-98. (2007).

23. Drummond D.C., Meyer O., Hong K., Kirpotin D.B., Papahadjopoulos D. Optimizing Liposomes for Delivery of Chemotherapeutic Agents to Solid Tumors. *Pharmacological reviews*, 51:691-743. (1999).
24. Gregoriadis G., Buckland R.A., Enzyme-containing Liposomes alleviate a Model for Storage Disease, *Nature (London)*, v. 244, p. 170-172. (1973).
25. Gregoriadis G. *Drug carriers in biology and medicine*, Academic press, London, (1979).
26. Gregoriadis G., Neerunjun E.D., Hunt R. Fate of a liposome-associated agent injected into normal and tumour-bearing rodents. Attempts to improve localization in tumour tissues, *Life Sci.*, v.21, p.357-369. (1977).
27. Caride V.J. Zanet B.L. Liposome accumulation in regions of experimental myocardial infarction, *Science (N.Y.)*, v.198, p.735-737. (1977).
28. Bonventre P., Gregoriadis G. Killing of Intraphagocytic *Staphylococcus aureus* by Dihydrostreptomycin Entrapped Within Liposomes, *Antimicrob. Agents chemother.* v.13, p. 1049-1051. (1978).
29. Al-Jamal T, Kostarelos K. Liposome-nanoparticle hybrids for multimodal diagnostic and therapeutic applications. *Nanomedicine 2*: 85–98. (2007).
30. Bothun GD. (2008). Hydrophobic silver nanoparticles trapped in lipid bilayers: size distribution, bilayer phase behavior, and optical properties. *J Nanobiotechnol* 6:13–22.
31. Andreas W, Karola VU: Liposome technology for industrial purposes. *J Drug Deliv* 2011, (2011).
32. Atrooz OM: Effects of alkylresorcinolic lipids obtained from acetonic extract of Jordanian wheat grains on liposome properties. *Int J Biol Chem* , 5(5):314-321. (2011).
33. Benech RO, Kheadr EE, Laridi R, Lacroix C, Fliss I: Inhibition of *Listeria innocua* in cheddar cheese by addition of nisin Z in liposomes or by in situ production in mixed culture. *Applied Environ Microbiol* , 68:3683-3690. (2002).
34. Shehata T, Ogawara K, Higaki K, Kimura T: Prolongation of residence time of liposome by surface-modification with mixture of hydrophilic polymers. *Int J Pharm* , 359:272-279. (2008).
35. Riaz M: Liposome preparation method. *Pak J Pharm Sci* , 9(1):65-77. (1996).

36. Himanshu A, Sitasharan P, Singhai AK: Liposomes as drug carriers. *IJPLS* , 2(7):945-951. (2011).
37. Kataria S, Sandhu P, Bilandi A, Akanksha M, Kapoor B, Seth GL, Bihani SD: Stealth liposomes: a review. *IJRAP* , 2(5):1534-1538. (2011).
38. Szoka F Jr, Papahadjopoulos D: Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation. *Proc Natl Acad Sci USA* , 75(9):4194-4198. (1978).
39. Handa T, Naito S, Hiramatsu M, Tsuboi M: Thermal SiO and H₁₃CO⁺ line observations of the dense molecular cloud G0.11-0.11 in the Galactic Center Region. *Astrophys J* , 636:261-266. (2006).
40. Gomez-Hens, A., Fernandez-Romero, J.M. "Analytical methods for the control of liposomal delivery systems", *Trends Anal Chem*, 25,167-178. (2006).
41. Mozafari, M.R., Johnson, C., Hatziantoniou, S. & Demetzos, C. " Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology", *Journal of Liposome Research*, 18, 309-327. (2008).
42. Mayer LD, Bally MB, Hope MJ, Cullis PR: Techniques for encapsulating bioactive agents in to liposomes. *Chem Phys Lipids* , 40:333-345. (1986).
43. Hamilton RL, Guo LSS: Liposomes preparation methods. *J Clin Biochem Nut* 1984, 7:175.
44. Pick U: Liposomes with a large trapping capacity prepared by freezing and thawing of sonicated phospholipid mixtures. *Arch Biochem Biophys* , 212:186-194. (1981).
45. Ohsawa T, Miura H, Harada K: Improvement of encapsulation efficiency of water-soluble drugs in liposomes formed by the freeze-thawing method. *Chem Pharm Bull* , 33(9):3945-3952. (1985).
46. Liu L, Yonetani T: Preparation and characterization of liposome-encapsulated haemoglobin by a freeze-thaw method. *J Microencapsulation* , 11(4):409-42. (1994).
47. Daemen T, Hofstede G, Ten Kate MT, Bakker-Woudenberg IAJM, Scherphof GL: Liposomal doxorubicin induced toxicity: depletion and impairment of phagocytic activity of liver macrophages. *Int Cancer* , 61:761-721. (1995).

48. Kirby CJ, Gregoriadis G: A simple procedure for preparing liposomes capable of high encapsulation efficiency under mild conditions. In *Liposome Technology*. 1st edition. Edited by Gregoriadis G. Boca Raton: CRC; 19-27. (1984).
49. Alpes H, Allmann K, Plattner H, Reichert J, Rick R, Schulz S: Formation of large unilamellar vesicles using alkyl maltoside detergents. *Biochim Biophys Acta* , 862:294. (1986).
50. Cullis Pt, B. De Kruijff“Lipid polymorphism and the functional roles of lipids in biological membranes“ *Biochim Biophys Acta (BBA)*, 559 (4), pp. 399-420.(1979).
51. R. Yang, X. Zhang, F. Li, et al“ .Role of phospholipids and copolymers in enhancing stability and controlling degradation of intravenous lipid emulsions“ *Colloid Surf A Physicochem Eng Asp*, 436 (0), pp. 434-442.(2013).
52. M. Kepczynski, K. Nawalanya, M. Kumoreka, A. Kobierskaa, B. Jachimska, M. Nowakowskaa. Which physical and structural factors of liposome carriers control their drug-loading efficiency? *Chemistry and Physics of Lipids*. 155. 7–15, (2008).
53. Nagle, J.F., Tristam-Nagle, S. „Structure of lipid bilayers“ *Biochim. Biophys. Acta*, 1469, 159-195, (2000).
54. Vemuri S, Rhodes CT Preparation and characterization of liposomes as therapeutic delivery systems: a review. *Pharm Acta Helv* 70:95–111.(1995).
55. Sahoo SK, Labhasetwar V: Nanotech approaches to drug delivery and imaging. *DDT* , 8:24. (2003).
56. Gabizon A, Goren D, Cohen R, Barenholz Y: Development of liposomal anthracyclines: from basics to clinical applications. *J Control Release* , 53:275-279. (1998).
57. Allen TM: Liposomes. Opportunities in drug delivery. *Drugs* , 54 (Suppl 4):8-14. (1997).
58. Chrai SS, Murari R, Imran A: Liposomes: a review. *Bio Pharm* , 14(11):10-14. (2001).
59. Andreas W, Karola VU: Liposome technology for industrial purposes. *J Drug Deliv* , 2011:9. (2011).
60. Segota S, Tezak D. Spontaneous formation of vesicles. *Adv Colloid Interface Sci*. 13; 121(1-3):51-75. (2006).

61. Lasic DD. Novel applications of liposomes Trends Biotechnol. 16(7):307-21. (1998).
62. G.V.Betageri.D.L.Parsons. Drug encapsulation and release from multilamellar and unilamellar liposomes. International Journal of Pharmaceutics. V 81, Issues 2–3, Pages 235-241. (1992).
63. Alla Polozova, Xingong Li, Tong Shangguan, Paul Meers at oll. Formation of homogeneous unilamellar liposomes from an interdigitated matrix. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. Volume 1668, Issue 1, Pages 117–125. (2005).
64. L.T. Boni, S.R. Minchey, W.R. Perkins, P.L. Ahl, J.L. Slater, M.W. Tate, S.M. Gruner, A.S. Janoff. Curvature dependent induction of the interdigitated gel phase in DPPC vesicles. Biochim. Biophys. Acta, 1146, pp. 247–257. (1993).
65. P.L. Ahl, L. Chen, W.R. Perkins, S.R. Minchey, L.T. Boni, T.F. Taraschi, A.S. Janoff. Interdigitation-fusion: a new method for producing lipid vesicles of high internal volume. Biochim. Biophys. Acta, 1195, pp. 237–244.(1994).
66. P.L. Ahl, W.R. Perkins. Interdigitation-fusion liposomes. Methods Enzymol., 367, p. 80.(2003).
67. S.C. Semple, S.K. Klimuk, T.O. Harasym, N. Dos Santos, S.M. Ansell, K.F. Wong, N. Maurer, H. Stark, P.R. Cullis, M.J. Hope, P. Scherrer, Efficient encapsulation of antisense oligonucleotides in lipid vesicles using ionizable aminolipids:formation of novel small multilamellar vesicle structure Biochim. Biophys. Acta, 1510, pp. 152–166.(2001).
68. Li SD, Huang L. Pharmacokinetics and biodistribution of nanoparticles. Mol Pharm. 5(4):496-504. (2008).
69. Amarnath S, Sharma US: Liposomes in drug delivery: progress and limitations. Int J Pharm , 154:123-140. (1997).
70. Shaheen SM, Shakil Ahmed FR, Hossen MN, Ahmed M, Amran MS, Ul-Islam MA: Liposome as a carrier for advanced drug delivery. Pak J Biol Sci , 9(6):1181-1191. (2006).
71. Koynova R, Brankov J, Tenchov B Modulation of Lipid Phase Behavior by Kosmotropic and Chaotropic Solutes. Eur. biophys. j. 25: 261-274. (1997).
72. Gennis R.B., “Biomembranes. Molecular structure and Function”, Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo, (перевод с английского, Москва, «Мир», (1997).

73. Khan DR, Rezler EM, Lauer-Fields J, Fields GB. „Effects of drug hydrophobicity on liposomal stability“ *Chem Biol Drug Des.* 71(1):3-7. (2008).
74. Torchilin V.P, Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nat. rev. Drug Discov.* v.4, p.145-16. (2005).
75. Hinch, D. K., A. E. Oliver, and J. H. Crowe. Lipid composition determines the effects of arbutin on the stability of membranes. *Biophys. J.* 77:2024–2034. (1999).
76. Melanie M. Tomczak, Dirk K. Hinch, Sergio D. Estrada, Willem F. Wolkers, Lois M. Crowe, Robert E. Feeney, Fern Tablin, and John H. Crowe. A Mechanism for Stabilization of Membranes at Low Temperatures by an Antifreeze Protein. *Biophysical Journal* Volume 82, 874–881. (2002).
77. Honigmann, A., Walter, C., Erdmann, F., Eggeling, C. & Wagner, R. Characterization of horizontal lipid bilayers as a model system to study lipid phase separation. *Biophysical journal* 98, 2886–2894. (2010).
78. Veatch, S. L. & Keller, S. L. Separation of liquid phases in giant vesicles of ternary mixtures of phospholipids and cholesterol. *Biophysical journal* 85, 3074–3083. (2003).
79. Mathai, J. C., Tristram-Nagle, S., Nagle, J. F. & Zeidel, M. L. Structural determinants of water permeability through the lipid membrane. *The Journal of general physiology* 131, 69–76. (2008).
80. Mabrey, S. & Sturtevant, J. M. Investigation of phase transitions of lipids and lipid mixtures by sensitivity differential scanning calorimetry. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 73, 3862–3866. (1976).
81. Gupta B.M Levchenko T.S., Torchilin V.P TAT-peptide-modified liposomes provide enhanced gene delivery to intracranial human brain tumor xenografts in nude mice. *Oncol.Res.*, v.16, #8, p.351-359. (2007).
82. McElhaney RN The Use of Differential Scanning Calorimetry and Differential Thermal Analysis in Studies of Model and Biological Membranes. *Chem. phys. lipids.* 30: 229-259. (1982).

83. Chiu MH, Prenner EJ. Differential Scanning Calorimetry: An Invaluable Tool for a Detailed Thermodynamic Characterization of Macromolecules and their Interactions. *J. pharm. bioallied sci.* 3: 39-59. (2011).
84. Koynova R, Caffrey M. Phases and Phase Transitions of the Phosphatidylcholines. *Biochim. biophys. acta.* 1376: 91-145. (1998).
85. Biltonen RL, Lichtenberg D. The Use of Differential Scanning Calorimetry as a Tool to Characterize Liposome Preparations. *Chem. phys. lipids.* 64: 129-142. (1993) .
86. Heerklotz H. The Microcalorimetry of Lipid Membranes. *J. phys. condens. Matter* 16: R441-R467. (2004).
87. Kim JT, Mattai J, Shipley GG. Bilayer Interactions of Ether- and Ester-Linked Phospholipids: Dihexadecyl- and Dipalmitoylphosphatidylcholines. *Biochem.* 26: 65996603. (1987).
88. Cheng A, Mencke A, Caffrey M. Manipulating Mesophase Behavior of Hydrated DHPE: An X-ray Diffraction Study of Temperature and Pressure Effects. *J. phys. chem.* 100: 299-306. (1996).
89. Mabrey S, Sturtevant JM. Investigation of Phase Transitions of Lipids and Lipid Mixtures by High Sensitivity Differential Scanning Calorimetry. *Proc. natl. acad. sci. USA.* 73: 3862-3866. (1976).
90. Demetzos C. Differential Scanning Calorimetry (DSC): A Tool to Study the Thermal Behavior of Lipid Bilayers and Liposomal Stability. *J. liposomal res.* 18: 159173. (2008).
91. Rowe ES. Lipid Chain Length and Temperature Dependence of EthanolPhosphatidylcholine Interaction. *Biochem.* 22:3299-3305. (1983).
92. Lewis RNAH, Pohle W, McElhaney RN. The Interfacial Structure of Phospholipid Bilayers: Differential Scanning Calorimetry and Fourier Transform Infrared Spectroscopic Studies of 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine and its Dialkyl and Acyl-alkyl Analogs. *Biophys. j.* 70: 2736-2746. (1996).
93. Haas NS, Sripada PK, Shipley GG. Effect of Chain-linkage on the Structure of Phosphatidylcholine Bilayers. *Biophys. j.* 57: 117-124. (1990).

94. Hing FS, Maulik PR, Shipley GG. Structure and Interactions of Ether- and Esterlinked Phosphatidylethanolamines. *Biochem.* 30: 9007-9015. (1991).
95. Smith EA, Wang W, Dea PK. Effects of Cholesterol on Phospholipid Membranes: Inhibition of the Interdigitated Gel Phase of F-DPPC and F-DPPC/DPPC. *Chem. phys. lipids.* 165: 151-159. (2012).
96. Kinoshita K, Li SJ, Yamazaki M. The Mechanism of the Stabilization of the Hexagonal II (HII) Phase in Phosphatidylethanolamine Membranes in the Presence of Low Concentrations of Dimethyl Sulfoxide. *Eur. biophys. j.* 30: 207-220. (2001).
97. Komatsu H, Guy PT, Rowe ES. Effect of Unilamellar Vesicle Size on Ethanol-Induced Interdigitation in Dipalmitoylphosphatidylcholine. *Chem. phys. lipids.* 65:11-21.(1993).
98. Ludger M Ickenstein, Maria C Arfvidsson, David Needham, Lawrence D Mayer, Katarina Edwards. „Disc formation in cholesterol-free liposomes during phase transition“ *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes.* 1614.135–138. (2003).
99. G. Kong, M.W. Dewhirst „Hyperthermia and liposomes“ *Int. J. Hypertherm.*, 15, pp. 345–370.(1999).
100. D. Papahadjopoulos, K. Jacobson, S. Nir, T. Isac „Phase transitions in phospholipid vesicles. Fluorescence polarization and permeability measurements concerning the effect of temperature and cholesterol“ *Biochim. Biophys. Acta*, 311, pp. 330–348.(1973).
101. Tanford, C. *The hydrophobic effect: formation of micelles and biological membranes*, 2nd ed., Krieger Publishing Company, (1991).
102. Maria Grazia Bonicelli, Luisa Giansanti, Marco Ierino, Giovanna Mancini. „Interaction of cationic liposomes with cell membrane models“ *Journal of Colloid and Interface Science.* 355, Pages 1-8, (2011).
103. Ting, C.; Wang, Z.-G. Interactions of a charged nanoparticle with a lipid membrane: Implications for gene delivery. *Biophys. J.* 100, 1288–1297, (2011).

104. Majidi, S.; Sehrig, F.; Samiei, M.; Milani, M.; Abbasi, E.; Dadashzadeh, K.; Akbarzadeh, A. Magnetic nanoparticles: Applications in gene delivery and gene therapy. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 44, 1186–1193, (2016).
105. Wang, Y.; Cui, H.; Li, K.; Sun, C.; Du, W.; Cui, J.; Zhao, X.; Chen, W. A Magnetic Nanoparticle-Based Multiple-Gene Delivery System for Transfection of Porcine Kidney Cells. *PLoS ONE* 9, e102886, (2014).
106. Zauner, W.; Farrow, N.; Haines, A. In vitro uptake of polystyrene microspheres: Effect of particle size, cell line and cell density. *J. Control. Release*, 71, 39–51, (2001).
107. Seemork, J.; Sansureerungsikul, T.; Sathornsantikun, K.; Sinthusake, T.; Shigyou, K.; Tree-Udom, T.; Jiangchareon, B.; Chiablaem, K.; Lirdprapamongkol, K.; Svasti, J.; et al. Penetration of Oxidized Carbon Nanospheres through Lipid Bilayer Membrane: Comparison to Graphene Oxide and Oxidized Carbon Nanotubes, and Effects of pH and Membrane Composition. *ACS Appl. Mater. Interf.* 8, 23549–23557, (2016).
108. Nakatsuji, H.; Numata, T.; Morone, N.; Kaneko, S.; Mori, Y.; Imahori, H.; Murakami, T. Thermosensitive Ion Channel Activation in Single Neuronal Cells by Using Surface-Engineered Plasmonic Nanoparticles. *Angew. Chem. Int. Ed.* 54, 11725–11729, (2015).
109. N. Reum, C. Fink-Straube, T. Klein, R.W. Hartmann, C.-M. Lehr, M. Schneider. Multilayer coating of gold nanoparticles with drug-polymer coadsorbates. *Langmuir* 26, 16901–16908. (2010).
110. H.I. Labouta, D.C. Liu, L.L. Lin, M.K. Butler, J.E. Grice, A.P. Raphael, T. Kraus, L.K. El-Khordagui, H.P. Soyer, M.S. Roberts, M. Schneider, T.W. Prow. Gold nanoparticle penetration and reduced metabolism in human skin by toluene. *Pharmaceutical Research* 28, 2931-2944. (2011).
111. M. Hori, C. Pagnoux, J.F. Baumard, M. Nogami. Preparation of gold nanoparticles (GNP) aqueous suspensions by a new method involving Tiron. *Journal of Materials Science* 42, 80-86. (2007).

112. Привалов П. Л., Монаселидзе Д. Р., Мревлишвили Г. М., Магалдадзе В. А. Теплота «внутримолекулярного плавления» макромолекул.— ЖЭТФ, 1964, т. 47, вып. 6, с. 2073-2079.
113. Ландау Л. Д., Лифшиц Е. М., "Стат. физика", Наука, 1964, Москва.
114. Privalov, P.L. and Khechinashvili, N. N. A thermodynamic approach to the problem of stabilization of globular protein structure: a calorimetric study. *J.Mol. Biol.* 86, 665–684. (1974).
115. Privalov P.L., Plotnikov V.V., Filimonov V.V., Precision Scanning Microcalorimetry for the Study of Liquids., *J.Chem.Them.*, Vol. 7, No 1, pp. 41-47.(1975).
116. Privalov, P.L. Scanning microcalorimeters for studying macromolecules. *Pure Appl. Chem.* 52, 479–497. (1980).
117. Sturtevant, J.M. Some applications of calorimetry in biochemistry and biology. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 3, 35–51. (1974).
118. J. M. Sturtevant, "Biochemical Applications of Differential Scanning Calorimetry," in *Ann. Rev. Phys. Chem.*, H. L. Strauss, G. T. Babcock, C. B. Moore, Eds., Annual Reviews, Inc, Palo Alto, CA, 38, 466-476. (1987).
119. Jose M. Sanchez-Ruiz, Jose L. Lopez-Lacomba, Manuel Cortijo, and Pedro L. Mateo. Differential scanning calorimetry of the irreversible thermal denaturation of thermolysin. *Biochemistry*, 27 (5), pp 1648–1652. (1988).
120. Фрайфельдер Д. Физическая биохимия. Применение физико-химических методов в биохимии и молекулярной биологии. М.: Мир, (1980).
121. Волькенштейн М.В. Биофизика. М: Наука, (1981).
122. Zitzewitz, Paul W. *Glencoe Physics*. New York, N.Y.: Glencoe/McGraw-Hill. p. 395. ISBN 0-02-825473-2. (1999).
123. Douglas A. Skoog, Donald M. West, F. James Holler. *Analytical Chemistry*. (1999).
124. Douglas A. Skoog, Donald M. West, F. James Holler, Stanley R. Crouch. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. pp 722-742. (2003).
125. Givan AL. *Flow Cytometry: First Principles*. New York, NY: John Wiley & Sons; 1992.

126. Bauer KD, Duque RE, Shankey TV, eds. *Clinical Flow Cytometry: Principles and Application*. Baltimore, MD: Williams and Wilkins, (1993).
127. Owens MA, Loken MR. *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice, Quality Assurance for Quantitative Immunophenotyping*. New York, NY: Wiley-Liss; (1995).
128. Melamed MR, Lindmo T, Mendelsohn ML. *Flow Cytometry and Sorting*. 2nd ed. New York, NY: Wiley-Liss; (1990).
129. Bonora S, Ercoli L, Torreggiani A, Fini G. Influence of sebacate plasticizers on the thermal behavior of dipalmitoylphosphatidylcholine liposomes. *Thermochimica Acta*. 385. 51–61. (2002).
130. Gardikis K, Hatziantoniou S, Viras K, Demetzos C. Effect of a bioactive curcumin derivative on DPPC membrane: A DSC and Raman spectroscopy study. *Thermochimica Acta* 1:1–4. (2006).
131. Shaukat Ali, Sharma Minchey, Andrew Janoff, Eric Mayhew. A Differential Scanning Calorimetry Study of Phosphocholines Mixed with Paclitaxel and Its Bromoacylated Taxanes. *Biophysical Journal* 78:246–256; (2000).
132. Labouta HI, Liu DC, Lin LL, et al. Gold nanoparticles penetration and reduced metabolism in human skin by toluene. *Pharm Res*. 28:2931–44. (2011).
133. Park S.H., Oh S.G., Mun J.Y., Han S.S. Loading of gold nanoparticles inside the DPPC bilayers of liposome and their effects on membrane fluidities. *Colloid Surf. Biointerfaces* 48: 112–118. (2006).
134. David A. Mannock, Ruthven N. A. H. Lewis, and Ronald N. McElhaney, “Comparative Calorimetric and Spectroscopic Studies of the Effects of Lanosterol and Cholesterol on the Thermotropic Phase Behavior and Organization of Dipalmitoylphosphatidylcholine Bilayer Membranes”, *Biophysical Journal* Volume 91 November pp, 3327–3340, (2006).
135. David A. Mannock, Ruthven N.A.H. Lewis, Ronald N. McElhaney. A calorimetric and spectroscopic comparison of the effects of ergosterol and cholesterol on the thermotropic phase behavior and organization of dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. Volume 1798, Issue 3, p. 376–388. (2010).

136. Francesco Castelli, Gaetano Giammona, Antonio Raudino, Giovanni Puglisi. Macromolecular prodrugs interaction with mixed lipid membrane. A calorimetric study of naproxen linked to polyaspartamide interacting with phosphatidylcholine and phosphatidylcholine-phosphatidic acid vesicles, *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 70, Issues 1–2, p. 43–52. (1991)
137. Senior J., Gregoriadis G. Stability of small unilamellar liposomes in serum and clearance from the circulation: The effect of the phospholipid and cholesterol components. *Life Sci.* v.30, p. 2123-2136. (1982).
138. Li-Ping Tseng, Hang-Jen Liang, Tze-Wen Chung, Yi-You Huang, Der-Zen Liu, “Liposomes incorporated with cholesterol for drug release triggered by magnetic field”, *Journal of Medical and Biological Engineering*, 27 (1), (2007).
139. M.Khvedelidze, T.Mdzinarashvili, E.Shekiladze, M.Schneider, D.Moersdorf, I.Bernhardt “Structure of drug delivery DPPA and DPPC liposomes with ligands and their permeability through cells” *Journal of Liposome Research*, Vol. 25, №1, pp. 20-31, (2015).