

მიო-ინოზიტოლის ზეგავლენა ეპილეპტოგენეზით გამოწვეული ინფლომოსომის კომპლექსის ექსპრესიაზე ვირთაგვების ტვინში

ლუკა ხარხელაური

სამაგისტრო ნაშრომი წარმოდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და მედიცინის ფაკულტეტზე მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნის შესაბამისად

პროგრამა: სიცოცხლის შემსწავლელი მეცნიერებები (მოლეკულური ბიომეცნიერებები, ნეირომეცნიერებები)
მიმართულება: მოლეკულური ბიომეცნიერებები

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: გიორგი გამყრელიძე
(პროფესორი)

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2022

განაცხადი

„ როგორც წარდგენილი ნაშრომის ავტორი ვაცხადებ, რომ ნაშრომი არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად“

ლუკა ხარხელაური / ლ. ხარხელაური / 06.07.2022

სარჩევი

განაცხადი	i
სარჩევი	ii
აბრევიატურის ჩამონათვალი	iii-iv
ილუსტრაციების ჩამონათვალი	v
აბსტრაქტი	1-2
შესავალი	2-5
1. ლიტერატურის მიმოხილვა	5-23
1.1. ეპილეფსია და მისი კლასიფიკაცია	5-7
1.2. ეპილეპტოგენეზის რაობა	7-8
1.3. ჰიპოკამპის სტრუქტურა და ფიზიოლოგია	8-9
1.4. ეპილეფსიის უჯრედული და წრედული მექანიზმები	10-11
1.5. ანთებითი პროცესი და მისი როლი ეპილეპტოგენეზში	11-21
1.6. მიო-ინოზიტოლი და მისი ეფექტი კონვულსიებზე და ეპილეპტოგენეზზე	21-23
2. მეთოდოლოგია	23-26
2.1. სტატუს ეპილეპტიკუსის გამოწვევა	23
2.2. ქცევითი ნაწილი	24
2.3. ნიმუშების მომზადება	25
2.4. სტატისტიკური ანალიზი	26
3. შედეგები	26-35
4. დისკუსია	35-38
5. დასკვნები	38
ბიბლიოგრაფია	39-46

აბრევიატურის ჩამონათვალი

1. SE- ეპილეფსიური სტატუსი
2. MI - მიო-ინფარქტი
3. KA - კანის მუავა
4. SRS - სპონტანურად განმეორებადი კრუნჩხვები
5. AED-ანტიეპილეფსიური პრეპარატები
6. NLRP3- ნოდ-მსგავსი რეცეპტორის ოჯახი პირინის დომენის შემცველი 3
7. HMGB1 - მაღალი მობილობის კოლოფი 1 ცილა
8. S100beta – კალციუმის დამაკავშირებელი ბეტა ცილა
9. NLRC4 - ნოდ-მსგავსი რეცეპტორული ოჯახის კასპაზას გამააქტივებელი და მასტაბილიზირებელი დომენ შემცველი მოლეკულა 4
10. NLR - ნოდ-მსგავსი რეცეპტორი
11. AIM2 – არაა წარმოდგენილი მიელომაში 2
12. CARD- კასპაზას გამააქტივებელი და მასტაბილიზირებელი დომენები
13. PYD - პირინის დომენი
14. IL-1 β - ინტერლეიკინი 1-ბეტა
15. IL-18 - ინტერლეიკინ 18
16. Nod (NOD) - ნუკლეოტიდის ოლიგომერიზაციის დომენი
17. LRR - ლეიციინით მდიდარი გამეორებები
18. IFN- γ - ინტერფერონ გამა
19. GSDMD - გასდერმინ D
20. NACHT - ცენტრალური ნუკლეოტიდ-დამაკავშირებელი და ოლიგომერიზაციის დომენი
21. ASC - აპოპტოზ-დამოკიდებული სპეკ-მსგავსი ცილა შემცველი კასპაზას გამააქტივირებელი და მასტაბილიზირებელი დომენი
22. MCC950 – NLRP3-ის სელექტიური ინჰიბიტორი

23. NF- κB - ბირთვული ფაქტორი, კაპა-მნათი-ჯაჭვი აქტივირებული B უჯრედების მასტიმულირებელი
24. IKK - კაპა-B კინაზას ინჰიბიტორი
25. Nek 7 - ნიმა-დაკავშირებული კინაზა 7
26. HIN -ჰინ-დომენები
27. CpG – 200 ნუკლეოტიდური წყვილისგან აგებული დნმ-ის ჯაჭვი, რომლის რაოდენობაშიც 50%-ზე მეტი გუანინი და ციტოზინია
28. IL-1 RI - ინტერლეიკინ 1, რეცეპტორის ტიპი 1
29. IL-1 RII - ინტერლეიკინ 1, რეცეპტორის ტიპი 2
30. GABA-A - გამა ამინო-ერბოს მჟავა A
31. NMDA – N-მეთილ D-ასპარტატის რეცეპტორი
32. CCL2 – C-C-მოტივის ქემოკინის ლიგანდი 2
33. CCL20 – C-C მოტივის ქემოკინი ლიგანდი 20
34. CXCL2 – C-X-C მოტივის ქემოკინის ლიგანი 2
35. PX - პეროქსიდაზა
36. ICAM-1 - უჯრედშორისი ადჰეზიური მოლეკულა -1
37. VCAM-1 - ვასკულარული ადჰეზიური მოლეკულა-1
38. LFA-1 - ლიმფოციტის ფუნქცია-დამოკიდებული ანტიგენი-1
39. PBMCs - ადამიანის პერიფერიული სისხლის მონობირთვული უჯრედები
40. VE-cadherin - ვასკულარული ენდოთელიალური - კადჰერინი
41. TNF-Alpha - სიმსივნის ნეკროზული ფაქტორი ალფა
42. MMP9 - მატრიქსის მეტალოპროტეაზა 9
43. X-ray - რადიაციის ტიპი: ელექტრომაგნიტური ტალღები
44. CLUR1 - გლუტამატური რეცეპტორი 1
45. Ponceau S - პონშეს ხსნარი

ცხრილების გრაფიკებისა და სხვა ილუსტრაციების ჩამონათვალი

ილუსტრაციების ჩამონათვალი

სურათი 1. ჰიპოკამპის სტრუქტურული ანატომია	9
სურათი 2. NLRP3 ინფლომოსომის აქტივაციის ორ-ეტაპიანი სასიგნალო გზა	15
სურათი 3. NLRP3 ინფლომოსომის აგებულება	16
სურათი 4. შინაგანი სტანდარტების ტიპური აუტორადიოგრაფიის სურათი და შესაბამისი საკალიბრო მრუდი	26
სურათი 5. ცილა კასპაზა 1-ის ექსპრესიის აუტორადიოგრაფიული სურათი	27
სურათი 6. კასპაზა 1 ცილის საშუალო ფარდობითი რაოდენობა ჰიპოკამპში 3 სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში	28
სურათი 7. ინტერლეინიკ 1-ბეტა-ის ექსპრესიის აუტორადიოგრაფიული სურათი	29
სურათი 8. ინტერლეინიკ 1-ბეტა ცილის საშუალო ფარდობითი რაოდენობა ჰიპოკამპში 3 სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში	29
სურათი 9. ცილა NLRP3-ის ექსპრესიის აუტორადიოგრაფიული სურათი	30
სურათი 10. NLRP3 ცილის საშუალო ფარდობითი რაოდენობა ჰიპოკამპში 3 სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში	31
სურათი 11. შინაგანი სტანდარტების ტიპური აუტორადიოგრაფიის სურათი და შესაბამისი საკალიბრო მრუდი	32
სურათი 12. ცილა ASC/TMS1-ის ექსპრესიის აუტორადიოგრაფიული სურათი	33
სურათი 13. ASC/TMS1 ცილის საშუალო ფარდობითი რაოდენობა ჰიპოკამპში 3 სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში	33
სურათი 14. ცილა AIM2-ის ექსპრესიის აუტორადიოგრაფიული სურათი	34
სურათი 15. AIM2 ცილის საშუალო ფარდობითი რაოდენობა ჰიპოკამპში 3 სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში	35

აბსტრაქტი

ეპილეფსია წარმოადგენს მწვავე ნევროლოგიურ დაავადებას, რომელიც ხასიათდება სპონტანურად განმეორებადი კრუნჩხვებით (სგკ). მსოფლიოს მოსახლეობის თითქმის 1 %-ს გააჩნია ეს დაავადება. ამ ეტაპზე ხელმისაწვდომი ანტიეპილეფსიური პრეპარატები (AEDs) გვთავაზობს, არა მის პრევენციას ან მკურნალობას, არამედ სიმპტომატურ ცვლილებებს - განმეორებადი კრუნჩხვების დათრგუნვას. დინამიურ და მულტიფაქტორულ პროცესს, რომლის შედეგადაც ნორმალური ტვინი გარდაიქმნება ეპილეფსიურ ტვინად, ეპილეპტოგენეზი ეწოდება. ეპილეპტოგენეზი მოიაზრებს მრავალრიცხოვან მოლეკულურ, უჯრედულ და სისტემურ გარდაქმნებს, რომელთა შორის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანია ანთებითი პროცესი ნერვულ ქსოვილში. სამწუხაროდ, დღესდღეობით არ მოიპოვება აღიარებული მედიკამენტი, რაც უზრუნველყოფდა ეპილეპტოგენეზის პრევენციას ან მის მოდიფიცირებას ადამიანებსა ან ექსპერმენტულ ცხოველებში. ამ კუთხით აქტუალურია, რომ ამჟამად ჩემი ხელმძღვანელის ლაბორატორიაში ინტენსიურად შეისწავლება ნივთიერება მიო-ინოზიტოლის (მი), პოტენციალურად მნიშვნელოვანი ანტიეპილეფსიური წამლის, ანტიეპილეპტოგენური თვისებები. ტვინის ანთებითი პროცესი შეადგენს ეპილეპტოგენეზის ერთ-ერთ მთავარ კომპონენტს და წარმოადგენს უაღრესად მნიშვნელოვან თერაპიულ სამიზნეს. უჯრედებში, მათ შორის ნერვულ უჯრედებში, ანთებითი პროცესის განვითარებაში ცენტრალურ როლს თამაშობენ ინფლამოსომები, კერძოდ NLRP3 ინფლამოსომის კომპლექსის კომპონენტები და მასთან დაკავშირებული ცილები. ისინი წარმოადგენენ ციტოზოლურ ცილოვან კომპლექსებს, რომელთა ექსპრესია ხდება სხვადასხვა დამაზიანებელი ფაქტორების, მათ შორის ინფექციის, მექანიკური ტრამვის ან კრუნჩხვითი ელექტრული აქტივობის საპასუხოდ. ამრიგად, ეპილეფსიის მკურნალობის კუთხით, უაღრესად აქტუალურია და მნიშვნელოვანია გამოვავლინოთ მი-ს შესაძლებელი ეფექტები ეპილეპტოგენეზით გამოწვეული ტვინის ანთებით პროცესზე, კერძოდ, ზემოთ აღნიშნული კომპლექსის ცილების, ინტერლეიკინ 1 ბეტა, კასპაზა 1, NLRP3, AIM2, ASC/TMS1, ექსპრესიაზე

ტვინში. ამ მიზნით ვირთაგვებში გამოვიწვიე ეპილეპტოგენეზი კაინის მჟავის ერთჯერადი ინექციით, რაც წარმოადგენს საფეთქლის წილის ეპილეფსიის მოდელს, რომლის დროსაც მნიშვნელოვან პათოლოგიურ ცვლილებებს ადგილი აქვს ჰიპოკამპში. ჩემმა კვლევამ აჩვენა, რომ კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეპტოგენეზის დროს ადგილი აქვს ინტერლეიკინ 1 ბეტა, კასპაზა 1, NLRP3, ASC/TMS1-ის ექსპრესიის გაზრდას ჰიპოკამპში. იმავე ექსპერიმენტების ციკლში ნანახი იქნა მი-ს დამთრგუნველი ეფექტი აღნიშნული ცილების ექსპრესიაზე. ამრიგად, ჩემი ჰიპოთეზის თანახმად, მი-ს ანტიეპილეპტოგენური მოქმედების ერთ-ერთ გზას წარმოადგენს ანთებითი პროცესში მონაწილე ცილების ექსპრესიის დაკნინება ჰიპოკამპში.

ძირითადი საძიებო სიტყვები: ეპილეპტოგენეზი, მიო-ინოზიტოლი, განმეორებადი სპონტანური კრუნჩხვები, ანტიეპილეფსიური პრეპარატები, ინფლომოსომები, ჰიპოკამპი.

შესავალი

ეპილეფსია არის მწვავე ნევროლოგიური დაავადება, რომელიც ხასიათდება სპონტანურად განმეორებადი კრუნჩხვებით (სგკ) (Pitkänen and Engel 2014). ეპილეპტოგენეზი წარმოადგენს დინამიურ და მულტიფაქტორულ პროცესს, რომლის შედეგად ნორმალური ტვინი გარდაიქმნება ეპილეფსიურ ტვინად. ეპილეპტოგენეზი მოიაზრებს მრავალრიცხოვან მოლეკულურ, უჯრედულ და სისტემურ გარდაქმნებს, რომელთა შორის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანია ანთებითი პროცესი ნერვულ ქსოვილში. ეპილეპტოგენეზი შეიძლება გამოწვეული იყოს სხვადასხვა ფაქტორებით, კერძოდ, ინფექციით, ტვინის ტრამვით, სიმსივნით, ძლიერი კრუნჩხვებით, გენეტიკური მუტაციებით და სხვა. მსოფლიოს მოსახლეობის 1%, იტანჯება ამ დაავადებით. ამ ეტაპზე ხელმისაწვდომი ანტიეპილეფსიური პრეპარატები (აეპ) გვთავაზობს, არა