

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

*ეკატერინე მიქაუტაძე*

ინოზიტოლების და ოლემიდის ანტიეპილეფსიური თვისებების  
შესწავლა

ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარდგენილი

*დისერტაცია*

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:  
პროფესორი ბმდ რევაზ სოლომონია

თბილისი  
2011

## სარჩევი

გამოყენებული შემოკლებები -----	5
შესავალი -----	6
თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა -----	10
1.1. ეპილეფსიის ზოგადი დახასიათება და ფარმაკოლოგია -----	10
1.1.1. ეპილეფსიის გენეტიკური და არაგენეტიკური მიზეზები -----	11
1.1.2. ეპილეპტოგენეზის უჯრედული თავისებურებანი -----	12
1.1.3. ეპილეფსიის ფარმაკოლოგია და მასთან დაკავშირებული პრობლემები -----	13
1.1.4. ანტიეპილეპტოგენეზური კვლევისათვის ოპტიმალური კანდიდატის არჩევა -----	16
1.2. ეპილეპტოგენეზის მოდელები და რეცეპტორები -----	18
1.2.1. იონოტროპული გლუტამატური რეცეპტორები და ეპილეპტოგენეზი -----	20
1.2.2. მეტაბოტროპული გლუტამატური რეცეპტორები და ეპილეპტოგენეზი -----	21
1.3. ოლეამიდი -----	23
1.3.1. ოლეამიდის ზოგადი დახასიათებლები -----	23
1.3.2. ოლეამიდი როგორც ენდოკანაბინოიდების წარმომადგენელი -----	24
1.3.3. ოლეამიდის ენდოგენური ანტიკონვულსანტური ეფექტები -----	26
1.3.4. ოლეამიდის ეფექტები ქოლინაციტილტრანსფერაზაზე და კოგნიტიური აქტივობები -----	31
1.3.5. ოლეამიდის იდენტიფიკაცია <i>Aquilegia vulgaris</i> -ის ექსტრაქტიდან --	32
1.4. ინოზიტოლი და მაღალი რანგის ინოზიტოლფოსფატები ნერვულ ქსოვილებში: ჰომეოსტაზი, მეტაბოლიზმი და ფუნქციური მნიშვნელობა -----	33
1.4.1. მოკლე ისტორიული მიმოხილვა -----	34
1.4.2. ინოზიტოლის გავრცელება ცნს-ში და სხვა ნეირონულ ქსოვილებში --	37
1.4.3. ინოზიტოლის კონცენტრაციების შესანარჩუნებელი მოლეკულური მექანიზმები -----	37
1.4.3.1. Na <sup>+</sup> /მიო-ინოზიტოლ ტრანსპორტერი -----	38
1.4.3.2. H <sup>+</sup> /მიო-ინოზიტოლის სიმპტომერი -----	41
1.4.3.3. ინოზიტოლის სინთეზი -----	41
1.4.3.4. ინოზიტოლის გამოყოფა -----	42
1.4.4. ინოზიტოლის სავარაუდო როლი ნეიროპათოლოგიურ მდგომარეობაში -----	42
1.4.4.1. ნერვულ სისტემაში მოცულობის რეგულაციის დარღვევა ---	43
1.4.4.2. ბიპოლარული დარღვევები: Li <sup>+</sup> და ინოზიტოლის განლევის ჰიპოტეზა -----	45
1.4.4.3. ინოზიტოლის გავლენა სხვა ნეიროლოგიურ დარღვევებზე --	47

1.4.5.	კაინის მჟავით გამოწვეული კრუნჩხვების რეგულაცია Na <sup>+</sup> /მიო-ინოზიტოლ კოტრანსპორტერით -----	47
1.4.6.	სქილო-ინოზიტოლის დახასიათება -----	50
1.5.	ოსმორეგულატორული გენების ექსპრესიის რეგულაციის გზები ----	52
1.5.1.	ჰიპერტონია – ზოგადი დახასიათება -----	52
1.5.2.	ოსმო-გამომწვევი ტრანსკრიფციის ფაქტორის (TonEBP) ექსპრესია --	53
1.5.3.	ორგანული ოსმოლიტების ტრანსპორტერები -----	55
1.5.4.	ორგანული ოსმოლიტების როლი ეპილეფსიის დროს -----	57
1.6.	ცილები რომლებიც მნიშვნელოვანია ეპილეპტოგენეზში -----	60
1.6.1.	α-ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლპროპიონატის რეცეპტორი (ამპმრ) -----	60
1.6.1.1.	ამპმრ-ის ზოგადი დახასიათება -----	60
1.6.1.2.	ამპმრ-ის სტრუქტურა და გავრცელება ცნს-ში -----	60
1.6.1.3.	ამპმრ და ფოსფორილირება -----	62
1.6.1.4.	ამპმრ და სინაფსური პლასტიკურობა -----	62
1.6.1.5.	ამპმრ და ეპილეპტოგენეზი -----	64
1.6.2.	კალციუმ/კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II -----	67
1.6.2.1.	კამკ II-ის ზოგადი დახასიათება და ფუნქციები -----	67
1.6.2.2.	კამკII-ის სტრუქტურა და აქტივაცია -----	68
1.6.2.3.	Ca <sup>2+</sup> -რეგულირებადი ფერმენტები და ეპილეპტოგენეზი -----	71
1.6.3.	სიცხით შოკირებადი ცილა 90 -----	73
1.6.3.1.	სშც90-ის ზოგადი დახასიათება -----	73
1.6.3.2.	სშც90-ის სტრუქტურა -----	74
1.6.3.3.	სშც90-ის ფუნქციები -----	75
1.6.3.4.	სშც90 და ჰიპერტონურობა -----	75
1.6.3.5.	სშც90 და ნეიროტრანსმიტერის გამოთავისუფლება -----	76
1.6.3.6.	სშც90 და ნეიროდეგენერაციული დაავადებები -----	76
თავი II.	მასალა და მეთოდები -----	78
2.1.	კაინის მჟავით და პენტილტეტრაზილით გამოწვეული კონვულსიების შეფასება -----	78
2.2.	ოლეამიდის ზეგავლენის შესწავლა პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე -----	79
2.3.	მიო-ინოზიტოლის და სქილო-ინოზიტოლის ზეგავლენის შესწავლა პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე -----	79
2.4.	მიო-ინოზიტოლის მოქმედების შესწავლა კაინის მჟავით ინდუცირებული ეპილეფსიური მდგომარეობით გამოწვეულ ბიოქიმიურ ცვლილებებზე -----	81
2.5.	სტატისტიკური ანალიზი -----	85
თავი III.	მიღებული შედეგები -----	87
3.1.	ოლეამიდის ზეგავლენის შესწავლა პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე -----	87

3.2.	მიო-ინოზიტოლის და სქილო-ინოზიტოლის ზეგავლენის შესწავლა პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე -----	91
3.3.	მიო-ინოზიტოლის მოქმედების შესწავლა კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსით ინდუცირებულ ბიოქიმიურ ცვლილებებზე -----	96
თავი IV.	მიღებული მონაცემების მიმოხილვა -----	105
4.1.	ოლეამიდის მოქმედების ეფექტები პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე ვირთაგვებში -----	105
4.2.	მიო- და სქილო-ინოზიტოლების ანტიკონვულსიური აქტივობები პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე -----	107
4.3.	მიო-ინოზიტოლის მოქმედების შესწავლა კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსით ინდუცირებულ ბიოქიმიურ ცვლილებებზე -----	110
თავი V.	დასკვნა -----	117
თავი VI.	დისერტაციის რეზიუმე ინგლისურ ენაზე -----	118
თავი VII.	ბიბლიოგრაფია -----	123

## გამოყენებული შემოკლებები

- აეპ – ანტიეპილეფსიური პრეპარატები  
ამჰმ –  $\alpha$ -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლის პროპიონატი  
ამფ – ადენოზინ მონოფოსფატი  
ატფ – ადენოზინ ტრიფოსფატი  
გაემ –  $\gamma$ -ამინოერბოს მჟავა  
გვდ – გრძელვადიან დეპრესია  
გვპ – გრძელვადიან პოტენციაცია  
დნმ – დეოქსირიბონუკლეინის მჟავა  
ეეგ – ელექტროენცეფალოგრამა  
თხ – თავისუფლების ხარისხი  
კამკII – კალციუმ/კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II  
მგპკ – მიტოგენ გააქტივებული პროტეინ კინაზები  
მრნმ – მატრიცული რიბონუკლეინის მჟავა  
ნდს – ნატრიუმის დოდეცილსულფატი  
ნმდა – N-მეთილ D-ასპარტატი  
ნმიტ – ნატრიუმ/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერი  
რნმ – რიბონუკლეინის მჟავა  
სშგ90 – სიცხით შოკირებადი ცილა 90  
ტაუტ – ტაურინ ტრანსპორტერი  
ქატ – ქოლინაცეტილტრანსფერაზა  
ცნს – ცენტრალური ნერვული სისტემა  
FAAH - ცხიმოვანი მჟავა ამიდის ჰიდროლაზა  
GluR – გლუტამარის რეცეპტორი  
IPSC – ინჰიბიტორული პოსტსინაფსური დენი  
KCC – კალიუმ/ქლორის კოტრანსპორტერი  
mGLUR – გუანინის ნუკლეოტიდ-დამაკავშირებულ ცილასთან (G-ცილა)  
შეუღლებული რეცეპტორები  
TonEBP – ოსმო-გამომწვევი ტრანსკრიფციის ფაქტორი  
VSOAC – მოცულობა-დამოკიდებული ორგანული ოსმოლიტის ანიონის არხი

## შესავალი

ეპილეფსია გავრცელებულ ნეიროლოგიურ დაავადებათა რიცხვს მიეკუთვნება, რომელიც არსებული პოპულაციის დაახლოებით 0.8%-ში გვხვდება (Pitkanen 2002). ის ჰეტეროგენულ დაავადებათა ჯგუფია და ნეიროლოგიურ დაავადებებს შორის მეორე ადგილზე დგას დამბლის შემდეგ, არსებობს 2-3% რისკი იმისა, რომ ცხოვრების განმავლობაში პიროვნებას ეპილეფსიის დიაგნოზი დაესვას (Browne *et al.*, 2001). ცნობილია, რომ ეპილეფსიის სიმპტომები 4-10 წლის მოზარდებში უფრო მეტად ვლინდება. ამ დაავადებასთან დაკავშირებული სიმნელები საკმაოდ ფართოა, როგორც ცალკეული ფიზიკური პირებისთვის ასევე საზოგადოების წინაშე. ეპილეფსია უარყოფით ზეგავლენას ახდენს შემეცნებით ფუნქციებზე, აქედან გამომდინარე გვევლინება, როგორც სოციალური და ნებადართული რადიკალურობის ნიშანი, სიკვდილიანობის ზრდის მიზეზი, ამასთან დაავადების გლობალური ეკონომიკური ზარალის წილი დაახლოებით 0.5%-ია და დაკავშირებულია სხვა ფსიქიატრიული დაავადებების ზრდის რისკთან (Giblin & Blumenfeld 2010).

ბოლო დეკადის განმავლობაში მნიშვნელოვანი პროგრესი იყო მიღწეული ეპილეფსიის ფარმაკოთერაპიაში, რაც განპირობებული იყო როგორც ახალი ანტიეპილეფსიური პრეპარატებით (აეპ), ასევე უკვე არსებულების გაუმჯობესებული მოდიფიკაციებით (McCabe 2000). მიუხედავად ამ პროგრესისა ეპილეფსიით დაავადებული პაციენტების დაახლოებით 1/3 რეზისტენტულები არიან არსებული ფარმაკოთერაპიის მიმართ (Loscher 2002). ეპილეფსიის თანამედროვე მკურნალობა უმთავრესად ფოკუსირებულია კრუნჩხვების შეკავებაზე ან სუპრესიაზე, რომელიც მხოლოდ დაავადების სიმპტომებს წარმოადგენს (Loscher 2002; Pitkanen 2002). აეპ-ებმა ბევრად გააუმჯობესეს ეპილეფსიით დაავადებული ადამიანების ცხოვრება, თუმცა ის, რომ აეპ-ები გარდა კრუნჩხვების სუპრესიისა სასიკეთოდ შეცვლიდნენ ეპილეპტოგენეზის პროცესის საფუძვლებს და ამის საშუალებით თვითონ დაავადებასა და მის პროგნოზს, სამწუხაროდ არ მართლდება. იმ პაციენტებში, რომლებშიც ფარმაკოთერაპია ეფექტურია, არსებული აეპ-ები ვერ უზრუნველყოფენ

ეპილეფსიის პროგრესის შეფერხებას (Loscher 2002). არ არსებობს არცერთი პრეპარატი, რომელიც შეაფერხებს ეპილეფსიის განვითარებას, თუნდაც თავის ტრავმის შემდეგ (Temkin *et. al.*, 2001). ყველაზე მნიშვნელოვანი მიზანია ეპილეპტოგენეზის შეფერხება ანუ იმ პროცესის შეფერხება, რომლის საშუალებითაც ტვინი ეპილეფსიური ხდება. მთელი რიგი აეპ-ები იქნა კლინიკურად გამოცდილი ამ თვალსაზრისით, მაგრამ ჯერ-ჯერობით არცერთ შესწავლილ პრეპარატს არ ძალუძს ეპილეპტოგენეზის შეფერხება (Loscher 2002). ეპილეფსიის პრევენციაზე მუშაობა შესაძლებელია ორი მიმართულებით ცნობილი გამომწვევი მიზეზების შემდგომ და გენეტიკურ მოდელებზე, სადაც ეპილეფსიის განვითარების დრო კარგად არის დახასიათებული და შესაძლოა დამოკიდებული იყოს პიროვნების ჩამოყალიბების გარემოზე. ეპილეპტოგენეზის იდენტიფიკაციისთვის და იმ მექანიზმების ახსნისთვის რომელიც თან სდევს ამ პროცესს, როგორც ტრავმის შემდგომი ისე გენეტიკურ მოდელებზე მუშაობა მიზნობრივი და ეფექტური უნდა იყოს. ხშირად ეპილეფსიის პრევენცია ადამიანებში საკმაოდ წარუმატებელად მიმდინარეობს, ამ მხრივ თანამედროვე სწავლებებში ცხოველურ მოდელებზე გაცილებით გამამხნეველი შედეგები იქნა მიიღებული რაც ეფექტური მკურნალობის საშუალების პერსპექტივებზე მიუთითებს (Giblin & Blumenfeld 2010). ამრიგად, რეალური ანტიეპილეპტოგენური პრეპარატების ძიება და თვით ეპილეპტოგენეზის მოლეკულური მექანიზმების კვლევა თანამედროვე ბიომედიცინის უმნიშვნელოვანეს პრობლემას წარმოადგენს.

ამრიგად, ამ ამოცანების გადასაჭრელად ადეკვატურ ცხოველურ მოდელებზე მუშაობა საჭირო და აუცილებელია. ანტი-ეპილეფსიური ნაერთების კვლევის მთავარი მიზანი რა თქმა უნდა ადამიანების წარმატებული მკურნალობაა და კვლევაც იმ მოდელებზე უნდა მიმდინარეობდეს, რომლებიც მაქსიმალურად ახლოს დგას ადამიანში ფართოდ გავრცელებულ ეპილეფსიის ფორმებთან. პილოკარპინით და კაინის მჟავათი გამოწვეული ეპილეფსიები ცხოველებში იმეორებენ ადამიანის შუბლის წილის ეპილეფსიის ბევრ ფენომელოგიურ თვისებებს და წარმატებით შეიძლება იყოს გამოყენებული, როგორც ეპილეპტოგენეზის ბაზისური მექანიზმების

შესასწავლად, ასევე ახალი ანტი-ეპილეპტოგენური პრეპარატების სკრინინგისათვის (Pitkanen 2002; Leite *et. al.*, 2002).

$\gamma$ -ამინოჰერბოს მჟავა (გაემ) როგორც ცენტრალური ნერვული სისტემის მთავარი შემკავებელი ნეიროტრანსმიტერი დიდ როლს თამაშობს ეპილეფსიასა და მასთან დაკავშირებულ პათოლოგიურ პროცესებში. თავის ტვინის სხვადასხვა სტრუქტურებში შემკავებელი გაემ-ერგული ინერვაციის დარღვევები ჰიპერაგზნებადი კერის ჩამოყალიბების და ეპილეფსიური კრუნჩხვების ერთ-ერთი მიზეზია. ამასთან გაემ-ს თვითონ არ შეუძლია ჰემატოენცეფალური ბარიერის გადალახვა და ამის გამო მისი პერიფერიული ადმინისტრირება ანტიეპილეფსიური თვალსაზრისით უშედეგოა (Laborit 1973). აქედან გამომდინარე დიდი მნიშვნელობა ენიჭება გაემ-ა რეცეპტორზე სპეციფიკურად მოქმედი ნაერთების იდენტიფიკაციას.

ძველი დროიდან მძიმე და უკურნებელი დაავადებების პრევენციისთვის გამოიყენებოდა სამკურნალო მცენარეები. თანამედროვე ფარმოკოლოგიაში კი ამ მცენარეთა შემადგენელი ნაერთების იდენტიფიკაციას დიდი მნიშვნელობა ენიჭება. უძველესი დროიდან ჩინურ და ტიბეტურ მედიცინაში მცენარე *Aquilegia vulgaris* ცნობილი იყო როგორც ძილის მომგვრელი და ანტიეპილეფსიური საშუალება (Shreter 1975). რამდენიმე წლის წინ ჩვენს ლაბორატორიაში ნანახი იქნა რომ, მცენარე *Aquilegia vulgaris*-ის წყლოვანი ექსტრაქტი სრულად აინჰიბირებს  $^3\text{H}$ -მუსციმოლის (გაემ-ა რეცეპტორის აგონისტი) დაკავშირებას ვირთაგვის ტვინის მემბრანებთან და ამავე დროს თითქმის ორჯერ ააქტივებს  $^3\text{H}$ -ფლუნიტრაზეჰამის (გაემ-ა რეცეპტორის ბენზოდიაზეპინების საიტის სპეციფიკური ლიგანდი) დაკავშირებას (Solomon *et. al.*, 1996). ამ ნაერთებს ახასიათებდათ დაბალი მოლეკულური წონა (<1 კდა) და მათი ინტრაპერიტონიალური ადმინისტრაცია ხასიათდება ანტი-ეპილეფსიური ეფექტით აუდიოგენური სტიმულაციით გამოწვეულ კონვულსიებზე კრუმინსკი-მოლოდკინას ხაზის ვირთაგვებში (Solomon *et. al.*, 1996). ექსპერიმენტების შემდეგ სერიაში ჩატარდა იმ ნაერთების იდენტიფიკაცია, რომლებიც აინჰიბირებენ  $^3\text{H}$ -მუსციმოლის დაკავშირებას და ააქტივებენ  $^3\text{H}$ -ფლუნიტრაზეჰამის დაკავშირებას ვირთაგვების თავის ტვინის მემბრანებთან (Solomon *et. al.*, 2004). მაღალი წნევის



ქრომატოგრაფიის ორი რაუნდის და გაზ-ქრომატოგრაფიასთან შეუღლებული მასსპექტრომეტრიის საშუალებით მოხერხდა ამ ნაერთების იდენტიფიკაცია. ისინი წარმოადგენენ ძილის მომგვრელ ლიპიდს ოლეამიდს და მიო-ინოზიტოლს (Solomonias *et. al.*, 2004).

ეს ნაერთები მანამდე არასდროს განიხილებოდა ანტი-ეპილეფსიურ და ანტი-ეპილეპტოგენურ თვისების მატარებელ ნაერთებად და წლების განმავლობაში ჩვენ ლაბორატორიაში მიღებული შედეგები დაედო საფუძვლად ოლეამიდის და ინოზიტოლების ანტი-ეპილეფსიური თვისებების შესწავლას. კერძოდ, სადოქტორო ნაშრომის მთავარ მიზანია ოლეამიდის, მიო-ინოზიტოლის და სქილო-ინოზიტოლის, როგორც ანტი-ეპილეპტოგენური და ანტი-ეპილეფსიური ნაერთების თვისებების შესწავლა.

# თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა

## 1.1. ეპილეფსიის ზოგადი დახასიათება და ფარმაკოლოგია

ნეიროლოგიურ დაავადებათა შორის ეპილეფსია ფართოდ გავრცელებულთა რიცხვს მიეკუთვნება, რომლითაც მოსახლეობის დაახლოებით 0.8% არის შეპყრობილი (Hauser 1997). ეპილეფსია როგორც დაავადება უძველესი დროიდან იყო ცნობილი, ჯერ კიდევ რამდენიმე ათასეული წლის წინ ანტიკური ხანის ბაბილონურ ჩანაწერებში მოიპოვება მასალები ეპილეფსიის სიმპტომებისა და მიზეზების შესახებ. მისი მიხედვით კრუნჩხვების აღმოცენება დაკავშირებულია სპირიტული და ბნელი ძალების ზემოქმედებასთან. ეპილეფსიური შეტევა ასევე აღწერილია ახალ აღთქმაში, სადაც მაცხოვრის მიერ ხდება ეპილეფსიით დაავადებული ყმაწვილის განკურნება. ძველი ბერძნები ეპილეფსიას მოიხსენიებენ როგორც ბნელს. ჰიპოკრატე კი სამკურნალოდ სთავაზობდა დიეტას რომელიც დაფუძნებული იყო არამცენიერულ თეორიებზე სიცხის და სიცივის ბალანსის შესახებ. რენესანსის ხანის ადამიანები კი ფიქრობდნენ, რომ ეპილეფსიით დაავადებულებს აქვთ წინასწარმეტყველების უნარი, ქვეცნობიარად ხედავენ წარსულს, აწყმოს და მომავალს კრუნჩხვების დროს. რომის იმპერიაში მათ ყველაზე ჭკვიანებად თვლიდნენ, მათ შორის იყვნენ იულიუს კეისარი და პოეტი პეტრარკა. ათასწლეულების მანძილზე ეპილეფსია რჩებოდა საშინელ დაავადებად საზოგადოებისთვის.

დღეისათვის უკვე ცნობილია, რომ როცა ტვინი ხდება ეპილეფსიური ადგილი აქვს კომბინირებულ უჯრედულ დაზიანებებს, იზრდება აგზნებადობა და მისი არანორმალური ფორმირება. ეპილეფსიის უჯრედული მექანიზმები მრავალია და მოიცავს უჯრედულ დაზიანებას, გლიოზს, იზრდება შუალედური და ადრეული c-fos და c-jun გენების ექსპრესია, ზრდის ფაქტორები, ნეიროგენეზისი, სინაპტოგენეზი, გლუტამატური და გამ-ერგული რეცეპტორების სიგნალის ცვლილებები, ინფლამატორული მედიატორების მონაწილეობა, ვოლტაჟ-

დაჭიშკრული იონური არხების გამტარობა და ანტისხეულების აგზნებითი ტოქსიურობა (Gebelin & Blumenfeld 2010).

ეპილეფსიების დაახლოებით 60% არის ნაწილობრივი ანუ ლოკალური ხასიათის, რაც გულისხმობს რომ წარმოიქმნება ჰიპერაგზნებადი არე ცერებრალურ კორტექსში. განსაკუთრებით პრობლემატური ფორმა ნაწილობრივი ეპილეფსიის არის ლიმბური ეპილეფსია, ვინაიდან ამ დროს ძირითადად ფოკუსირება ხდება ლიმბურ სისტემაზე, კერძოდ საფეთქლის წილზე. ლიმბური კრუნჩხვები ხშირად ავლენს რეზისტენტულობას მრავალი ანტიეპილეფსიური პრეპარატის მიმართ. მისი შესწავლის საფუძველზე გაკეთდა მრავალი მნიშვნელოვანი დასკვნა, რომ ნეირონების სიკვდილი, როგორც ჩანს არ არის აუცილებელი ეპილეფსიის წარმოქმნისთვის, ვინაიდან ცნობილია, რომ ნეირონების სიკვდილი შეიძლება განპირობებული იყოს სხვა მიზეზებითაც (მიმოხილვისთვის იხ. McNamara *et. al.*, 2006).

### 1.1.1. ეპილეფსიის გენეტიკური და არაგენეტიკური მიზეზები

ნაწილობრივი ეპილეფსია თავისთავად მოიცავს სიმპტომატურ და იდიოპათურ ეპილეფსიებს. ტერმინი “სიმპტომატური” გულისხმობს, რომ ეპილეფსია არის სიმპტომი ანუ ცერებრალური კორტექსის სტრუქტურული დაზიანების შედეგი. ასეთი დასკვნები ეფუძნება იმას, რომ ეპილეფსია ასოცირდება კორტექსის სპეციფიკური რეგიონების დაზიანებებთან, დაზიანების ტემპორალური კავშირი არსებობს მის გამოსამჟღავნებლად და ამასთან ცნობილია დაზიანების შემდგომ ეპილეფსიის მკურნალობის მაგალითები. მრავალ სტრუქტურულ დაზიანებებს შეუძლიათ გამოიწვიოს ლიმბური ეპილეფსია. მოზარდებში საკმაოდ გავრცელებულია მისი წარმოქმნა თავის ტრამვის ან დამბლის შემდეგ (McNamara *et. al.*, 2006).

ტერმინი “იდიოპათიური” მიუთითებს მის გენეტიკურ საფუძველზე. ბოლო 15 წლის მანძილზე განსაკუთრებით დიდი რაოდენობა “ეპილეფსიური გენებისა” იყო

აღმოჩენილი. პოზიციური კლონირების შედეგად იდენტიფიცირებული იქნა ათეულობით პასუხისმგებელი მუტანტი გენი ეპილეფსიით დაავადებულ ადამიანებში, თავგებსა და მწერებში. მოულოდნელი იყო ეპილეპტიკური ფენოტიპის აღმოჩენა მუტანტ თავგებში, რომლებშიც მონიშნული გენის ნოკაუტით ან ზეექსპრესიით ასევე გამოიყვანდა მრავალი ეპილეფსიის გენი (Noebels 2003).

ადამიანებში მემკვიდრული იდიოპათიური ეპილეფსიის თავისებურებად უნდა ჩაითვალოს, ის რომ 13 იდენტიფიცირებული ეპილეფსიის გენიდან, ყველა მათგანი აკოდირებს ვოლტაჟ- ან ლიგანდ-დაჭიმვრული იონური არხების ცილოვან მოლეკულებს. ცილები, რომელთა მუტაციაც ჩართულია ეპილეფსიის პათოგენეზში გვხვდება ნატრიუმისა და კალიუმის ვოლტაჟ-დაჭიმვრულ იონურ არხებში, მსგავსად  $\gamma$ -ამინოჰერბოს მჟავის და აცეტილქოლინის იონური არხებისა. ისტორიულად კი 1980 წლების ბოლოს, დროზოფილაში მოხდა შეიკერის ლოკუსის პოტენციური კლონირება, რამაც აჩვენა, რომ Kv1.1-გენის მუტაციამ შესაძლოა გამოიწვიოს აგზნების მომატება. ნანახი იქნა, რომ აღნიშნული გენის მუტაცია თავგებში იწვევდა ლიმბურ ეპილეფსიას, წერტილოვანი მუტაცია ადამიანებში ასევე გამოვლინდა ლიმბურ ეპილეფსის დროს. თუმცა ეს გენები წარმოადგენს მცირე ფრაქციას იმ გენებისა, რომელმაც შესაძლოა განაპირობოს ეპილეფსიის მოლეკულური ეთიოლოგია (McNamara *et. al.*, 2006).

### 1.1.2. ეპილეპტოგენეზის უჯრედული თავისებურებანი

ეპილეპტოგენეზის უჯრედული ცვლილებები ხშირად ცვლის ელექტროენცეფალოგრამულ (ეეგ) ცვლილებებს ეპილეფსიის განვითარების დროს. არაკრუნჩხვითი ეეგ ცვლილებები შეიცავს ინტერიქტალურ სპაიკებს, რომელიც მყისვე იცვლება ტვინის დაზიანების და პირველი სპონტანური კრუნჩხვის დროს და კორელაციაშია კრუნჩხვების აღმოცენებასთან. ინტერიქტალური სპაიკები არის გარდამავალი ეეგ განმუხტვები რომლებიც აღიძვრება კორტიკალური ნეირონების მემბრანების პოტენციალების პაროქსიზმანული დეპოლარიზაციები, რომელიც

წარმოქმნის აქტიური პოტენციალების მთელ სერიას. სპაიკების მიხედვით შეიძლება ითქვას, რომ უჯრედული ცვლილებები ეპილეპტოგენეზის დროს და შემდგომ აძლიერებს და ინარჩუნებს ეპილეპტოგენეზს. თავის ტვინის დაზიანება და დენტალური გრანულარული უჯრედების შემდგომი დისინჰიბიცია, როგორც ეპილეპტოგენური მოქმედების შედეგი ნანახი იქნა სწორედ სპაიკებით. სპაიკები ასოცირდებოდა ეპილეპტოგენეზის დროს მიმდინარე პროცესებთან. ისინი აჩვენებდნენ გრძელვადიანი პოტენციაციის, მოძრავი აქტივობა-დამოკიდებული გენების ექსპრესიის და სინქრონული აქტივობის წარმოქმნას რომელიც შესაძლოა გახდეს აქსონური ზრდის მიზეზი. კრიტიკული პერიოდის განმავლობაში კორტიკალურ ნერვულ ციკლში ადგილი აქვს პლასტიკურობის გაზრდას, ექსპერიმენტ-დამოკიდებულ სტრუქტურულ მოდელირებას და მათ საკმაოდ სტაბილურ დაკავშირებას. ასაკოვან ცხოველებში ეპილეპტიკური ინსულტის შემდგომ ეს პერიოდი მალევე დგება, როცა იზრდება პლასტიკურობა და ნეირონული გადაცემები გადახრილია ნორმიდან, რაც აადვილებს კრუნჩხვების ფორმირებას და გაძლიერებას. უჯრედული და ელექტრონული მექანიზმების ბლოკირებით კრიტიკული პერიოდის განმავლობაში ეპილეპტოგენეზის შესაფერხებლად შესაძლოა მოხერხდეს ეპილეფსიის პრევენცია (Gebelin & Blumenfeld 2010).

### 1.1.3. ეპილეფსიის ფარმაკოლოგია და მასთან დაკავშირებული პრობლემები

პაციენტთა უმრავლესობას უვითარდებათ ფოკალური ხასიათის კრუნჩხვები. დიაგნოსტიკურმა კვლევებმა აჩვენა რომ, კრუნჩხვები ლოკალიზებულია და შეტევათა 30 % აღმოცენდება საფეთქლის წილში (Manford *et. al.*, 1992). წამლისადმი რეზისტენტულობის შემთხვევაში 70 %-ზე მეტ პაციენტს აქვს სწორედ საფეთქლის წილის პათოლოგია (Engel *et. al.*, 1997). ნეიროდეგენერაციული შედეგები მიღებული იქნა იმ პაციენტთა სიმპტომატური შესწავლის შედეგად რომლებიც იჩენდნენ წამლისადმი რეზისტენტულობას ტემპორალური წილის ეპილეფსიის დროს. ასეთ პაციენტებში დაავადების განვითარება ხდება შემდეგი თანმიმდევრობით:

- თავდაპირველად ხდება თავის ტვინის დაზიანება, რომელიც შეიძლება გამოწვეული იყოს სხვადასხვა ფაქტორებით: გენეტიკური პათოლოგიებით, თავის ტრავმით, დამბლით, ინფექციებით, ეპილევსიის სტატუსით;
- შემდგომ მოდის ლატენტური პერიოდი ანუ ეპილევტოგენეზი, როცა ტვინი გარდაიქმნება ეპილევტიკურად;
- და ბოლოს ყალიბდება სპონტანური კრუნჩხვები ანუ ეპილევსია.

უკანასკნელ დროს მიღებული მონაცემების თანახმად, პაციენტთა სუბპოპულაციაში ეპილევსია როგორც წესი უნდა გაუარესდეს დროის განმავლობაში (Pitkänen & Sutula 2002).

ნეირონების კარგვა არის ერთ-ერთი ძირითადი ნეირობიოლოგიური მახასიათებელი ეპილევტოგენური და ეპილევსიური ტვინისთვის. თუმცაღა ასევე მნიშვნელოვანია იმის გათვალისწინება რომ ნეირონების კარგვა მიმდინარეობს სხვა პროცესებთან ერთად როგორცაა, გლიოზი, აქსონური და დენდრიტული პლასტიკურობა, ნეიროგენეზი და უჯრედის მემბრანული და გარეუჯრედული მატრიქსში მიმდინარე მოლეკულური გარდაქმნები (Jutila *et. al.*, 2002). გამოითქვა ჰიპოთეზა, რომ ეპილევსიის განმავლობაში შერჩევითი მკურნალობა ოპტიმალური დროის მიხედვით იწვევს სტრუქტურული დაზიანებების შესუსტებას, ეპილევტოგენეზის რედუქციას ან სუსტად გამოხატულ ეპილევსიას მაშინაც კი თუ ანტიეპილევტოგენური თერაპია არაეფექტურია და ნაკლებად მწვავე გაუარესებას აქვს ადგილი. ამის შედეგად გაჩნდა კითხვები: რა წვლილი შეაქვს ნეიროდეგენერაციას ეპილევტოგენეზის და სიმპტომატური ეპილევსიის დროს? როდისაა მკურნალობა უფრო ეფექტური, ეპილევტოგენეზის თუ ეპილევსიის დროს? და საბოლოოდ რა როლი აკისრიათ აეპ-ებს ნეიროპროტექტორული მკურნალობის მართვაში? უნდა აღინიშნოს, რომ აეპ-ის ნეიროპროტექტორული ეფექტები ცნობილია ეპილევსიის განვითარების სხვადასხვა ეტაპზე, და ტერმინი “ნეიროპროტექცია” გამოიყენება როგორც იმ პრეპარატების ეფექტის განმსაზღვრელი

რომელიც გამოიყენება შეუქცევადი ნეირონული კვდომის პრევენციისთვის (Pitkanen 2002).

აეპ-ების ნეიროპროტექტორული ეფექტების შესწავლა ექსპერიმენტულ დონეზე ძირითადად ფოკუსირებულია დამბლის და სტატუს ეპილეპტიკუსის მოდელებზე. აეპ-ების დოზები, წამლის ადმინისტრირების დრო და მკურნალობის ხანგრძლივობა იყო და რჩება კვლევის ძირითად საკითხად. ეფექტურობის დადგენა ხშირად ხდებოდა საკმაოდ მცირე დროში, რამდენიმე საათის ან დღის განმავლობაში. ასევე მეთოდები, რომლითაც ფასდებოდა ნეიროპროტექცია განსხვავდებოდა მეთოდოლოგიურად და მოიცავდა ბიოქიმიურ ან ჰისტოლოგიურ კვლევებს; ნეიროპროტექციის ანალიზი ხორციელდებოდა ტვინის მხოლოდ რამდენიმე უბანზე ან ნეირონულ პოპულაციებში, რაც ართულებს იმის შეფასებას თუ როგორ ხდებოდა მოცემული ნეიროპროტექტორულ გზებს შორის გადაფარვა, შეტევათა აღმოცენება და გავრცელება; აეპ-ების პირდაპირი მოქმედების ეფექტურობა უჯრედის კვდომის შესაჩერებლად მოლეკულური კასკადების დიფერენციაცია მხოლოდ ანტიკონვულსიურ ეფექტებზე დაყრდნობით ძალიან ძნელია. გასათვალისწინებელია, რომ უმრავლეს შემთხვევებში ექსპერიმენტის განმავლობაში არ კონტროლდებოდა ცხოველთა სხეულში ისეთი ფიზიოლოგიური პარამეტრების ცვლილებები, როგორცაა: pH, ჟანგბადის კონცენტრაცია, ტემპერატურა, ენერჯის დონე, ელექტროლიტების ბალანსი და ა.შ.; ასევე გენეტიკური ფონი და ასაკი რომლებიც გარკვეულ გავლენას ახდენენ პასუხის ეფექტურობაზე (Pitkanen 2002).

ყველა ამ მონაცემზე დაყრდნობით შეიძლება დასკვნის გამოტანა, ერთი რომ მნიშვნელოვანი საკვლევი პარამეტრები გამოიკვეთა ვირთაგვებში დამბლის ან სტატუს ეპილეპტიკუსის გამოწვეული ჰისტოლოგიური პარამეტრების განსაზღვრის შედეგად. ამასთან ნეიროპროტექტორული ეფექტურობა გამომჟღავნდა ჰიპოკამპში და ნეოკორტექსში ნაერთთა ადმინისტრირებით ინსულტის დაწყებით სტადიაში. ნაერთთა კლასიფიკაცია კი მოახდინეს სამ კატეგორიად: 1) სტატუს ეპილეპტიკუსის მკურნალობისთვის; 2) კლასიკური აეპ-ები; 3) ახალი აეპ-ები (Pitkanen 2002).

#### 1.1.4. ანტიეპილეპტოგენური კვლევისათვის ოპტიმალური კანდიდატის არჩევა

ოპტიმალური ანტიეპილეპტოგენური პრეპარატების შერჩევა კვლევის უმნიშვნელოვანესი ნაწილია, კლინიკურ ცდებში გადამწყვეტი როლი ენიჭება პრეკლინიკური მარკერის შერჩევას, რომელიც გამიზნული იქნება ადამიანებში ეპილეფსიის პრევენციისთვის. როგორც კლასიკური აეპ-ები: კარბამაზეპინი, კლონაზეპამი, ფენობარბიტალი, ფენიტონი და ვალპროატი, ასევე მრავალი ახალი აეპ: ფელბამატი, გაბაპენტინი, ლამოტრიგინი, თიაგაბინი, ტოპირამატი, ვიგაბატრინი და ზონისამიდი ამსუბუქებენ ნეირონულ დაზიანებას, როდესაც მათი შეყვანა ხდება ტვინის დაზიანების პროცესში ან მის შემდეგ. ამავდროულად ქლორაზეპამი, ფენობარბიტალი და ვალპროატი, ისევე როგორც ლამოტრიგინი, თიაგაბინი, ტოპირამატი და ვიგაბატრინი აფერხებენ ქინდლინგის განვითარებას ანუ იმ მოდელისა რომელიც მოიაზრება აეპ-ის ანტიეპილეპტოგენური თვისებების კვლევის საუკეთესო საშუალებად (McNamara 1995).

გამოითქვა ვარაუდი, რომ ნაერთები რომლებიც ამსუბუქებენ ტვინის საწყის დაზიანებას და აფერხებენ ქინდლინგის განვითარებას ამცირებენ ეპილეპტოგენუზის რისკს თავის ტვინის დაზიანების შემდეგ. არსებობს სამი პარამეტრი რომლის მიხედვითაც ხდება წამლის ანტიეპილეპტოგენური ეფექტურობის განსაზღვრა:

1. პროცენტული რაოდენობა იმ ცხოველებისა, რომლებშიც ვითარდება ეპილეფსია.
2. ლატენტური პერიოდი დაზიანების შემდგომ – პირველ და მეორე სპონტანურ შეტევამდე (ე.ი. ეპილეპტოგენუზის დაყოვნება).
3. ეპილეპტოგენური დაზიანების შედეგად ეპილეფსური შეტევების ქვედა ზღურბლის ეფექტური შემცირება.

მნიშვნელოვანია აღვნიშნოთ, რომ ყველა ნაერთი ტესტირებულ იყო იმ ცხოველურ მოდელებში, რომელშიც ეპილეპტოგენუზი იწყებოდა ელექტრულად ანდა ქიმიურად გამოწვეული სტატუს ეპილეპტიკუსის შემდგომ. შესაძლოა სტატუს



ეპილეპტიკუსით გამოწვეული ეპილეპტოგენეზი არ წარმოადგენს ოპტიმალურ მოდელს ანტიეპილეპტოგენური შესწავლებისთვის. თუმცა, მიუხედავად ამისა, დღეისათვის არცერთი გამოკვლევისას არ შეისწავლება აეპ-ების ანტიეპილეპტოგენური ეფექტები სხვა ეპილეპტოგენური დაზიანების შემთხვევაში, როგორცაა: თავის ტრავმა, დარტყმა და სხვ. ამავდროულად ზოგიერთი გამოკვლევის თანახმად სტატუს ეპილეპტიკუსის განმავლობაში აღმოცენებული ეპილეპტოგენეზი უნდა იყოს საკმაოდ ხანგრძლივი, იწვევდეს ფართოდ გავრცელებად დაზიანებებს და ამიტომ აეპ-ები შეყვანილი უნდა იყოს მათი ნეიროპროტექტორული უნარის მიხედვით (Pitkänen 2002). სხვა მხრივ ებერტმა და მისმა ჯგუფმა (Ebert *et. al.*, 2002) აჩვენა, რომ ეპილეფსია ვითარდება ჰიპოკამპის ძირითადი უჯრედების და პირიფორმული ქერქის თითქმის მთლიანი შენარჩუნების შემთხვევაშიც, რაც ბადებს კითხვას ჰიპოკამპის ნეირონული დაზიანების შესახებ ეპილეპტოგენეზის პროცესში.

სხვა საკითხია მკურნალობის მეთოდის შემუშავება. დღეისთვის არ გვაქვს დამამტკიცებელ საბუთებზე დაფუძნებული მონაცემები, რომელიც შესაძლოა საფუძვლად დაედოს მკურნალობის დაწყებასა და მისი ხანგრძლივობის თავისებურებების დადგენას. საყურადღებოა ის ფაქტი, რომ თავის ტვინის ეპილეპტოგენური გზით დაზიანებული უბნის შემცირება ხდება აეპ-ებით ჩარევისას ლატენტურ პერიოდში. შედეგებით რომელიც ნაჩვენებია დიაზეპამით მოკლევადიანი მკურნალობისას დადგინდა, რომ ანტიკონვულსიური-ანტიეპილეპტიკური წამლებით მკურნალობა საწყისი დაზიანების მოდიფიცირების დროს უფრო მეტად მნიშვნელოვანია ეპილეპტოგენეზისგან თავდაცვის ახალი კონცეფციის ჩამოყალიბებისათვის, ვიდრე ლატენტური პერიოდის დროს (Nissinen *et. al.*, 2001).

ანტიეპილეპტოგენეზის შესწავლას კიდევ უფრო ართულებს ის ფაქტი, რომ არ არსებობს არავითარი მონაცემები ტვინის დაზიანების შემდეგ განვითარებული ეპილეპტოგენეზის მოლეკულური მექანიზმის შესახებ განსხვავებით სტატუს ეპილეპტიკუსისგან (Pitkänen & Lukasiuk 2000; Doherty & Dingledine 2000; Elliot *et. al.*,

2001). ეჭვგარეშეა, რომ სტატუს ეპილეპტიკუსით გამოწვეული ეპილეპტოგენეზი წარმოადგენს შესაბამის სამიზნეს ანტიეპილეპტოგენეზის შესწავლისათვის, იმ ფაქტის გათვალისწინებით რომ 42%-ზე მეტ ინდივიდს რომელსაც აქვს სტატუს ეპილეპტიკუსი უვითარდება ეპილეფსია 7 წელიწადში (Hesdorffer *et. al.*, 1998). თუმცა საკმაოდ ადრეა გავაკეთოთ დასკვნა, რომ აეპ-ების ანტიეპილეპტოგენური არაეფექტურობა სტატუს ეპილეპტიკუსით ინდუცირებული ეპილეპტოგენეზზე განსაზღვრავს მათ უმოქმედობას სხვა ეპილეპტოგენური დაზიანების დროს. ნათელია, რომ ეპილეპტოგენეზის მკურნალობის მეთოდები ფუნდამენტურად განსხვავდება იმ მიდგომებისგან, რომელიც საჭიროა შეტევათა სუპრესიისა და შეფერხებისთვის, რაც წარმოადგენს პირველ სამიზნეს აეპ-ის შემუშავებისთვის (Pitkänen 2002).

## 1.2. ეპილეპტოგენეზის მოდელები და რეცეპტორები

არსებობს ეპილეფსიის სხვადასხვა *in vivo* მოდელები, რომლებიც შემოთავაზებული იყო როგორც ფრინველების ისე ძუძუმწოვრებისთვის, მათ შორის, თაგვებზე, ვირთაგვებზე და პრიმატებზე. ეპილეფსიის მოდელების განვითარება ხდება რამდენიმე *in vitro* სისტემაზე მუშაობით, როგორცაა, ვირთაგვის იზოლირებულ ჰიპოკამპის ანათლების, ემბრიონული ვირთაგვის კორტიკალური ნეირონის პირველადი კულტურების და დაუზიანებელი ჰიპოკამპის შესწავლა. კერძოდ, ეს ნაწილი იქნა ტრანსგენური თაგვების ჰიპოკამპურ ანათალებზე, რომლებშიც მწვანე ფლუორესცენტული ცილა იყო ექსპრესირებული ნეირონებში, სადაც კორტიკალური ნეირონების აქსონები უზრუნველყოფენ დენტატური გრანულარული უჯრედების დენდრიტების აგზნებას. დენტატური გრანულარული უჯრედების ხავსიანი ბოჭკოების აქსონებით კი აგზნების გადაცემა ხდება CA3 პირამიდული უჯრედების დენდრიტებზე. ხოლო CA3 პირამიდული უჯრედების შაფერის კოლატერალური აქსონებით სიგნალი გადაეცემა CA1 პირამიდულ

უჯრედებს, რომლებიც ამაგზნებელ სიგნალს გზავნიან სუბიკულუმში (Pitkanen *et. al.*, 2005).

**სტატუს ეპილეპტიკუსის მოდელები.** “სტატუს ეპილეპტიკუსი” განიხილება როგორც განმეორებადი კრუნჩხვების აქტიური მდგომარეობა. ქიმიური კონვულსიებით ან ვირტუალურად განმეორებადი ელექტრონული სტიმულის ადმინისტრირებით ინტრაცერებრალური ელექტროდების დახმარებით შესაძლებელია სტატუს ეპილეპტიკუსის ექსპერიმენტულად გამოწვევა, რომლის ზოგადი მახასიათებლებია განმეორებადი ლიმბური და მოტორული კრუნჩხვები, რაც აისახება ლიმბური და პირ-სახის კუნთების ტონური და კლონური მოძრაობებით. ამ ექსპერიმენტულ მოდელებში სტატუს ეპილეპტიკუსის გარდამავალი ეტაპი ანუ ლატენტური პერიოდი გრძელდება ერთი ან რამდენიმე კვირის მანძილზე დამახასიათებელი სპონტანური კრუნჩხვებით. ადამიანებში მსგავსი მდგომარეობა ვლინდება სხვაგვარად და ინდივიდუალურად. მაგალითად, ძლიერი ციებ-ცხელების კრუნჩხვები ზრდასრულ ასაკში ზოგჯერ იწვევს პერიოდული კრუნჩხვების აღმოცენებას რამდენიმე წლის შემდეგ. სტატუს ეპილეპტიკუსის მოდელები დაკავშირებულია ჰიპოკამპური ნეირონების კვდომასთან, ასტროციტების პროლიფერენციასთან, მიკროგლიის აქტივაციით გამოწვეულ ანთებით პროცესებთან, ჰიპოკამპური სკლეროზთან, რაც დადგინდა კომპლექსური ნაწილობრივი ეპილეფსიით დაავადებულთა დაკვირვებებზე დაყრდნობით. აღმოჩნდა, რომ გართულებული ციებ-ცხელების კრუნჩხვებს შესაძლოა მოჰყვეს ჰიპოკამპური სკლეროზი ბავშვებში, რაც ადგენს ზოგად დამოკიდებულებას ამ მოდელებსა და ადამიანის მდგომარეობებს შორის. სტატუს ეპილეპტიკუსი ცხოველურ მოდელებში ვლინდება პათოლოგიური ნერვული ატქივობით ელექტროგრაფიული კრუნჩხვების ფორმებში, რაც არის ეპილეპტოგენეზის საწინდარი. ქინდლინგის მოდელთან შედარებით პათოლოგიურ ნერვულ აქტივობას სტატუს ეპილეპტიკუსის მოდელებში ადგილი აქვს განუწყვეტლად რამდენიმე საათის განმავლობაში სანამ განაწილება მოხდება მოკლე ეპიზოდებად დღეღამურ ინტერვალებში. სტატუსიან მოდელებში ეპილეპტოგენეზი

მოწმდება სპონტანური განმეორებადი კრუნჩხვების გამოვლენით რაც ფასდება გრძელვადიანი ვიდეო-ელექტროენცეფალოგრამული რეკორდინგით მღრნელებზე, რომელთაც თავისუფლად შეუძლიათ გადაადგილება (McNamara *et. al.*, 2006).

ეპილეპტოგენეზის *in vitro* მოდელი რომელიც მსგავსია სტატუს ეპილეპტიკუსის მოიცავს ვირთაგვის ჰიპოკამპური ნეირონების გამოყოფილი კულტურების ინკუბაციას ნორმალურად  $Mg^{2+}$ -ის ბუფერში (DeLorenzo *et. al.*, 1998).

### 1.2.1. იონოტროპული გლუტამატური რეცეპტორები და ეპილეპტოგენეზი

იონოტროპული გლუტამატური რეცეპტორები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ძირითადი ამაგზნებელი ნეიროტრანსმისიის დროს ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში. 1990 წლის დასაწყისში გლუტამატური რეცეპტორის სუბერთეულების მაკოდირებელი გენების **დნმ**-ის თანამიმდევრობის დაშიფრვის შედეგად ნათელი გახდა ადრეული კლასიფიკაციის სისტემებს ამ რეცეპტორების რა ფარმაკოლოგიური და ელექტროფიზიოლოგიური თვისებები დაედო საფუძვლად. იონოტროპული გლუტამატური რეცეპტორები იყოფა სამ მთავარ ჯგუფად:  $\alpha$ -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლის პროპიონატი (**ამპმ**) - ტიპის რეცეპტორები, N-მეთილ D-ასპარტატი (**ნმდა**) - ტიპის რეცეპტორები და 2-კარბოქსი-3-კარბოქსიმეთილ-4-იზოპროპენილპიროლიდინი (კაინატური) - ტიპის რეცეპტორები. რაც შეეხება ეპილეპტოგენეზს, არსებითი მნიშვნელობა ენიჭება **ნმდა** ტიპის რეცეპტორების როლს და ნაკლებად **ამპმ** ტიპის რეცეპტორებს და მათი აქტივაციით გამოწვეულ სიგნალის გადაცემის გზებს (McNamara *et. al.*, 2006).

**ნმდა რეცეპტორები და ეპილეპტოგენეზი.** სხვადასხვა მონაცემებზე დაყრდნობით შეიძლება ითქვას, რომ **ნმდა** რეცეპტორის აქტივაცია ხელს უწყობს ეპილეპტოგენეზს. ნეირონული აქტივობა ახდენს გლუტამატის სინაფსურ გამონთავისუფლებას, რომელიც უკავშირდება და ააქტივებს **ნმდა** რეცეპტორს პოსტსინაფსურ საიტის დენდრიტულ მორჩებზე. **ნმდა** რეცეპტორის აქტივაცია წინ უსწრებს კალციუმის იონების ნაკადს. შიდაუჯრედული  $Ca^{2+}$ -ის კონცენტრაციის

ზრდა ააქტივებს კალციუმ/კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II (კამკII) და კალცინეირინს. გააქტივებული კამკII ხელს უწყობს ამჰმ რეცეპტორის GLUR1 სუბერთეულის სინაფსური საიტის ზედაპირზე დამატებას და ამრიგად ეხმარება ამგზნებელ სინაფსებს გრძელვადიან პოტენციაციაში. ამასთან გააქტივებული კალცინეირინი უკავშირდება და ახდებს გაემ-ა რეცეპტორის  $\beta 2/3$  ან  $\gamma 2$  სუბერთეულების დეფოსფორირებას, რისი შედეგიც არის გაემ-ა რეცეპტორების ინტერნალიზაციის დაჩქარება და გაემ-ით გამოწვეული სინაფსური ინჰიბიციის დეპრესია. გაემ-ით გამოწვეული სინაფსური ინჰიბიციის შემცირების ალტერნატიული მექანიზმი მოიცავს KCC2-ის შემცირებულ მოქმედებას ან ექსპრესიას, რომელიც აისახება ქლორიდის წონასწორული პოტენციალის გადანაცვლებაში, ამგზნებელი ნეიროტრანსმისიის ინჰიბიციის გარდაქმნაში. გაზრდილი შიდაუჯრედული  $Ca^{2+}$ -ის კონცენტრაცია ასევე იწვევს  $Ca^{2+}$ -დამოკიდებული გენების ექსპრესიას და აჩქარებს ხავსიანი ბოჭკოების აღმოცენებას. გამოითქვა მოსაზრება, რომ ნმდა რეცეპტორის აქტივაციის სიჭარბე და  $Ca^{2+}$ -ის მომატებული რაოდენობა იწვევენ კამკII-ის აქტივობის და ექსპრესიის ჰომეოსტაზურ შემცირებას, რაც საფუძვლად უდევს ეპილეპტოგენეზის უცნობ უჯრედულ მექანიზმებს. ამ გზების უმეტესი ნაწილი შესაძლოა ხელს უწყობდეს ეპილეპტოგენეზის დაწყებას ნეონატალური კრუნჩხვების შემდეგ. ამასთან, გაზრდილი შიდაუჯრედული  $Ca^{2+}$ , ასევე შესაძლოა შედეგი იყოს  $Ca^{2+}$ -გამტარი ამჰმ რეცეპტორების მიერ კალცინეირინის გააქტივებით, რაც ასევე წინ უსწრებს გაემ-ა რეცეპტორების  $\beta 2/3$  სუბერთეულის დეფოსფორირებას და სინაფსური ინჰიბიციის შემცირებას (Goodkin *et. al.*, 2005).

### 1.2.2. მეტაბოტროპული გლუტამატური რეცეპტორები და ეპილეპტოგენეზი

ზემოთ აღწერილი იონოტროპული რეცეპტორების მსგავსად, გლუტამატი ასევე გადასცემს სიგნალს მეტაბოტროპული რეცეპტორების გავლით, კერძოდ ჰეტეროტრიმერული გუანინის ნუკლეოტიდ-დამაკავშირებელ ცილასთან (G-ცილა)

შეუღლებული რეცეპტორების ჯგუფს. mGLUR-ის ოჯახი მოიცავს 8 სუბტიპს, რომლებიც მონაწილეობენ ცნს ფიზიოლოგიის და პათოლოგიის განმსაზღვრელ ასპექტებში. mGLUR-ის I ჯგუფის აქტივაცია იწვევს ეპილეპტოგენეზს CA3 პირამიდულ ნეირონებში. გლუტამატი გამონთავისუფლდება გლუტამატერგული აფერენტიდან DHPG-ით, სპეციფიკური აგონისტით mGLUR-ის I ჯგუფისთვის, რომელიც ააქტიურებს mGLUR1/5-ს CA3 პირამიდული ნეირონების დენდრიტულ მორჩებზე და ახდენს ჰეტეროტრიმერული G ცილის დისოციაციას  $G\alpha$  და  $G\beta\gamma$  სუბერთეულებად.  $G\alpha$  სუბერთეული ააქტივებს PLC $\beta$ , რომელიც აჰიდროლიზირებს ფოსფატიდილინოზიტოლ4,5-ბისფოსფატს IP3 და დიაცილგლიცეროლი, რომლის შედეგია  $Ca^{2+}$ -ის გამონთავისუფლება ენდოპლაზური ნადიდან და PKC-ს აქტივობის გაზრდა. Src და ERK1/2, MARK ასევე აქტიურდება mGLUR-ის აქტივაციისას (McNamara *et. al.*, 2006).

ნეირონთა ზედაპირზე სხვადასხვა რეცეპტორთა აქტივაციამ შესაძლოა გამოიწვიოს ეპილეპტოგენეზის პროვოცირება, რაც ნაჩვენებია იყო სხვადასხვა მოდელების მაგალითზე. ასევე ამ პროცესში აქტიურად არიან ჩართული ნეიროტროპინები, მათ შორის TrkB ნეიროტროპული რეცეპტორი. აღნიშნული რეცეპტორები ნაწილობრივ იქნა განსაკუთრებული ტიპის კორტიკალური ნეირონის სასიგნალო დომენის მემბრანაზე - მთავარი ნეირონების დენდრიტების მორჩებზე. ნებისმიერი ამ ტიპის რეცეპტორთა აქტივაციას თან სდევს  $Ca^{2+}$ -ის კონცენტრაციის გაზრდა აღნიშნულ მორჩებში. ნაწილობრივ იყო, რომ  $Ca^{2+}$ -მარეგულირებელი ფერმენტები რომლებიც ერთვებიან ეპილეპტოგენეზში. მათ მიეკუთვნება არარეცეპტორული თიროზინ კინაზები Src და Fyn და სერინ-ტრონინ კინაზები (კამკII) და ფოსფატაზა (კალცინეირინი). ჯვარედინი კავშირი ასტროციტებსა და ნეირონების პრომოტორებს შორის ზრდის დენდრიტული  $Ca^{2+}$ -ის დონეს და იმავდროულად ხდება ნეირონების დაწვა, რაც ეპილეპტიფორმული აქტივობის ნიშანია. ეს ჰიპოთეზა ხსნის, რომ ლიმბური ეპილეფსია არის ჰომეოსტაზური პასუხების შედეგი დენდრიტულ მორჩებში  $Ca^{2+}$ -ის კონცენტრაციის ზრდაზე იძულებითი არანორმალური ნეირონული აქტივობისას (McNamara *et. al.*, 2006).

### 1.3. ოლეამიდი

#### 1.3.1. ოლეამიდის ზოგადი მახასიათებლები

ცხიმოვანი მჟავა ამიდების ქიმიური კლასის წარმომადგენელი ოლეამიდი ცნობილია როგორც ძილის მომგვრელი ლიპიდი, რომელიც გვხვდება ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში (Cravatt *et. al.*, 1995).

ბუნებაში ოლეამიდი საკმაოდ გავრცელებულია. ასევე გვხვდება ზოგიერთი ბოსტნეულის ზეთში და გამოიყენება როგორც ინდუსტრიული ლუბრიკანტი პოლიოლეფინების



სურ.1. ოლეამიდის სტრუქტურა

წარმოებაში (Cooper *et. al.*, 1995).

პირველად ცის-9,10-ოქტადეცენოამიდი (ოლეამიდი) გამოყოფილი იყო ძილდეპრივირებული ძუძუმწოვრების ცერებლოსპინალური სითხიდან. ოლეამიდის მადეგრადირებელი ფერმენტი, რომელიც შლის სხვა კანაბინოიდური რეცეპტორების სავარაუდო ენდოგენურ ლიგანდებს, გასუფთავებული და გამოყოფილი იყო ვირთაგვის ღვიძლიდან. მოგვიანებით ნანახი იქნა ამ ფერმენტის ექსპრესია ტვინის სხვადასხვა უბნებში და მას უწოდეს ცხიმოვანი მჟავა ამიდის ჰიდროლაზა (FAAH). ოლეამიდი ოლეინის მჟავისა და ამონიუმისგან მიიღება ფერმენტული გზით და ეს სინთეზი ხორციელდება მიკროსომულ ფრაქციაში (Bisogno *et. al.*, 1997), თუმცა მექანიზმი გაურკვეველია (Sugiura *et. al.*, 1996). ნაჩვენებია იქნა, რომ ოლეამიდის წარმოქმნა ხდება ნეირონული ტიპის უჯრედებში, თუმცა ბიოსინთეზი ოლეინის მჟავის და ამონიუმის პირდაპირი კონდესაციის შედეგად არ ხდება ინტაქტურ ნეირონებში.

ოლეამიდის ჰიდროლიზი მოდელირებულ კუჭის წვეწვში მიმდინარეობს 4 საათის განმავლობაში 37°C-ზე (Cooper *et. al.*, 1995). ნაღვლის მჟავების დამატება ამავე პირობებში ძლიერ ზრდის ოლეამიდის ჰიდროლიზს (95%-მდე). ამ მონაცემების საფუძველზე, ოლეამიდის მცირე რაოდენობა, რომელიც საკვების შემადგენლობაშია,

ხვდება საჭმლის მომწოდებელ ტრაქტში და ჯანმრთელობისთვის საშიში არ უნდა იყოს (Cooper *et. al.*, 1995).

### 1.3.2. ოლეამიდი როგორც ენდოკანაბინოიდების წარმომადგენელი

ცხიმოვანი მჟავა ამიდების ქიმიური კლასის ზოგიერთი ნაერთი მიეკუთვნება ბიოლოგიურად აქტიურ მნიშვნელოვან ენდოგენურ აგენტთა რიცხვს, მათ შორის პალმიტოილეთანოლამიდი (ანტი-ინფლამატორი), ანანდამიდი (ანტინოციცეპტივი და დადებითი ნეიროპროტექტორული აგენტი) და ოლეამიდი (ძილის მომგვრელი აგენტი) (Rice 2001). მიუხედავად ნივთიერებების მკვეთრი ქიმიური მსგავსებისა მათ ახასიათებს განსხვავებული ფარმაკოლოგიური პროფილი. კერძოდ, ანანდამიდი ააქტიურებს კანაბინოიდურ რეცეპტორებს, მაგრამ აქტიურობას კარგავს PPAR (პეროქსისომ-პროლიფერატორ აქტივირებული რეცეპტორი) ბირთვულ რეცეპტორთან (Fu *et. al.*, 2003). მეორე მნიშვნელოვანი ფუნქცია ამ ნაერთების არის მათი მრავალრიცხოვანი აქტიურობა. კარგად შესწავლილ ანანდამიდს აქვს დამატებით კანაბინოიდური აქტივობის ეფექტები სხვა მოლეკულურ მახასიათებლებზე, რომელთაგან განსაკუთრებული ყურადღება ვანილოიდურ რეცეპტორებმა მიიქცეს (Ross 2003). მიიჩნევენ, რომ ცხიმოვანი მჟავა ამიდების ქვეჯგუფის ეთანოლამინი სინთეზირდება ხარჯვის და გამონთავისუფლების დროს და ამ პროცესებს შეუძლიათ ერთმანეთზე ზეგავლენის მოხდენა. ცხადია რომ, ცალკეული ნაერთების *in vivo* აქტიურობის პრედომინანტური მექანიზმების გარჩევა რთულია (Di Marzo *et. al.*, 2001).

ოლეამიდი არ არის გამონაკლისი თავისი სიმარტივით და მრავალფუნქციურობით - *in vitro* კვლევებით მიღებულია ეფექტები სხვადასხვა სამიზნეებზე ერთიანი ხაზის კომუნიკაციის ჩართვაში, სეროტონინ 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A/2C</sub>, 5-HT<sub>7</sub> და გაემ-ერგულ რეცეპტორებზე (Leggett *et. al.*, 2004). თუმცა ოლეამიდის ურთიერთქმედება კანაბინოიდურ რეცეპტორებთან არის სადავო. საბოლოო ჯამში ლეგეტმა (Leggett *et. al.*, 2004) აჩვენა, რომ ოლეამიდი ფუნქციურად



აქტივებს CB1 კანაბინოიდურ რეცეპტორს *in vitro* სისტემაში. ამრიგად ავტორებმა აჩვენეს, რომ ოლეამიდი: (ა) აინჰიბირებს აგონისტს და ანტაგონისტ ლიგანდს აკავშირებს CB1 რეცეპტორს, (ბ) ზრდის CB1 რეცეპტორით [35S]GTPγS-ის დაკავშირებას მემბრანაზე, რაც G-ცილასთან აწყვილებს რეცეპტორებს და (გ) აკავებს ფორსკლონიტ სტიმულირებულ ციკლური ამფ-ის წარმოქმნას რაც ჩვეულებრივ დაბლოკილია CB1 კანაბინოიდურ რეცეპტორის აგონისტით და ყივანახველას ტოქსინით. აღმოჩნდა, რომ როცა ოლეამიდი აინჰიბირებს აგონისტის დაკავშირებას CB1 რეცეპტორთან პოტენციალი მხოლოდ სამჯერ მცირდება, ვიდრე ანანდამიდის პოტენციალის მნიშვნელობა ნეირონში (Bisogno *et. al.*, 1997). ორივე ანანდამიდი და ოლეამიდი ჭარბად მეტაბოლიზდება ცხიმოვანი მჟავა ამიდის ჰიდროლაზით (FAAH) მემბრანაში და ორი ნაერთის ფარდობითი პოტენციალები სავსებით განსხვავებულია როცა ცხიმოვანი მჟავა ამიდის ჰიდროლაზა არის ინჰიბირებული ან საერთოდ არ არის (Lichtman *et. al.*, 2002). ლეგეტის (leggett *et. al.*, 2004) მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ ოლეამიდს აქვს უნარი გააქტივოს CB1 რეცეპტორი *in vitro* სისტემაში. მისი მოსაზრებით, ეს ნაერთი უშუალოდ მოქმედებს როგორც ენდოგენური კანაბინოიდი CB1 რეცეპტორისთვის. ფართო განმარტებით ნაერთი გავლენას ახდენს როგორც ენდოკანაბინოიდი *in vivo* სისტემაში არის ნაადრევი დასკვნა (leggett *et. al.*, 2004). ლიტერატურაში ცნობილი *in vivo* შედეგები ურთიერთსაწინააღმდეგოა - ეგზოგენურად გამოყოფილი ოლეამიდი CB1 რეცეპტორს ეხმარება მოქმედების ზოგიერთ მექანიზმში. მაგრამ არ იყო ნაჩვენები ნაერთი თუ ერთვება ენდოკანაბინოიდურ ტონში, მოდულატორი არის თუ არა ნეიროტრანსმიტერის გამონთავისუფლების, ნეიროპროტექციის ან სხვა ფიზიოლოგიური შემთხვევების დროს (Fowler 2004).

ოლეამიდს გააჩნია ჰიპნოზური თვისებები, მაგრამ არც ქცევითი მოქმედების დიაპაზონი და არც ის მექანიზმი, რომელიც იწვევს ამ ქცევას, არ არის დადგენილი. ერთ-ერთ სტატიაში (Fedorova *et. al.*, 2001) განხილულია ოლეამიდის გავლენა ვირთაგვების ქცევაზე, ანელგეზიაზე, შფოთვაზე. მისი 14-19 მგ/კგ რაოდენობა იწვევს მოტორული აქტივობის შესუსტებას, ანელგეზიას და ჰიპოთერმიას, მაგრამ არა

კატალეფსიას. უფრო მეტიც, ოლეამიდის ის დოზა, რომელიც გავლენას არ ახდენს მოტორულ ფუნქციაზე ამჟღავნებს ანქსიოლიტურ თვისებას სოციალური ურთიერთობის ტესტში. ოლეამიდის ერთეული დოზის ეს მოქმედება გრძელდებოდა 30 - 60 წუთის განმავლობაში. ვირთაგვები ხდებოდნენ ტოლერანტულნი ოლეამიდის მიმართ 8 დღის შემდეგ და აღარ შეიმჩნეოდა ქცევითი ეფექტები. სეროტონინისა და ვანილოიდის რეცეპტორების ანტაგონისტებით წინასწარი დამუშავება არ ახდენდა გავლენას ოლეამიდის ეფექტებზე, თუმცა კანაბინოიდული რეცეპტორების ანტაგონისტები აინჰიბირებდნენ ოლეამიდით გამოწვეულ ანელგეზიურ ეფექტს, **გაემ-ა** რეცეპტორის ანტაგონისტი ბიკუკულინი კი აფერხებს ოლეამიდით გამოწვეულ ანალგეზიასა და ჰიპოთერმიას, ხოლო დოფამინ D2 რეცეპტორის ანტაგონისტი აბლოკირებს ოლეამიდის ლოკომოტიურ და ანელგეზიურ მოქმედებას. საინტერესოა, რომ ოლეამიდის ანალოგები, რომლებიც რეზისტენტულნი არიან **FAAH** ფერმენტის მიმართ, გავლენას არ ახდენენ არც ქცევითი აქტივობის გაზრდაზე და არც მის ხანგრძლივობაზე, მაშინ როცა **FAAH** ფერმენტის ორი ინჰიბიტორი იწვევს ანალოგიურ ქცევით ეფექტებს. ამგვარად, ოლეამიდი იწვევს ქცევას, რომელიც მოგვაგონებს ენდოგენური კანაბინოიდების მოქმედებას, მაგრამ როგორც პირდაპირ, ისე ირიბად **გაემ-ერგული** და დოფამინერგული სისტემის ჩართვა ოლეამიდის მოქმედებაში გამორიცხული არ შეიძლება იყოს (Fedorova *et. al.*, 2001).

### 1.3.3. ოლეამიდის ენდოგენური ანტიკონვულსანტური ეფექტები

ოლეამიდი ცნობილია უნიკალური ფარმაკოლოგიური თვისებებით. თუმცა მისი აქტიურობა ბოლომდე შესწავლილი არ არის. იგი დადებითად მოქმედებს ინჰიბიტორულ ნეიროტრანსმიტერების -  $\gamma$ -ამინოერბოსმჟავას და გლიცინურ რეცეპტორებზე (Lees *et. al.*, 1998) და ბლოკავს ვოლტაჟ-დაჭიშკრული ნატრიუმის იონების არხების (ვდნია) მოქმედებას (Nicholson *et. al.*, 2001). ოლეამიდი ასევე ბლოკავს ნაპრალოვან კონტაქტებს უჯრედულ კომუნიკაციებში, რის გამოც გამორიცხული არ არის კანაბინოიდურ (CB1) რეცეპტორებთან ურთიერთქმედება და

როგორც ძილის მომგვრელი თვისების მატარებელი სელექტიურად არის კანაბინოიდური რეცეპტორის ანტაგონისტი (Mendelson & Basile 1999).

ოლეამიდის სამიზნეს წარმოადგენს სამი მნიშვნელოვანი სასიგნალო სისტემა: ვოლტაჟ-დაჭიშკრული არხები, ნაპრალოვანი კონტაქტები და გაემ-ერგული სისტემა. ოლეამიდი პირველი ორი მათგანის ბლოკირებას ახორციელებს, ხოლო გაემ-ერგული სისტემის მოდულატორია. სამივე სამიზნეზე მოქმედება კრიტიკულია ანტიკონვულსიური პრეპარატებისთვის. ნაპრალოვანი კონტაქტები არ არის სამიზნე ყველა ფარმაკოლოგიური პრეპარატისათვის, როცა ბევრი კლინიკურად გამოცდილი ანტიეპილეფსიური აგენტი ანტიკონვულსიური ეფექტების გამოვლენისას ბლოკავს ვდნია-ის აქტივობას და მოქმედებს სინაფსების ინჰიბიტორებზე (Kwan *et. al.*, 2001).

კანაბინოიდებს დიდი ხნის წინ მიანიჭეს ანტიეპილეფსიური თვისებები. *in vivo* სისტემაში მათ აქვთ ფენიტონის მსგავსი აქტივობა ლიმბური კრუნჩხვების შეკავებისას. ვალენსმა და სხვებმა (2002) გამოაქვეყნეს ენდოგენური კანაბინოიდის ანანდამიდის და მისი მეტაბოლურად მდგრადი ანალოგის O-1812 ანტიკონვულსიური ეფექტები ელექტოშოკით გამოწვეული ეპილეფსიური კრუნჩხვების წინააღმდეგ. ოლიამიდი როგორც ენდოკანაბინოიდი (Mendelson & Basile 1999) შესაძლოა მოქმედებდეს თეორიულად ალტერნატიული მექანიზმითაც, რომელიც ამ ლიპიდის ეპილეპტიფორმული აქტივობის სუპრესიაში შესაძლო ჩართვაზეა დაფუძნებული. ოლეამიდის გამონთავისუფლება ცუდადაა შესწავლილი, თუმცა ვიცით რომ ძილის დეპრივაციას და უჯრედულ გამონთავისუფლებას ხელს უწყობს დეპოლარიზაცია და ადგილი აქვს უჯრედშიდა კალციუმის შესვლას ან გამონთავისუფლებას შიდაუჯრედული სფეროდან (Wilson & Nicoll 2002).

ენდოკანაბინოიდური ოლეამიდის ეფექტები შესწავლილი იყო ეპილეფსიის მოდელზე *in vitro* სისტემაში, შესადარებლად იყენებდნენ ანტიკონვულსანტებს: კლინიკურად გამოცდილ კარბამაზეპინს, ექსპერიმენტულად შესწავლილ პენტობარბიტალს და კარბენოქსოლონს (Dougalis *et. al.*, 2004). ჰიპოკამპის CA1 რეგიონი საჭიროებს სინაფსურ აქტივობას იქტალური ან ინტერიქტალური ეპილეფსიური აქტივობისათვის (Perreault & avoli 1992). თეორიულად ამ აგზნების

დეპრესიას შეუძლია შეამციროს ეპილეპტიფორმული ცვლილებების განვითარება CA1 და CA3 ველში, როგორც აქსონის კოლატერალების გავრცელება CA1-დან CA3-ში, რაც უზრუნველყოფს განმეორებით აგზნებას.

პრეპარატებს, რომლებსაც აქვთ გენერალიზებული კრუნჩხვების სუპრესიის უნარი *in vivo* სისტემაში, შეუძლიათ ინტერიქტალური ეპილეფსიური აქტივობების სიხშირეების სუპრესია. ბარბაროსიემ და ავოლიმ (Barbarosie & Avoli 1997) აჩვენეს, რომ ჰიპოკამპის სტრუქტურაში ამას ადგილი არ აქვს. შემდგომში გამოითქვა აზრი, რომ ეპილეფსიური აქტივობა CA3 ველში აკონტროლებს ლიმბურ კრუნჩხვებს ენტორინალურ კორტექსში. ამის საფუძველზე კარბამაზეპინს და ფენტობარბიტალს უნდა ჰქონდეთ დეპრესანტული ეფექტები გენერალიზებული კრუნჩხვების დროს, როცა კარბენოქსოლონი და ოლეამიდი შესაძლოა აღმოჩნდეს გამოუსადეგარი ან თუნდაც პროკონვულსანტი.

პარადიგმებში ტესტირებულმა ოლეამიდმა აჩვენა, რომ მცირე ეფექტები აღინიშნება სინაფსურ ტრანსმისიაზე დაბალი სიძლიერის სტიმულაციების ქვეშ, მაგრამ შესაძლებელია მონიშნულად სუპრესია სპონტანურ შემთხვევებზე. საერთოდ ყველა აგენტის ეფექტები გამოწვევაზე და სპონტანურ ინტერიქტალურ აქტივობაზე უმეტესად გარკვეულია, მაგრამ ძნელია ახსნა ანტიეპილეფსიური პოტენციალის თვალსაზრისით.

საწინააღმდეგოდ ამისა, ოლეამიდი არ ახდენს შესამჩნევ ცვლილებას სპონტანური იქტალური ეპილეფსიური ცვლილებების დროს მხედველობის კორტექსში. ოლეამიდი მნიშვნელოვნად იცვლება გამოწვეული ეპილეფსიის მთელ პერიოდში. ასევე ნაჩვენები იქნა ტეტანუსის პროგრესი მდგრადი ამპლიტუდური ტონურ-კლონური ეპილეფტიფორმული შემთხვევებისას გახანგრძლივებული ოსცილაციით, რომელშიც არ მონაწილეობენ კარბამაზეპინი ან ფენტობარბიტალი. ამრიგად, ოლეამიდის ეფექტები არის უფრო გარკვეული ვიდრე კარბამაზეპინის, ფენტობარბიტალის და კარბენოქსოლონის. საბოლოოდ, ეგზოგენური ოლეამიდის შედარება გამოცდილ ანტიკონვულსანტურ ლიგანდებთან ანტიეპილეფსიური პოტენციალით აშკარად მოუხერხებელი იყო (Dougalis *et. al.*, 2004).

ნატრიუმის ვოლტაჟ-დაჭიმვრული არხები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ოლემიდის მოქმედებებში. ექსპერიმენტებმა აჩვენა რომ, ოლემიდი არის მდგრადი და ვოლტაჟ-დამოკიდებული დამბლოკავი, მაგრამ არ ამჟღავნებს დამოკიდებულებას დამბლოკავის გამონთავისუფლების სიხშირეზე როგორც ეს გვხვდება ანტიკონვულსანტ პრეპარატებთან. მიუხედავად იმისა, რომ ოლემიდი და კარბამაზეპინი შეიძლება სამიზნე იყოს ვოლტაჟ-დაჭიმვრული არხების ერთი და იგივე კლასის მათ აქვთ განსხვავებული ბიოფიზიკური პროფილი. გაემ-არეცეპტორები არიან ოლემიდის სამიზნეები და შეუძლიათ უზრუნველყონ კრუნჩხვების სუპრესია, როცა 4-ამინოპირიდინის მონწილეობით გაემ-ერგული ტრანსმისია უკვე გაზრდილია (Rutecki *et. al.*, 1987). ოლემიდის ნაკადი იზრდება ეგზოგენურად მიმართულ  $\gamma$ -ამინოერბოსმჟავაზე, თუმცა ამის გარეშე იცვლება საპასუხო სიგნალები (Lees *et. al.*, 1998). რასაც შეუძლია პოტენციურად ახსნას იქტალურის მსგავსი ეპილეფსიური ცვლილებების აღმოცენების შეუძლებლობა. თუმცა ოლემიდი ამჟღავნებს ბენზოდიაზეპინების მსგავს დამოკიდებულებას, მისი სუბმოლეკულური საიტის მოქმედება უცნობია.

ოლემიდი აღიარებულია როგორც ნაპრალური კონტაქტების დამბლოკავი მხოლოდ 50-100  $\mu\text{M}$  კონცენტრაციისას კულტურებში. ხანგრძლივი ძილის დეპრივაციის შემდეგაც კი ძნელია გათვალისწინება ოლემიდის რა კონცენტრაციები ახდენს გავლენას ნაპრალოვანი კონტაქტების კომუნიკაციების სუპრესიაზე (Hanus *et. al.*, 1999). ვილსონმა და ნიკოლმა (Wilson & Nicoll 2001) აჩვენეს რომ, ენდოგენური CB1 ლიგანდების ეფექტურობა ძალიან მცირედ ემსგავსება სინთეზურ (მეტაბოლურად არამდგრად) აგონისტებს და ამიტომ ენდოკანაბინოიდური კანდიდატები არ არიან გაჯერებული საკმარისი კონცენტრაციებით მოქმედების პერისინაფსურ საიტებზე. ოლემიდი განსაკუთრებით ლიპოფილურია  $\log P 6.5$  მნიშვნელობის დროს და ინეტნსიურად იშლება ცხიმოვანი მჟავების ამიდების ჰიდროლაზების მიერ. ნაჩვენებია რომ, 10-15 წუთი საჭიროა ოლემიდისთვის მისი მოქმედების საიტთან გაემ-არეცეპტორების და ნატრიუმის იონების არხების გასაწონასწორებლად კულტურული უჯრედების კორტიკული ნეირონების ერთშრეში (Verdon *et. al.*, 2000).

შესაძლებელია საკითხის განხილვა ისე რომ, ეპილეპტიფორმული აფეთქების დროს პოსტინაფსურ უჯრედებში მაღალი ალბათობით შესაძლებელია ენდოკანაბინოიდების და მონათესავე ლიპიდების გამონთავისუფლება. თუმცადა ნაჩვენები იქნა, რომ ოლეამიდის ეფექტები არა დამოკიდებული CB1 რეცეპტორებზე, ოლეამიდს შეუძლია გამონთავისუფლება როგორც ენდოკანაბინოიდს და ამრიგად ეგზოგენური ოლეამიდის ყველა ანტიეპილეფსიური ეფექტი შეიძლება შენიღბულია ენდოგენური ლიპიდის გამონთავისუფლებით პრესინაფსურ არეში (Dougalis *et. al.*, 2004).

ნაჩვენები იქნა, რომ კარბამაზეპინი, ფენტობარბიტალი და კარბენოქსოლონი სპობს ორივე სპონტანურ და გამოწვეულ ეპილეფსიურ მოვლენებს მხედველობით კორტექსში, აძლიერებს ნატრიუმის ვოლტაჟ-დაჭიშკრული იონური არხების დამბლოკავებს, გაემ-ა სუბერთეულის აგონისტებს და ნაპრალოვანი კონტაქტების ბლოკატორებს, შესაბამისად ხდება კრუნჩხვების აქტივობის დაბლოკვა. ოლეამიდის სუსტი ეფექტები იქტალურ ეპილეფსიურ ცვლილებებზე არ არის გადამწყვეტი ანტიეპილეფსიური თვისებების დამტკიცებისთვის, როდესაც შედარებას ახდენენ კარბამაზეპინს, ფენტობარბიტალსა და კარბენოქსოლონთან. ამასთან არაა ცნობილი სხვა ალტერნატიული სუპრესია *in vivo* სისტემაში რომელიც ხელს უწყობს ოლეამიდის ანტიეპილეფსიურ ეფექტებს. ოლეამიდი შეიძლება ფლობს კრუნჩხვების შემაკავებლის თვისებებს, მაგრამ მას არ ახასიათებს ისეთი ძლიერი ანტიეპილეფსიური აქტივობა როგორც ცნობილ ანტიკონვულსიური პრეპარატებს. ოლეამიდი როგორც კლასიკური ენდოკანაბინოიდი უნდა წარმოადგენდეს ენდოგენურ ანტიკონვულსანტს და სავარაუდოდ მისი გამოცდა FAAH ინჰიბიტორებთან ერთად ეპილეფსიის მოდელების ფართო სპექტრში მნიშვნელოვანია (Dougalis *et. al.*, 2004).

### 1.3.4. ოლეამიდის ეფექტები ქოლინაცეტილტრანსფერაზაზე და კოგნიტიური აქტივობები

მეთანოლური ფრაქცია, რომელიც გამოყოფილია კორეული წარმოშობის ბუნებრივი მცენარის *Zizyphus jujube*-ს ექსტრაქტიდან, აჩვენებს მაღალ აქტივობას ქოლინაცეტილტრანსფერაზაზე (ქატ) *in vitro* სისტემაში. მცენარის ექსტრაქტის ქრომატოგრაფიული დაყოფისა და ფრაქციონირებისას იდენტიფიცირებული იყო აქტიური ნაერთი ცის-9-ოქტადეცენოამიდი (ოლეამიდი). მისი ადმინისტრირება თაგვებში მნიშვნელოვნად ცვლიდა სკოპოლამინით გამოწვეულ მეხსიერებას და მცირდებოდა შემეცნების მაჩვენებელი ტესტში. ქატ-ის აქტივობის ეფექტები ერთნაირად იცვლებოდა მცენარის ექსტრაქტიდან გამოყოფილი ოლეამიდის და სინთეზური ოლეამიდის (SIGMA) გამოყენებით MC-IXC უჯრედებში დოზაზე დამოკიდებული მოქმედების ეფექტის შესწავლისას. მასსპექტრომეტრული ანალიზის თანახმად კი მისი მოლეკულური წონაა 281.

სკოპოლამინჰიდრობრომიდის ინტრაპერიტონიალური შეყვანა, რომელიც არის მუსკანური ქოლინერგული რეცეპტორების დამბლოკავი, გავლენას ახდენს მეხსიერების ნაკლებობაზე და ამცირებს ქოლინერგულ მოქმედებას ქცევით ასპექტებში. სკოპოლამინის მეთოდი გამოიყენება ალცჰაიმერის დაავადების მოდელების გამოწვევისთვის *in vivo* სისტემაში. თაგვების მკურნალობას ახდენდნენ ოლეამიდის წყალხსნარის ადმინისტრირებით სხვადასხვა კონცენტრაციებით 4 კვირის განმავლობაში სკოპოლამინის შეყვანამდე.

თუმცა, ოლეამიდს აქვს გამააქტივებელი ეფექტი ქატ-ზე. დაბალ მოლეკულური მასის გამო შეუძლია მოხვდეს მოქმედების საიტზე ადმინისტრაციის შემდეგ, რადგან ადვილად გადაკვეთს ჰემატო-ენცეფალურ ბარიერს და გაივლის მჭიდრო კონტაქტებს ტვინში. ამრიგად, ამ აქტიურ ნაერთს შეუძლია მცირედ შეამციროს შემეცნებითი ფუნქციების და მეხსიერების შეზღუდვა შემცირებული ალცჰაიმერის დაავადების მქონე ზოგიერთ პაციენტებში.

ამრიგად, სკოპოლამინი მუსკანური ქოლინერგული რეცეპტორების დამბლოკავია. ოლეამიდი არის  $\alpha_1$ -ის აქტივატორი და  $A\beta$ -ნეიროტოქსიკურობის დამბლოკავი. მცენარეული ოლეამიდი პოტენციურად არის ქიმიო-პრევენციული აგენტი ალცჰაიმერის დაავადების წინააღმდეგ (Heo *et. al.*, 2003 ).

### 1.3.5. ოლეამიდის იდენტიფიკაცია *Aquilegia vulgaris*-ის ექსტრაქტიდან

მცენარე *Aquilegia vulgaris*-ის წყლოვანი ექსტრაქტი უძველესი დროიდან გამოიყენება აღმოსავლურ ტრადიციულ მედიცინაში, როგორც ანტი-ეპილეფსიური და ძილის მომგვრელი საშუალება. ნანახი იქნა რომ, მცენარე *Aquilegia vulgaris*-ის წყლოვანი ექსტრაქტი სრულად აინჰიბირებს  $^3H$ -მუსციმოლის (გაემ-ა რეცეპტორის აგონისტი) დაკავშირებას ვირთაგვის ტვინის მემბრანებთან და ამავე დროს თითქმის ორჯერ ააქტივებს  $^3H$ -ფლუნიტრაზეპამის (გაემ-ა რეცეპტორის ბენზოდიაზეპინების საიტის სპეციფიკური ლიგანდი) დაკავშირებას (Solomon *et. al.*, 1996). ამ ნაერთებს ახასიათებდათ დაბალი მოლეკულური წონა (<1 კდა) და მათ ინტრაპერიტონეალურ ადმინისტრაციას თან ახლავს ანტი-ეპილეფსიური ეფექტი აუდიოგენური სტიმულაციით გამოწვეულ კონვულსიებზე კრუმინსკი-მოლოდკინას ხაზის ვირთაგვებში (Solomon *et. al.*, 1996).

გაემ-ს თვითონ არ ძალუძს ჰემატო-ენცეფალური ბარიერის გადალახვა და ამის გამო გაემ-ის პერიფერიულ ადმინისტრაციას თან არ ახლავს ანტი-კონვულსიური ეფექტები (Laborit 1973). ამის საფუძველზე ნავარაუდები იყო, რომ *Aquilegia vulgaris*-ის წყლოვანი ექსტრაქტი, რომელსაც გააჩნია გაემ-ა რეცეპტორებზე მოქმედების უნარი *in vitro* სისტემაში წარმოდგენილი უნდა ყოფილიყო თვითონ გაემ-ისაგან განსხვავებული ნაერთებით. ექსპერიმენტების შემდეგ სერიაში ჩატარდა იმ ნაერთების იდენტიფიკაცია, რომლებიც აინჰიბირებენ  $^3H$ -მუსციმოლის დაკავშირებას და ააქტივებენ  $^3H$ -ფლუნიტრაზეპამის დაკავშირებას ვირთაგვის თავის ტვინის მემბრანებთან (Solomon *et. al.*, 2004). მაღალი წნევის ქრომატოგრაფიის ორი რაუნდის და გაზ-ქრომატოგრაფიასთან შეუღლებული მასსპექტრომეტრიის



საშუალებით მოხერხდა ამ ნაერთების იდენტიფიკაცია (Solomon et. al., 2004). ისინი წარმოადგენენ ძილის მომგვრელ ლიპიდს ოლეამიდს და მიო-ინოზიტოლს. ჩვენს ლაბორატორიაში ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა აჩვენა რომ, სწორედ ექსტრაქტის შემადგენლობაში მყოფი ოლეამიდი ააქტივებს  $^3\text{H}$ -ფლუნიტრაზეპამის დაკავშირებას თავის ტვინის მემბრანებთან (Solomon et. al., 2004). ოლეამიდის ნეიროაქტიური თვისებები კარგად არის დამტკიცებული, თუმცა მის შესაძლო ანტი-ეპილეფსიურ აქტივობაზე მხოლოდ ერთი ნამუშევარი გვხვდება (Dougalis et. al., 2004). ჩვენი სამუშაოს ერთ-ერთ მიზანს წარადგენდა უფრო ღრმად შეგვესწავლა ოლეამიდის ნეიროაქტიური თვისებები, კერძოდ კი გამოგვეკვლია ამ ნაერთის ზემოქმედების უნარი პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე ვირთავებში.

#### 1.4. ინოზიტოლი და მაღალი რანგის ინოზიტოლფოსფატები ნერვულ

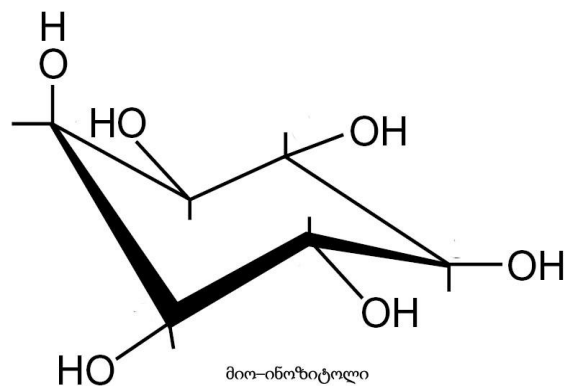
##### ქსოვილებში: ჰომეოსტაზი, მეტაბოლიზმი და ფუნქციური მნიშვნელობა

ინოზიტოლფოსფოლიპიდებს და ინოზიტოლფოსფატებს შუამავლის როლი ეკისრებათ სიგნალის ტრანსდუქციის და კალციუმის ჰომეოსტაზის შენარჩუნების დროს ცენტრალურ ნერვულ სისტემასა და არა ნეირონულ ქსოვილებში. დიდია ინტერესი ნერვულ სისტემაში მიო-ინოზიტოლისა და მისი ფოსფორილირებული ფორმების როლის შესახებ. შესწავლისას ცხადი გახდა, რომ მიო-ინოზიტოლი წარმოადგენს კლინიკურად მნიშვნელოვან ოსმოლიტს ცნს-ში, მისი ჰექსაკისფოსფატური და პიროფოსფორილირებული დერივატები მონაწილეობას იღებენ დნმ-ის რეპარაციაში, ბირთვული რნმ-ის ექსპორტსა და მემბრანის სინაფსურ ტრეფიკინგში (იხ. მიმოხილვისათვის Fisher et. al., 2002).

ინოზიტოლფოსფოლიპიდების როლი სიგნალის ტრანსდუქციის დროს დღეისათვის კარგადაა დადგენილი (Fisher et. al., 1992). ასევე დადგენილია ფოსფოინოზიტოლის როლი მემბრანული ტრეფიკინგის დროს, აქტინის ციტოჩონჩხის სტაბილიზაციისას, პლაზმური მემბრანული ცილების შეკავების, უჯრედის სიკვდილისა და გადარჩენის რეგულაციის პროცესებში (Toker et. al., 1997;

Low *et. al.*, 2000; Vanhaesebroeck *et. al.*, 2001). ცნობილია, რომ ინოზიტოლ 1,4,5-ტრიფოსფატი მონაწილეობას იღებს უჯრედშიდა კალციუმის მობილიზაციის პროცესშიც. შედარებით ნაკლები ყურადღება ენიჭება წყალში ხსნად მიო-ინოზიტოლისა და მისი ფოსფორილირებული ფორმის მნიშვნელობას. ინოზიტოლფოსფატის ეთერის 63 ფორმა არსებობს, რომელთაგან შვიდს გარკვეული ფიზიოლოგიური მნიშვნელობა აქვთ (Irvine & Schell 2001). თავის ტვინში აღმოჩენილია სულ მცირე ოთხი პიროფოსფორილირებული ინოზიტოლფოსფატი და ფერმენტები, რომლებიც მონაწილეობენ მათი სინთეზისა (Huang *et. al.*, 1998; Saiardi *et. al.*, 2001) და დაშლის პროცესებში (Safrany *et. al.*, 1998; Caffrey *et. al.*, 2000). მათი სტრუქტურული დაშლა გვიჩვენებს დარჩენილი ინოზიტოლფოსფატების უჯრედულ ფუნქციებს.

ცნს არის არატიპური ქსოვილი, სადაც მიო-ინოზიტოლის შედარებით მაღალი კონცენტრაციაა, რომელიც ინახება არა მარტო როგორც წინამორბედი ინოზიტოლლიპიდების სინთეზისათვის, არამედ როგორც ფიზიოლოგიურად მნიშვნელოვანი ოსმოლიტი. ტვინში ინოზიტოლის კონცენტრაციის ცვლილება



სურ.2. მიო-ინოზიტოლის სტრუქტურა

იწვევს მთელ რიგ პათოლოგიურ მდგომარეობას. ინოზიტოლის ორალური გზით მიღება მნიშვნელოვანია რიგი ნეიროფსიქიატრიული დაავადებების სამკურნალოდ. ინოზიტოლ ჰექსაკისფოსფატი (IP6) ყველაზე ჭარბი რაოდენობითაა როგორც ნერვულ ასევე არანერვულ უჯრედებში (Fisher *et. al.*, 2002).

#### 1.4.1. მოკლე ისტორიული მიმოხილვა

ინოზიტოლის კრისტალური პროდუქტი კუნთის ექსტრაქტიდან მიღებულ იქნა 150 წლის წინ (Scherer *et. al.*, 1850) და გამიფრული იქნა მისი სტრუქტურა, რომელიც

ნახშირწყალბადის ემპირიულ ფორმულას დაემთხვა. მას ეწოდა „ინოზიტოლი“, ბერძნული სიტყვიდან ინოს კუნთს ნიშნავს. მოგვიანებით, ნავარაუდები იყო ჰექსაჰიდროქსიციკლოჰექსანის 9 შესაძლო სტერეო იზომერის არსებობა (Michel 2008; Bouveault *et. al.*, 1894), რომელთაგან 7 ოპტიკურად ინაქტიურია, დანარჩენი ორი კი - ენანტიომერული წყვილები უნდა იყოს. ინოზიტოლის იზომერები შეერის აღწერით ნაპოვნი იქნა ბუნებრივ სიმდიდრეებში და საბოლოოდ იდენტიფიცირებული იყო როგორც ჰექსაკისფოსფატის ეთერი, ფიტინის მჟავა, რომელიც ბევრი საკვები პროდუქტის კომპონენტია, როგორცაა ხორბლი. იმისათვის რომ, განესხვავებინათ ბუნებაში გავრცელებული იზომერი სხვა 8 იზომერისაგან, მას დაარქვეს მიო-ინოზიტოლი. როდესაც ხმარობენ ტერმინს „ინოზიტოლი“ პრეფიქსის გარეშე იგულისხმება მიო-ინოზიტოლი, მაშინ როცა ინოზიტოლებად მოიხსენიება ცხრავე. ინოზიტოლი არის ერთ-ერთი ზრდის ფაქტორი, რომელიც საჭიროა რიგი მიკროორგანიზმებისათვის (Eastcott *et. al.*, 1928). ლაბორატორიულ ვირთაგვებში ინოზიტოლის მიხედვით საკვების დეფიციტი არ შეიძლება ადვილად დემონსტრირდეს, რადგან ინოზიტოლი ყველგანაა გავრცელებული და ზოგ ქსოვილს აქვს უნარი გარდაქმნას D-გლუკოზა-6-ფოსფატი D-ინოზიტოლ-3-ფოსფატად, რომელიც შემდეგ დეფოსფორილდება ინოზიტოლად. ასევე ინოზიტჰექსაფოსფატის მჟავას საკვებთან ერთად მიღება ზოგჯერ ზრდის თავისუფალი ინოზიტოლის დონეს. იდენტიფიცირებულია ადამიანის ინოზიტოლზე დამოკიდებული კულტურული უჯრედების ხაზი. ზოგიერთ მათგანს შეუძლია ინოზიტოლის სინთეზი მაგრამ არა ზრდისათვის საჭირო დონის არსებობის დროს (Eagle *et. al.*, 1960).

ადამიანი საკვებიდან იღებს ინოზიტოლს 1გ/დღეში ოდენობით (Holub *et. al.*, 1986). 4გ/დღეში სინთეზირდება ღვიძლის მიერ (Clements & Diethelm 1979). ტვინი და სათესლეები ასევე ასინთეზირებს ინოზიტოლს (Hauser & Finelli 1963), მაგრამ ღვიძლი ძირითადი ორგანოა, სადაც ხდება მისი კატაბოლიზმი და ექსკრეცია. ინოზიტოლის დეგრადაცია ხორციელდება სპეციფიკური ოქსიგენაზების საშუალებით, რომლებიც ხლეჩენ მაღალმოლეკულური სპირტის რგოლს D-გლუკურონიდის მჟავის წარმოქმნით (Arner *et. al.*, 2001). ეს უკანასკნელი შემდეგ

მეტაბოლიზდება ღვიძლში D-ქსილულოზა-5-ფოსფატის წარმოქმნით, რომელიც შემდეგ ჩაერთვება პენტოზოფოსფატურ გზაში.

ნერვულ სისტემაში ინოზიტოლის სპეციფიკური ფუნქციის შესახებ მოსაზრება პირველად გამოითქვა მას შემდეგ, რაც მისი დიდი რაოდენობა იქნა აღმოჩენილი სხვადასხვა სახეობის ცხოველის თავის ტვინში (Long *et. al.*, 1961). ფოლჩმა დაადგინა, რომ ცეფალინი შეიცავს ლიპიდ-დაკავშირებულ ინოზიტოლს (Folch & Woolley 1942), რომელიც შესაძლოა არის ერთი ამ სამთაგან: ფოსფატიდილინოზიტოლი, ფოსფატიდილინოზიტოლ-4,5-ბიფოსფატი, ფოსფატიდილინოზიტოლ-4-ფოსფატი. ინოზიტოლ ლიპიდების მეტაბოლურად ძლიერი აქტივობა პირველად ნანახი იქნა მანომეტრულ სწავლებებში, მოგვიანებით კი  $^{32}\text{P}$  მონიშვნით. საბოლოოდ შეფასებით შეიძლება აიხსნას, იმით რომ ისინი არიან ფოსფონოზიტოლ-მედიატორული სიგნალის ტრანსდუქციური სისტემის კომპონენტები (Berridge 1987).

დერივატებული ციკლიზოლები, განსაკუთრებით მეთილის ეთერები, ასევე მონაწილეობენ მცენარის ზრდის პროცესში. სქილო-ინოზიტოლი გვხვდება ადამიანის ტვინში 5-დან-12%-მდე (Seaquist & Gruetter 1998). ვირთაგვასა და ბოცვრის ტვინი შეიცავს ეპიმერაზებს, რომლებიც გარდაქმნიან მიო- და სქილო-ინოზიტოლებს მიო-სქილო-ინოზიტოლის, როგორც შუალედური პროდუქტის წარმოქმნის ხარჯზე, მიო- და სქილო-ინოზიტოლის იზომერების დონე შეიძლება გაიზომოს  $^1\text{H}$  სპექტრულ ბირთვულ მაგნიტური რეზონანსული მეთოდით. არ არის ცნობილი სინთეზირდება თუ არა ტვინში სქილო-ინოზიტოლი ან რამდენი ტრანსპორტირდება სისხლიდან ტვინში. ძუძუმწოვრების ტვინში აღმოჩენილია ნეო-ინოზიტოლი, თუმცა უფრო მცირე კონცენტრაციით (Sherman *et. al.*, 1971). მცირე რაოდენობით წარმოქმნილი ქირო-ინოზიტოლი ვირთაგვის ტვინში აღმოჩენილი იყო  $^3\text{H}$ -იანი მიო-ინოზიტოლის ინტრაპერიტონიალური ინექციის შემდეგ. დღეისათვის ინოზიტოლის ფოსფატები, გარდა მიო-ინოზიტოლ ფოსფატებისა არ არის აღმოჩენილი ტვინში ან სხვა ცხოველურ ქსოვილებში. თუმცა დადგინდა, რომ ამებიაზის გამომწვევი *Entameba histolitica* შეიცავს ნეო-ინოზიტოლურ ფოსფატებს (Martin *et. al.*, 2000).

#### 1.4.2. ინოზიტოლის გავრცელება ცნს-ში და სხვა ნეირონულ ქსოვილებში

ქსოვილებიდან და სხვა ბიოლოგიური ნიმუშებიდან ინოზიტოლის იზოლირება შესაძლებელია თხელშრიანი ქრომატოგრაფიის, შემდგომი დერივატიზაციის, გაზურ-თხევადი ქრომატოგრაფიის საშუალებით როგორც ნერვულ ისე არანეირონულ ქსოვილში ინოზიტოლი არის მხოლოდ ცალკეულ განყოფილებებში (Wolfson *et. al.*, 2000). თუ დავუშვებთ, რომ ტვინის 1 გრამი სველი ქსოვილი შეიცავს 100 მგ ცილას და მისი მშრალი წონა სველის 20 %-ს შეადგენს, მაშინ ტვინის დიდ რეგიონებში და პერიფერიულ ნერვულ უჯრედებში ინოზიტოლის კონცენტრაცია 2-15 მმოლამდე მერყეობს. საზურგტვინე სითხეში მისი კონცენტრაცია 120 მიკრომოლია, ხოლო პლაზმაში - 2 მიკრომოლი. ცხოვრების განმავლობაში ინოზიტოლის კონცენტრაცია ცვლილებებს განიცდის. ადამიანის თავის ტვინში წლოვანებასთან ერთად იკლებს ინოზიტოლის რაოდენობა. ინოზიტოლი ასევე წარმოქმნისთანავე იკარგება როცა უჯრედი დგება საფრთხის წინაშე. უცნობია რა გზით ხდება ნერვულ და გლიურ უჯრედებში ინოზიტოლის კონცენტრაციის გაზრდა. ექსპერიმენტული მონაცემები მიუთითებს, რომ ინოზიტოლი უმთავრესად ან პრაქტიკულად მთლიანად გლიაშია ლოკალიზებული, თუმცა პურკინიეს ნეირონები კატაში ინოზიტოლის მაღალი კონცენტრაციებით ხასიათდებიან (Fisher *et. al.*, 2002).

#### 1.4.3. ინოზიტოლის კონცენტრაციების შესანარჩუნებელი მოლეკულური მექანიზმები

ინოზიტოლის ფოსფატური მეორეული მესენჯერების რეციკლიზაციის გარდა, უჯრედი მისი შიდაუჯრედული კონცენტრაციის შენარჩუნებას სამი განსხვავებული მექანიზმით ახდენს: 1) ინოზიტოლის ტრანსპორტირება პლაზმური მემბრანის გასწვრივ სპეციფიკური მოლეკულა-გადამტანის საშუალებით; 2) D-ინოზიტოლ-3-ფოსფატის სინთეზი D-გლუკოზო-6-ფოსფატიდან და 3) ინოზიტოლის გამოდინება, რომელიც რეგულირდება მოცულობა-მგრძნობიარე ორგანული ოსმოლიტური არხებით.

### 1.4.3.1. Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლ ტრანსპორტერი

ინოზიტოლის კონცენტრაცია ნეირონულ უჯრედებში აჭარბებს პლაზმაში მის კონცენტრაციას ფართო ზღვრით 2-500-ჯერამდე (Sigal *et. al.*, 1993). პოლიოლის კონცენტრაცია საწყისად შეუღლებულია გაჯერებულ Na<sup>+</sup>-დამოკიდებულ შთანთქმის მექანიზმთან, რომელიც ავლენს მაღალ მგრძნობელობას ინოზიტოლის მიმართ. ეს ხორციელდება Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერი მოლეკულით, რომელიც თავის მხრივ კლონირებულ იქნა MDCK უჯრედებიდან (Kwon *et. al.*, 1992). მათი დნმ 718 ამინომჟავისაგან შემდგარი ცილაა მემბრანის გამჭოლი 12 ტრანსმემბრანული დომენით (მოლეკულური წონით 79,5 კდალტონი). Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის ორივე ამინო- და კარბოქსი- ბოლოები ციტოპლაზმურია და გააჩნიათ რამდენიმე პოტენციური ფოსფორილირების საიტი, პროტეინკინაზა A-ს ან პროტეინკინაზა C-სთვის ნაწილი არის ციტოპლაზმური დომენები. Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერი ავლენს 40-50% ჰომოლოგიას Na<sup>+</sup>/D-გლუკოზის კოტრანსპორტერთან კურდლის ნაწლავის მუკოზასთან და თირკმლის პროქსიმალურ მილაკებთან (Coady *et. al.*, 1990). ადამიანის Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერი ავლენს უმაღლეს ჰომოლოგიას ძალის ტრანსპორტერთან (Berry *et. al.*, 1995). ადამიანის Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მაკოდირებელი გენი (SLC5A3) არის კომპლექსური ტრანსკრიფციული ერთეული, რომელიც შედგება ალტერნატიული სპლაისინგით მიღებული სულ მცირე 5 ეგზონისაგან (Porcellati *et. al.*, 1998), იგი ზეექსპრესიას განიცდის დაუნის სინდრომის დროს.

Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მოქმედების მექანიზმები დეტალურად იქნა გამოკვლეული თირკმელებიდან კლონირებული გენის *Xenopus*-ის ოციტებში ექსპრესიით (Hager *et. al.*, 1995). ინოზიტოლის შთანთქმა არის pH-დამოკიდებული და მოითხოვს ნატრიუმის ორ იონს. მაქსიმალური შთანთქმის ნახევარი მიიღწევა 50 მკმოლზე. ფლორიზინი წარმოადგენს კონკურენტულ ინჰიბიტორს. მიო- და სქილო-ინოზიტოლები კი წარმოადგენენ უპირატეს სუბსტრატებს ტრანსპორტერისათვის.

მ-რნმ-ის ექსპრესიის მიხედვით Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერი ფართოდაა გავრცელებული ცნს-ში და აღმოჩენილია ნერვულ და არანერვულ

უჯრედებში. არსებობს მნიშვნელოვანი რეგიონალური განსხვავება  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მ-რნმ-ის ექსპრესიის მიხედვით: ყველაზე მაღალი დონე აღინიშნება ქოროიდ პლექსუსში, ლოკუს კორელიუსში, ჰიპოკამპსა და პურკინიეს უჯრედებში (Fisher *et. al.*, 2002).

მიუხედავად იმისა, რომ  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მ-რნმ-ის განაწილება არათანაბარია, ტვინის ყველა უბანს ახასიათებს ტრანსკრიფციის ფაქტორი ამ ტრანსპორტერისთვის (Inoue *et. al.*, 1996). განვითარების მხრივ, როგორც  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მ-რნმ-ის, ასევე შესაბამისი ცილოვანი მოლეკულის ექსპრესია ნანახია ჩანასახოვან ტვინში და ქვეითდება პოსტნატალურში (Guo *et. al.*, 1997). ექსპრესიის ასეთი სახე შესაძლოა დაკავშირებული იყოს ინოზიტოლის მაღალ კონცენტრაციასთან ჩანასახოვან ტვინის სითხეში. თირკმელი და ტვინი რადიკალურად განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის ექსპრესიის სურათით განვითარების პროცესში. კერძოდ, თირკმელში  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მატრიცული რნმ-ის ექსპრესია დაბალია ემბიოგენუზის დროს და საგრძნობლად იმატებს დაბადების შემდეგ (Guo *et. al.*, 1997).  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის ექსპრესიაც და აქტივობაც რეგულირდება რიგი ფაქტორებით, ყველაზე კარგად დასაბუთებულია ოსმოსური სტრესის დროს. ეს ნაჩვენებია *in vivo* (Ibsen & Strange 1996) და *in vitro* ცდებით კულტივირებულ გლიაზე (Strange *et. al.*, 1991; Isaacks *et. al.*, 1997), ნეირობლასტებზე (Wiese *et. al.*, 1996) და ადამიანის NT2-N ნეირონებზე (Novak *et. al.*, 1999). ჰიპეროსმოსური სტრესის საპასუხოდ  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მატრიცული რნმ-ის ექსპრესია იზრდება რამდენჯერმე, რაც ვლინდება ტრანსპორტერის აქტივობითაც. ვირთაგვებში  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის რნმ რაოდენობა იზრდება სტრესიდან რამდენიმე საათში და წინ უსწრებს ტრანსპორტერის აქტივობის ზრდას (Ibsen & Strange 1996). როდესაც უჯრედები უბრუნდებიან იზოოსმოსურ მდგომარეობას,  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მ-რნმ-ის დონე სწრაფად მცირდება და ინოზიტოლი ნელ-ნელა იკარგება პასიური გზით. მაშინ როცა,  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერი

თანაბრადაა განაწილებული ტვინში. ჰიპერტონურ მდგომარეობას მხოლოდ განსაზღვრულ უბნებში სდევს მისი რნმ-ის ექსპრესიის ზრდა (Ibsen & Strange 1996). Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მ-რნმ-ის ზრდა ასევე შესწავლილია ინტრაპერიტონიულად კაინის მჟავის შეყვანის შემდეგ. ზემოქმედება რომელსაც თან სდევს ნეირონების განმუხტვა და ადგილი აქვს უჯრედშიდა ელექტროლიტების გაზრდას. Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მ-რნმ-ის მომატება ყველაზე მკვეთრად გამოხატულია ფრონტალური და პარიეტალურ კორტექსში (Nonaka *et. al.*, 1999).

Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის ექსპრესია რეგულირდება თვითონ ინოზიტოლითაც. მაგალითად, როდესაც ნათხემიდან, ქერქიდან, ჰიპოკამპიდან ან ტემპენტუმიდან კულტივირებული ასტროციტების დამუშავება ხდებოდა 400 მკმოლი ინოზიტოლით 1-15 დღის განმავლობაში. ადგილი ჰქონდა Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის დროზე დამოკიდებული აქტივობის შემცირებას (Lubrich *et. al.*, 2000). ამისგან განსხვავებით, დიენცეფალონიდან მიღებული ასტროციტების Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის აქტივობა არ რეგულირდება ინოზიტოლით. ამ მონაცემებიდან შეიძლება დასკვნის გაკეთება, რომ ტვინის სხვადასხვა უბანში გვხვდება Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის განსხვავებული იზოფორმები. Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერი შეიძლება რეგულირდებოდეს ანტიბიპოლარული თერაპიული მედიკამენტებით, როგორცაა ლითიუმის იონები, ვალპროატი ან კარბამაზეპინი, რომლებიც ამცირებენ ტრანსპორტერის აქტივობას (Lubrich *et. al.*, 2000). Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის აქტივობა შეიძლება რეგულირდება პროტეინ კინაზა C-თი, რომელიც აინჰიბირებს ტრანსპორტერებს ადამიანის ასტროციტებში და NT2-N ნეირონებში (Fisher *et. al.*, 2002).



### 1.4.3.2. H<sup>+</sup> /მიო-ინოზიტოლის სიმპორტერი

ინოზიტოლის ახალი ტრანსპორტერი ახლახან იქნა გამოყოფილი ძუძუმწოვრებში. ეს მოლეკულა არ წარმოადგენს გლუკოზას ან სხვა ჰექსონების ტრანსპორტერს, არამედ არის H<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის სიმპორტერი (Uldry *et. al.*, 2001). ის წარმოადგენს 618 ამინომჟავურ ნაშთისგან შემდგარ პოლიპეპტიდს, რომელსაც აქვს 12 ტრანსმემბრანული დომენი (მოლეკულური წონა 75-90 კდა). H<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის სიმპორტერი ექსპრესირდება თითქმის მთლიან ნერვულ სისტემაში, განსაკუთრებით ასტროციტებში. H<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის სიმპორტერის ფიზიოლოგიური როლი უცნობია, თუმცა ის უნდა თამაშობდეს დამატებით რეგულატორულ როლს ინოზიტოლის ჰომეოსტაზში. საინტერესოა ორივე ტრანსპორტერის დამოკიდებულება pH-ის ფაქტორზე. ამრიგად, Na<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერი არის პროგრესულად შეფერხებული pH-ის შემცირების დროს (Matskevitch *et. al.*, 1998), ხოლო H<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის სიმპორტერი მაქსიმალურად აქტიურია დაბალი pH-ის დროს. შესაძლოა H<sup>+</sup>/მიო-ინოზიტოლის სიმპორტერის ფიზიოლოგიური მნიშვნელობა განისაზღვროს როგორც ინოზიტოლის ჰომეოსტაზის მარეგულირებელი.

### 1.4.3.3. ინოზიტოლის სინთეზი

ინოზიტოლი სინთეზდება *de novo* გლუკოზისაგან მთელ რიგ ორგანოებში, მათ შორის ტვინში, საკვერცხეებში, თირკმელებში და ღვიძლში. რეაქციას აკატალიზებს ტრიმერული ენზიმი D-ინოზიტოლ-3-ფოსფატსინთაზა. რეაქცია საჭიროებს ნიკოტინამიდადენინდინუკლეოტიდს (დაჟანგული NAD<sup>+</sup>), რომელიც სტიმულირდება NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-ით და K<sup>+</sup>-ით და ინჰიბირდება Li<sup>+</sup>-ით. წარმოქმნილი D-ინოზიტოლ-3-ფოსფატი შემდგომში ჰიდროლიზდება Mg<sup>2+</sup>-დამოკიდებული ენზიმით, ინოზიტოლ-მონოფოსფატაზით, მისი ინჰიბირება შეუძლია Li<sup>+</sup>-ს. ადამიანის NT2-N ნეირონებში სინთაზის აქტივობა არ აღინიშნება (Novak *et. al.*, 1999).

იმუნოციტოქიმიური მონაცემების მიხედვითაც ტვინში ეს ფერმენტები ლოკალიზებულია უპირატესად კაპილარების ენდოთელიუმში (Wong *et. al.*, 1987).

#### 1.4.3.4. ინოზიტოლის გამოყოფა

ჰიპოტონური სტრესის საპასუხოდ ინოზიტოლის გამოყოფა ხდება როგორც ნეირონებიდან, ასევე გლიიდან, გაადვილებული დიფუზიის მექანიზმის საშუალებით, მათ შორის არასპეციფიკური Cl<sup>-</sup>-ის არხებითაც. ელექტროფიზიოლოგიურ გამოკვლევებზე დაყრდნობით, ეს უკანასკნელი განსაზღვრულ იქნა როგორც მოცულობა-დამოკიდებული ორგანული ოსმოლიტის ანიონის არხი (VSOAC) და მონაწილეობს ინოზიტოლთან ერთად ტრიეთილამინების და ამინომჟავების სწრაფ გამოყოფაში. VSOAC-თი განხორციელებული ინოზიტოლის გამოყოფა დამოკიდებულია ატფ-ის არაჰიდროლიზურ დაკავშირებაზე და რეგულირდება G $\alpha_i$  ცილით, პროტეინ-კინაზებით A და C, თიროზინკინაზით და ლიპოქსიგენაზით. VSOAC-ის მოლეკულური მახასიათებლებიდან იდენტიფიცირებულია, რომ არხის ინჰიბირებას ახდენს Cl<sup>-</sup>-ის არხების ბლოკატორები, ნიფლუმის მჟავა და 4,4'-დიიზოთიოციანატოსტილბენ-2,2 დისულფონის მჟავა, ისევე როგორც ცის- არანაჯერი ცხიმოვანი მჟავები (Fisher *et. al.*, 2002).

#### 1.4.4. ინოზიტოლის სავარაუდო როლი ნეიროპათოლოგიურ მდგომარეობაში

ცნობილია მთელი რიგი მდგომარეობები, რომლებშიც ინოზიტოლის დეპოზიციის ცვლილებები განაპირობებენ მის როლს, როგორც ფიზიოლოგიურად მნიშვნელოვანი ოსმოლიტი ან ფოსფოინოზიტოლის წინამორბედი მოლეკულა (Fisher *et. al.*, 2002).

#### 1.4.4.1. ნერვულ სისტემაში მოცულობის რეგულაციის დარღვევა

ნეირონულ და არანეირონულ უჯრედებში ელექტროლიტების გადაადგილება ხდება პლაზმური მემბრანის გასწვრივ და ოსმოსურად აქტიური ნაწილაკების შედგენილობა უჯრედში არის მუდმივი დინების მდგომარეობაში. ოსმოლიტების შემცველობა რომ არ იყოს ასე ზუსტად რეგულირებული, მემბრანაში წყლის დიდი რაოდენობით შესვლას შეეძლო მოცულობის მკვეთრი ცვლილება და უჯრედის დაზიანება გამოეწვია. უჯრედის მოცულობის შესანარჩუნებლად, ტონურობის მკვეთრი ცვლილება რეგულირდება  $\text{Na}^+$ -ის,  $\text{K}^+$ -ის,  $\text{H}^+$ -ისა და  $\text{Cl}^-$ -ის ტრანსპორტით პლაზმურ მემბრანაში, ხოლო ქრონიკული ცვლილება ტონურობაში კონდენსირდება შეთავსებადი ანუ “არამადელევებელი” ორგანული ოსმოლიტების, ძირითადად ინოზიტოლის ტრანსპორტით (Strange 1992).

დაუნის სინდრომის პათოგენეზი ნაწილობრივ მაინც უნდა იყოს დაკავშირებული ინოზიტოლის ფუნქციასთან, როგორც ოსმოლიტთან. ადამიანის 21-ე ქრომოსომის q22-ზოლი, რომელიც შეიცავს  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მაკოდირებელ გენს, განიცდის ტრიპლიკაციას (Berry *et. al.*, 1995), რის გამოც ინოზიტოლის კონცენტრაცია ტვინსა და თავზურგტვინის სითხეში 30-50%-ით უფრო მაღალია, ვიდრე კონტროლში (Huang *et. al.*, 1999). ჩანასახის თავზურგტვინის სითხეში ინოზიტოლის კონცენტრაცია 10-ჯერ უფრო მაღალია, ვიდრე ზრდასრულში, რაც აგრეთვე მატულობს დაუნის სინდრომის დროს. პოლიოლის სიჭარბე დაკავშირებული უნდა იყოს ოსმოლიტებისა და ელექტროლიტების ბალანსის დარღვევასთან განვითარებად ცნს-ში. ინოზიტოლის კონცენტრაცია აგრეთვე მომატებულია Ts65Dn ვირთაგვებში, რომლებიც შეიცავენ მე-16 ქრომოსომის (ადამიანის 21-ე ქრომოსომის ანალოგი) სამმაგ ასლს (Shetty *et. al.*, 2000). როგორც მოსალოდნელი იყო  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის გენის ტრიპლიკაცია იწვევს ინოზიტოლის 50%-ით მომატებას ქერქის ნეირონებში (Acevedo *et. al.*, 1997).

ჰიპერნატრემიის პირობებში ტვინი იმარაგებს ინოზიტოლს, რათა გააწონასწოროს წყლის დანაკარგი (Lee *et. al.*, 1994). თუ ჰიპერნატრემიის გამოსწორება

სწრაფად მოხდა, უეცარი ოსმოსური გრადიენტი იწვევს ტვინის შეშუპებას, რომელიც თავის მხრივ იწვევს კრუნჩხვებს და შესაძლოა სიკვდილსაც, რადგან გაჯირჯვებული ტვინი ვეღარ ეტევა თავის ქალაში. შესაბამისად, ხანგრძლივი ჰიპონატრემია იწვევს ტვინის ინოზიტოლის რეზერვუარების ამოწურვას, ხოლო იზოტონური ხსნარების შეყვანამ შეიძლება გამოიწვიოს ცერებრალური დეჰიდრატაცია, შეჭმუჭვნა და მიელინოლიზი (Videen *et. al.*, 1995).

ინოზიტოლის ტრანსპორტი იცვლება აგრეთვე ინსულტის დროს. ამ ვითარებაში იშემიის ცენტრალური ზონის ირგვლივ ნეირონები ჰიპოტოქსიური ხდებიან შემდგომი ატფ-ის კარგვასთან ერთად. ეს უკანასკნელი იწვევს უჯრედშიდა ელექტროლიტების კონცენტრაციის მომატებას, უჯრედშიდა ოსმოლიტების მომატებას, რაც გამოწვეულია კატაბოლიტების დაგროვებით. ორივე ეს მოვლენა დაკავშირებულია ციტოტოქსიურ ედემასთან, რომელსაც ჩვეულებრივ ეწინააღმდეგება ინოზიტოლის შესვლა. თუმცა, ვინაიდან VSOAC აქტივობას სჭირდება ატფ, ინოზიტოლის შესვლა მცირდება, რაც აძლიერებს ნეირონების გაჯირჯვებას (Fisher *et. al.*, 2002). ტვინის ფიზიკურმა ტრამვამ შეიძლება დაარღვიოს ჰემატონცეფალური ბარიერი, რასაც თან სდევს იონებისა და მაკრომოლეკულების გაჟონვა ტვინის უჯრედგარე სივრცეში, რაც საბოლოოდ იწვევს ვაზოგენურ შეშუპებას და  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მ-რნმ-ის აღმავალ რეგულაციის და უჯრედის ინოზიტოლის მომატებას (Yamashita *et. al.*, 1997).

ინოზიტოლის ტრანსპორტის ცვლილებას ადგილი აქვს აგრეთვე ჰეპატურ ენცეფალოპათიაში. ეს მდგომარეობა დაკავშირებულია ჰიპერამონემიასთან, რომელიც იწვევს ასტროციტების გაჯირჯვებას და ტვინის უჯრედებიდან ინოზიტოლის დაკარგვას (Haussinger *et. al.*, 1994).  $\text{NH}_4^+$ -თან ერთად ინკუბირებული ასტროციტების კულტურაში ადგილი აქვს ინოზიტოლის შთანთქმის მნიშვნელოვან შემცირებას, რაც ასახავს როგორც ინოზიტოლის ტრანსპორტერი მოლეკულების შემცირებას, ასევე მათი აფინურობის შემცირებას ინოზიტოლთან. ამონიუმი ასევე ზრდის ინოზიტოლის გამოსვლას ასტროციტებიდან (Isaacks *et. al.*, 1999). ინოზიტოლის შესვლის შემცირება და გამოსვლის დაჩქარება შეიძლება

წარმოადგენდეს ამონიუმით ინდუცირებული ასტროციტების გაჯირჯვების საწინააღმდეგო ადაპტაციურ ცვლილებას.

#### 1.4.4.2. ბიპოლარული დარღვევები: $\text{Li}^+$ და ინოზიტოლის განლევის ჰიპოთეზა

აღმოჩენა, რომ ლითიუმი სელექტიურად აბლოკირებს ინოზიტოლ მონოფოსფატაზის მოქმედებას, წარმატებით იქნა გამოყენებული ბერიჯისა და კოლეგების მიერ.  $[^3\text{H}]$ -ინოზიტოლის საშუალებით მათ მოახდინეს ინტაქტურ უჯრედებში ლიგანდ-დამოკიდებული ფოსფოინოზიტიდ-დამოკიდებული მეორად მესენჯერული სისტემის აქტივაციის დემონსტრირება (Berridge *et. al.*, 1982). ივარაუდეს, რომ  $\text{Li}^+$ -ის ფსიქოთერაპიული ეფექტი მანიის დროს დაკავშირებული უნდა იყოს მის მიერ ინოზიტოლ მონოფოსფატაზის ბლოკირებასთან (Berridge *et. al.*, 1989), რასაც მოჰყვება ფოსფოინოზიტიდების სინთეზის შესუსტება *in vivo* სისტემაში.  $\text{Li}^+$ -ის შეყვანა იწვევს ინოზიტოლმონოფოსფატის დაგროვებას. როცა ხდება ტვინის ანათლების შენახვა  $\text{Li}^+$ -ის არსებობისას, რეცეპტორების აქტივაცია იწვევს ინოზიტოლის მონო- და ბიფოსფატების წარმოქმნის გაზრდასა და ტრი- და ტეტრაფოსფატების პროდუქციის შემცირებას. განლევის ჰიპოთეზა გულისხმობს იმას, რომ  $\text{Li}^+$  აგრეთვე ამცირებს თავისუფალ ინოზიტოლს, რომელიც საჭიროა როგორც კოსუბსტრატი ციტიდინის დიფოსფოდიაცილგლიცეროლთან ერთად ფოსფატიდინოზიტოლის სინთეზისათვის ფოსფატიდილინოზიტოლ სინთაზას საშუალებით. ინოზიტოლის განლევამ  $\text{Li}^+$ -ის თანაარსებობის დროს, შეიძლება გამოიწვიოს იმ მეტაბოლური პროცესის შენელება, რომლითაც ფოსფატიდილინოზიტოლბისფოსფატი (მესენჯერული ინოზიტოლტრიფოსფატის და დიაცილგლიცეროლის მოლეკულების წინამორბედი) რეგენერირდება. ინოზიტოლის განლევის ჰიპოთეზის მიმზიდველობა მდგომარეობს იმაში, რომ მისი მიხედვით  $\text{Li}^+$ -ის მიერ ინოზიტოლმონოფოსფატაზას ბლოკირებას აქვს არაკონკურენტული ხასიათი: ინჰიბიცია ძლიერდება მისი სუბსტრატის

ინოზიტოლმონოფოსფატის მიერ. ამგვარად, ჰიპერაქტიულ უჯრედებში ფოსფოინოზიტიდის რეციკლირებით და შესაბამისად ინოზიტოლმონოფოსფატების [I(1)P, I(3)P და I(4)P] გაზრდილი პროდუცირებით შესაძლოა ადგილი ჰქონდეს  $\text{Li}^+$ -ის მიერ უფრო მეტ ინჰიბირებას „ნორმალური“ უჯრედების ნაკლები ბლოკირებით, თუმცა ექსპერიმენტებში, როცა ცხოველებში შეჰყავდათ ლითიუმი ადამიანის თერაპიული დოზების ექვივალენტური დოზით, ადგილი ჰქონდა ტვინში ინოზიტოლის კონცენტრაციის მხოლოდ მცირე დაქვეითებას, რომელიც რჩება PI სინთაზასთვის დადგენილ Km-ზე მაღალი (Fisher *et. al.*, 2002). ამის საპირისპიროდ,  $\text{Li}^+$ -ის ბლოკი იწვევს ტვინში ინოზიტოლფოსფატების 20-ჯერ გაზრდას. არსებობს მოსაზრება, რომ სწორედ ეს გაზრდა იწვევს  $\text{Li}^+$ -ის თერაპიულ ეფექტს (Agranoff & Fisher 2001). ნეირონების ზოგიერთი პოპულაცია შეიძლება შეიცავდეს 10-20 mM ინოზიტოლსაც კი. ეს მიუთითებს, იმაზე რომ ინოზიტოლის შემცველობა ასეთ ნეირონებში შეიძლება იმდენად შემცირდეს  $\text{Li}^+$ -ის თანაარსებობის დროს, რომ მნიშვნელოვნად შეანელოს ფოსფოინოზიტიდების ციკლი. ეს წინააღმდეგობა შეიძლება დაძლეულ იქნას, თუ წარმოვიდგენთ, რომ ფოსფოინოზიტიდის ციკლში რეციკლირებული ინოზიტოლი არის უჯრედშიდა რეზერვში, რომელიც გამორიცხავს ტვინის ინოზიტოლის მთავარ მასას. სხვა მოსაზრებით,  $\text{Li}^+$ -ის სამიზნეს შეიძლება წარმოადგენდეს ნეირონების ის პოპულაცია, რომელშიც ინოზიტოლის კონცენტრაცია შედარებით დაბალია. ლითიუმით განპირობებული ციტიდინდიფოსფატდიაცილგლიცეროლის (ფოსფატიდინოზიტოლ სინთაზურ რეაქციაში ინოზიტოლის კოსუბსტრატი) დაგროვების ექსპერიმენტული დადასტურება იქნებოდა ინოზიტოლური სუბსტრატის განლევა. თუმცა, ექსპერიმენტში ციტიდინდიფოსფატდიაცილგლიცეროლის დაგროვებისათვის პირველ რიგში აუცილებელია უჯრედშიდა ინოზიტოლის განლევა, როგორც ამას ადგილი აქვს ტვინის ანათლებზე. უჯრედის კულტურების შემთხვევაში,  $\text{Li}^+$ -ის ქსოვილ-სპეციფიკური უნარი არის გაზარდოს რეცეპტორ-დამოკიდებული ციტიდინდიფოსფატდიაცილგლიცეროლის აკუმულაცია. მაგალითად: ლითიუმი ხელს უწყობს ციტიდინდიფოსფატდიაცილგლიცეროლის აკუმულაციას ნათხემის

გრანულარულ უჯრედებშიც და CHO-M<sub>3</sub> უჯრედშიც კარბაქოლის დამატების შემდეგ. ამგვარი მომატება არ იქნა ნანახი SH-SY5Y უჯრედებში. ეს შედეგი ალბათ დაკავშირებულია ინოზიტოლის მაღალ კონცენტრაციასთან ნეირობლასტომის უჯრედულ ხაზში (Gray *et. al.*, 1994).

#### 1.4.4.3. ინოზიტოლის გავლენა სხვა ნეიროლოგიურ დარღვევებზე

ნანახია ინოზიტოლის პირდაპირი თუ არაპირდაპირი გავლენა ცნს-ის სხვა მთელ რიგ დარღვევებში. მაგალითად, დახვეულ კუდიან (*Curlytail*) ვირთაგვებში (ფოლის მჟავის დაუკავშირებლობის, ნერვული მილის დეფექტის გენეტიკური მოდელი) ინოზიტოლის ინტრაპერიტონული შეყვანა მნიშვნელოვნად ამცირებს დაავადების სინდრომს ჩანასახებში (Greene & Copp 1997). ინოზიტოლის სამკურნალო ეფექტის იმიტირება შეიძლება პროტეინკინაზა C-ს აქტივატორების შეყვანით და შეწყვეტა შეიძლება ლითიუმით. ინოზიტოლის შეყვანას აგრეთვე შეუძლია გააუმჯობესოს ექსპერიმენტული დიაბეტის ნეიროპათიული სიმპტომები. ამ დროს ადამიანის მდგომარეობა დაკავშირებულია Na-K-ატფ-აზას აქტივობის შემცირებასთან და ნერვის გამტარებლობის შენელებასთან. ორივე ეს თვისება საპირისპიროდაა შეცვლილი ვირთაგვებში, რომლებსაც ინოზიტოლთან ერთად ფუკოზას აჭმევდნენ (Greene & Copp 1997).

#### 1.4.5. კაინის მჟავით გამოწვეული კრუნჩხვების რეგულაცია Na<sup>+</sup>/მიო- ინოზიტოლ კოტრანსპორტერით

კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრაცია იწვევს ადამიანის ტემპორალური წილის ეპილეფსიის მსგავს კონვულსიებს. ეს შეიძლება იყოს პერიოდული ლიმბური ტიპის კრუნჩხვები და ასევე შეუქცევადი ნეირონული დაზიანება ცენტრალური ტვინის რეგიონებში. ინტენსიური ნეირონული აგზნების შემთხვევაში Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>-ის მასიური შედინება ხდება წყლის ნაკადით და გამოიწვევს უჯრედის გაჯირჯვებას.

შიდაუჯრედული ელექტროლიტების სტაბილური აწევა ხელს უშლის სხვადასხვა ფერმენტების ნორმალურ ფუნქციონირებას. ზოგიერთ შემთხვევაში, ნეირონული უჯრედები აკუმულირდებიან პატარა ორგანული ოსმოლიტების მაღალი კონცენტრაციების ხარჯზე, რომლებიც არ მოქმედებენ ფერმენტების ქცევაზე. ორგანული ოსმოლიტებს მიეკუთვნება ამინომჟავები (გლუტამინი, გლუტამატი, ტაურინი), მეთილამინები (გლიცეროფოსფორილქოლინი და კრეატინი), პოლიოლები (მიო-ინოზიტოლი). ისინი თამაშობენ მნიშვნელოვან როლს ძუძუმწოვრების ტვინის ოსმორეგულაციაში. მიო-ინოზიტოლი როგორც მთავარი ოსმოლიტი იდენტიფიცირებული იქნა ტვინში. მიო-ინოზიტოლი აკუმულაციას განიცდის სხეულის მრავალ ორგანოში, განსაკუთრებით ტვინში, თვალის ბადურაში, თირკმელში და ემსახურება არა მარტო როგორც ოსმოლიტი. მისი შიდაუჯრედული აკუმულაცია ხდება  $\text{Na}^+$ -დამოკიდებულებით ფლორიზინ-მგრძობიარე მექანიზმით. მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერისთვის კლონირდება **დნმ**.  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლ კოტრანსპორტერი რეგულირდება შიდაუჯრედული წნევით. ნაჩვენები იქნა, რომ **ნმიტ** ასევე რეგულირდება სხვადასხვა პათოლოგიური შემთხვევების დროს ტვინში, ჰიპერნატრემიის, ფოკალური ცერებრალური იშემიის და ტვინის ძლიერი ორგანული დაზიანების დროს. ცხადია, რომ მიო-ინოზიტოლის ადმინისტრაცია ასუსტებს კრუნჩხვების აქტიურობას ვირთაგვებში. ნაჩვენები იქნა, რომ მონიშნული კაინის მჟავით გამოწვეული ლიმბური კრუნჩხვები იწვევს **ნმიტ რნმ**-ის ექსპრესიას ტვინის სხვადასხვა უბნებში. შემჩნეული იქნა ჰიპოკამპის პირამიდული უჯრედების CA3 ველში და დაკბილული გრანულარული უჯრედების ველში პირველ ფაზაში (2 სთ.), შემდეგ 4-6 საათის განმავლობაში **ნმიტ რნმ**-ის ექსპრესია ნანახი იქნა სხვა ლიმბურ სტრუქტურებში, როგორცაა ამიდგალა და პირიფორმკორტექსი (II ფაზა). მესამე ფაზაში (6-12 სთ) ექსპრესიას ადგილი ჰქონდა CA1 ველის პირამიდული უჯრედებში და სომატო-სენსორულ კორტექსში. არსებობენ სხვადასხვა გენები და მათი პროდუქტები რომელთა ექსპრესიაც ცნობილია კაინის ადმინისტრირების შემდეგ, **c-fos**, **c-jun**, **KROX-20**, **KROX-24**, **HSP70** და **HSP72**. დადგინდა, რომ **ნმიტ**-ის ექსპრესიასა და უჯრედის სიკვდილს შორის არის

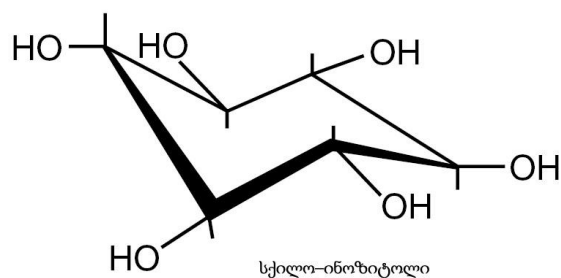


ურთიერთდამოკიდებულება. ფაქტორი, რომელიც იწვევს ნმიტ-ის შემცველი ოსმორეგულატორული გენების ექსპრესიას არის გარეუჯრედული იონური სიძლიერით გამოწვეული. გარეუჯრედული ოსმოლიტი და ინტენსიური ნეირონული ცვლილებები ზრდიან შიდაუჯრედულ ელექტროლიტებს. ამის მიუხედავად, ლოკალურ შიდაუჯრედულ ოსმოლიტს კრუნჩხვების დროს და შემდეგ შეუძლია ნმიტ რნმ-ის რეგულაცია ოსმოლიტური ცვლილებებით. ნეირონული უჯრედები, თირკმლისებრთა უჯრედები და ეპიტალური უჯრედები ქმნიან ნმიტ-ის ტრანსკრიპციას ჰიპერტონიული ინკუბაციის დროს. CA3 ველის პირამიდული უჯრედები, დაკბილული გრანულარული უჯრედები და პირიფორმული კორტექსის უჯრედები აჩვენებენ ძლიერ ეპილეფსიურ აქტივობას. ელექტროფიზიოლოგიურმა მეთოდებმა აჩვენა, რომ კანინის მჟავით გამოწვეული კრუნჩხვები აღმოცენდება ჰიპოკამპში, შემდეგ გადაინაცვლებს ამიდგალას და პირიფორმულ კორტექსში. ნეოკორტექსის ჩართვასთან ერთად ადგილი აქვს ბილატერალურ სინქრონულ განტვირთვას მოტორული კონვულსიების დროს. ამრიგად, ცოცხალ ორგანიზმებში ძლიერი ეპილეფსიური აქტივობა *in vitro* და *in vivo* სწავლებებში დაფიქსირებულია CA3 ველის პირამიდულ უჯრედებში და დაკბილულ გრანულარულ უჯრედებში. საბოლოოდ, ნმიტ რნმ-ის ლოკალიზაცია ხდება კანინის მჟავით გამოწვეული კრუნჩხვების დროს, ექსპრესია იწყება CA3 ველის პირამიდულ უჯრედებში და ბოლოს CA1 პირამიდული უჯრედებში და ნეოკორტექსში ნმიტ რნმ სუსტად იზრდება და მაქსიმუმს აღწევს 12 საათში (Nonaka *et. al.*, 1999).

### 1.4.6. სქილო–ინოზიტოლის დახასიათება

როგორც ავლნიშნეთ ინოზიტოლების ერთერთი იზომერი სქილო–ინოზიტოლი გვხვდება ადამიანის ტვინში რაოდენობრივად დაახლოებით 5-დან 12%-მდე ვიდრე მხო–ინოზიტოლი (Seaquist & Gruetter 1998). დადგინდა რომ, ვირთაგვასა და ბოცვრის ტვინში სპეციფიკური ეპიმერაზები ხელს უწყობენ მხო–ინოზიტოლის სქილო–ინოზიტოლად გარდაქმნას (Sherman *et. al.*, 1968). ბუნებრივი სქილო–ინოზიტოლი მცენარეული შაქრის ალკოჰოლის შემადგენლობში გვხვდება როგორცაა ქოქოსის პალმა.

ქრონიკული ალკოჰოლიზმი ასოცირდება სქილო–ინოზიტოლის დაგროვებასთან თავის ტვინში. ექსპერიმენტულ შედეგებზე დაყრდნობით შეიძლება ითქვას რომ, სქილო–ინოზიტოლი წარმოიქმნება და ვრცელდება ცენტრალურ ნერვულ



სურ.3. სქილო–ინოზიტოლის სტრუქტურა

სისტემაში, მაგრამ ჰეტეროგენული გადატანა ტვინში დეტოქსიკაციიდან რამდენიმე კვირის შემდეგ ხდება. კლინიკურად სიმპტომური ალკოჰოლ–დამოკიდებული ენცეფალოპათიის მაღალ დონეზე დაკვირვებისას სქილო–ინოზიტოლი იღებს მონაწილეობას მეტაბოლურ ენცეფალოპათიაში, რადგან უკავშირდება შემცირებულ N-აცეტილასპარტატს. ასევე ცერებელური სქილო–ინოზიტოლის მაღალი დონე კორელაციაშია გლიურ და ნეირონულ მეტაბოლიზმთან. ამიტომ, სქილო–ინოზიტოლის დაგროვება შესაძლოა წინ უძღოდეს და მონაწილეობდეს სიმპტომური ალკოჰოლური მეტაბოლური ენცეფალოპათიის ჩამოყალიბებაში (Voila *et. al.*, 2004).

სქილო–ინოზიტოლი გამოკვლეული იქნა როგორც პოტენციური თერაპიული აგენტი ამილოიდური დარღვევების დროს როგორცაა ალცჰაიმერის დაავადება. როგორც ცნობილია ალცჰაიმერის დაავადების პათოლოგიის ახსნა ამილოიდ-β-ს აგრეგაციასა და ამილოიდის ფორმირების პროცესშია. სქილო–ინოზიტოლის

სინთეზისათვის სპეციფიკური ფერმენტის არსებობა მიუთითებს მის ფიზიოლოგიურ მნიშვნელობაზე. სქილო-ინოზიტოლი აინჰიბირებს ამილოიდის  $\beta$  პეპტიდის აგრეგაციას მაღალ მოლეკულური მასის ოლიგომერებად თავის ტვინში და აუმჯობესებს ალცჰაიმერის დაავადების რამდენიმე ფენოტიპს. ამით იზომერებში სქილო-ინოზიტოლი ყველაზე ეფექტურია, ვიდრე ეპი-ინოზიტოლი, ხოლო მიო-ინოზიტოლს საერთოდ არ აქვს საგრძნობი ეფექტი (McLaurin *et. al.*, 2000).

ინოზიტოლების სტერეოიზომერების შესაძლო დაკავშირება ამილოიდის  $\beta$ -სთან პატარა სტაბილური კომპლექსების წარმოქმნის ხარჯზე ხდება. ელექტრონული მიკროსკოპით ნანახი იქნა რომ, სქილო-ინოზიტოლი ხელს უწყობს ამილოიდის  $\beta$ 42 პატარა აგრეგატების სტაბილურობას, რომლებიც არატოქსიკურები არიან NGF-განსხვავებული PC-12 უჯრედებსა და ადამიანის პირველად ნეირონულ კულტურებში. ასევე სარწმუნოდ მცირდებოდა A $\beta$ 40-ის, A $\beta$ 42-ისა და სისხლძარღვოვანი ამილოიდის დონეები, ამილოიდური თევზების ზომა (Nitz *et. al.*, 2008).

შედეგებმა *in vitro* და *in vivo* სისტემებში შესწავლისას აჩვენა, რომ ინოზიტოლებს შეუძლია ამილოიდის პეპტიდების ტოქსიკური ეფექტების ინჰიბირება არატოქსიკური წარმონაქმნების ფორმირებით. ინოზიტოლების სპეციფიკური ეფექტურობა საგრძნობლად დამოკიდებულია ჰიდროქსილ ჯგუფის სტერეოქიმიაზე. ჰიდროქსილ ჯგუფების ორიენტაცია იწვევს ამილოიდური პეპტიდთან სპეციფიკურ ურთიერთქმედებას და ეს დამოკიდებულება უშვებს სტაბილურ დაკავშირებას (McLaurin *et. al.*, 2000).

ალცჰაიმერის დაავადებისას ტრანსგენურ თაგვებში სქილო-ინოზიტოლის ორალური ადმინისტრირება აინჰიბირებდა ამილოიდის  $\beta$  პეპტიდის აგრეგაციას მაღალმოლეკულურ ოლიგომერებად ტვინში და აუმჯობესებს რამდენიმე ალცჰაიმერის დაავადების მსგავს ფენოტიპს თაგვებში, ასევე კოგნიტიური დაზიანებების, შეცვლილი სინაფსური პათოლოგიების, ცერებრალური A $\beta$  პათოლოგიების და დაჩქარებული სიკვდილიანობის დროს. თერაპიულ ეფექტებს ადგილი ჰქონდა მიუხედავად იმისა ეს ნაერთები ცხოველებს მიღებული ექნებოდათ

წინასწარ თუ ალცჰაიმერის დაავადების ფენოტიპის ჩამოყალიბების შემდეგ (McLaurin *et. al.*, 2006).

## 1.5. ოსმორეგულატორული გენების ექსპრესიის რეგულაციის გზები

### 1.5.1. ჰიპერტონია – ზოგადი დახასიათება

ცნობილია რომ რიგ პათოლოგიურ შემთხვევებში სისხლში ტონურობის მომატება წინ უსწრებს ნეიროლოგიურ დარღვევებს. როცა სისხლის პლაზმა ხდება ჰიპოტონური პლაზმური წყალი შედის ტვინის პარენქიმაში, ტვინის უჯრედები ივსება წყლით და იწყება შეშუპება. ხოლო როცა სისხლის პლაზმა ხდება ჰიპერტონური წყალი გადმოდის ტვინის პარენქიმიდან პლაზმაში, ტვინის უჯრედები კარგავენ წყალს და იკუმშებიან. უჯრედის შეშუპება და შეკუმშვა ტვინის უჯრედების ფუნქციური და სივრცული ურთიერთობის შედეგია, რომელიც ხშირად ნეიროლოგიური დაავადებების წარმომშობად გვევლინება. თუმცა, ნერვული დაავადებების სიმწვავე მცირდება როცა პლაზმის ოსმოსური დისბალანსი მიმდინარეობს თანდათანობით. გამომდინარე აქედან შეიძლება ითქვას, რომ ტვინის უჯრედები ფლობენ ოსმოპროტექტორულ შემგუებლურ მექანიზმებს უჯრედის საწყისი მოცულობის აღსადგენად (Maallem *et. al.*, 2006).

მარილებისა და წყლის მკვეთრ შედინებას უჯრედში თან ახლავს ორგანული ოსმოლიტების ქრონიკული აკუმულაცია და სიცხით შოკირებადი გენების მკვეთრი აქტივაცია. ზოგადად ჰიპერტონია გულისხმობს წყლის ოსმოსურ გადინებას, რასაც მოსდევს უჯრედების მოცულობის შემცირება და წნევის დაკლება. მოკლე პერიოდში უჯრედები გადაამუშავენ არაორგანული იონებს, რაც ხელს უწყობს უჯრედს აღიდგინოს ნორმალური მოცულობა და წნევა, სასურველ დონეზე მიიყვანოს ზედაპირული შიდაუჯრედული არაორგანული იონების კონცენტრაცია (Burg *et. al.*, 1996).

ლიტერატურაში თირკმელების უჯრედების შესახებ აღწერილია, როგორ მქლავნდება ფიზიოლოგიურად გარეუჯრედული ტონურობა, რისი საფუძველიც

არის უჯრედული ოსმოდაპტორული მოლეკულური მექანიზმები. ორგანული ოსმოლიტების შიდაუჯრედული აკუმულაცია ხელს უწყობს გრძელვადიან ადაპტაციას და ეხმარება უჯრედს აღიდგინოს ნორმალური მოცულობა უჯრედის ფუნქციებზე გავლენის მოხდების გარეშე. ორგანული ოსმოლიტების აკუმულაციის მოლეკულური მექანიზმები მოიცავენ იმ ოსმოპროტექტორული გენების ტრანსკრიფციის და ტრანსლიაციის გააქტივებას, რომელიც აკოდირებენ ამ ოსმოლიტების ბიოსინთეზურ ფერმენტებს ან მათ ტრანსპორტერებს. ეს გენებია ალდოზას რედუქტაზა, რომელიც აკატალიზებს სორბიტოლის წარმოქმნას გლუკოზიდან, ნატრიუმ-დამოკიდებული მيو-ინოზიტოლის ტრანსპორტერი (ნმიტ), ბეტაინ/გაემ ტრანსპორტერი (ბგტ), ტაურინ ტრანსპორტერი (ტაუტ) და ნატრიუმ-დამოკიდებული ნეიტრალური ამინომჟავების ტრანსპორტერი. ამ გენების ტრანსკრიფცია აქტივდება ოსმო-გამომწვევი ტრანსკრიფციის ფაქტორის (TonEBP) დაკავშირებით მოკლე კონსენსუსურ თანამიმდევრობასთან, რომელსაც ეწოდება ტონურობა-მოპასუხე ენჰანსერი ან ოსმო-მოპასუხე ელემენტი. მისი თანამიმდევრობა იდენტიფიცირებულ იქნა ზემოთ ჩამოთვლილი ოსმოპროტექტორული გენების პრომოტერებში, ტონურობა-მოპასუხე ენჰანსერის დამაკავშირებელი ცილა უნდა წარმოადგენდეს NFAT-ის ტრანსკრიფციული ფაქტორების ოჯახის ახალი წევრს და მთავარ ტრანსკრიფციის ფაქტორს ოსმოპროტექტორული გენების გააქტივებისას (Maallem *et. al.*, 2006).

### 1.5.2. ოსმო-გამომწვევი ტრანსკრიფციის ფაქტორის (TonEBP) ექსპრესია

როგორც ოსმოდაპტაციის ასევე ჰიპერტონიის დროს ტვინის უჯრედები შესაძლოა გაწონასწორდეს მსგავსი მექანიზმებით. ტაურინის და მيو-ინოზიტოლის რაოდენობის მომატება ხდება ჰიპერტონიის მქონე ცხოველებში და დაკლება ჰიპოტონიის დროს. ზოგერთი ოსმოპროტექტორული გენების მრნმ-ის დონე იზრდება ჰიპერტონური ცხოველის თავის ტვინის ქსოვილში. ნაჩვენები იქნა, რომ ნეირონების ბირთვებში ტრანსკრიფციული ფაქტორის TonEBP-ის ექსპრესია ხდება

როგორც ბაზისურ პირობებში, ასევე მისი ინდუქცია იზრდება აქტიური სისტემური ჰიპერტონიის გამოწვევისას. როცა არანეირონულ უჯრედებში არ ჩანს TonEBP-ის სარწმუნო ექსპრესია არც ბაზალურ პირობებში და არც სისტემურ გრძელვადიან ჰიპერტონიის გამოწვევისას. ნეირონებში TonEBP-ის ექსპრესია იცვლება ნეირონული უჯრედების სახესხვაობის მიხედვით. ეს შედეგები ერთ მხრივ მიუთითებს, რომ მხოლოდ ნეირონები იყენებენ TonEBP-ით გამოწვეულ პროცესებს ოსმოპროტექტორული გენების აქტივაციისთვის. მეორე მხრივ, ნაჩვენებია იქნა რომ ოსმოპროტექტორული გენების ექსპრესიას ასევე ადგილი აქვს *in vitro* პირობებში ასტროციტების, ენდოთელიური უჯრედების და მიკროგლიის უჯრედული კულტურების ჰიპერტონულ არეში მოთავსებისას. რაც მიუთითებს იმაზე, რომ არანეირონული უჯრედები შეიძლება იყენებდნენ ოსმოპროტექტორულ გენების გააქტივების TonEBP-ზე დამოკიდებული პროცესებს (Maallem *et. al.*, 2006).

როგორც ავლნიშნეთ TonEBP-ის ექსპრესიის მომატება და ბირთვში ტრანსლოკაცია ხდება დეჰიდრატაციის ხარჯზე თირკმელში, რაც იწვევს ოსმოპროტექტორული გენების ექსპრესიას, როგორცაა **ბგტ1**, **ტაუტ**, **ნმიტ** და ასევე ოსმოლიტ სორბიტოლის სინთეზზე პასუხისმგებელი შიდაუჯრედული ფერმენტების ექსპრესიას (Woo *et. al.*, 2002). ოსმოპროტექტორული გენები შესაძლოა გაიზარდოს ტვინში ჰიპერტონიის დროს.

შესწავლილია TonEBP-ის ექსპრესია ანთებით პროცესებში. მიღებული მონაცემები მიუთითებს, რომ TonEBP არეგულირებს ოსმოპროტექტორულ გენებს მხოლოდ ოსმოსური სტიმულის საპასუხოდ და არა ინფლამატორული სტიმულის და ეს რეგულაცია ხდება მხოლოდ შესაბამის ქსოვილებში (Atta *et. al.*, 1999).

გახანგრძლივებული სისტემური ჰიპერტონიის დროს, ტონურ-გამოწვეული მონიშვა შეიჩნეოდა **ნმიტ**-ის ზონდებისათვის და ეს რეგიონები იყვნენ ის უბნები რომლებშიც ტონურ-ინდუცირებულ TonEBP-ის ექსპრესიას არ ჰქონდა სარწმუნოდ ადგილი. რადგან ეს შედეგები იყო მოულოდნელი, მოხდა მათი გადამოწმება სხვა ზონდების საშუალებითაც. ამ დამატებითი ცდების შედეგებმა აჩვენა, რომ რომ **ნმიტ მრნმ**-ის ტონურ-გამოწვეული ექსპრესიის მომატება ხდებოდა ასტროციტებში. ამ

TonEBP-ის დამოუკიდებელ ნმიტ-ს ექსპრესიის მომატებას არ ჰქონდა ადგილი ტვინის არანეირონული უჯრედების უმრავლესობაში. მხოლოდ ზოგიერთ არანეირონულ უჯრედებში ნმიტ მრნმ-ის ექსპრესიის სტიმულირება აღწევს დეტექციის ზღვარს გახანგძლივებული ჰიპერტონიის შემთხვევაში (Maallem *et. al.*, 2006).

ყველა იმ რეგიონში სადაც ნაჩვენებია იყო TonEBP-ის ძლიერი ტონურ-გამოწვეული ექსპრესია, ნმიტ მრნმ-ით მონიშვნას არ ჰქონდა ადგილი. ეს უბნებია II-IV შრე ცერებრალურ კორტექსში, მაგნოუჯრედული ბირთვები ჰიპოთალამუსში, პირამიდული უჯრედები ჰიპოკამპში და პურკინიეს უჯრედები ნათხემში. ეს შეიძლება აიხსნას იმით, რომ რაღაც უცნობი მექანიზმებით ნმიტ გენის ტრანსკრიფციის დათრგუნვას აქვს ადგილი ნეირონებში და ამიტომ არანაირი რეგულატორული პროცესებით მისი გააქტივება არ ხდება (Maallem *et. al.*, 2006).

### 1.5.3. ორგანული ოსმოლიტების ტრანსპორტერები

მიო-ინოზიტოლის ისევე როგორც სხვა ოსმოლიტების, როგორცაა ბეტაინი და ტაურინი, აკუმულაციას ადგილი აქვს ჰიპერტონიის დროს. როგორც ადრე ავღნიშნეთ, მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მაკოდირებელი დნმ კლონირებული იყო (იხილეთ Kwon *et. al.*, 1992) და ექსპრესირებული *Xenopus*-ის ოციტებში. ეს ტრანსპორტერი ნატრიუმ-დამოკიდებულ ინოზიტოლის ტრანსპორტერს წარმოადგენს (ნმიტ) (Burg *et. al.*, 1996). ნმიტ-ის გენის ტრანსკრიფცია იწყება რამდენიმე საათის შემდეგ ჰიპერტონური მდგომარეობიდან, შემდგომში ხდება ნმიტ მრნმ-ის მომატება და იზრდება ინოზიტოლის ტრანსპორტის რაოდენობა უჯრედებში. ამრიგად, ჰიპერტონიის საშუალებით ხდება ინოზიტოლის ტრანსპორტერი გენების ტრანსკრიფციის რეგულირება. ასეთივე რეგულაციას ექვემდებარება ბეტაინის ტრანსპორტერის გენიც.

ჰიპერტონიით გამოწვეული გენების ტრანსკრიფციის ზრდა ბეტაინის და ინოზიტოლის ტრანსპორტერისთვის ალბათ დამოკიდებული უნდა იყოს შიდაუჯრედული ნატრიუმის და კალიუმის იონების მომატებაზე. გაზრდილი

შიდაუჯრედული ნატრიუმის და კალიუმის მარილების კონცენტრაცია შესაძლოა ხელს უწყობს ალდოზის რედუქტაზას მომატებას ტრანსკრიფციის გაზრდით, მაგრამ შესაძლოა ასევე იმატებს ბეტაინის და ინოზიტოლის გენების ტრანსკრიფცია მათი ტრანსპორტირებისთვის. დამატებით შეიძლება აღინიშნოს, ბეტაინის მაღალი რაოდენობა არეში ხელს უწყობს ოსმოტურად გამოწვეულ ალდოზის რედუქტაზას ტრანსკრიფციის ინჰიბირებას და შიდაუჯრედული სორბიტოლის, ინოზიტოლის ან ბეტაინის მაღალი რაოდენობა აინჰიბირებს ოსმოტურად გამოწვეულ ბეტაინის ტრანსპორტირის მრნმ-ის ექსპრესიას. ეს და მსგავსი ურთიერთქმედებები ეფუძვნება თირკმელის ორგანული ოსმოლიტების თანაბარ კონტროლს, საიდანაც მათი მთლიანი კონცენტრაცია არის ხელსაყრელი ჰიპერტონიის ხარისხის მისაღებად. სორბიტოლი, ინოზიტოლი და ბეტაინი არიან საკმაოდ არამსგავსნი ქიმიურად, ამრიგად ნაკლებად სარწმუნოა რომ ყველა მათი ზემოქმედება გენის ტრანსკრიფციაზე პირდაპირ და ერთნაირად ხდება. უფრო სწორია თუ ვიტყვით, რომ არაპირდაპირი ეფექტი ცვლის შიდაუჯრედული მარილის კონცენტრაციას ერთნაირად (Burg *et. al.*, 1996).

ცნობილია, რომ ცილების პოსტ-ტრანსლიაციური მოდიფიკაცია ფოსფორირების გზით არის მნიშვნელოვანი პროცესი, უჯრედის აქტივობის რეგულაციისათვის. ჰიპერტონურობა დაკავშირებულია სულ მცირე სამი მიტოგენ გააქტივებული პროტეინ კინაზების (მგპკ) გზის ინდუქციასთან. თითოეული მგპკ სასიგნალო გზა. შედგება კინაზების კასკადისაგან, რომელთაგან თითოეული საფეხურებრივად ააქტივებს მომდევნო კინაზას ფოსფორირებისას. ქსოვილის კულტურაში ჰიპერტონური სტრესი პირდაპირ და სწრაფად ააქტივებს შემდეგ კინაზებს: RAF-1, MEK და ERK-ს. ეს უკანასკნელი კინაზა თავის მხრივ ააქტივებს რიბოსომულ S6 კინაზას, რომელმაც სიგნალი უკვე ბირთვში შეიძლება გადაიტანოს. თუმცა არ არის ცნობილი, ზუსტად რომელი გენების ექსპრესია რეგულირდება ამ კასკადით. ERK კინაზები აქტივდებიან ფორბოლური ესთერებით და ეს პროტეინ კინაზა C-ს საშუალებით მიიღწევა. ჰიპეროსმოსური სტრესი იწვევს აგრეთვე JNK და P38 სასიგნალო გზების გააქტივებას.



ამრიგად, ჰიპერტონიის დროს ადგილი აქვს ფოსფორილირების რეაქციების მნიშვნელოვან ცვლილებებს და სულ მცირე სამ სხვადასხვა სასიგნალო გზის აქტივაციას. ეს სასიგნალო გზები ერთმანეთთან ურთიერთქმედებაში არიან. სავარაუდოდ, რამდენიმე ამ კინაზებიდან ჩართულია ოსმოსურ რეგულაციაში, მაგრამ არაა ზუსტად ცნობილი რა როლს თამაშობენ განსაზღვრული გენების ოსმორეგულაციაში. ამ სასიგნალო გზების სპეციფიურად ინჰიბირების და გააქტიურების შესწავლა მნიშვნელოვანია საკითხის შესასწავლად (Burg *et. al.*, 1996).

#### 1.5.4. ორგანული ოსმოლიტების როლი ეპილეფსიის დროს

ჩვენს მიერ ლიტერატურის მიმოხილვისას მრავალჯერ იყო აღნიშნული, რომ **გაემ** მთავარი შემაკავებელი ნეიროტრანსმიტერია ძუძუმწოვართა ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში. ის გამონთავისუფლდება ინტერნეირონებიდან და **გაემ**-ერგული სიგნალის შეწყვეტა ხდება **გაემ**-ის უკუშთანქმით ტრანსპორტერების საშუალებით (Medsen *et. al.*, 2010). ბეტაინი/**გაემ** ტრანსპორტერს 1-ს (**გბტ-1**) შეუძლია გადაიტანოს ორგანული ოსმოლიტი ბეტაინი ისევე როგორც **გაემ**, ამიტომ ის წარმოადგენს როგორც ოსმოლიტის, ასევე **გაემ**-ის ტრანსპორტერს. **გაემ**-ის ტრანსპორტერების (**გატ**) სხვადასხვა ფორმა ნანახი იქნა ეპილეფსიის დროს. **გატ1** და **გატ3**-ის ექსპრესია არის დროზე დამოკიდებული ასევე იცვლება კრუნჩხვების აქტივობებთან ერთად. **გატ1** შესაძლოა სწრაფად გაიზარდოს კრუნჩხვების შემდგომ, მაგრამ პროცესი იყოს ქრონიკულად ნაკლებად-რეგულირებადი. **გატ3** კი იზრდება და მცირდება კრუნჩხვითი აქტივობების შესაბამისად (Rowley *et. al.*, 2011). ვირთაგვებში კანინის მჟავით გამოწვეული სტატუს ეპილეპტიკუსის მოდელებში ადგილი აქვს **გბტ1**-ის ექსპრესიის მომატებას სტატუს ეპილეპტიკუსის შემდეგაც (Zhu & Ong 2004).

ოსმოლიტების როგორც ტრანსპორტერების როლი ეპილეფსიის დროს ნაკლებად არის შესწავლილი. ორგანული ოსმოლიტები აკუმულირდებიან უჯრედში და ინახავენ წყალს და თავიდან იცილებენ უჯრედის შეკუმშვას ჰიპეროსმოსურ ხსნარებში უჯრედული ფუნქციების შეუცვლელად (Strange 2004). დეჰიდრატაცია

იწვევს იმ გენების აღმავალ რეგულაციას, რომლებიც პასუხისმგებლები არიან ოსმოლიტების ტრანსპორტირების ან ორგანული ოსმოლიტების ბიოსინთეზური ფერმენტების სინთეზისათვის (Handler & Kwon 2001). ამ მექანიზმით ოსმოლიტების ტრანსპორტირები უჯრედის ზომიდან გამომდინარე ახორციელებენ გარეუჯრედული სივრცის ზომების მოდულაციას. ინტენსიური ნეირონული აქტივობა, ისეთი როგორსაც ადგილი აქვს ეპილეფსიური განმუხტვებისას, იწვევს უჯრედის გაჯირჯვებას და უჯრედგარე სივრცის შემცირებას (Dietzel *et. al.*, 1982). შემცირებული უჯრედგარე არე აძლიერებს ნეირონულ აგზნებადობას, ხოლო უჯრედგარე არეს მომატება ამცირებს ამ აქტივობას (Dudel *et. al.*, 1990; Schwartzkroin *et. al.*, 1998) ამიტომაც, ოსმოსური ჰომეოსტაზი არის აუცილებელი ნეირონული აგზნებადობის კონტროლისთვის. ნანახი იქნა, აგრეთვე რომ კრუნჩხვითი აქტივობები ცვლიან ოსმოსურ სტრესს. ნატრიუმ/მიო-ინოზიტოლის კოტრანსპორტერი სარწმუნოდ იზრდება პოსტ-სტატუს ეპილეპტიკუსის დროს (Nonaka *et. al.*, 1999). უფრო მეტიც, ორგანული ოსმოლიტი ტაურინის დონე იცვლება კრუნჩხვების მიხედვით და ბგტ1-ის ექსპრესია იზრდება კაინის მჟავით გამოწვეული სტატუს ეპილეპტიკუსის საპასუხოდ. აქედან გამომდინარე შესაძლოა დასკვნის გაკეთება, რომ ბეტაინი და ტაურინი, რომლებიც ავლენენ ანტიკონვულსიურ აქტივობებს, გვიჩვენებენ პირდაპირ კავშირს ოსმოსურ სტატუსსა და კრუნჩხვით აქტივობას შორის (Patish *et. al.*, 1996; Junyent *et. al.*, 2009).

ქიმიური სინაფსები ნამდვილად წარმოადგენენ ნეირონული კომუნიკაციის ან დომინანტურ ნორმას ნორმული პირობების დროს, მაგრამ არასინაფსური მექანიზმები შესაძლოა თამაშობდეს კრიტიკულად მნიშვნელოვან როლს ანორმალური მდგომარეობის დროს, როგორცაა ეპილეფსია. რამდენიმე ლაბორატორიულმა კვლევამ ერთმანეთისგან დამოუკიდებლად აჩვენა, რომ დაბალი- $[Ca^{2+}]$  შემცველი ხსნარები, რომლებიც ბლოკავენ ქიმიური სინაფსების ტრანსმისიას, იწვევენ ქრონიკული აქტივობების სპონტანურ გამოვლინებებს ჰიპოკამპური ანათლების შესწავლისას. ეს მიუთითებს იმაზე, რომ ქიმიური სინაფსებისაგან განსხვავებულ ქიმიურ მექანიზმებს ძალუძს ჰიპოკამპური ნეირონების ელექტრული

აქტივობის სინქრონიზაცია. გარეუჯრედული არის ოსმოსურობის ცვლილება ცვლის უჯრედის მოცულობას და უნდა იწვევდეს ნეირონული სინქრონიზაციის არასინაფსური მექანიზმების ეფექტურობის შეცვლას (Dudek *et. al.*, 1990).

გამოითქვა ჰიპოთეზა რომ გარეუჯრედული მოცულობა განსაზღვრავს ნეირონული ურთიერთქმედების არასინაფსური მექანიზმების სიძლიერეს და წარმოადგენს მნიშვნელოვან ფაქტორს ჰიპოკამპური ეპილეპტოგენეზის დროს. ექსპერიმენტების სპეციალურმა სერიამ აჩვენა, რომ როცა ქიმიური სინაფსები დაბლოკილია პრე- და პოსტსინაფსურ არეში, CA1 ჰიპოკამპური პირამიდული უჯრედების ელექტრონული აქტივობების სინქრონიზაცია რჩება მგრძნობიარე გარეუჯრედული სითხის ოსმოსურობის ცვლილებების მიმართ. აღწერილ მონაცემებზე დაყრდნობით, არასინაფსური მექანიზმები ძირითად როლს თამაშობენ CA1 ჰიპოკამპური ნეირონების აქტივობების სინქრონიზაციაში (Dudek *et. al.*, 1990). შემდგომმა კვლევამ აჩვენა, რომ ოსმოსურ ცვლილებებს შეუძლია შეცვალოს ეპილეპტოფორმული აქტივობა *in vitro* და *in vivo* შემთხვევებში. გაზრდილი გარეუჯრედული მოცულობის დროს ჰიპეროსმოსურ პირობებში შესაძლოა სწრაფად მოხდეს ტრანსმიტერის დიფუზია სინაფსური რეცეპტორების გავლით. მეორე მხრივ, ტრანსმიტერის კონცენტრაცია შესაძლოა გაიზარდოს თუ გარეუჯრედული სივრცე მცირდება დაბალი ოსმოსური ხსნარებით. ამრიგად, არასინაფსური მექანიზმები უფრო მეტად მნიშვნელოვანია ოსმოსური ეფექტებისთვის ეპილეპტოფორმული აქტივობის დროს, მას შემდეგ რაც ქიმიური სინაფსები მთლიანად დაბლოკილია (Dudek *et. al.*, 1990).

## 1.6. ცილები რომლებიც მნიშვნელოვანია ეპილეპტოგენეზში

### 1.6.1. $\alpha$ -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლპროპიონატის რეცეპტორი (ამპმრ)

#### 1.6.1.1. ამპმრ-ის ზოგადი დახასიათება

ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში გლუტამატის იონოტროპული რეცეპტორები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ნეიროტრანსმისიის დროს. რეცეპტორების კლასიფიკაციას ახდენენ ფარმაკოლოგიური და ელექტროფიზიოლოგიური თვისებების მიხედვით. იონოტროპული გლუტამატური რეცეპტორები იყოფიან სამ მთავარ ჯგუფად: (ა)  $\alpha$ -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლპროპიონის მჟავა (ამპმ) - ტიპის რეცეპტორები; (ბ) N-მეთილ-D-ასტარტატი (ნმდა) - ტიპის რეცეპტორები და (გ) 2-კარბოქსი-3-კარბოქსიმეთილ-4-იზოპროპენილპიროლიდინი (კაინატური) - ტიპის რეცეპტორები. ეპილეპტოგენეზის პროცესში როგორც ნმდა ასევე ამპმ რეცეპტორები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ (იხ. მიმოხილვისთვის McNamara *et. al.*, 2006).

ამპმ რეცეპტორებს ფუნდამენტური მნიშვნელობა გააჩნია ნერვული სისტემის ფუნქციონებაში. ისინი მონაწილეობენ სინაფსის ფორმაციასა და სტაბილიზაციაში, მათი ფუნქციის რეგულაცია საფუძვლად უდევს სინაფსურ პლასტიკურობას. ამპმ რეცეპტორების (ამპმ-რ) აქტივაციის ცვლილებები ნანახი იქნა რიგი ნეიროპათოლოგიების დროს, როგორცაა ალცჰაიმერის დაავადება და ეპილეფსია. ამპმ-რ-ებთან დაკავშირებული ცვლილებები მკაცრი უჯრედული რეგულაციის ქვეშ ხორციელდება. მოლეკულური და უჯრედული მექანიზმებით კონტროლდება მისი პოსტსინაფსური ჩამაგრება და გადატანა, რის გამოც უჯრედის ზედაპირზე მისი აქტიური ფორმის ექსპრესიას აქვს ადგილი (Kessels *et. al.*, 2009).

#### 1.6.1.2. ამპმ-ის სტრუქტურა და გავრცელება ცნს-ში

ამპმ-ის გლუტამატის იონოტროპული რეცეპტორები ტვინში განაპირობებენ სწრაფ აგზნებით გადაცემას. მათი უმეტესობა ჰეტეროტეტრამერებია და შედგებიან GluR1–GluR4 სუბერთეულებისგან. GluR1 სუბერთეული ძირითად როლს ასრულებს

ჰიპოკამპურ გრძელვადიან პოტენციაში (გვპ) (Hayashi *et. al.*, 2000; Hollmann *et. al.*, 1994) და რეგულირდებიან შიდაუჯრედული კარბოქსი ბოლოს დომენის სხვადასხვა საიტზე ფოსფორილირებით. ფართოდაა შესწავლილი სერინ 831 (სერ831) და სერ845 ამინომჟავების ფოსფორილირების ფუნქციური როლი. სერ831 ფოსფორილირდება კალციუმ-კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II-ისა (კამკII) და პროტეინ კინაზა C-ს მიერ, ხოლო სერ845 პროტეინ კინაზა A-ს მიერ (Barria *et. al.*, 1997).

ზრდასრული ორგანიზმის ჰიპოკამპის ამაგზნებელ სინაფსებში ამჰმ-რები ძირითადად GluR1/GluR2 სუბერთეულებისგან შედგებიან, ხოლო ზოგიერთ შემთხვევაში GluR3/GluR2 სუბერთეულებისგან. ზრდასრულ ტვინში GluR2 განიცდის რნმ-ის ედიტინგს, გლუტამინის მაკოდირებელი 607-ე კოდონი ჩანაცვლებულია არგინინის კოდონით (Kask *et. al.*, 1998).

*In situ* ჰიბრიდიზაციის მეთოდის გამოყენებით ნაჩვენები იქნა, რომ ამჰმ-რები ტვინის სხვადასხვა უბანში სხვადასხვა რაოდენობებით არიან გავრცელებული. ცენტრალური ნერვული სისტემის ჰიპოკამპი, კორტექსის გარე შრე, ოლფაქტორული უბნები, ლატერალური სეპტუმი, ბაზალური განგლია და ამიგდალა მდიდარია GluR1, GluR2 და GluR3 სუბერთეულების შემცველი ამჰმ რეცეპტორით (Keinanen *et. al.*, 1990). GluR4 სუბერთეული ძირითადად დიდი რაოდენობით გვხვდება რეტიკულურ თალამურ ბირთვისა და ნათხემში (Spreafico *et. al.*, 1994). ამჰმ-ს რეცეპტორები ასევე ნაპოვნი იქნა გლიის უჯრედებში, როგორც ჩანს ისინი ჩართულნი არიან აგზნებით ტოქსიკურობაში და იშემიურ პათოლოგიებში (Meng *et. al.*, 1997). ზოგიერთ გლიაში ამ რეცეპტორების აქტივაციამ შესაძლოა გამოიწვიოს ატფ-ის და აზოტის ოქსიდის გამონთავისუფლება, რომლებიც იმოქმედებენ როგორც აუტოკრინული და პარაკრინული მესენჯერები და გავლენას მოახდენენ გლიის მორფოლოგიაზე (Ishiyuchi *et. al.*, 2001).

### 1.6.1.3. ამჰმ და ფოსფორილირება

მნიშვნელოვანია ამჰმ რეცეპტორის ფოსფორილირება და მისი რეგულაციის გზები. GluR1 სუბერთეულის შიდააუჯრედული C დაბოლოების სერ831-ის ნაშთის კამკII-ით ფოსფორილირება (Lee *et. al.*, 2000) მნიშვნელოვნად ზრდის ჰომომერული GluR1-ის შემცველი ამჰმ რეცეპტორის არხის გამტარობას და გლუტამატის დაკავშირების ეფექტურობას. ვინაიდან ამჰმ-რ-ების არხის გამტარობა იზრდება გვპ-ს დროს (Luthi *et. al.*, 2004) და ამ დროს იზრდება ასევე კამკII-ს ექსპრესია CA1 პირამიდულ ნეირონებში, სავარაუდოა რომ კამკII-თი განპირობებული ფოსფორილირება მნიშვნელოვან როლს თამაშობს CA1 ჰიპოკამპური გვპ-ის ადრეულ ფაზაში. თუმცა ჩვეულებრივ პირობებში, ჰიპოკამპში GluR1-ის გარდა ამჰმ რეცეპტორები ასევე GluR2-საც შეიცავენ (Holman *et. al.*, 2007). ჰეტერომერული რეცეპტორები ფოსფორილირებით სხვადასხვანაირად რეგულირდებიან. როდესაც ადგილი არა აქვს ფოსფორილირებას ჰეტერომერული GluR1/GluR2-ის არხის გამტარობა გაცილებით დაბალია, ვიდრე ჰომომერული GluR1-ის შემცველის და კამკII-ს ჰეტერომერშიც ძალუმს სერ831-ის ფოსფორილირება, მაგრამ ამ შემთხვევაში ცვლილება არხის გამტარობაზე არ შეინიშნება (Oh *et. al.*, 2005).

### 1.6.1.4. ამჰმ და სინაფსური პლასტიკურობა

ტვინის ნორმალური განვითარება ემყარება ქიმიურ კომუნიკაციას ნეირონებს შორის სპეციალიზირებულ სინაფსურ საიტებზე. გვიანი ემბრიოგენეზიდან დაწყებული და ადრეული პოსტნატალური ცხოვრებით გაგრძელებული ტვინში წარმოიქმნება ასტრონომიული რაოდენობის სინაფსური კავშირები. ამ სინაფსების უმეტესობა მოქმედებს გლუტამატ-განპირობებული ნეიროტრანსმისიის მეშვეობით. ამ კონტაქტების ადგილზე სინაფსურ ნაპრალში გლუტამატის გამონთავისუფლება წარმოშობს იონთა პოსტსინაფსურ შედინებას, უპირატესად ამჰმ და ნმდა რეცეპტორების გააქტივების მეშვეობით. ამ სინაფსების ფორმაციის და მომწიფებისას

ხორციელდება მრავალი ურთიერთშეთანხმებული პროცესი, მათ შორის: პრე- და პოსტსინაფსური ცილების სინთეზი და წრებრუნვა, ისევე როგორც კონტაქტური ადგილების სტაბილიზაცია, შესუსტება და არასასურველი კონტაქტების ამოღება. გლუტამატერგული სინაფსის მომწიფების მახასიათებელი თვისება არის **ამჰმ** და **ნმდა** რეცეპტორების თანაფარდობის გაზრდა (Ye *et. al.*, 2005).

ამაგზნებელი სინაფსები ხასიათდებიან **ამჰმ**-ტიპის რეცეპტორების სიგნალის გადაცემით და **ნმდა**-ტიპის რეცეპტორების გრძელვადიანი ცვლილებების ამოქმედებით სინაფსურ გადაცემისას: ორივე ეს ასპექტი შეიძლება ჩართული იყოს გრძელვადიანი პოტენციაციის და გრძელვადიანი დეპრესიის მექანიზმებში. მრავალი მექანიზმით შესაძლებელი არის **გვპ** ან **გვდ**-ის რეგულაცია, თუმცა უმრავლეს შემთხვევებში ჩანს ერთი საერთო კონტროლის მექანიზმი პოსტსინაფსური ექსპრესიის დროს სინაფსური **ამჰმ-რ**-ების დამატება ან მოცილება (Bredt & Nicoll 2003).

ზოგადად სინაფსების პლასტიკურობა რეგულირდება პრესინაფსურ საიტზე ცვლილებებით ნეიროტრანსმიტერი მოლეკულების გამონთავისუფლების ან პოსტსინაფსური ნეიროტრანსმიტერი რეცეპტორების რიცხვის, ტიპის ან თვისებების ცვლილებებით. სინაფსური პლასტიკურობის მოდელების *in vitro* კვლევებისას იდენტიფიცირებული იქნა პოსტსინაფსური **ამჰმ** ტიპის გლუტამატური რეცეპტორების რეგულირებული ტრეფიკინგი, როგორც ფართოდ გავრცელებული მექანიზმი აქტიურ დამოკიდებული ცვლილებებისა სინაფსურ ტრანსმისიაში (Bredt & Nicoll 2003). ასევე ცნობილია, რომ სინაფსური **ამჰმ-რ**-ების ტრეფიკინგი დამოკიდებულია სუბერთეულოვან შემადგენლობაზე: 1. სინაფსური სიძლიერე მოიცავს გრძელდაბოლოებიან **ამჰმ-რ**-ის აქტიურ დამატებას სინაფსებზე; 2. სინაფსურ სისუსტეს ადგილი აქვს ყოველი გრძელ ან მოკლედაბოლოების **ამჰმ-რ**-ის სინაფსებიდან აქტიური ენდოციტოზის დროს; 3. მოკლედაბოლოების **ამჰმ-რ**-ისაგან შემდგარი გადაცემა სინაფსებში დამოუკიდებელია აქტივობის და სინაფსური სიძლიერის ცვლილებებისგან (Kessels & Malinow 2009).

### 1.6.1.5. ამჰმ და ეპილეპტოგენეზი

გლუტამატური რეცეპტორის სუბერთეულების იმუნოაქტივობის ცვლილებები კარგად ჩანს ადამიანის ეპილეფსიური ჰიპოკამპის მაგალითზე. ლინდ-ბალტამ აჩვენა (Lynd-Balta *et. al.*, 1996), რომ GluR1-ის და GluR2/3-ის სუბერთეულების იმუნოაქტივობის უნიკალური განაწილება ჰიპოკამპის დენტრიტული მორჩების ყველა მოლეკულური შრეების დონეზე. GluR1-ის სუბერთეულის ექსპრესია ხავსისებურ უჯრედებზე და CA3 პირამიდულ უჯრედებზე აღმოჩენილი იყო მედიალური ტემპორალური წილის ეპილეფსიის მქონე პაციენტების ჰიპოკამპში. ლანეროლმა უჩვენა, რომ GluR1-ის გაზრდილი ექსპრესია ნეირონის *hilus*-ში და CA3 ველში. ხოლო ვატერნის მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ ჰიპოკამპური ამჰმ-ს და ნმდა-ს მრნმ კორელაციაშია არანორმალურ დაკბილული ფაციას ხავსისებურ-ბოჭკოვანი მორჩების წარმოქმნასთან პილოკარპინით გამოწვეული სპონტანური ლიმბური ეპილეფსიის მოდელის დროს (Tang *et. al.*, 2005).

ნეონატალური კრუნჩხვები ასოცირდება ეპილეფსიის რისკის ზრდასთან ხანდაზმულობის დროს, რომლებიც სავარაუდოდ თავისთავად ეპილეპტოგენურია. ნეონატალური კრუნჩხვების წარმოქმნის მთავარი მიზეზი არის ჰიპოქსია. ნეონატალურ პერიოდში მოკლევადიანი ჰიპოქსია საკმარისია კრუნჩხვების გამოწვევისათვის ვირთაგვებში, განსაკუთრებით მაშინ თუ ჰიპოქსიას ვიწვევთ P10-დან P12-ე დღეზე და არა უფრო ადრე ან უფრო გვიან. ჰიპოქსიით გამოწვეული კრუნჩხვები P10-იდან P12-ე დღეზე განაპირობებს გაზრდილ მგრძნობელობას კრუნჩხვებისადმი მომდევნო ცხოვრებაში, რაც ალბათ მიუთითებს ამ ადრეული კრუნჩხვების პროეპილეპტოგენურ თვისებებზე (მიმოხილვისათვის იხ. McNamara *et. al.*, 2006; Koh *et. al.*, 1999)

არსებობს ჰიპოთეზა, რომ ამჰმ რეცეპტორის აქტივაცია შეიძლება იყოს კრიტიკული ამ ადრეული ასაკის (იხ. ზემოთ) კრუნჩხვების წინაეპილეპტოგენურ ეფექტებზე. ეს ჰიპოთეზა ემყარება იმ ფაქტს, რომ ჰიპოქსიური კრუნჩხვებისადმი მგრძნობიარობის პიკი ემთხვეოდა კალციუმის იონების გამტარი ამჰმ რეცეპტორების



ექსპრესიის პიკს. ანუ განვითარების ამ პერიოდში ადგილი აქვს GluR2 სუბერთეულის შედარებით მცირე ექსპრესიას სხვა სუბერთეულებთან შედარებით ნეოკორტექსში და ჰიპოკამპში. ამ ჰიპოთეზას მხარს უჭერს მონაცემები, რომლის მიხედვითაც P10-დან P12-ე პერიოდში კრუნჩხვებიდან იმწამსვე **ამჰმ** რეცეპტორის ანტაგონისტის NBQX-ის შეყვანა აფერხებს მოგვიანებით ცხოვრებაში მაღალ მგრძნობელობას კრუნჩხვებისადმი (Pellegrini-Giampietro *et. al.*, 1997).

ზემოთ მოყვანილი ჰიპოთეზის შემოწმება სხვადასხვა გზით განხორციელდა. ექსპერიმენტების ერთ სერიაში ნაჩვენებია იქნა, რომ თუ ცხოველის განვითარების ამ პერიოდში მიღებულ ჰიპოკამპის ანათლებს მოვათავსებთ დაბალი ჟანგბადის კონცენტრაციის პირობებში, მათ კონტროლთან შედარებით უვითარდებათ უფრო მაღალი ალბათობა მაგნიუმის იონების დაბალი კონცენტრაციით გამოწვეული კრუნჩხვების განვითარებისა ჰიპოკამპის CA1 ველში (Jensen *et. al.*, 1998). ჰიპოქსიიდან 1 საათის შემდეგ გამოყოფილი CA1 პირამიდული უჯრედების მთლიანი უჯრედების პაჩ-კლემპ ჩაწერები მიუთითებს სპონტური IPSC-ის დაბალ სიხშირეზე და ამპლიტუდაზე აღძრული IPSC-ის დაბალ ამპლიტუდაზე. ეს მონაცემები მიუთითებს პირამიდული უჯრედების **გაემ**-ერგული სინაფსური შეკავების შესუსტებაზე. ცნობილია რომ ეს ეფექტი შეიძლება განპირობებული იყოს კალცინერინის გაძლიერებული აქტივობით, რაც ამ ფერმენტის შესაძლო მონაწილეობაზე შეიძლება მიუთითებდეს (Sanchez *et. al.*, 2005). მართლაც ჰიპოქსიიდან 1 საათის შემდეგ მიღებული CA1 ველის ჰომოგენატებში ამ ფერმენტის მომატებული აქტივობა შეიმჩნევა კონტროლთან შედარებით. კალცინერინის მომატებული აქტივობა კორელაციაშია **გაემ**-ა რეცეპტორის  $\beta 2/3$  სუბერთეულების შემცირებულ ფოსფორილირებასთან და ასევე სპონტანური IPSC-ის შემცირებასთან ანათლებში ჰიპოქსიის შემდეგ. ჰიპოქსიური ცხოველებიდან გამოყოფილი ანათლების ინკუბაცია კალცინერინის ინჰიბიტორთან ზრდის CA1 ველის სპონტურ IPSC-ებს. ასევე ნაჩვენებია იქნა, რომ დაბალი ჟანგბადის დონე, ოღონდ GYKI52466 **ამჰმ** რეცეპტორის არაკონკურენტულ ანტაგონისტთან ერთად თავიდან იცილებს კალცინერინის აქტივაციის ზრდას და ამასთან იზრდება IPSC-ს სიხშირე და

ამპლიტუდა CA1 პირამიდულ ველის უჯრედებში. ჰიპოქსიური კრუნჩხვების დროს იზრდება კალციუმის იონების გამტარი ამჰმ რეცეპტორების აქტივაცია P10 ვირთაგვებში. ეს აქტივაცია იწვევს კალცინეირინის გააქტივებას, გაემ-ა რეცეპტორის  $\beta/3$  სუბერთეულის დეფოსფორილირებას და გაემ-ით გამოწვეული სინაფსური ინჰიბიციის შემცირებას CA1 პირამიდულ უჯრედებში. ამ მოვლენების თანამიმდევრობა უნდა იწვევდეს ეპილეპტოგენეზს. ზემოთ აღნიშნულთან თანხმობაშია ის ფაქტი, რომ ცხოველების მკურნალობა კალცინეურინის ინჰიბიტორის FK-506-ის უშუალო ინექციით ჰიპოქსიური კრუნჩხვების დაწყებისას აღკვეთს გაზრდილი კრუნჩხვების სიხშირეს და ხანგრძლივობას 24 საათის შემდეგ ჰიპოქსიის განმეორებითი გამოწვევისას (მიმოხილვისათვის იხ. McNamara *et. al.*, 2006).

იდეას რომ კალციუმის იონების გამტარი ამჰმ რეცეპტორის გაზრდილი აქტივაცია ხელს უწყობს ეპილეპტოგენეზს მხარს უჭერს სხვა სახის მონაცემებიც. GluR2-ის 586-ე ამინომჟავურ ნაშთზე არგინინის არსებობა ანიჭებს ჰეტერომერულ ამჰმ რეცეპტორის არხებს კალციუმის შეუღწევადობის თვისებას. ამ ერთი ამინომჟავას ცვლილება გამოწვეულია ედიტინგის პროცესით, რომლის დროსაც გენეტიკურად კოდირებული გლუტამინის კოდონი იცვლება. თუ ამ კოდონის ედიტინგი ფერხდება ედიტინგის მაკატალიზირებელი ფერმენტის - ადენოზინ დეამინაზას ნოკაუტით ამჰმ რეცეპტორების არხების უმეტესი წილი გვხდება კალციუმის არხის მაღალი გამტარობის მდგომარეობაში. ასეთი ნოკაუტირებული თაგვები ხასიათდებიან კრუნჩხვების განვითარებით და სიკვდილიანობით უკვე 3 კვირის ასაკში. თუმცა როდესაც განვითარების პროცესში ამჰმ რეცეპტორების გადართვა კალციუმის იონების მაღალ გამტარებლურ ფორმაზე ტვინის მხოლოდ რამოდენიმე უბანში ხდებოდა და არა მთელ ტვინში თავიდან აცილებული იყო ნაადრევი სიკვდილიანობა და თაგვების უმეტესობა 2 თვეზე მეტხანს ცოცხლობდა (Krestel *et. al.*, 2004).

როგორც ნმდა რეცეპტორით, ასევე კალციუმის იონების გადინება ამჰმ რეცეპტორის გავლით იძლევა სიგნალს და იწვევს მოლეკულური მექანიზმების

გზების ჩართვას რომლის საბოლოო შედეგია ეპილეპტოგენეზი (McNamara *et. al.*, 2006).

## 1.6.2. კალციუმ/კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II

### 1.6.2.1. კამკ II-ის ზოგადი დახასიათება და ფუნქციები

კალციუმ/კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II (კამკII) მრავალფუნქციური თვისებების მატარებელ სერინ/ტრეონინ კინაზას წარმოადგენს და ის მნიშვნელოვან როლს თამაშობს უჯრედის ფუნქციონირების მრავალ ასპექტში, როგორცაა უჯრედის გაყოფა, დიფერენციაცია, კარდიალური შეკუმშვა და სინაფსური პლასტიკურობა. კამკII-ს გააჩნია სუბსტრატების ფართო სპექტრი და მისი ფუნქციობა დაკავშირებულია მთელ რიგ უჯრედულ ფუნქციებთან (Tsui *et. al.*, 2005).

კალციუმ/კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზაII წარმოადგენს კალციუმით ინდუცირებული სიგნალის ერთ-ერთ მთავარ მედიატორს უჯრედში. ის ახდენს სუბსტრატების ფართო სპექტრის ფოსფორილირებას,  $Ca^{2+}$ -ით განპირობებული ცვლილებების კოორდინირებას და უჯრედული ფუნქციის რეგულიაციას. უჯრედგარე სტიმულის შედეგად კინაზის მიერ ინფორმაციის გადაცემა და უჯრედშიდა კალციუმის მომატება არ არის პასიური პროცესი. ამ ფერმენტის აუტორეგულაცია საშუალებას აძლევს მას აქტიური მონაწილეობა მიიღოს  $Ca^{2+}$ -ის პასუხის მგრძობელობასა და დროულობაში. კამკII-ის გააქტივება შესაძლებელია კალციუმის პიკოვან სიხშირე დამოკიდებული მანერით. კამკII-ს შეუძლია განახორციელოს მოლეკულური გადართვის მსგავსი ქცევა, რასაც გადამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს დასწავლისა და მეხსიერების განსაზღვრული ფორმებისათვის. კამკII-ის როლი კალციუმის სიგნალის ტრანსდუქციაში განისაზღვრება მისი აუტორეგულაციით, იზოენზიმური ტიპით და სუბუჯრედული ლოკალიზაციით (Hudmon & Schulman 2002).

მრავალი ჰორმონით, ნეიროგადამცემით და სხვა სასიგნალო მოლეკულებით ინდუცირებული უჯრედული პასუხები იწვევს მემბრანული რეცეპტორების

აქტივაციას და მეორადი მესენჯერების დონის მომატებას. კალციუმის იონები, ისევე როგორც **ც-ამფ** და დიაცილგლიცეროლი მეორად მესენჯერებს წარმოადგენს. იმდენად რამდენადაც, კალციუმის უჯრედშიდა კონცენტრაცია შენარჩუნებული უნდა იყოს დაბალ დონეზე, მისი კონცენტრაცია მატულობს მხოლოდ სპეციფიკური  $Ca^{2+}$ -მამობილიზებელი სტიმულაციის შედეგად. მემბრანული ტუმბოები და  $Ca^{2+}$ -დამაკავშირებელი ცილები სწრაფად ზრდიან კალციუმის უჯრედშიდა კონცენტრაციას, რაც მათი ეფექტორებისა და სამიზნეების დისკრეტული სივრცობრივი კონტროლის საშუალებას იძლევა. დროებითი ინფორმაცია  $Ca^{2+}$ -ის პიკოვან სიხშირეზე შესაძლოა იყოს ბრძანება შესაბამისი უჯრედული პასუხისა  $Ca^{2+}$ -ის მიმართ (Meyer & Stryer 1991).

როგორც უკვე ნათქვამი იყო,  $Ca^{2+}$ -ის სიგნალებზე უჯრედული პასუხების უმრავლესობა ინდუცირებულია ან მოდულირებულია მრავალფუნქციური კალციუმ/კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზების (**კამკ**) ოჯახით: **კამკI**, **კამკII** და **კამკIV**. ისინი ახდენენ დინამიკური მეორადი მესენჯერის  $Ca^{2+}$ -ის დონის ცვლილებას, ტრანსლაციასა და კოორდინაციას შესაბამის უჯრედულ პასუხებში ფოსფორილირების საშუალებით. ეს პასუხი მდგომარეობს: ცილების სწრაფ, მაღალსპეციფიკურ და შექცევად პოსტ-ტრანსლაციურ მოდიფიკაციაში, რომელშიც ჩართულია ფოსფატის დონორი (**ატფ**) და ფოსფოაქტივატორი ამინომჟავა (სერინი ან ტრეონინი) სუბსტრატულ ცილოვან მოლეკულებში. იმ პროტეინკინაზებს, რომლებიც რეგულირდებიან  $Ca^{2+}$ -ის იონებით და უნივერსალური უჯრედშიდა  $Ca^{2+}$ -ის რეცეპტორის კალმოდულინის საშუალებით, გააჩნიათ როგორც საერთო, ასევე უნიკალური თვისებები, მათი სტრუქტურის, რეგულაციისა და აქტივაციის თავისებურებების შესაბამისად (Soderling 2001).

### 1.6.2.2. კამკII-ის სტრუქტურა და აქტივაცია

**კამკII**-ის ოჯახის ცილები წარმოდგენილი 30 განსხვავებული იზოფორმისაგან ოთხი განსხვავებული გენის ალტერნატიული სპლაისინგის შედეგად მიიღება.

თითოეული იზოფორმა შედგება კატალიზური, აუტონჰიბიციური და ასოციაციური დომენისაგან ვიწრო ღეროს მსგავსი დანამატით, რომელიც დაკავშირებულია დოდეკამერულ სტრუქტურებს შორის არსებულ ყოველ ჰექსამერულ რგოლთან. თითოეული ამ რეგიონის ფუნქცია დღეისათვის ზუსტად არის განსაზღვრული. ცნობილია, რომ კალციუმ/კალმოდულინის დაკავშირება ააქტივებს ფერმენტს აუტორეგულატორული დომენის დისინჰიბიციის გზით. ეს პროცესი იწყება აუტოფოსფორილების რეაქციით, რაც კალციუმ/კალმოდულინისადმი ფერმენტის მგრძობელობაში კომპლექსურ ცვლილებებს იწვევს. ამ ცვლილებებში იგულისხმება კალციუმ/კალმოდულინისაგან დამოუკიდებელი აქტივობის გენერირება და კალმოდულინისადმი თვისობის მნიშვნელოვანი მომატება (Hudmon & Schulman 2002, Lisman *et. al.*, 2002).

ამდენად, კამკII-ის ფუნქციური თავისებურებები პირდაპირ კავშირშია მის უნიკალურ მულტიმერულ სტრუქტურასთან, აუტორეგულაცია-აქტივაციისა და აუტოფოსფორილების უნართან. ყველა იზოფორმის კატალიზური და აუტორეგულაციური დომენების დაახლოებით 89-93% ხასიათდება მსგავსი თანამიმდევრობით (Tobimatsu & Fujisawa 1989). კატალიზური დომენი შეიცავს ატფ და სუბსტრატდამაკავშირებელ საიტებს, აკატალიზებს ფოსფოტრანსფერაზულ რეაქციებს (Lisman *et. al.*, 2002).

კამკII-ის აქტივაცია შეიძლება განხორციელდეს სხვადასხვა დონეზე, დროის განსხვავებულ ეტაპებზე, რაც დამოკიდებულია  $Ca^{2+}$ -ის იონების კონცენტრაციაზე და იმ ფოსფატაზების თვისებებზე, რომლებიც ახდენენ კინაზის დეფოსფორილებას. სუსტმა სიგნალმა შეიძლება გაააქტიუროს კინაზა, მაგრამ არ მოხდეს აუტოფოსფორილება. ამ შემთხვევაში სუბერთეულები, რომლებიც  $Ca^{2+}$ /კალმოდულინს უკავშირდებიან, განიცდიან ინაქტივაციას კალციუმის დონის დაქვეითებიდან 0,1-0,2 წმ-ის შემდეგ. ეს არის კონსტანტური დრო კინაზის მოლეკულიდან კალმოდულინის დისოციაციისა. თუ კალციუმის დონის მომატება გრძელდება დიდხანს, მაშინ ადგილი აქვს აუტოფოსფორილებას. ამავე დროს კამკII შეიძლება დარჩეს ფოსფორილებული მაშინაც კი, როცა კალციუმის დონე

დაიწევს და დაუბრუნდება საწყის მდგომარეობას, რაც გრძელდება მანამდე, სანამ არ მოხდება კინაზის დეფოსფორილირება. ხანმოკლე აქტივაცია დიდად არის დამოკიდებული ფოსფორილირებული სუბერთეულების რაოდენობაზე და, შესაძლოა, ახდენს კალციუმის იმპულსების ინტეგრაციას დროის განმავლობაში (Lisman *et. al.*, 2002).

ხანგრძლივ მდგრად აქტივაციას ადგილი აქვს ხანგრძლივი პოტენციაციის აღძვრის შემდეგ. თეორიული ანალიზი მიუთითებს, რომ აქტივაციის ამ ფორმას ადგილი აქვს იმიტომ, რომ კამკII-ის მოლეკულები სპეციალურ ქიმიურ გარემოში, პოსტსინაფსურ სიმკვრივეში, იქცევიან როგორც ორმხრივი ჩამრთველები. ამ ტიპის ჩართვა ხორციელდება მაშინ, როცა კინაზის საიტების გარკვეული ზღურბლოვანი რაოდენობა არის ფოსფორილირებული. პოსტსინაფსურ სიმკვრივეში ფერმენტი ასეთ მდგომარეობაში შეიძლება დარჩეს საკმაოდ დიდი ხნის განმავლობაში, ვინაიდან კინაზა მოქმედებს უფრო სწრაფად, ვიდრე Thr<sup>286</sup>-ზე მოქმედი ფოსფატაზა (Lisman *et. al.*, 2002).

ასევე ცნობილია რომ, კამკII-ის აქტივაციით გამოწვეული სასიგნალო გზა არაპირდაპირ არეგულირებს აქტინის ციტოჩონჩხს. კამკII და აქტინი ასრულებენ გადამწყვეტ როლს გრძელვადიანი პოტენციაციის გამოწვევის დროს. მისი სასიგნალო ფუნქციის გარდა კამკII თამაშობს სტრუქტურულ როლს აქტინის ფილამენტებთან ერთად, რაც მიუთითებს მის ფუნქციურ და სტრუქტურულ პლასტიკურობაზე დენდრიტულ მორჩებში. აქტინის ფილამენტური ფორმები (ფ-აქტინი), რომელიც რეგულირდება კამკII-ით, განსაზღვრავს პოსტსინაფსური ცილების დაკავშირების საიტს. ცნობილია, რომ ნმდა რეცეპტორის გავლით კალციუმის ნაკადის შესვლა უჯრედში ააქტივებს კამკII-ს. მისი ურთიერთქმედება ფ-აქტინზე ხდება არაპირდაპირი გზით, სხვა კავშირებით კამკII-ის კინაზის აქტივაცია არეგულირებს სასიგნალო კასკადებს რომელთა ჩართვაც ხდება სხვა კინაზების და გუანოზინ-ტრიფოსფატაზას Rho ოჯახის წევრების მიერ. ეს მრავალსაფეხურიანი კასკადი მოდულაციას უკეთებს აქტინ-დაკავშირებულ ცილების კოფილინის და პროფილინის აქტივაციას, რომელიც საბოლოოდ აპოლიმერიზებენ აქტინის ფილამენტებს ან ხელს

უწყობენ მათ დეპოლიმერიზაციას. ამ გზით კამკII თამაშობს ორმაგ როლს სინაფსურ პლასტიკურობაში: ერთი როგორც სასიგნალო მოლეკულა ნეირონული აქტივობის გარდამავალი პერიოდის განმავლობაში და მეორე როგორც სტრუქტურულად მნიშვნელოვანი ნაერთი ბაზალური მდგომარეობის დროს (Okamoto *et. al.*, 2009).

### 1.6.2.3. $Ca^{2+}$ -რეგულირებადი ფერმენტები და ეპილეპტოგენეზი

გაზრდილი შიდაუჯრედული  $Ca^{2+}$ -ის რაოდენობა არის ერთ-ერთი მთავარი ფაქტორი ნეირონული სასიგნალო გადაცემების კასკადის ინიცირებისთვის. გაზრდილი შიდაუჯრედული  $Ca^{2+}$ -ის რაოდენობის ერთ-ერთი ეფექტი შეიძლება იყოს კამკII-ის აქტივაცია. კამკII-ის აქტივაცია დამოკიდებულია კომფორმაციულ ცვლილებებზე რომელსაც ადგილი აქვს  $Ca^{2+}$ /კალმოდულინის ურთიერთქმედებისას. ეს ცვლილებები ააქტივებს კამკII-ს და ზრდის Thr<sup>286</sup>-ის აუტოფოსფორილირებას, რაც ხდის კინაზას ნაწილობრივ დამოუკიდებელს  $Ca^{2+}$ /კალმოდულინისგან. თუმცაღა, კამკII-ის აქტივაცია განისაზღვრება არა მარტო ფერმენტული აუტოფოსფორილირების საფეხურით, არამედ ასევე მისი ნეირონებში ტრანსლოკაციით და მდებარეობის მიხედვით. ნმდა რეცეპტორის აქტივაცია და  $Ca^{2+}$ -ის შესვლა უჯრედში ააქტივებს კამკII-ს, რასაც მოყვება მისი გადაადგილება ციტოზოლიდან ამაგზნებელ სინაფსებში. ეს გადატანა ემსახურება კინაზას მიახლოებას სპეციფიკურ სუბსტრატებთან პოსტსინაფსურ სიმკვრივეში (მიმოხილვისთვის იხ. McNamara *et. al.*, 2006).

კამკII ერთ-ერთი კარგად შესწავლილი ფერმენტია ეპილეპტოგენეზის პროცესში. თავვებში კამკII-ის  $\alpha$ -სუბერთეულის ნულოვანი მუტაციით ადგილი აქვს ლიმბური ეპილეფსიის განვითარებას (Butler *et. al.*, 1995). აგზნების ზრდა დამოკიდებულია გენის დოზაზე, ასეთ ჰეტეროზიგოტებში გვხვდება სტიმულგამოწვეული კრუნჩხვების ხანგრძლივობის ზრდის ტენდენცია ველური ტიპის თავვებთან შედარებით. ამ მონაცემებს მხარს უჭერს მონაცემები, რომლის მიხედვითაც ჰიპოკამპური ნეირონების კულტურების დამუშავება  $\alpha$ კამკII-ის

ოლიგონუკლეოტიდებით იწვევს ეპილეფსიურ განმუხტვებს კულტურაში. ჯამში ეს მონაცემები მიუთითებს, რომ  $\alpha$ კამკII-ის ექსპრესიის შემცირება არის საკმარისი ლიმბური ეპილეფსიის გამოწვევისთვის (Churn *et. al.*, 2000).

ის გენეტიკური და ფარმაკოლოგიური მონაცემები, რომლებიც ზემოთ არის მოყვანილი ლოგიკურად წამოჭრის შეკითხვას განიცდის თუ არა  $\alpha$ კამკII შემცირებას ლიმბური ეპილეფსიის სხვადასხვა მოდელებში ველურ, არა-მუტირებულ თაგვებსა და ვირთაგვებში. სინაფსურ-მემბრანული ცილების  $Ca^{2+}$ /კალმოდულინით გამოწვეული ფოსფორილირების შემცირებას ადგილი აქვს ვირთაგვების ჰიპოკამპში კინდლინგის პროცესში და ეს შემცირებული ფოსფორილირება 8 კვირის შემდეგაც შეიმჩნევა (Wasterlain *et. al.*, 1984). კამკII-ის აქტივაციის შემცირება ნანახი იქნა ასევე ელექტროკონვულსირებული კრუნჩხვების დროს (Yamagata *et. al.*, 2004) და აუდიოგენური განმეორებადი კრუნჩხვებისას (Yechikhov *et. al.*, 2001). 286-ე ნაშთზე ფოსფორილირებით შეფასებული კამკII-ის აქტივაციის შემცირება და ასევე ეგზოგენური სუბსტრატების ფოსფორილირების ან ორივეს ერთად შემცირება, ნაჩვენებია იქნა *in vivo* მოდელებში პილოკარპინის და კაინის მქავით გამოწვეულ სტატუს ეპილეპტიკუსის დროს. ფერმენტული აქტივობის კლება შემჩნეული იყო ასევე მაგნიუმის დაბალი კონცენტრაციის მოდელებში *in vitro* (Churn *et. al.*, 2000). აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ კამკII-ის აქტივაციის შემცირება შეიძლება იყოს თავიდან აცილებული ნმდა რეცეპტორის ანტაგონისტებით რაც ეპილეპტოგენეზის არიდებასაც ითვალისწინებს. საბოლოოდ ნაჩვენებია იქნა, რომ კამკII განიცდის ცვლილებას სუბუჯრედულ განაწილებაში ეპილეპტიფორმული აქტივობის შემდეგ. ზემოთ აღნიშნულ შესწავლებში, კრუნჩხვები გამოწვეული იყო პენტილენტეტრაზოლით, რომლის შედეგადაც კამკII განიცდიდა ტრანსლოკაციას სინაფსურიდან ციტოზოლურ ფრაქციაში. კამკII-ის გადანაწილება ეფექტურად იწვევს სიგნალის გადაცემის დროებით შეწყვეტას პოსტსინაფსურ სიმკვრივესთან, რომელიც შედგება ამაგზნებელი სინაფსებისგან და აშორებს მას წამყვან სინაფსურ სუბსტრატებს (McNamara *et. al.*, 2006).



ბიოქიმიური მონაცემები კამკII-ის შემცირებული აქტივობის შესახებ, გენეტიკურ და ფარმაკოლოგიურ მონაცემებთან ერთად მხარს უჭერს იდეას რომ, კამკII-ის შემცირება ადგილზე საკმარისია იმ მოლეკულური და უჯრედული ცვლილებებისთვის რომ ტვინი გარდაიქმნას ეპილეპტიკურად. დამატებით მისი ტრანსლოკაცია სინაფსიდან ციტოზოლში შეიძლება კიდევ უფრო ამცირებს მის ფერმენტულ აქტივობას სუბსტრატებთან ფერმენტის დაშორების ხარჯზე. კამკII-ის სტრუქტურული თავისებურება ხელს უწყობს მის თვითასოციაციას და მთელ რიგ პოსტსინაფსურ ცილებთან დაკავშირებას. აქტივობის შემცირების სხვა შესაძლებლობები, როგორცაა კამკII-ის შემცირებული რაოდენობა შესაძლებელს ხდის კალმოდულინის კონცენტრაციის გაზრდას, რაც თავის მხრივ ზრდის კალმოდულინის ხელმისაწვდომობას სხვა კალმოდულინ-დამოკიდებული ფერმენტისთვის, მაგალითად როგორცაა კალცინეირინი (Merrill *et. al.*, 2005).

### 1.6.3. სიცხით შოკირებადი ცილა 90

#### 1.6.3.1. სშც90–ის ზოგადი დახასიათება

სიცხით შოკირებადი ცილა 90 (სშც90) წარმოადგენს მოლეკულა ჩაპერონს, რომლის რაოდენობა ეუკარიოტული უჯრედების ციტოზოლში სტრესის არარსებობის დროსაც კი დაახლოებით 1 %-ია. სხვა სიცხით შოკირებადი ცილებისგან განსხვავებით იგი წარმოადგენს ჩაპერონს მხოლოდ ზოგიერთი ცილებისათვის, როგორცაა სტეროიდული ჰორმონების რეცეპტორები და უჯრედული ციკლის კინაზები. უჯრედებში სშც90-ის ექსპრესიის დონე მატულობს სტრესის საპასუხოდ (Buchner 1999). სშც90 საჭიროა მთელ რიგ უჯრედებში მნიშვნელოვანი ფუნქციის მქონე ცილების ფუნქციონირების, დახვევის, სტაბილურობისა და გააქტიურებისთვის, ასევე სასიგნალო ცილებისთვის, რომლებიც ჩართულია ისეთ პროცესებში, როგორცაა უჯრედის გადარჩენა, უჯრედული ციკლის კონტროლი და ტრანსკრიფციული რეგულაცია (Pratt 1998).

### 1.6.3.2. სმც90-ის სტრუქტურა

სმც90 არის დიდი ჰომოდიმერული ცილა, რომლის თითოეული მონომერი წარმოდგენილია N და C ტერმინალური უბნებისაგან (Minami *et. al.*, 1994). სხვადასხვა სამეცნიერო ჯგუფების მიერ ჩატარებულმა სტრუქტურულმა, ბიოქიმიურმა და გენეტიკურმა კვლევებმა აჩვენა, რომ სმც90 წარმოადგენს ატფ-ზე დამოკიდებულ სისტემას, მაგრამ ცილის აქტივობაში ატფ-ის ზუსტი როლი ჯერ კიდევ არ არის დადგენილი. ატფ-თან ურთიერთქმედების შემდეგ სმც90 განიცდის კონფორმაციულ ცვლილებებს (Nishida *et. al.*, 1986). კრისტალოგრაფიული ანალიზებით დადგინდა რომ N ტერმინალური დომენი შედგება 8 ანტიპარალელური  $\beta$  ფურცლისგან და 9  $\alpha$  სპირალისაგან, რომელიც ქმნის 15 გრადუსიან სიღრმის ჯიბის მოდელს. სწორედ ამ უბანში ხდება ცილასთან ატფ-ის დაკავშირება. სადაც  $\beta$  ფურცლები ჯიბის ფსკერზეა განლაგებული, ხოლო სპირალები და მარყუჟები ლიგანდის გარეშემო სივრცეს ქმნიან. გარკვეული სტრუქტურული ჰომოლოგია არსებობს სმც90-სა და დნმ გირაზა B-ს შორის რომელიც ასევე ახორციელებს ატფ-ის დაკავშირებისა და ჰიდროლიზის პროცესებს (Prodromou *et. al.*, 1997). აღსანიშნავია, რომ გარემოში ატფ-ის დამატებისას ან ტემპერატურის მატებასთან ერთად N ტერმინალური უბანი განიცდის სტრუქტურულ ტრანსფორმაციებს, უახლოვდება და უკავშირდება ერთმანეთს. რაც ნათლად გვიჩვენებს, რომ სმც90 საკმაოდ მოქნილია და შეუძლია სხვადასხვა სტრუქტურული ფორმების მიღება (Maruya *et. al.*, 1999) ხოლო მოცემულ უბანში შესაბამისი ინჰიბიტორების დაკავშირება მოლეკულის ინჰიბირებას იწვევს. სმც90-ს კრისტალური სტრუქტურა MC-HSP90, რომელიც შეიცავს შუა სეგმენტისა და კარბოქსი-ტერმინალურ დომენს. მისი სტრუქტურა სამკუთხედის ბიპირამიდულ გეომეტრიის არის, რომელიც აგებულია ჰექსამერული ანსამბლების დიმერებისგან. ხსნარში სმც90 სამი მთავარი ოლიგომერული მდგომარეობით გვხვდება, დიმერის, ტეტრამერის და ჰექსამერის სახით, რომელიც დადგინდა ქრომატოგრაფიის და ანალიზური ულტრაცენტრიფუგის მიხედვით. ახლახანს ნანხი იქნა რომ სმც90-ის

იზოფორმის N-ტერმინალური ატფ-აზური დომენი წარმოდგენილია MC-HSP90-ის მსგავსი ოლიგომერული სტრუქტურით (Lee *et. al.*, 2011)

### 1.6.3.3. სშც90-ის ფუნქციები

სტრესის საპასუხოდ სშც90-ის ექსპრესიის დონე დაახლოებით ათჯერ მატულობს, როგორც ეუკარიოტული, ასევე პროკარიოტული უჯრედების შემადგენლობაში. საფუარის გენეტიკურმა ანალიზმა აჩვენა, რომ სშც90-ს მაღალი კონცენტრაცია აუცილებელ პირობას წარმოადგენს მაღალ ტემპერატურაზე მიკრობის ნორმალური ზრდისთვის. ამრიგად, ორგანიზმის ნორმალური მდგომარეობისას სშც90 ფიზიოლოგიური დონე შესაძლოა წარმოადგენს ბუფერს, რომელიც იცავს ორგანიზმს სითბური შოკის ან სხვა სტრესის დროს არააქტიური ცილების სწრაფი დაგროვებით გამოწვეული დამაზიანებელი შედეგებისაგან.

სშც90 ჩართულია უჯრედის გადარჩენაში და სხვადასხვა სასიგნალო გზაში, რომლებსაც მივყავართ უჯრედის კვდომამდე, აპოპტოზამდე და ნეკროზამდე. ნიკოტინით განპირობებულ აპოპტოზში მხოლოდ სშც90 $\alpha$  არის ჩართული, რაც უჩვენა დნმ-ის ფრაგმენტაციამ და კასპაზა-3-ის აქტივაციამ (Sreedhar *et. al.*, 2004).

### 1.6.3.4. სშც90 და ჰიპერტონურობა

ძუძუმწოვართა უჯრედებში ჰიპერტონურობა ზრდის სიციხით შოკირებადი ცილების გენთა ექსპრესიას, მათ შორის სშც70-ის და  $\alpha$ -B-კრისტალინის. სშც-ები ხელს უწყობენ სხვა ცილების სტაბილიზაციას უჯრედში ტემპერატურული და ჰიპერტონიური სტრესის დროს. ესე ვლინდება მოკლევადიანი დაცვა ორგანული ოსმოლიტების აკუმულაციამდე. გენების აქტივაცია შარდოვანის ზემოქმედებით ზრდის ორი Erg-1 და c-fos მყისიერი ადრეულ გენთა ტრანსკრიფციის ფაქტორის მრნმ-ის დონეს თირკმელების უჯრედულ კულტურებში, მაგრამ არა იმ უჯრედების ხაზებში რომლებიც გამოყოფილი იყო სხვა ქსოვილებიდან (Burg *et. al.*, 1996).

### 1.6.3.5. სშც90 და ნეიროტრანსმიტერის გამოთავისუფლება

**სშც90** ზრდასრულ ძუძუმწოვრების ტვინში განვითარებიდან გვიანდელ ასაკამდე ექსპრესირდება, იგი განსაკუთრებით უზვადაა ლიმბურ სისტემასთან დაკავშირებულ სტრუქტურებში, როგორცაა ჰიპოკამპი. ჯერ კიდევ ათწლეულების წინ ნავარაუდები იყო, რომ **სშც90** მედიატორის როლს უნდა ასრულებდეს ცილების ტრეფიკინგისას. ელექტროფიზიოლოგიური ტექნიკის მეშვეობით ნაჩვენები იქნა, რომ **სშც90** მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სინაფსურ გადაცემაში, როგორც პრესინაფსურ, ასევე პოსტინაფსურ უბნებში, მისი მოქმედების მექანიზმი პრესინაფსისთვის და პოსტინაფსისთვის ურთიერთდამოუკიდებელია. **სშც90** აუცილებელია პრესინაფსურ დაბოლოებაში ნეიროტრანსმიტერის ეფექტური გამონთავისუფლებისათვის. იგი ასევე იმ მოლეკულური მანქანის მნიშვნელოვანი კომპონენტია, რომელიც აუცილებელია პოსტინაფსურ მემბრანაზე **ამპმ-რ**-ების წრებრუნვისთვის (Gerges *et. al.*, 2004).

### 1.6.3.6. სშც90 და ნეიროდეგენერაციული დაავადებები

**სშც90** თამაშობს მნიშვნელოვან როლს ნეიროპათოლოგიური ტრანსფორმაციების რეგულაციაში. როგორც ცნობილია ნეიროდეგენერაციული დაავადებები ასოცირდებიან ცილების აგრეგაციასთან. ამასთან ნანახი იქნა, რომ **სშც90** არეგულირებს ტრანსკრიფციის ფაქტორის (სიცხით შოკირებადი ფაქტორი-1) მოქმედებას და სტრესისაგან დამცავ მექანიზმს. **სშც90**-ის ინჰიბიცია ააქტიურებს სიცხით შოკირებად ფაქტორ-1-ს, რაც იწვევს **სშც70** და **სშც40**-ის წარმოქმნას, რომლებიც ხელს უწყობენ ცილების დისაგრეგაციას და დეგრადაციას. ამრიგად ლიტერატურულ მონაცემებზე დაყრდნობით, ეს ბიოლოგიური თვისებები მიუთითებს **სშც90**-ის ინჰიბიციის ორმაგ თერაპიულ უნარზე ნეიროლოგიურ დაავადებებში. ერთ მხრივ, **სშც70**-ის და სხვა ჩაპერონების ნეირონული აგრეგატების ფორმირების შესაძლებლობიდან და ტოქსიკური ცილების წინააღმდეგ

დამცველობითი უნარით. სშც90-ის ინჰიბიცია შესაძლებელია ფარმაკოლოგიური ჩარევით. მეორე მხრივ, სშც90-ის ინჰიბიცია შესაძლოა აუმჯობესებდეს ცილების ჰიპერფოსფორებას და შემდგომ აგრეგაციას დაზიანებული ნეირონების აქტივობის შემცირებით (Luo *et. al.*, 2008).

## თავი II. მასალა და მეთოდები

### 2.1. კაინის მჟავით და პენტილტეტრაზოლით გამოწვეული კონვულსიების შეფასება

კაინის მჟავით და პენტილტეტრაზოლით გამოწვეული კონვულსიები ფართოდ გამოიყენება სხვადასხვა პრეპარატების ანტიეპილეფსიური თვისებების შესწავლისათვის. ჩვენს ცდებში გამოყენებული იყო ჰელიერის მიერ შემოთავაზებული ოქმი. სამუშაო უმთავრესად ჩატარებული იყო კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიის მოდელებზე ცხოველებში. კაინის მჟავის და პენტილტეტრაზოლის ინექცია ცხოველებში იწვევს კრუნჩხვების და ტონურ-კლონური შეტევების გენერირებას. შეტევები და კონვულსიები ფასდებოდა რესინის მოდიფიცირებული შკალის მიხედვით. კერძოდ, კონვულსიების სიძლიერის შეფასებას ვახდენდით 6 ბალიანი მოდიფიცირებული რესინის შკალის მიხედვით (Recine 1972; Clement *et. al.*, 2003):

- 0 – არანაირი მოტორული კრუნჩხვები;
- 1 – უმოძრაობა, თვალების დახუჭვა, ქოშინი, პირ-სახის მიოკლონუსი;
- 2 – თავის კანკალი და ძლიერი პირ-სახის მიოკლონუსი;
- 3 – ბილატერალური კიდურების კლონუსი არავერტიკალური მდგომარეობაში;
- 4 – ბილატერალური კიდურების კლონუსი და ვერტიკალური პოზა;
- 5 – პოზის დაკარგვა გვერდზე გადავარდნით, რეფლექსური ხტომები, გენერალიზებული კლონური შეტევები;
- 6 – ვერტიკალური მდგომარეობა, უკანა კიდურების გაჭიმვა, გენერალიზებული კლონური შეტევები.

## 2.2. ოლეამიდის ზეგავლენის შესწავლა პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე

ოლეამიდის ზეგავლენას ვსწავლობდით პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე. პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეული კრუნჩხვები ფართოდ გამოყენებულ ტესტს წარმოადგენს ანტიეპილეფსიური პრეპარატების ეფექტურობის შესამოწმებლად (Vogel 2008).

ცდები ტარდებოდა ცხოველების სამ ჯგუფზე. ოლეამიდს (SIGMA) ვხსნიდით დიმეთილსულფოქსიდში (დმსო). დმსო ფართოდ გამოიყენება ფარმაკოლოგიური აგენტების გამხსნელად ნეირომეცნიერებაში, ასევე კუნთოვანი დაავადებების სამკურნალოდ. I ჯგუფის ცხოველებში ინტრაპერიტონიალურად ვახდენდით ოლეამიდის ხსნარის (10 მგ/კგ) შეყვანას, ხოლო II და III ჯგუფის ცხოველები იღებდნენ დმსო-ს და ფიზიოლოგიურ ხსნარებს. 30 წუთის შემდეგ ყველა ჯგუფის ვირთაგვებში ასევე ინტრაპერიტონიალურად შეყვანილი იყო პენტილენტეტრაზოლი (60 მგ/კგ). ცხოველებს ვანაწილებდით ინდივიდუალურ კამერებში და ქცევაზე დაკვირვებას ვახდენდით 1 საათის განმავლობაში, აღირიცხებოდა კონვულსიების სიმძლიერე მოდიფიცირებული რესინის შკალის მიხედვით და გარდაცვლილ ცხოველთა რიცხვი. ადექვატური სტატისტიკური ანალიზისათვის თითოეულ სერიაში ყოველი ჯგუფი წარმოდგენილი იყო 10-10 ცხოველით და ასეთი ექსპერიმენტის რიცხვი იყო 5.

## 2.3. მიო-ინოზიტოლის და სქილო-ინოზიტოლის ზეგავლენის შესწავლა პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე

ექსპერიმენტების ცალკე სერიაში ვახდებდით მიო-ინოზიტოლისა და სქილო-ინოზიტოლის მოქმედების ეფექტების შედარებით შესწავლას პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე.

ცდისთვის ვიყენებდით ი. ბერიტაშვილის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტის ბაზაზე არსებული ვირთაგვების მიმართულებას საშუალო წონით 140-170 გ. პენტილენტეტრაზოლი, მანიტოლი, მიო-ინოზიტოლი და სქილო-ინოზიტოლი მიღებული იყო SIGMA-დან და ადმინისტრირებამდე ვხსნიდით ნორმალურ ფიზიოლოგიურ ხსნარში.

მიო-ინოზიტოლის და სქილო-ინოზიტოლის ადმინისტრირებისთვის საჭირო დოზები შერჩეულ იქნა ლიტერატურულ და პილოტურ შესწავლებზე დაყრდნობით. შერჩევის მთავარ კრიტერიუმს წარმოადგენდა ის, რომ შეყვანილი დოზა ყოფილიყო ტვინში არსებული კონცენტრაციების 3-10%-ის ფარგლებში (Fisher *et. al.*, 2002). პილოტური შესწავლების დროს გამოყენებულმა 1, 2.5 და 5 მგ/კგ სქილო-ინოზიტოლის სხვადასხვა კონცენტრაციებმა მხოლოდ 5 მგ/კგ-ზე აჩვენა ანტიკონვულსიური ეფექტი. მიო-ინოზიტოლის შემთხვევაში პილოტურმა ექსპერიმენტებმა აჩვენა, რომ ანტიკონვულსიური აქტივობა შეიმჩნევა 20 მგ/კგ-ზე ხოლო 30 მგ/კგ გამოიყენებოდა ბიოქიმიური ცვლელელების შესწავლის დროს (Solomon *et. al.*, 2007). ამის გამო ცდების ამ სერიაში გამოვიყენეთ მიო-ინოზიტოლი 30 მგ/კგ კონცენტრაციით, ხოლო მანიტოლის დოზა ექვივალენტური იყო ინოზიტოლების მაღალი კონცენტრაციისა ანუ გამოიყენებოდა 30 მგ/კგ-ზე.

ცდები ტარდებოდა ცხოველების ოთხ ჯგუფზე. ყველა ცხოველი პენტილენტეტრაზოლის (60 მგ/კგ) ადმინისტრაციამდე 30 წუთით ადრე მუშავდებოდა სხვადასხვა ნივთიერებების ინექციით: I ჯგუფის ცხოველები ფიზიოლოგიური ხსნარით, II ჯგუფი – მანიტოლით (30 მგ/კგ), III ჯგუფი – მიო-ინოზიტოლით (30 მგ/კგ) და IV ჯგუფი – სქილო-ინოზიტოლით (5 მგ/კგ). ყველა ნაერთის ადმინისტრირება ხდებოდა ინტრაპერიტონიალურად. თითოეული ცხოველი თავსდებოდა ინდივიდუალურ პლასტმასის კამერებში ერთ საათიანი დაკვირვებისთვის. აღირიცხებოდა კონვულსიების დაწყების დრო პენტილენტეტრაზოლის შეყვანიდან, კრუნჩხვების ხანგრძლივობა, კონვულსიების სიძლიერე მოდიფიცირებული რესინის შკალის მიხედვით და გარდაცვლილ ცხოველთა რიცხვი. ადეკვატური სტატისტიკური ანალიზისათვის თითოეულ



ჯგუფში იყო 10 ცხოველი და ასეთი ექსპერიმენტის რიცხვი იყო 5. მთლიანად ამ ექსპერიმენტული კვლევისთვის გამოყენებული იყო 200 ცხოველი.

#### 2.4. მიო-ინოზიტოლის მოქმედების შესწავლა კაინის მჟავით ინდუცირებული ეპილეფსიური მდგომარეობით გამოწვეულ ბიოქიმიურ ცვლილებებზე

##### *ქცევითი ნაწილი*

სამუშაო უმთავრესად ჩატარებული იყო კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიის მოდელებზე ცხოველებში. როგორც ლიტერატურულ მიმოხილვაში იყო აღნიშნული, ეს მოდელი იმეორებს ადამიანის შუბლის წილის ეპილეფსიის ბევრ ფენომელოგიურ თვისებებს და წარმატებით გამოიყენება, როგორც ეპილეპტოგენეზის ბაზისური მექანიზმების შესასწავლად, ასევე ახალი ანტიეპილეპტოგენური პრეპარატების სკრინინგისათვის (Pitkanen 2002; Leite *et. al.*, 2002).

ცდები ჩატარებული იყო ვისტარის ხაზის მამრ ვირთაგვებზე. ცხოველები მუშავდებოდა კაინის მჟავის (10 მგ/კგ) ინტრაპერიტონიალური ინექციით, რომელიც იხსნებოდა ფიზიოლოგიური ხსნარით. თითოეული ცხოველი თავსდებოდა ინდივიდუალურ პლასტმასის კამერებში 4 საათიანი დაკვირვებისთვის. აღირიცხებოდა კრუნჩხვები და ტონურ-კლონური კონვულსიები ფასდებოდა მოდიფიცირებული რესინის შკალის მიხედვით. ქცევითი დაკვირვების შედეგად ვახდენდით IV-VI ხარისხის კონვულსიების მქონე 28 ცხოველის გადარჩევას. შესაბამისად საკონტროლოდ ამდენივე ცხოველს უკეთდებოდა ფიზიოლოგიური ხსნარის ინექცია.

საექსპერიმენტო ცხოველები შედგებოდა 4 ჯგუფისაგან და თითოეული ჯგუფს ვყოფდით ორ ქვეჯგუფად დეკაპიტაციის დროის მიხედვით. დეკაპიტაციას ვახდენდით ექსპერიმენტის დაწყებიდან ერთი და 28 დღის შემდეგ.

I-II ჯგუფები დაკომპლექტებული იყო ცხოველებით, რომლებსაც IV-VI ხარისხის კონვულსიები განუვითარდათ. კაინის მჟავის შეყვანიდან 6 საათის შემდეგ

I ჯგუფის ცხოველები (კმ+ფიზ) იღებდნენ ფიზიოლოგიური ხსნარის ინექციას და II ჯგუფის ცხოველებს (კმ+მი) დროის იგივე ინტერვალში უკეთდებოდათ მიო-ინოზიტოლის (30 მგ/კგ) ინექცია. ამ ჯგუფების დაყოფა ქვეჯგუფებად ხდებოდა დეკაპიტაციის დროის მიხედვით. მეორე დღეს პირველი ჯგუფის ნახევარი მუშავდებოდა ფიზიოლოგიური ხსნარით და მეორე ჯგუფის ნახევარი კი მიო-ინოზიტოლით. ამ ინექციებიდან 10 საათის შემდეგ ხდებოდა მათი დეკაპიტაცია. დროის ეს წერტილი შეესაბამებოდა ექსპერიმენტის დაწყებიდან 28-30 საათს და მას აღვნიშნავდით როგორც ერთ-დღიანი ცხოველების ჯგუფს.

დარჩენილი კმ+ფიზ ქვეჯგუფის ცხოველები იღებდნენ ფიზიოლოგიური ხსნარის და კმ+მი ქვეჯგუფის ცხოველები მიო-ინოზიტოლის ხსნარის ყოველდღიურ ორჯერად ინექციას 27 დღის განმავლობაში დეკაპიტაციამდე. ექსპერიმენტულ ვირთაგვებზე 25-ე დღიდან 11-12 საათიანი მონიტორინგის შედეგად არ დაფიქსირებულა კრუნჩხვითი აქტივობები. ყველა ჯგუფიდან თითო ცხოველი იყო გარდაცვლილი ექსპერიმენტის მსვლელობისას, შესაბამისად ბიოქიმიური ექსპერიმენტებისთვის გამოიყენებოდა 6 ცხოველისგან დაკომპლექტებული ქვეჯგუფები.

III-IV ჯგუფებში წარმოდგენილი ცხოველები არ მუშავდებოდნენ კანის მჟავით. III ჯგუფის ვირთაგვები (კონ+ფიზ) იღებდნენ ფიზიოლოგიური ხსნარის და IV ჯგუფის ცხოველები (კონ+მი) მიო-ინოზიტოლის ხსნარის (30 მგ/კგ) ყოველდღიურ ორჯერად ინექციას. ამ ჯგუფების ცხოველების დეკაპიტაცია ხდებოდა კანის მჟავით დამუშავებული ცხოველების მსგავსად 1 დღის და 28 დღის შემდეგ. ექსპერიმენტის განმავლობაში ვირთაგვები იმყოფებოდნენ სპეციალურ კამერებში ბუნებრივ დღე-ღამურ ციკლში, სადაც თავისუფლად მიეწოდებოდათ წყალი და საკვები.

დეკაპიტაციის შემდეგ ყველა ცხოველის თავის ტვინიდან ვახდენდით ჰიპოკამპისა და ნეოკორტექსის სწრაფ ექსტირპაციას მშრალ ყინულზე. თითოეული ცხოველის სხვადასხვა რეგიონიდან აღებული ქსოვილი წარმოადგენდა ცალკე ნიმუშს. ექსპერიმენტში გამოყენებული ცხოველების რაოდენობას ვადგენდით ადეკვატური სტატისტიკური ანალიზისთვის აუცილებლობის მიხედვით.

### **ბიოქიმიური ცვლილებების შესწავლა**

მიო-ინოზიტოლის მოქმედების ბიოქიმიური ცვლილებებს ვსწავლობდით გელ-ელექტროფორეზისა და ვესტერ-იმუნობლოტინგის საშუალებით. კერძოდ, შესწავლილი იქნება: 1. გლუტამატის რეცეპტორის **GLUR1**-ის სუბერთეულის რაოდენობრივი ცვლილებები; 2. კალციუმ-კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II-ის რაოდენობრივი ცვლილებები; 3. სიცხით შოკირებადი ცილა 90-ის რაოდენობრივი ცვლილებები.

ტვინის ქსოვილის შესაბამისი უბნების ნიმუშების ჰომოგენიზაციას ვახდენდით შემდეგი შემადგენლობის ხსნარით: 20 მმოლი ტრის-HCl (pH=7.4), 0.32 მოლი საქაროზა, 1 მმოლი ეთილენ დიამინტეტრამარმჟავა და 0.5 მმოლი ეთილენ გლიკოლ-ბის(2-ამინოეთილეთერ)-N,N,N'N'-ტეტრამარმჟავა და ეს ბუფერი შეიცავდა პროტეაზების ინჰიბიტორების კოქტეილს. მიღებულ ჰომოგენატს ვაცენტრიფუგირებდით 1000გ-ზე 10 წუთის განმავლობაში, ბირთვებისგან გასუფთავებული სუპერნატანტი გამოიყენებოდა შემდგომ ექსპერიმენტებში. ნიმუშებს ვამატებდით ნატრიუმის დოდეცილსულფატის (**ნდს**) კონცენტრირებულ ხსნარს, ისე რომ **ნდს**-ის საბოლოო კონცენტრაცია 5% ყოფილიყო. შემდგომში ყველა ფრაქციაში ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრას ვახდენდით 4 პარალელურ სინჯში მიკრო ბიქინინონის მჟავა ცილის განმსაზღვრელი ტესტ-სისტემის საშუალებით (Pierce).

ტვინის შესაბამისი უბნების ნიმუშების ბირთვებ-მოცილებული ჰომოგენატები გამოიყენებული იყო გელ-ელექტროფორეზისთვის. 30 მკგ ცილის შემცველი ტოლი მოცულობის ნიმუშებში ცილების დაყოფა ხდებოდა **ნდს** გელ-ელექტროფორეზის მეთოდით და დაყოფილი ცილები გადაიტანებოდა ნიტროცელულოზის მემბრანაზე ვესტერ-იმუნობლოტინგის საშუალებით. ნიტროცელულოზის მემბრანებზე ცილის გადატანის ეფექტურობის შემოწმებას ვახდენდით *ponceau P* ხსნარით. ნიტროცელულოზის მემბრანებს ვჭრიდით 3 ნაწილად მოლეკულური წონის სტანდარტების მიხედვით, რათა თითოეული იმუნოქიმიური პროცედურებისთვის

მემბრანები გამოგვეყენებინა ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად, შემდეგ ისინი ირეცხებოდა დისტილირებული წყლით და 0.05% Tween20-ის შემცველი ფოსფატური ბუფერით. მემრანების ინკუბაცია ხდებოდა 3% ალბუმინის ფოსფატური ბუფერის ხსნარში დაუკავშირებელი საიტების ბლოკირებისთვის. ფილტრების ზედა ნაწილი მუშავდებოდა ანტისხეულებით **GLUR1**-ის სუბერთეულის მიმართ (Chemicon International), მეორე ნაწილი მონოკლონური ანტისხეულებით **სშც90**-ის მიმართ (SIGMA), მესამე ნაწილი მონოკლონური ანტისხეულებით **აკამკII**-ის მიმართ (Chemicon International), რომელიც შემდეგ ისტრიპებოდა და ახლიდან იღებებოდა ანტისხეულებით აქტინის მიმართ (Santa Cruz Biotechnology Inc.). პირველადი ანტისხეულებით დამუშავების შემდეგ მემბრანები დაუკავშირებელი ანტისხეულების მოცილების მიზნით ირეცხებოდა 0.05% Tween20-ის შემცველი ფოსფატური ბუფერით.

შემდგომი სტანდარტული იმუნოქიმიური პროცედურებისთვის ვიყენებდით პეროქსიდაზათი მონიშნულ მეორად ანტისხეულებს და *Supersignal West Pico* ქემილუმინესცენციური სუბსტრატს (Pierce). ბლოტების ექსპოზიციის ინტენსიური ეკრანული გადატანა ხდებოდა სპეციალურ მგრძნობიარე ფირებზე, რომლებიც წინასწარ სხივდებოდა ძლიერი მოკლევადიანი დასხივების მქონე Sensitise ხელსაწყოთი (Amersham) პასუხის ზუსტი რაოდენობრივი ანალიზისათვის. ფირზე აღნიშნული ხაზების ოპტიკური სიმკვრივეები **GLUR1**-ის, **სშც90**-ის, **აკამკII**-ის და აქტინის მიმართ იზომებოდა Labworks 4.0 (UVP) პროგრამით. აუტორადიოგრამების კალიბრირებას ვახდენდით თითოეულ გელზე წარმოდგენილი 4 სტანდარტული ნიმუშით, რომელიც მზადდებოდა ვირთაგვების თავის ტვინის სხვადასხვა ჰომოგენიზირებული ფრაქციების შერევით. გელ-ელექტოფორეზზე სტანდარტებად დაგვქონდა 15-60 მკგ ცილის რაოდენობის შემცველი სტანდარტული ნიმუშები. ოპტიკური სიმკვრივე იყო სწორხაზოვნად და სარწმუნოდ იზრდებოდა **GLUR1**-ის, **სშც90**-ის, **აკამკII**-ის რაოდენობებზე დამოკიდებულებით. გრაფიკებზე მოცემული მონაცემების მისაღებად, ექსპერიმენტული ნიმუშის თითოეული ხაზის ოპტიკურ სიმკვრივეს ვყოფდით იმ ოპტიკურ სიმკვრივეზე, რომელიც იგივე

აუტორადიოგრამისთვის აგებულ საკალიბრო მრუდზე არის სტანდარტული ცილის 30 მკგ-ის შესაბამისი.

გლუტამატის რეცეპტორის **GLUR1**-ის სუბერთეულის მიმართ გამოყენებული ანტისხეულების დაკავშირების საიტი შეესაბამება 103 კდა მოლეკულური წონის აუტორადიოგრაფიაზე გამოსახულ ხაზებს. სიცხით შოკირებადი ცილა 90-ის მიმართ გამოყენებული ანტისხეულების დაკავშირების საიტი შეესაბამება 86 კდა მოლეკულური წონის აუტორადიოგრაფიაზე გამოსახულ ხაზებს.  $\alpha$ -კალციუმ-კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II-ის მიმართ გამოყენებული ანტისხეულების დაკავშირების საიტი კი შეესაბამება 52 კდა მოლეკულური წონის აუტორადიოგრაფიაზე გამოსახულ ხაზებს.

## 2.5. სტატისტიკური ანალიზი

ოლეამიდის მოქმედება. ოლეამიდის ზეგავლენის შესწავლისას პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვების სიძლიერზე მიღებული მონაცემები მუშავდებოდა კრუსკალ-ვალის ტესტის მიხედვით. ჯგუფებში მიღებულ შედეგებს ვადარებდით მენ-უიტნის ტესტით.

ოლეამიდის მოქმედების ეფექტები: 1) პროცენტულად ცხოველების რა რაოდენობას არ განუვითარდა კრუნჩხვები; 2) ცხოველების სიკვდილიანობა; 3) პენტილენტეტრაზოლის ინექციიდან კრუნჩხვების დაწყების დრო; 4) კრუნჩხვების ხანგრძლივობა ფასდებოდა ერთფაქტორიანი ცვლადთა სტატისტიკური ანალიზის მეთოდით (ANOVA). კრუნჩხვების ხანგრძლივობის მონაცემთა შედარებისას ექსპერიმენტის მსვლელობისას დახოცილ ცხოველთა მონაცემები ამოღებულია სტატისტიკური ანალიზიდან. ცვლადთა ანალიზის მიხედვით სარწმუნო ეფექტის არსებობის შემთხვევაში ჯგუფებს შორის შედარებისათვის ვიყენებდით ორ-მხრივ სტუდენტის t-ტესტს.

მიო-ინოზიტოლის და სქილო-ინოზიტოლის ზეგავლენის შესწავლა პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე. მიო-ინოზიტოლის და სქილო-

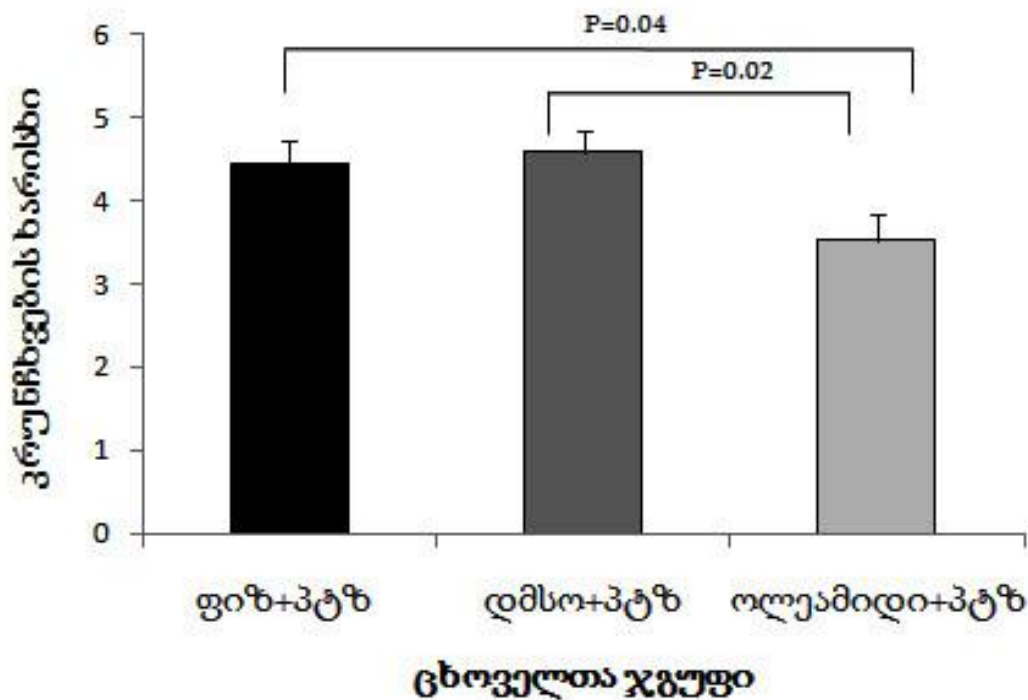
ინოზიტოლის ზეგავლენის შესწავლისას პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე ქცევითი ასპექტების ანალიზისთვის გამოყენებული იყო სხვადასხვა სტატისტიკური მეთოდი. კერძოდ, ტესტირებული ნაერთების ეფექტურობის დასადგენად კრუნჩხვების სიძლიერეზე გამოყენებული იყო კრუსკალ-ვალის ტესტი. ამ პარამეტრის მიხედვით ჯგუფებს შორის განსხვავებას ვადგენდით მენ-უიტნის ტესტით. ცხოველების სიკვდილიანობის კოეფიციენტი, ლატენტური პერიოდი, კრუნჩხვების ხანგრძლივობა და სიძლიერე მუშავდებოდა ერთფაქტორიანი ცვლადთა ანალიზის საშუალებით (ANOVA). იმ ცხოველების მონაცემები რომლებსაც არ განუვითარდათ კრუნჩხვები ამოღებულია ლატენტური პერიოდის სტატისტიკური ანალიზიდან. დაგეგმილი შედარებები ჯგუფებს შორის ტარდებოდა t-ტესტის გამოყენებით. ყველა სტატისტიკური ტესტი ორმხრივი იყო.

მიო-ინოზიტოლის მოქმედება კაინის მჟავით გამოწვეულ ბიოქიმიურ ცვლილებებზე. ფუნქციური განსხვავების გამო ჰიპოკამპის და ნეოკორტექსის მონაცემების ანალიზი ცალ-ცალკე ხორციელდებოდა. ექსპერიმენტის დაწყებიდან აღებული დროის ორი წერტილი ასევე განცალკევებულად ანალიზდებოდა. GLUR1-ის, სშც90-ის და  $\alpha$ კამკII-ის ცილების რაოდენობრივი მონაცემები სტატისტიკურად მუშავდებოდა ერთფაქტორიანი ცვლადთა ანალიზის საშუალებით (ANOVA). დაგეგმილი შედარებები ხორციელდებოდა სტუდენტის t-ტესტის საშუალებით. ყველა სტატისტიკური ტესტი ორმხრივი იყო.

### თავი III. მიღებული შედეგები

#### 3.1. ოლეამიდის ზეგავლენის შესწავლა პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე

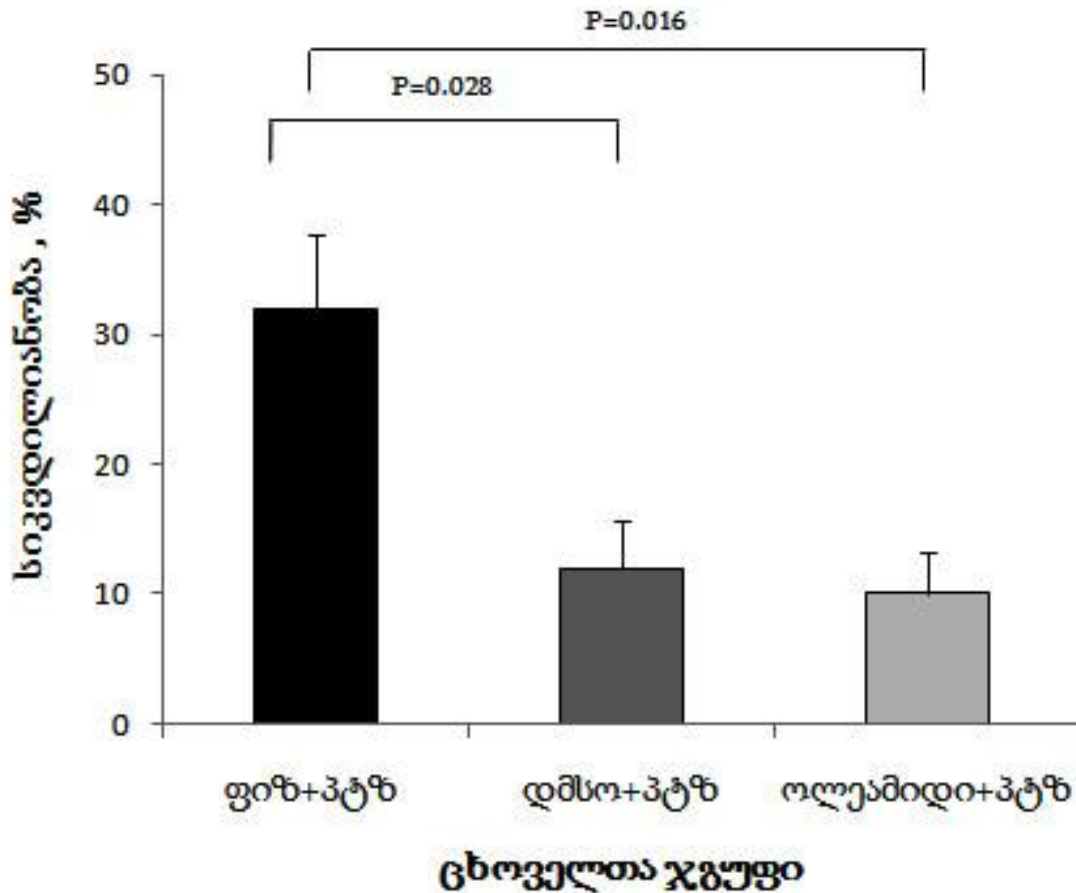
ოლეამიდის მოქმედების ეფექტი არის სარწმუნო კრუნჩხვების სიძლიერეზე (კრუსკალ-ვალის ტესტი  $H=6.43$ , თავისუფლების ხარისხი  $[თხ]=2$ ,  $P=0.04$ ). ოლეამიდის ადმინისტრირება სარწმუნოდ ამცირებდა კრუნჩხვების ხარისხს იმ ჯგუფებთან შედარებით, რომლებიც მუშავდებოდნენ ფიზიოლოგიურ ხსნარით (მენ-უიტნის ტესტი  $W=2227.5$ ,  $p=0.04$ ) და დმსო-თი (მენ-უიტნის ტესტი  $W=2187$ ,  $p=0.02$ ) პენტილენტეტრაზოლის შეყვანამდე (სურათი 4).



სურ.4. ოლეამიდის მოქმედების ეფექტი პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეული კრუნჩხვების ხარისხზე ვირთავებში.

ოლეამიდის მოქმედებას არ ჰქონდა სარწმუნო ეფექტი იმ ცხოველების რაოდენობის პროცენტულ მაჩვენებელზე რომლებსაც არ განუვითარდათ კრუნჩხვები ( $F_{2,12}=2.44$ ,  $P=0.128$ ). თუმცა, ცხოველების რაოდენობა რომლებსაც არ

განუვითარდათ კრუნჩხვები იყო საკმაოდ მაღალი იმ ჯგუფებში სადაც ხდებოდა ოლეამიდის ადმინისტრირება.

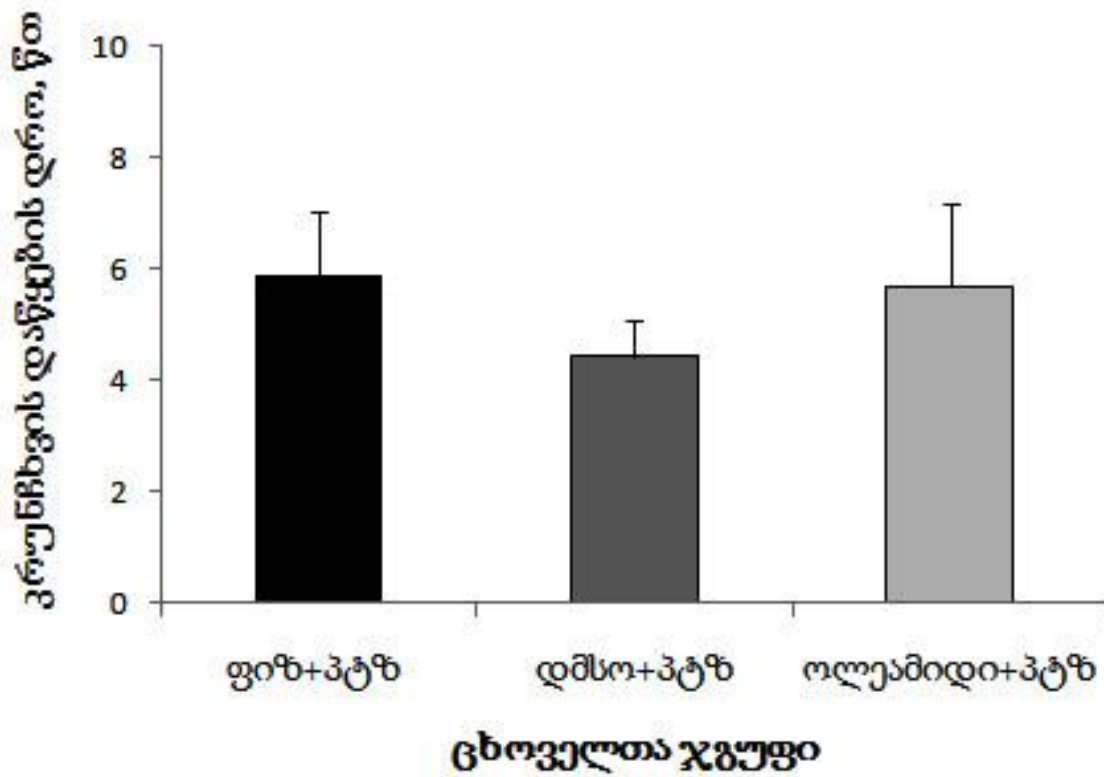


სურ.5. ოლეამიდის მოქმედების ეფექტი ცხოველების სიკვდილიანობაზე პენტილენტეტრაზოლის ადმინისტრირების შემდეგ ვირთაგვებში.

ოლეამიდის მოქმედებას ჰქონდა სარწმუნო ეფექტი ცხოველების სიკვდილიანობის პროცენტულ მაჩვენებელზე ( $F_{2,12}=7.66$ ,  $P=0.007$ ). სიკვდილიანობის საშუალო მაჩვენებელი იმ ჯგუფებში რომლებშიც შეგვყავდა ჯერ ფიზიოლოგიური ხსნარი და მერე პენტილენტეტრაზოლი ბევრად მაღალია, ვიდრე ჯგუფებში რომლებშიც ცხოველები წინასწარ მუშავდებოდნენ ოლეამიდით ( $P=0.016$ ,  $t=3.32$ ,  $თხ=6$  ან  $დმსო$ -თი;  $P=0.028$ ,  $t=2.89$ ,  $თხ=6$ , იხ. სურათი 5) პენტილენტეტრაზოლის შეყვანამდე. სხვაობა ოლეამიდით და  $დმსო$ -ით დამუშავებულ ჯგუფებს შორის არ იყო სარწმუნო ( $P=0.695$ ). შესაძლო მიზეზები ამ ორ ჯგუფს შორის განსხვავების არ არსებობისა თავში „მიღებული მონაცემების მიმოხილვა“-ში იქნება განხილული.

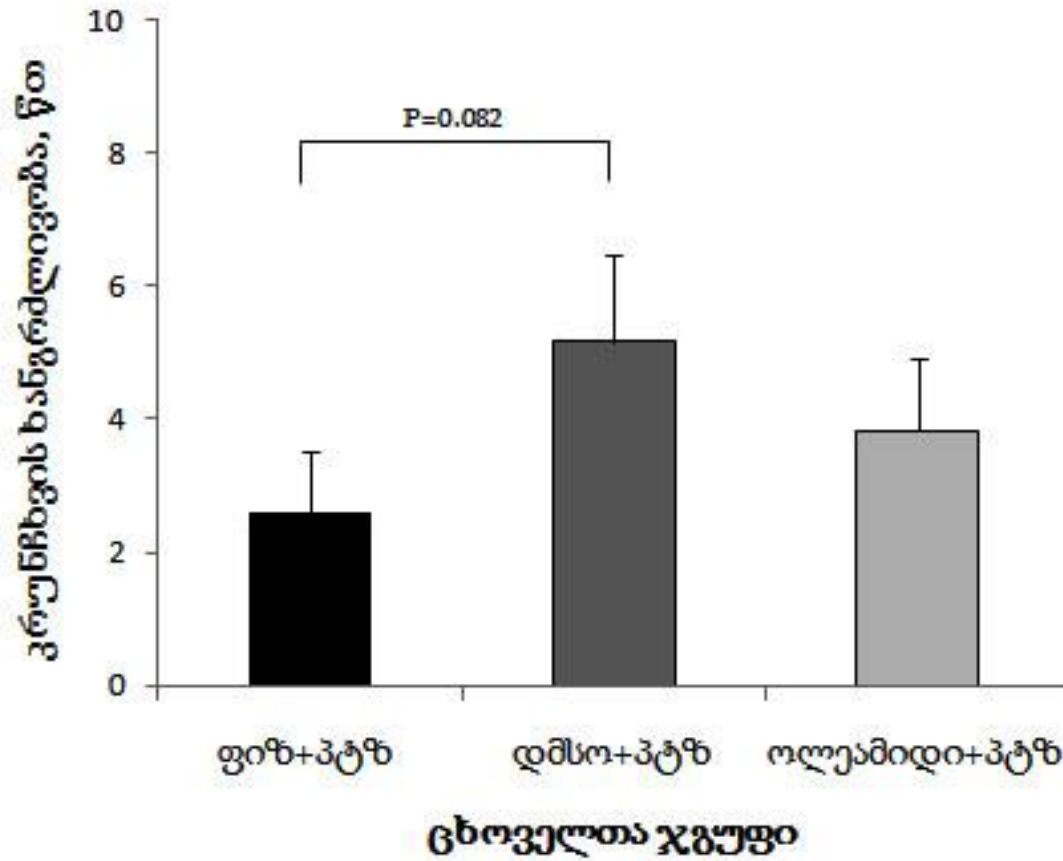


ცხოველებში პენტილენტეტრაზოლის შეყვანიდან კრუნჩხვების დაწყების დროზე ექსპერიმენტული ფაქტორის მოქმედება სარწმუნო არ არის ( $F_{2,132}=0.52$ ,  $P=0.596$ ) და არც ჯგუფებს შორის შეიმჩნევა სარწმუნო განსხვავება (სურათი 6).



სურ.6. ოლეამიდის მოქმედების ეფექტი კრუნჩხვის დაწყების დროზე პენტილენტეტრაზოლის ადმინისტრირების შემდეგ ვირთვებში. ჯგუფებს შორის სარწმუნო სხვაობა არ იყო.

ოლეამიდის მოქმედებას არ ჰქონდა სარწმუნო ეფექტი ასევე კრუნჩხვების ხანგრძლივობის საშუალო მაჩვენებლებზე ჯგუფებში ( $F_{2,120}=1.15$ ,  $P=0.319$ ). თუმცა დმსო–თი დამუშავებული ცხოველების ჯგუფსა და საკონტროლო ჯგუფს შორის კრუნჩხვების ხანგრძლივობის საშუალო მაჩვენებლები ცალმხრივი t-ტესტით განსხვავდებოდნენ სარწმუნოდ ( $P=0.082$ ,  $t=1.77$ ,  $თხ=7.5$ ) (სურათი 7).

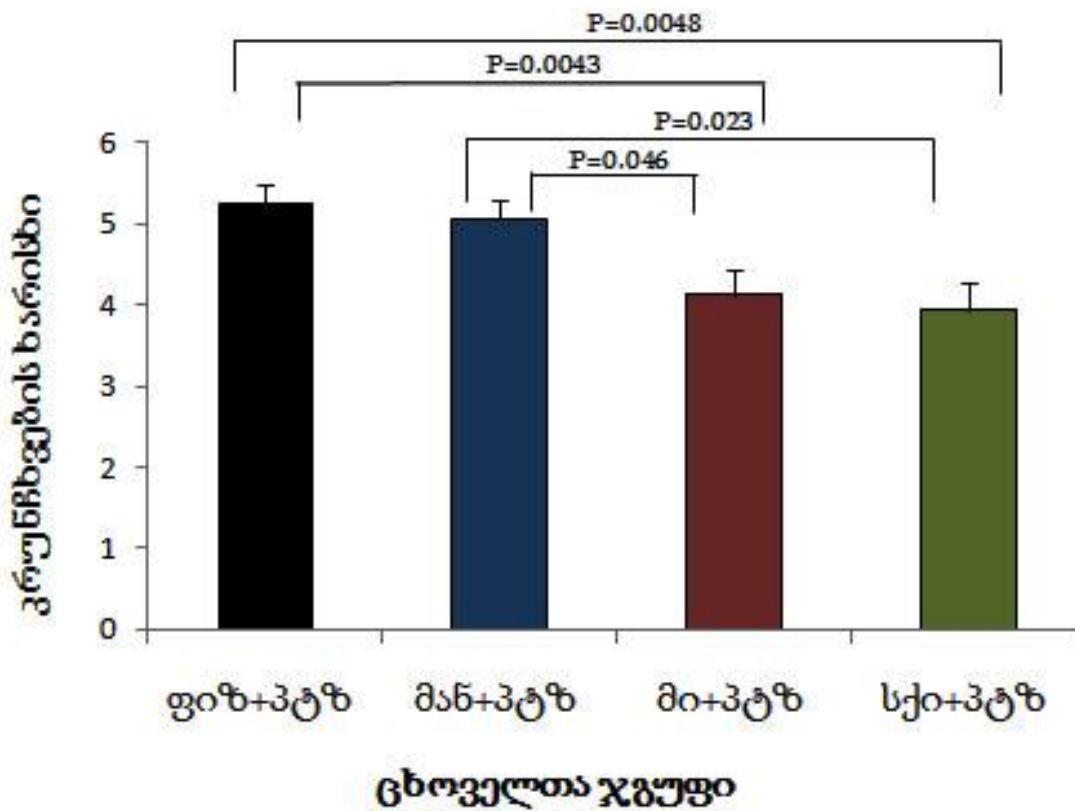


სურ.7. ოლეამიდის მოქმედების ეფექტი კრუნჩხვების ხანგრძლივობაზე პენტილენტეტროლის ადმინისტრირების შემდეგ ვირთაგვებში.

### 3.2. მიო-ინოზიტოლის და სქილო-ინოზიტოლის ზეგავლენის შესწავლა პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე

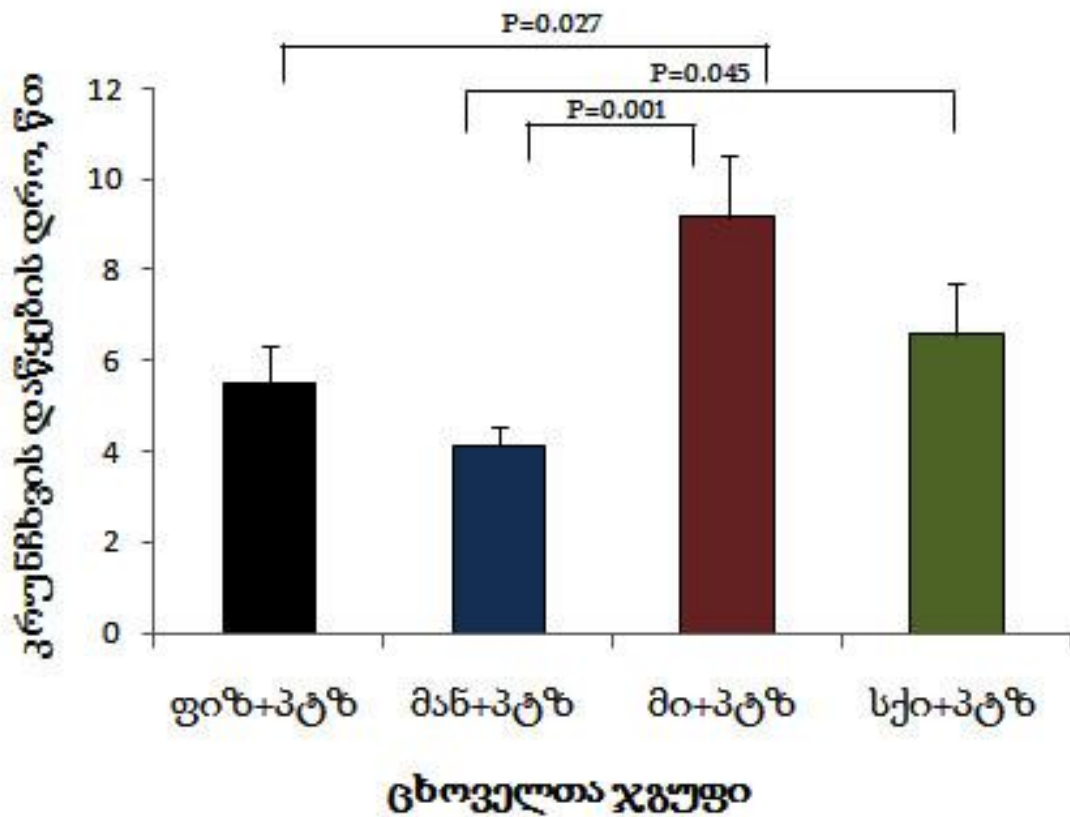
ჩვენს ლაბორატორიაში ადრე ჩატარებული ცდებით ნაჩვენები იქნა, რომ მიო-ინოზიტოლს გააჩნია ანტიკონვულსიური აქტივობა პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე (იხ. *Solomonias et. al.*, 2007). ცდების შემდგომ სერიაში ჩვენს მიერ ანტი-კონვულსიურ აქტივობაზე დამატებით შეისწავლებოდა ინოზიტოლების კიდევ ერთი იზომერი - სქილო-ინოზიტოლი. ამ იზომერმა განსაკუთრებით მას შემდეგ მიიღწია ყურადღება რაც ნაჩვენები იყო, რომ ის აფერხებს ბეტა-ამილოიდური პეპტიდის აგრეგაციას (*McLaurin et. al.*, 2006). ცდების ამავე სერიაში ჩვენს მიერ დამატებით გამოყენებული იყო კიდევ ერთი საკონტროლო ნაერთი მანიტოლი, რომელიც ინოზიტოლების მოლეკულური წონის მქონე პოლიოლია.

ექსპერიმენტული ფაქტორის მოქმედება სარწმუნო იყო კრუნჩხვების სიძლიერეზე (კრუსკალ-ვალის ტესტი  $H=13.23$ ,  $tb=3$ ,  $P=0.0043$ ). მიო-ინოზიტოლის და სქილო-ინოზიტოლის მოქმედება სარწმუნოდ ამცირებდა კრუნჩხვების ხარისხს საკონტროლო ფიზიოლოგიური ხსნარის მოქმედებასთან შედარებით (მენ-უიტნის ტესტი: **მი+პტზ** და **ფიზ+პტზ** ჯგუფების შედარება  $W=2939.5$   $P=0.0043$ ; **სქი+პტზ** და **ფიზ+პტზ** ჯგუფების შედარება  $W=2935.5$   $P=0.0048$ ). ორივე ინოზიტოლის იზომერის მოქმედება ასევე სტატისტიკურად სარწმუნოდ ამცირებდა კრუნჩხვების სიძლიერეს მანიტოლის მოქმედებასთან შედარებით (მენ-უიტნის ტესტი: **მი+პტზ** და **ფიზ+პტზ** ჯგუფების შედარება  $W=2503.5$ ,  $P=0.046$ ; **სქი+პტზ** და **ფიზ+პტზ** ჯგუფების შედარება  $W=2540.0$ ,  $P=0.023$ ) (სურათი 8). ინოზიტოლებით დამუშავებულ ორ ჯგუფს შორის სარწმუნო სხვაობა არ არის და ეს მაჩვენებლები თითქმის იდენტურები არიან.



სურ.8. მიო- და სქილო-ინოზიტოლის მოქმედების ეფექტები პენტილენტეტრზოლით გამოწვეული კრუნჩხვების ხარისხზე.

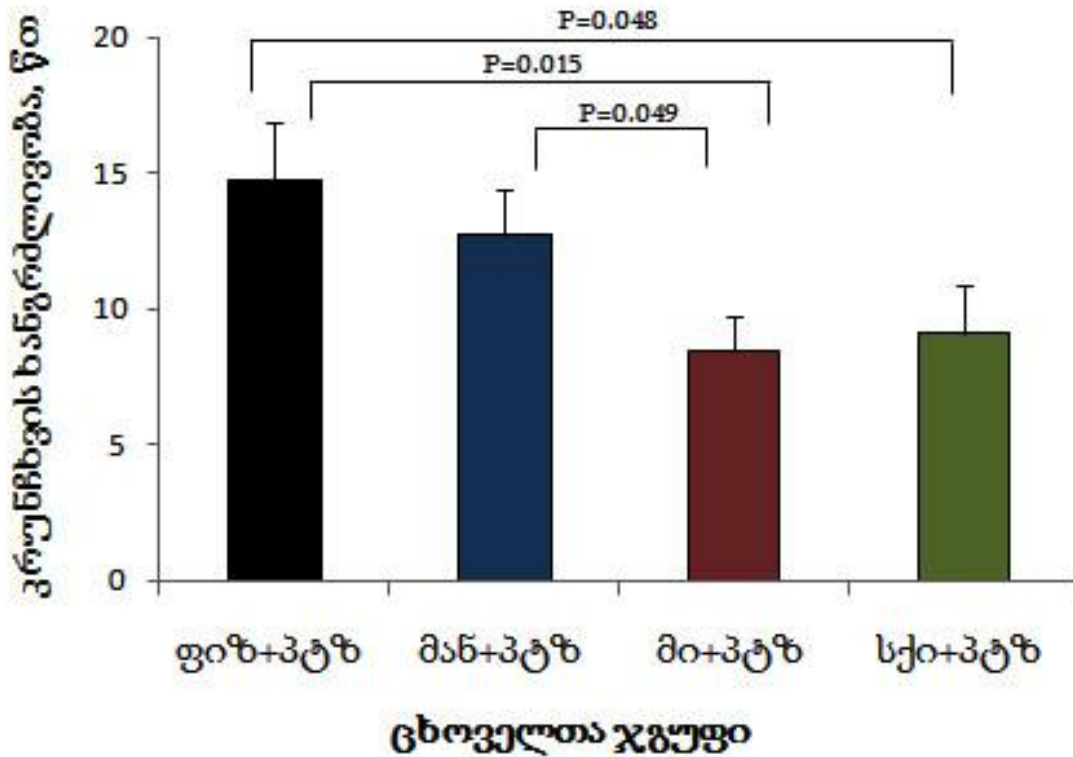
ცხოველებში პენტილენტეტრზოლის შეყვანიდან კრუნჩხვების დაწყების დროზე ექსპერიმენტული დამუშავების ფაქტორის მოქმედება სარწმუნო იყო (ერთ ცვლადიანი ANOVA  $F_{3,177}=4.71$ ,  $P=0.003$ ). მიო-ინოზიტოლის ადმინისტრირება ახანგრძლივებდა კრუნჩხვების დაწყების დროს საკონტროლო ფიზიოლოგიური ხსნარით ( $t=2.26$ ,  $p=0.027$ ) და მანიტოლით ( $t=3.45$ ,  $p=0.001$ ) დამუშავებულ ცხოველებთან შედარებით. ლატენტური პერიოდი იზრდებოდა სქილო-ინოზიტოლით დამუშავების დროსაც მანიტოლით დამუშავებულ ცხოველებთან შედარებით ( $t=2.03$ ,  $p=0.045$ ) (სურათი 9). მიუხედავად იმისა, რომ მიო-ინოზიტოლით და სქილო-ინოზიტოლით დამუშავებული ჯგუფები ერთმანეთისაგან სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდნენ, სქილო-ინოზიტოლის ჯგუფის მაჩვენებელი უფრო ახლოს დგას ფიზ+პტზ ჯგუფის მაჩვენებელთან. სხვა სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილებას ადგილი არ ჰქონდა.



სურ.9. მიო- და სქილო-ინოზიტოლის მოქმედების ეფექტები პირველი კრუნჩხვის დაწყების დროზე პენტილენტეტრზოლის ადმინისტრირების შემდეგ ვირთგვებში.

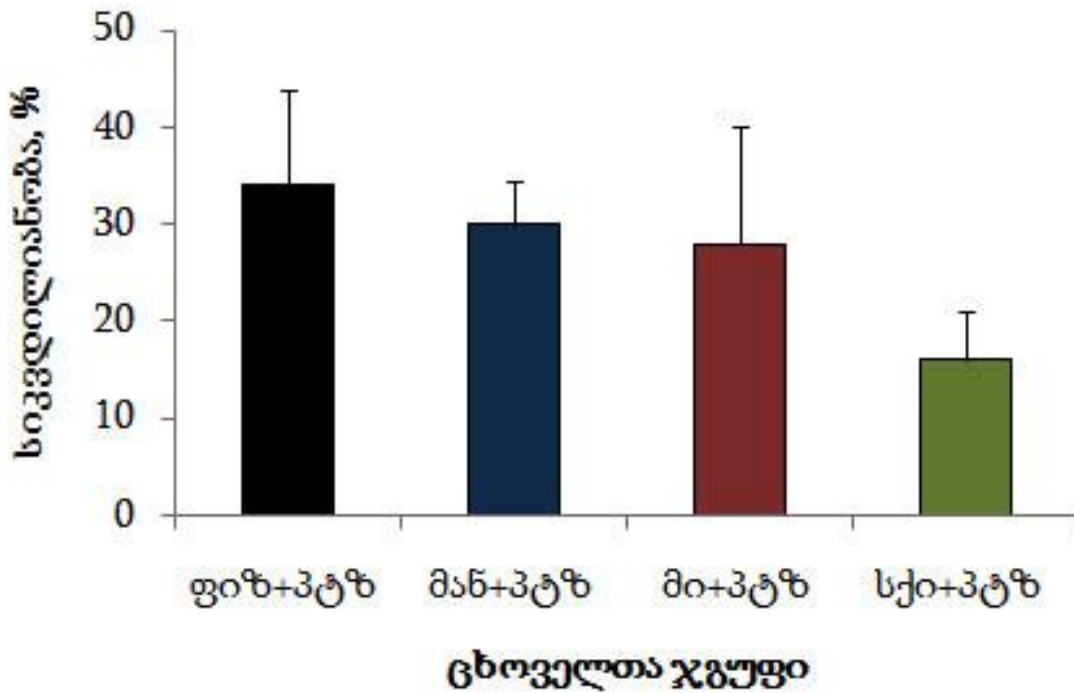
ექსპერიმენტული დამუშავების ფაქტორის მოქმედება სარწმუნო იყო აგრეთვე კრუნჩხვების ხანგრძლივობის საშუალო მაჩვენებლების ცვლილებებზე (ერთ ცვლადიანი ANOVA  $F_{3,196}=2.86$ ,  $P=0.038$ ). მიო-ინოზიტოლით წინასწარ დამუშავებულ ცხოველებში სარწმუნოდ მცირდებოდა კრუნჩხვების ხანგრძლივობა ფიზიოლოგიური ხსნარით ( $t=2.48$ ,  $p=0.015$ ) და მანიტოლით ( $t=1.99$ ,  $p=0.049$ ) დამუშავებულ ცხოველებთან შედარებით. სქილო-ინოზიტოლის ადმინისტრირება ცხოველებში ასევე სარწმუნოდ ამცირებდა კრუნჩხვების ხანგრძლივობას საკონტროლო ფიზიოლოგიური ხსნარით დამუშავებულ ჯგუფებთან შედარებით ( $t=2.00$ ,  $p=0.048$ ). სხვაობა მანიტოლით და სქილო-ინოზიტოლით დამუშავებულ ჯგუფებს შორის არ იყო სარწმუნო ( $p=0.774$ ). კრუნჩხვების ხანგრძლივობის საშუალო მაჩვენებლების სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილებები სხვა ჯგუფებს შორის დაფიქსირებული არ იყო (სურათი 10). მიუხედავად იმისა, რომ მიო-ინოზიტოლით

და სქილო-ინოზიტოლით წინასწარ დამუშავებულ ჯგუფებს შორის სარწმუნო განსხვავება არ აღირიცხებოდა, მიო-ინოზიტოლის ჯგუფი ორივე საკონტროლო ჯგუფისაგან სარწმუნოდ განსხვავდებოდა.



სურ.10. მიო- და სქილო-ინოზიტოლის მოქმედების ეფექტები კრუნჩხვების ხანგრძლივობაზე პენტილენტეტრაზოლის ადმინისტრირების შემდეგ ვირთაგვებში.

ექსპერიმენტული დამუშავების ფაქტორის მოქმედება სარწმუნო არ იყო ცხოველებში პენტილენტატრაზოლის შეყვანით გამოწვეულ სიკვდილიანობაზე (ერთ ცვლადიანი ANOVA  $F_{3,19}=0.78$ ,  $P=0.520$ ). ჯგუფებს შორის არ შეიმჩნეოდა სარწმუნო განსხვავებები (სურათი 11).



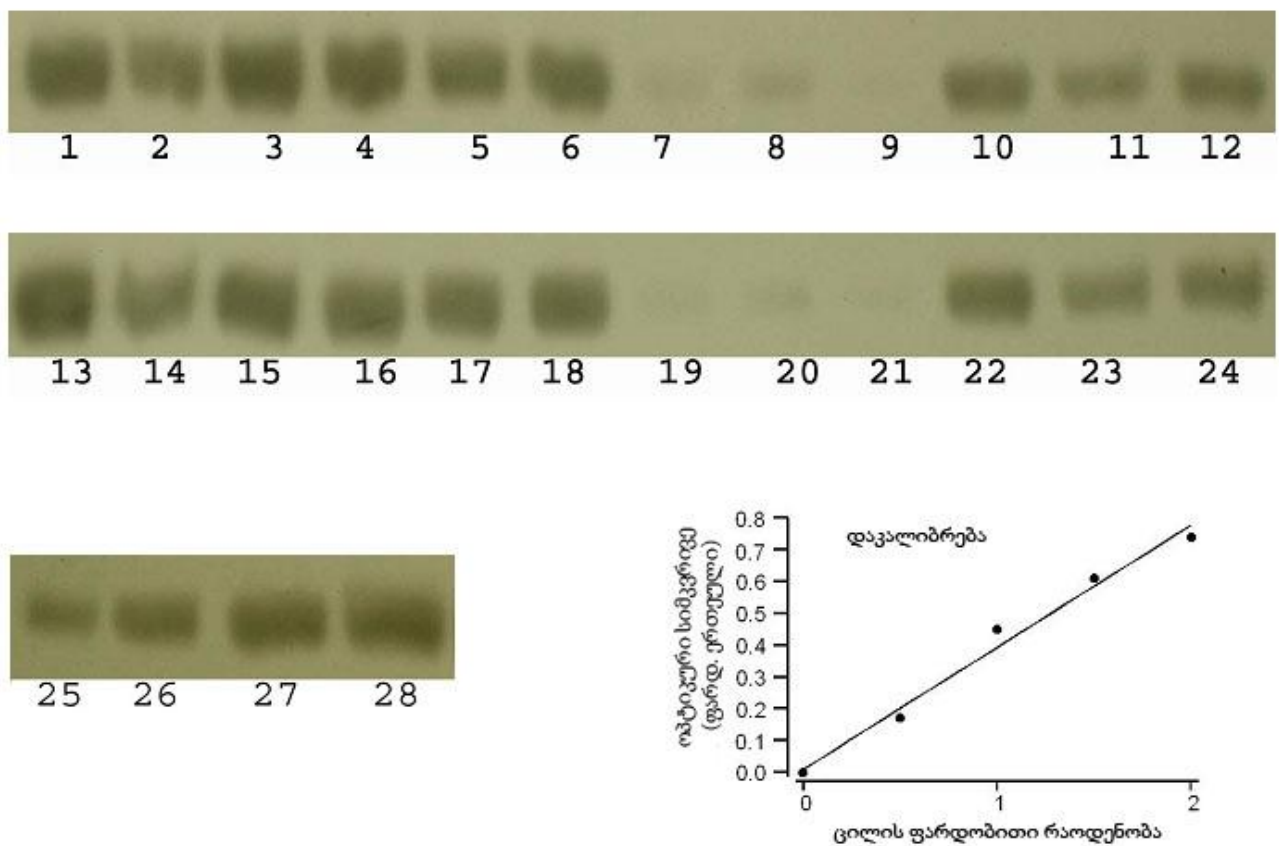
სურ.11. მიო- და სქილო-ინოზიტოლის მოქმედების ეფექტები ცხოველების სიკვდილიანობაზე პენტილენტეტრზოლის ადმინისტრირების შემდეგ ვირთაგვებში.

კრუნჩხვის დაწყების დრო	$F_{3,177}$	4.71
	$P$	0.003
კრუნჩხვების ხანგრძლივობა	$F_{3,196}$	2.86
	$P$	0.038
სიკვდილიანობა	$F_{3,19}$	0.78
	$P$	0.520

ცხრილი 1. ANOVA-ს ანალიზის შემაჯამებელი ცხრილი.  $F$  – ცვლადთა ფარდობა ANOVA-ს ანალიზისაგან;  $P$ – ალბათობა.

### 3.3. მიო–ინოზიტოლის მოქმედების შესწავლა კანის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსით ინდუცირებულ ბიოქიმიურ ცვლილებებზე

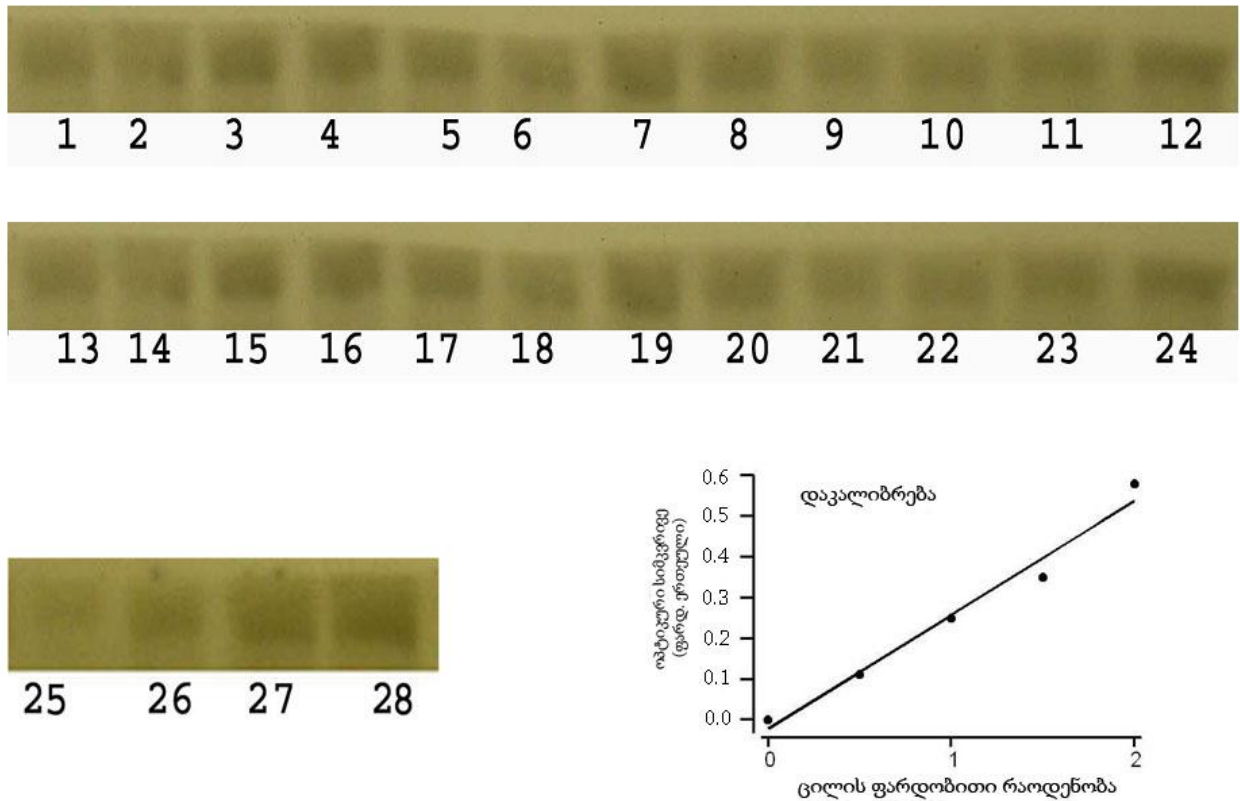
*იმუნობლოტინგი.* ანტისხეულები ამჰმ გლუტამატური რეცეპტორის GLUR1-ის წინააღმდეგ მოქმედებდნენ 103 კდა მოლეკულური წონის მქონე ცილოვან მოლეკულასთან, რაც შეესაბამებოდა ვირთაგვას ამჰმ გლუტამატური რეცეპტორის GLUR1 სუბერთეულს (სურათი 12).



სურ.12. ამჰმ გლუტამატური რეცეპტორის GLUR1 სუბერთეულის ანტისხეულებით შეღებვის აუტორდიოგრამის ტიპური სურათი. გრაფიკზე ნაჩვენებია, რომ ოპტიკური სიმკვრივე ფარდობით დამოკიდებულებაში ცილის რაოდენობასთან. თითოეული ლაქა შეესაბამება ერთ ნიმუშს, 30 დღიანი საექსპერიმენტო ვირთგვების ჰიპოკამპის ჰომოგენატურ ფრაქციას. ხაზები 1–3 და 13–15 წარმოადგენენ კო+ფიზ ჯგუფის ვირთგვების ნიმუშებს, ხაზები 4–6 და 16–18 შეესაბამება კო+მი ჯგუფს, ხაზები 7–9 და 19–21 კმ+ფიზ ჯგუფს, 10–12 და 22–24 კმ+მი ჯგუფს. 25–28 ხაზები კი შეესაბამება ჰომოგენატური ფრაქციის შინაგან სტანდარტებს: 15მკგ, 30მკგ, 45მკგ და 60 მკგ ცილის ოდენობით.

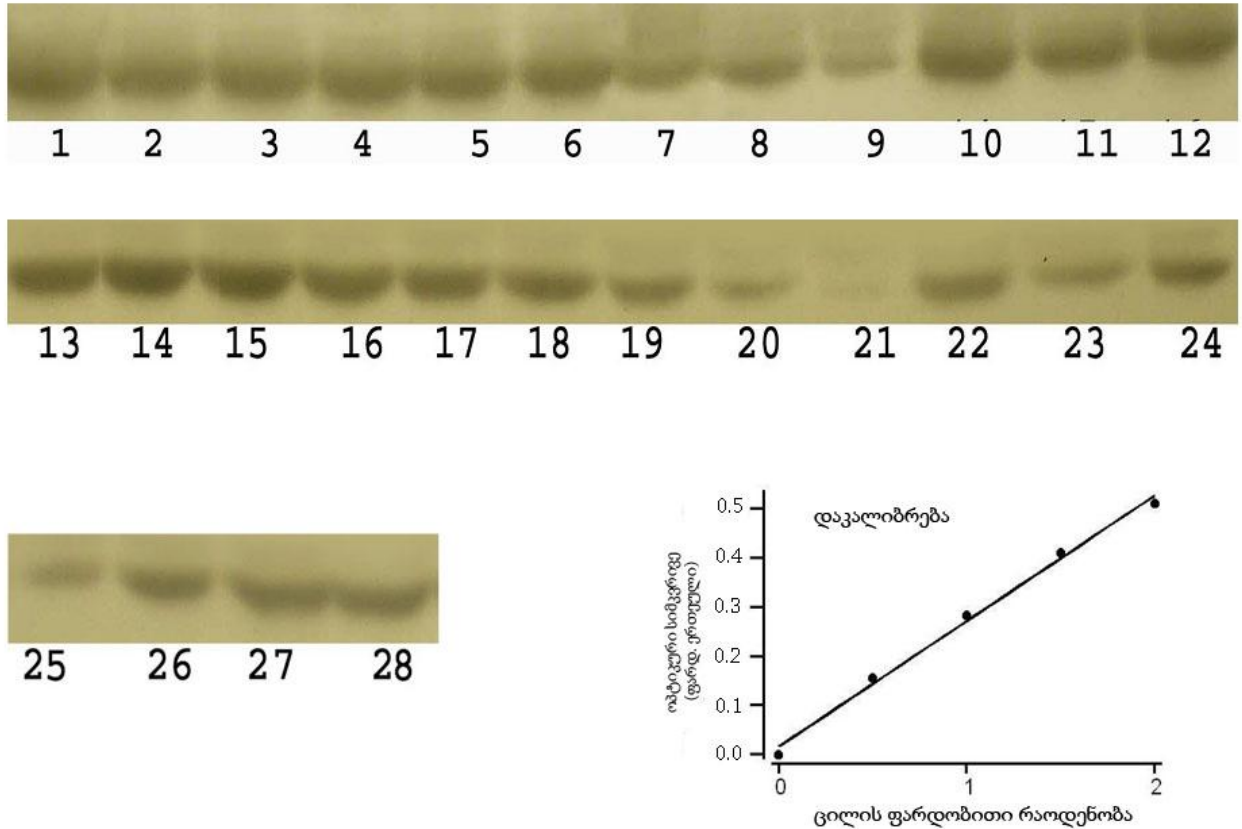


ანტისხეულები სშც90-ის წინააღმდეგ ურთიერთქმედებენ 86 კდა მოლეკულური წონის მქონე ცილასთან, რაც შეესაბამება ვირთაგვას სშც90 ცილას (სურათი 13).



სურ.13. სიციხით შოკირებული ცილა 90-ის ანტისხეულებით შეღებვის აუტორდიოგრამის ტიპური სურათი. გრაფიკზე ნაჩვენებია, რომ ოპტიკური სიმკვრივე ფარდობით დამოკიდებულებაში ცილის რაოდენობასთან. თითოეული ლაქა შეესაბამება ერთ ნიმუშს, 30 დღიანი საექსპერიმენტო ვირთგვების ჰიპოკამპის ჰომოგენატურ ფრაქციას. ხაზები 1–3 და 13–15 წარმოადგენენ კო+ფიზ ჯგუფის ვირთაგვების ნიმუშებს, ხაზები 4–6 და 16–18 შეესაბამება კო+მი ჯგუფს, ხაზები 7–9 და 19–21 კმ+ფიზ ჯგუფს, 10–12 და 22–24 კმ+მი ჯგუფს. 25–28 ხაზები კი შეესაბამება ჰომოგენატური ფრაქციის შინაგან სტანდარტებს: 15მკგ, 30მკგ, 45მკგ და 60 მკგ ცილის ოდენობით.

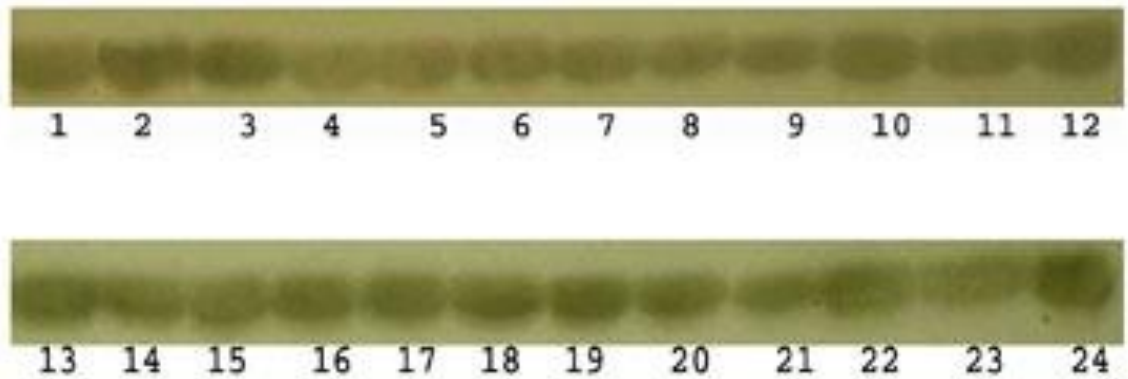
ანტისხეულები კამკII-ის წინააღმდეგ ურთიერთქმედებენ 52 კდა წონის მქონე ცილასთან, რაც წარმოადგენს ვირთაგვას  $\alpha$ კამკII-ს (სურთი 14).



სურ.14. კამკII-ის ანტისხეულებით შეღებვის აუტორდიოგრამის ტიპური სურათი. გრაფიკზე ნაჩვენებია, რომ ოპტიკური სიმკვრივე ფარდობით დამოკიდებულებაში ცილის რაოდენობასთან. თითოეული ლაქა შეესაბამება ერთ ნიმუშს, 30 დღიანი საექსპერიმენტო ვირთაგვების ჰიპოკამპის ჰომოგენატურ ფრაქციას. ხაზები 1-3 და 13-15 წარმოადგენენ კო+ფიზ ჯგუფის ვირთაგვების ნიმუშებს, ხაზები 4-6 და 16-18 შეესაბამება კო+მი ჯგუფს, ხაზები 7-9 და 19-21 კმ+ფიზ ჯგუფს, 10-12 და 22-24 კმ+მი ჯგუფს. 25-28 ხაზები კი შეესაბამება ჰომოგენატური ფრაქციის შინაგან სტანდარტებს: 15მკგ, 30მკგ, 45მკგ და 60 მკგ ცილის ოდენობით.

ყველა ამ ცილოვანი მოლეკულებისათვის იმუნოშეღებვის ოპტიკური სიმკვრივე ხაზობრივ დამოკიდებულებაშია დატანილი ცილის რაოდენობასთან (სურათები 12, 13, 14).

ჯამური აქტინით იმუნოშეღებვა ადასტურებს დატანილი ცილოვანი ნიმუშების ტოლ რაოდენობებს (სურათი 15).



სურ.15.  $\alpha$ -აქტინის ანტისხეულებით შეღებვის აუტორდიოგრამის ტიპიური სურათი. თითოეული ლაქა შეესაბამება ერთ ნიმუშს, 30 დღიანი საექსპერიმენტო ვირთგვების ჰიპოკამპის ჰომოგენატურ ფრაქციას. ხაზები 1-3 და 13-15 წარმოადგენენ კო+ფიზ ჯგუფის ვირთაგვების ნიმუშებს, ხაზები 4-6 და 16-18 შეესაბამება კო+მი ჯგუფს, ხაზები 7-9 და 19-21 კმ+ფიზ ჯგუფს, ხაზები 10-12 და 22-24 კმ+მი ჯგუფს.

ჰიპოკამპი, ექსპერიმენტის დაწყებიდან 1 დღე: ექსპერიმენტის დაწყებიდან დროის ამ წერტილზე ჰიპოკამპში არცერთი შეწავლილი ცილისათვის ექსპერიმენტული ფაქტორის ზემოქმედება სარწმუნო არ იყო (იხ. ცხრილი 2).

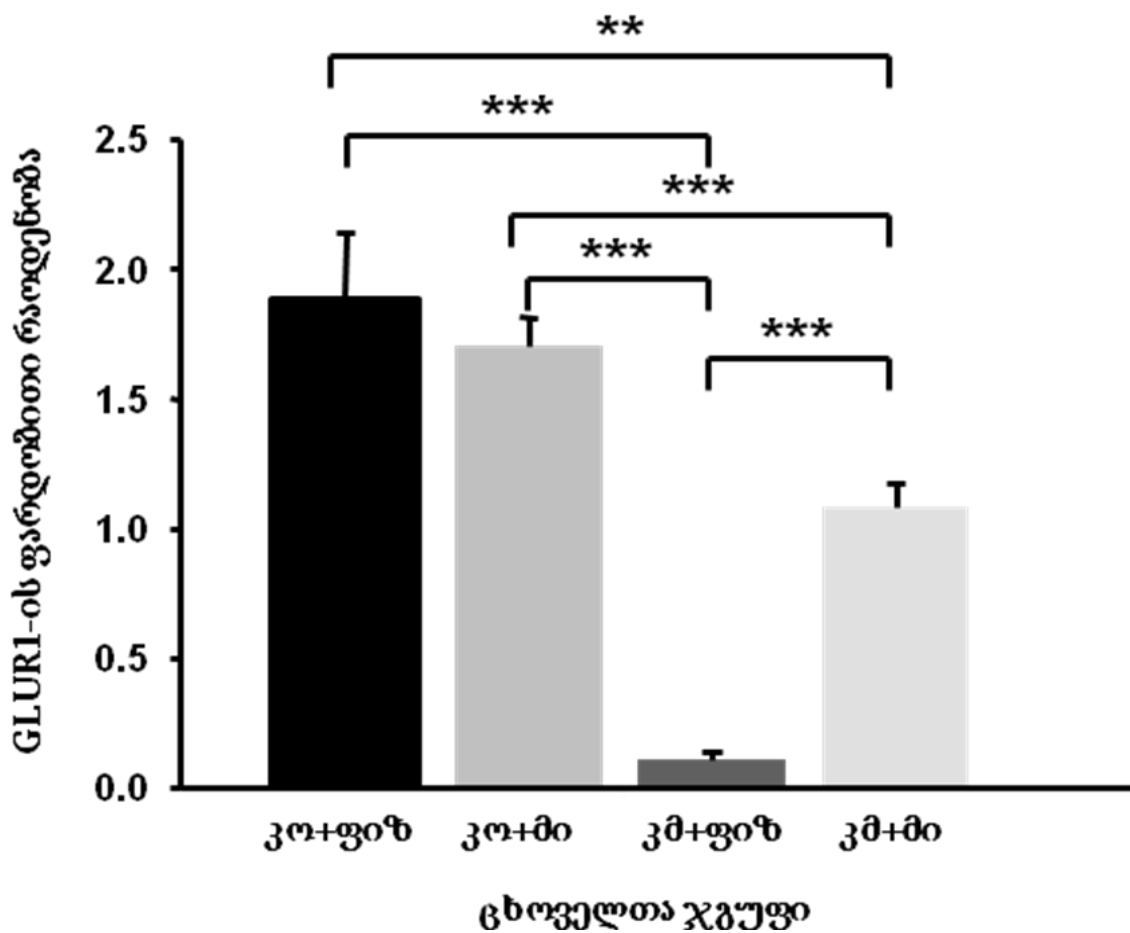
		<i>ჰიპოკამპი</i>		<i>ნეოკორტექსი</i>	
		ექსპერიმენტის დაწყებიდან 1 დღე	ექსპერიმენტის დაწყებიდან 30-ე დღე	ექსპერიმენტის დაწყებიდან 1 დღე	ექსპერიმენტის დაწყებიდან 30-ე დღე
<b>GLUR1</b>	$F_{3,20}$	0.40	31.32	1.98	1.46
	$P$	0.753	0.0001	0.151	0.256
<b>კამკII</b>	$F_{3,20}$	0.34	6.72	1.94	0.25
	$P$	0.795	0.003	0.157	0.858
<b>სშც90</b>	$F_{3,20}$	0.10	0.98	1.71	0.19
	$P$	0.957	0.423	0.197	0.902

ცხრილი 2. **GLUR1** სუბერთეულის, **კამკII**-ის და **სშც90**-ის ფარდობითი რაოდენობების ცვლილებების ANOVA-ს ანალიზის შემაჯამებელი ცხრილი.  $F$  – ცვლადთა ფარდობა ANOVA-ს ანალიზისაგან;  $P$  – ალბათობა.

*ჰიპოკამპი ექსპერიმენტის დაწყებიდან 30-ე დღე.*

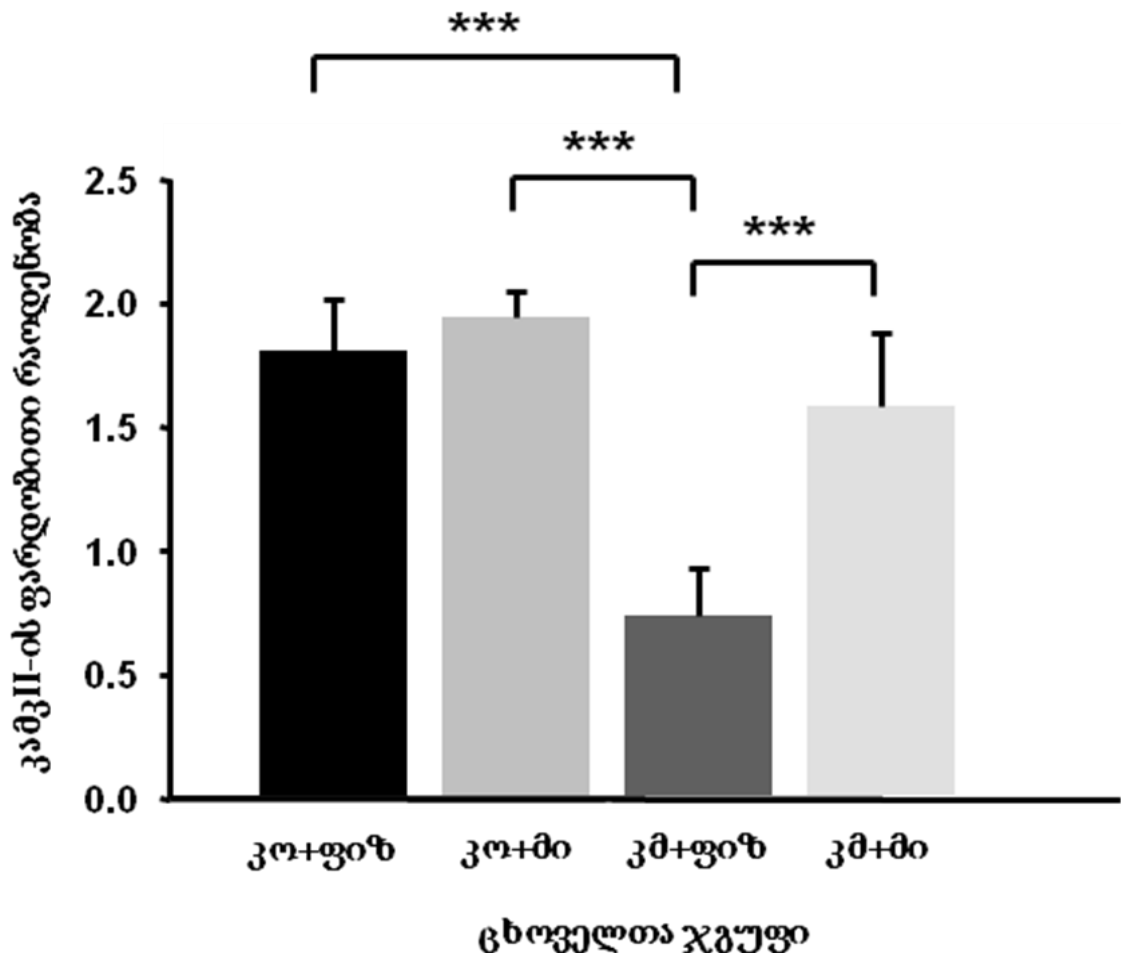
**GLUR1:** ამჰმ გლუტამატური რეცეპტორის **GLUR1**-ის სუბერთეულის რაოდენობაზე ექსპერიმენტული დამუშავების ფაქტორის მოქმედება სარწმუნოა (იხ. ცხრილი 2). **GLUR1**-ის სუბერთეულის რაოდენობა რადიკალურად მცირდებოდა (დაახლოებით 95%-ით) იმ ვირთაგვების ჰიპოკამპში რომლებიც კაინის მჟავის ადმინისტრირების შემდეგ მუშავდებოდნენ ფიზიოლოგიური ხსნარით 30 დღის განმავლობაში ორ საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (**კმ+ფიზ** და **კონ+ფიზ** ჯგუფების შედარება,  $t=7.19$ ;  $p=0.001$ ; **კმ+ფიზ** და **კონ+მი** ჯგუფების შედარება  $t=14.6$ ;  $p=0.0001$ ) (სურათი 16). ამჰმ გლუტამატური რეცეპტორის **GLUR1**-ის სუბერთეულის

რაოდენობა იმ ვირთაგვებში რომლებიც კანის მჟავის ადმინისტრირების შემდგომ მუშავდებოდა მიო-ინოზიტოლით იყო საშუალო კანის მჟავიან და საკონტროლო ჯგუფებს შორის: სარწმუნოდ შემცირებული ორივე საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (კმ+მი და კონ+ფიზ ჯგუფების შედარება  $t=3.06$ ;  $p=0.022$ ; კმ+მი და კონ+მი ჯგუფების შედარება კმ+მი და კონ+მი,  $t=4.32$ ;  $p=0.002$ ), მაგრამ ასევე სარწმუნოდ მაღალია კანის მჟავიან ჯგუფთან შედარებით (კმ+ფიზ და კმ+მი ჯგუფების შედარება,  $t=9.53$ ;  $p=0.0001$ ).



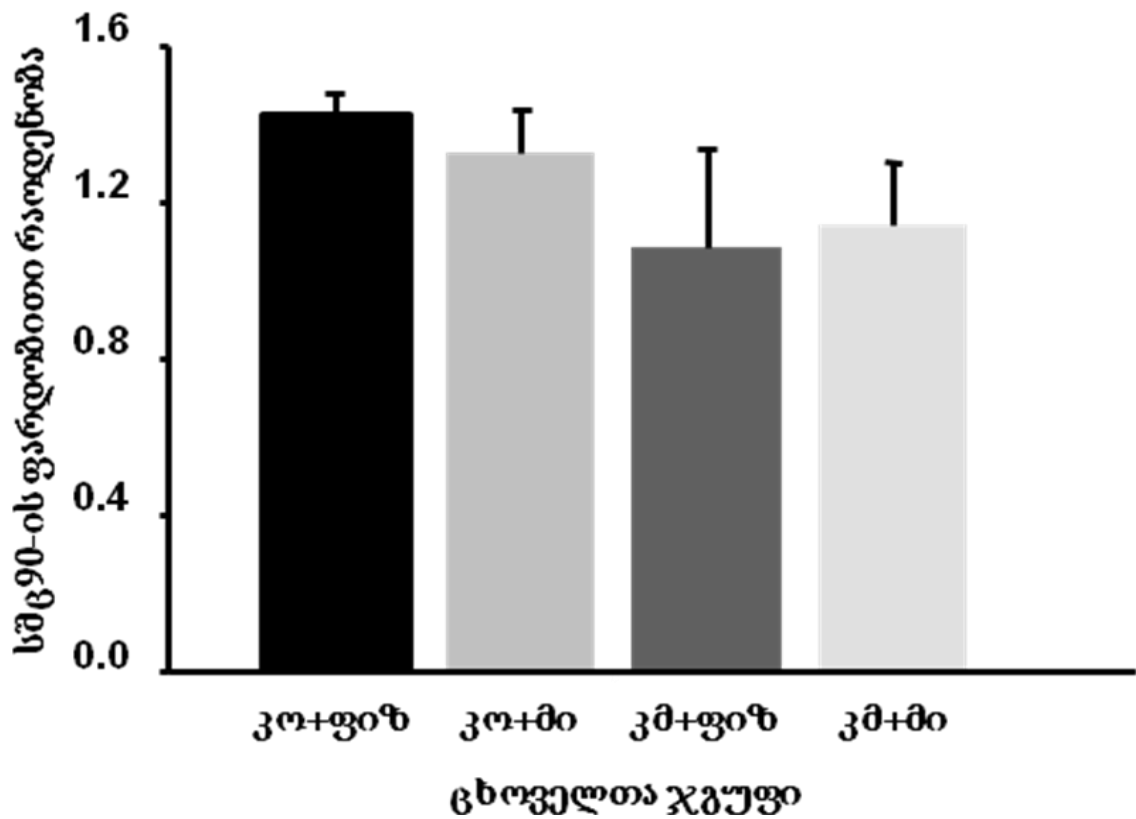
სურ.16. GLUR1 სუბერთეულის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები ვირთგვების ჰიპოკამპის ჰომოგენატურ ფრაქციაში ცხოველთა ჯგუფებში.

კალციუმ-კალმოდულინ პროტეინკინაზა II: აკამკII-ის რაოდენობაზე ექსპერიმენტული დამუშავების ფაქტორის მოქმედება სარწმუნოა (იხ. ცხრილი 2) მიღებული ცვლილებები ძირითადად მსგავსი იყო ამჟამ რეცეპტორის GLUR1-ის სუბერთეულისთვის მიღებული შედეგებისა. კერძოდ, აკამკII-ის რაოდენობის მნიშვნელობა იმ ვირთავების ჰიპოკამპში რომლებიც კაინის მჟავას ადმინისტრაციის შემდგომ მუშავდებოდა ფიზიოლოგიური ხსნარით სარწმუნოდ განიცდიდა კლებას (დაახლოებით 60%-ით) ორივე საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (კმ+ფიზ და კონ+ფიზ ჯგუფების შედარება  $t=3.81$ ;  $p=0.004$ ; კმ+ფიზ და კონ+მი ჯგუფების შედარება  $t=5.6$ ;  $p=0.001$ ) (სურათი 17).



სურ.17. კამკII-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები ვირთავების ჰიპოკამპის ჰომოგენატურ ფრაქციაში ცხოველთა ჯგუფებში.

**აკამკII**-ის რაოდენობრივი მნიშვნელობა იმ ვირთაგვების ჰიპოკამპში რომლებიც კაინის მჟავის ადმინისტრირების შემდგომ მუშავდებოდა მيو-ინოზიტოლით სარწმუნოდ მეტია იმ ჯგუფის მაჩვენებელთან, რომლებიც მუშავდებოდნენ ჯერ კაინის მჟავით და შემდეგ ფიზიოლოგიური ხსნარით (**კმ+ფიზ** და **კმ+მი** ჯგუფების შედარება  $t=2.46$ ;  $p=0.04$ ). **კმ+მი** ჯგუფის მაჩვენებელი უფრო ახლოს იყო და სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა ორ საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებლებთან (**კმ+მი** და **კონ+ფიზ** ჯგუფების შედარება  $t=0.62$ ;  $p=0.554$ ; **კმ+მი** და **კონ+მი** ჯგუფების შედარება  $t=1.15$ ;  $p=0.292$ ). **აკამკII**-ის რაოდენობის მიხედვით ორ საკონტროლო ჯგუფს შორის სარწმუნო სხვაობა არ შეიმჩნეოდა ( $t=0.58$ ;  $p=0.578$ ). ამრიგად, ისევე როგორც **ამპმ** რეცეპტორის **GLUR1**-ის სუბერთეულის შემთხვევაში მيو-ინოზიტოლის ყოველდღიურ ადმინისტრირებას ძალუმს კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეპტოგენეზის პროცესის მოლეკულური ცვლილებების შეფერხება.



სურ.18. სშც90-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები ვირთაგვების ჰიპოკამპის ჰომოგენატურ ფრაქციაში ცხოველთა ჯგუფებში.

**სშც90:** სიცხით შოკირებადი ცილა 90-ის რაოდენობრივი მნიშვნელობები არ იცვლებოდა ექსპერიმენტული დამუშავების მიხედვით (იხილეთ ცხრილი 2). ამ ცილის რაოდენობის მნიშვნელობები არანაირად არ განსხვავდებოდა სარწმუნოდ არცერთ საექსპერიმენტო ჯგუფს შორის (სურათი 18).

*ნეოკორტექსი 1 დღე და 30 დღე:*

ექსპერიმენტში მოცემული ჯგუფების ვირთაგვების ნეოკორტექსში არცერთ ჩვენ მიერ შესწავლილი ცილის რაოდენობრივ ცვლილებას არ ჰქონდა ადგილი ექსპერიმენტის დაწყების 1 ან 30 დღის შემდგომ.



## თავი IV. მიღებული მონაცემების მიმოხილვა

### 4.1. ოლეამიდის მოქმედების ეფექტები პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე ვირთაგვებში

მას შემდეგ რაც ჩვენს ლაბორატორიაში ნანახი იქნა მცენარე *Aquilegia vulgaris*-ის წყლოვანი ექსტრაქტის შემადგენლობაში ძილის მომგვრელი ლიპიდის ოლეამიდის არსებობა, მიზნად დავისახეთ მისი ნეიროაქტიური თვისებების შესწავლა. როგორც ლიტერატურული მიმოხილვის დროს ავლნიშნეთ სწორედ ოლეამიდი ააქტივებდა ბენზოდიაზეპინების საიტის სპეციფიკური ლიგანდის [<sup>3</sup>H]-ფლუნიტრაზეპამის დაკავშირებას გაემ-ა რეცეპტორებთან (Solomon et al., 2004).

ოლეამიდი ჰიპნოზური თვისებების გარდა გვევლინება როგორც ვოლტაჟ-დაჭიშკრული არხების და ნაპრალოვანი კონტაქტების ბლოკატორი და გაემ-ერგული სისტემის მოდულატორი (Kwan et al., 2001). ასევე ცნობილია მისი ენდოკანაბინოიდების მსგავსი ეფექტები ეპილეფსიის *in vitro* მოდელებზე, თუმცა მისი ანტიკონვულსიური მოქმედება ცნობილ ფარმაკოლოგიურ ანტიეპილეფსიურ პრეპარატებთან შედარებით, ისეთები როგორცაა კარბამაზეპინი, პენტობარბიტალი და კარბენოქსოლონი შედარებით სუსტია (Dougalis et al., 2004). ნანახი იქნა, რომ პოსტინაფსურ უჯრედებში ოლეამიდის გამონთავისუფლებას წინ უსწრებს ნეირონული დეპოლარიზაცია და კალციუმის შესვლა უჯრედში, მსგავსად კანაბინოიდებისა, რომლებიც ცნობილია ანტიეპილეფსიური თვისებებით (Wilson & Nicoll 2002). არც თუ ისე დიდი ხნის წინ გამოითქვა მოსაზრება, გაემ-ა რეცეპტორზე ოლეამიდის შესაძლო დაკავშირების საიტის არსებობისა M2 დომენის β სუბერთეულზე (Coyne et al., 2002).

ჩვენ მიერ გამოყენებული პენტილენტეტრაზოლი ცენტრალური ნერვული სისტემის კონვულსანტია და როგორც ცნობილია სწორედ გაემ-ერგული არხების ინჰიბიტორია, კერძოდ მოქმედებს ბენზოდიაზეპინების დაკავშირების საიტზე (Huang et al., 2001). ასევე კონვულსიურ მოქმედებას ამჟღავნებს სხვა ნეიროტრანსმიტერულ სისტემებზე ზემოქმედებით (Souza et al., 2009). ცხადი ხდება,

რომ ოლემიდის ანტი-ეპილეფსიური თვისებების შესწავლისათვის **პტზ**-ს მოდელი მეტად ხელსაყრელია.

ოლემიდის ბუნებიდან და ხსნადობიდან გამომდინარე ექსპერიმენტულ სქემაზე დავიტანეთ დამატებითი საკონტროლო ჯგუფი. ცხოველები გარდა ფიზიოლოგიური და ოლემიდის ხსნარებისა, მუშავდებოდა **დმსო**-თი, ამით თავიდან იქნა აცილებული **დმსო**-ს, როგორც გამხსნელის მოქმედების ეფექტების წვლილი ოლემიდის ეფექტებში და შესაძლებლობა გვეჩვენებოდა მონაცემთა სწორი ინტერპრეტაციისა. ჩვენს მიერ ჩატარებული ექსპერიმენტის შედეგებიდან ცალსახად ჩანს ოლემიდის ანტიეპილეფსიური ეფექტურობა პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეული კონვულსიების სიძლიერეზე. ეს შეიძლება ჩაითვალოს სპეციფიკურ ეფექტად. მიუხედავად იმისა, რომ ნაერთის პრეადმინისტრირებამ შედარებით არასარწმუნოდ იმოქმედა კონვულსიების ხანგრძლივობის შემცირებასა და ლატენტური პერიოდის გაზრდაზე. როგორც ზემოთ ავღნიშნეთ, ოლემიდი ადმინისტრირებამდე იხსნებოდა **დმსო**-ში, ცდის დროს ვირთაგვების ერთ ჯგუფს უკეთდებოდა **დმსო**-ს ინექცია. როგორც ოლემიდის ასევე **დმსო**-ს ჯგუფისათვის სტატისტიკურად სარწმუნოდ მცირდებოდა ცხოველების სიკვდილიანობის მაჩვენებელი საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით პენტილენტეტრაზოლით დამუშავების შემდეგ. რაც აიხსნება იმით, რომ ადრინდელ სწავლებებში ნაჩვენები იყო **დმსო**-ს ნეიროპროტექტორული აქტივობა (Lu & Mattson 2001). თუმცა, **დმსო**-თი ინდივიდუალური დამუშავება ჩვენს კვლევებში არ ამჟღავნებდა ანტიკონვულსიურ ეფექტს მთავარ პარამეტრზე: კრუნჩხვების სიძლიერე **დმსო**-თი დამუშავებულ ცხოველებში არ იყო სარწმუნოდ განსხვავებული საკონტროლო ჯგუფისგან. აქედან გამომდინარე, ჩვენ დარწმუნებით შეგვიძლია განვაცხადოთ, რომ ოლემიდის ანტიკონვულსიური ეფექტი პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეული კრუნჩხვების მიმართ სპეციფიკურია ამ ნაერთისათვის და არ არის განპირობებული **დმსო**-თი. ჩვენ ვვარაუდობთ, რომ ოლემიდის ეს ანტი-კონვულსიური აქტივობა განპირობებული უნდა იყოს მისი უნარით **გაემ**-ნეირორეცეპტორულ სისტემაზე მოქმედებისა.

## 4.2. მიო- და სქილო-ინოზიტოლების ანტიკონვულსიური აქტივობები

### პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვებზე

კვლევის აღნიშნული ნაწილით შევეცადეთ გაგვეღრმავებინა და გაგვეფართოებინა ცოდნა არა მარტო მიო-ინოზიტოლის არამედ სხვა ინოზიტოლების ანტიკონვულსიური თვისებების შესახებ. პირველად იქნა შესწავლილი სქილო-ინოზიტოლის ანტიკონვულსიური აქტივობები. ექსპერიმენტის დიზაინში ჩართული იქნა კიდევ ერთი საკონტროლო ჯგუფი, რომელიც მუშავდებოდა იგივე მოლეკულური წონის მქონე პოლიოლით. ექსპერიმენტის დროს ინოზიტოლის ორივე იზოფორმა სარწმუნოდ ამცირებდა პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეული კრუნჩხვების სიძლიერეს, აყვავებდა პირველი კრუნჩხვის დაწყებას და ამცირებდა ამასთან კრუნჩხვების ხანგრძლივობას.

ისევე როგორც ოლეამიდის შემთხვევაში ჩვენ გვაინტერესებს მიო-ინოზიტოლის ამ ანტი-კონვულსიური მოქმედების სავარაუდო მექანიზმები. ადრინდელ კვლევებში ნანახი იქნა, რომ მცენარე *Aquilegia vulgaris*-ის წყლოვანი ექსტრაქტის ერთ-ერთი კომპონენტია მიო-ინოზიტოლი, რომელიც აინჰიბირებდა **გაემ-ა** რეცეპტორის აგონისტის [<sup>3</sup>H]-მუსციმოლის დაკავშირებას **გაემ-ა** რეცეპტორთან (Solomonias *et. al.*, 2004). *In vitro* სისტემაში მიო-ინოზიტოლის მიერ მუსციმოლის გამოძევება არანაირად არ მიუთითებს ამ ნაერთის აგონისტურ ან ანტაგონისტურ მოქმედებაზე **გაემ-ა** ნეირორეცეპტორებზე. თუმცა გამომდინარე მისი ანტი-კონვულსიური თვისებებიდან ჩვენ გამოვრიცხათ მის ანტაგონისტურ თვისებებს და უფრო სავარაუდოდ მის აგონისტურ თვისებებს მივიჩნევთ.

ამასთან ლიტერატურაში ცნობილია მიო-ინოზიტოლის მეტაბოლური ცვლილებების შესახებ სხვადასხვა ტიპის ეპილეფსიურ მოდელებზე.

მიო-ინოზიტოლი აფერხებს ლითიუნ-პილოკარპინით გამოწვეულ კრუნჩხვებს (Williams & Jope 1995; Kofman *et. al.*, 1993) რასაც სავარაუდოდ ხსნიდნენ ინოზიტოლის განლევის ჰიპოთეზით (იხ. Berridge *et. al.*, 1989). ლითიუმი სელექტიურად ბლოკავს ინოზიტოლ მონოფოსფატაზას, რაც იწვევს

ინოზიტოლფოსფატების დაგროვებას და მიო-ინოზიტოლის მკვეთრ შემცირებას. ინოზიტოლის განლევამ  $\text{Li}^+$ -ის თანაარსებობის დროს შეიძლება გამოიწვიოს მეტაბოლური პროცესის შენელება (Berridge *et. al.*, 1989).  $\text{Li}^+$ -ის ბლოკი იწვევს ტვინში ინოზიტოლფოსფატების 20-ჯერ გაზრდას. არსებობს მოსაზრება, რომ სწორედ ეს გაზრდა იწვევს  $\text{Li}^+$ -ის თერაპიულ ეფექტს (Agranoff & Fisher 2001). ანუ შესაძლებელია, რომ ეპილეფსიის გამოწვევის ერთ-ერთ მიზეზს ამ მოდელის დროს გარკვეულწილად მიო-ინოზიტოლის დეფიციტი წარმოადგენდეს და კორექცია მიო-ინოზიტოლის ადმინისტრირებით მიიღწეოდეს. თუმცა გამომდინარე მიო-ინოზიტოლის გამოყენებული კონტენტრაციებიდან არსებობს სხვა მოსაზრებებიც (იხ. ქვემოთ).

იმ ცდებში რომელშიც მიო-ინოზიტოლის ანტი-კონვულსიური ეფექტები აღირიცხებოდა (Agam *et. al.*, 1994, Williams & Jope 1995; Kofman *et. al.*, 1993) ეფექტი მიიღწეოდა მიო-ინოზიტოლის ინტრაცერებრალური ადმინისტრაციით 10 მგ/კგ ან პერიფერიული ადმინისტრაციით დოზებში 10გ/კგ. იმავე ავტორთა გამოთვლებით ადამიანებში მიო-ინოზიტოლის იგივე დოზით აკუმულაციისათვის როგორც ვირთაგვებში აუცილებელი იქნებოდა დღიურად 100 გრამი ინოზიტოლის მიღება (Agam *et. al.*, 1994). ამავე დროს ადამიანები ინოზიტოლს თერაპიული მიზნებით იღებდნენ 6 გრამის ოდენობით (Agranoff & Fisher 2001), ეს დოზები არის 15-ჯერ მეტი, ვიდრე დოზები რომელიც დეპრესიის მკურნალობისთვის გამოიყენება ადამიანებში ორალური გზით მიღებისას (Levine *et. al.*, 1993) ან 300-ჯერ მეტი, ვიდრე ჩვენ გამოვიყენეთ პილოტურ და ამჟამინდელ კვლევებში ვირთაგვებში (Solomon *et. al.*, 2007). მიო-ინოზიტოლის გადაჭარბებულად მაღალი დოზები თერაპიულად უსაფრთხო კონცენტრაციებთან შედარებით შესაძლოა იყოს ტოქსიკური (Williams & Jope 1995).

ამასთან უჯრედის მოცულობის შესანარჩუნებლად, ტონურობის მკვეთრი ცვლილება რეგულირდება  $\text{Na}^+$ -ის,  $\text{K}^+$ -ის,  $\text{H}^+$ -ისა და  $\text{Cl}^-$ -ის ტრანსპორტით პლაზმურ მემბრანაში, ხოლო ქრონიკული ცვლილება ტონურობაში კონდენსირდება ორგანული ოსმოლიტებით, ძირითადად ინოზიტოლის ტრანსპორტის საშუალებით (Strange 1992).

მნიშვნელოვანი იყო ოპტიმალური დოზის დადგენა ეფექტის მისაღებად. ჩვენი მთავარი ამოსავალი წერტილი იყო, ეფექტი მიღწეულიყო ფიზიოლოგიური კონცენტრაციის ზღვრებში. ეს ერთი მხრივ დაგვარწმუნებდა ინოზიტოლების ეფექტის სისწორეში *in vivo* სისტემაში და მეორის მხრივ დარწმუნებული ვიქნებოდით ამ დოზების გამოყენების შესაძლებლობაში თერაპიული მიზნებისათვის. ინოზიტოლების კონცენტრაცია სხვადასხვა ავტორების მონაცემებით მერყეობს 5.8-დან 11.5 მმოლამდე 1 კგ სველ წონაზე ვირთაგვის ტვინისათვის. სქილო-ინოზიტოლი კი დაახლოებით 10-ჯერ უფრო ნაკლები კონცენტრაციით გვხდება მიო-ინოზიტოლთან შედარებით (Agranoff & Fisher 2001). ჩვენს მიერ გამოყენებული დოზები კი შეადგენდა: სველ წონაზე 0.2 მმოლ/კგ-თვის და 0.033 მმოლ/კგ-ისათვის. ეს დოზები 300-ჯერ უფრო ნაკლებია ვიდრე ზემოთ ციტირებულ ექსპერიმენტებში.

მიუხედავად, მიო-ინოზიტოლის ექვსჯერ უფრო მაღალი კონცენტრაციისა სქილო-ინოზიტოლთან შედარებით, არ შეიმჩნეოდა არავითარი სარწმუნო განსხვავება MI+PTZ და SCI+PTZ ჯგუფებს შორის. ამრიგად, სქილო-ინოზიტოლის მოქმედება კონცენტრაციის მიხედვით უფრო ეფექტურია ვიდრე მიო-ინოზიტოლისა. ინოზიტოლის სტერეო იზომერებს გააჩნიათ განსხვავებული ჰიდროქსო ჯგუფების განაწილება და შესაძლოა ეს არის სხვადასხვა კონცენტრაციების ეფექტურობის მიზეზი. ხოლო ნეიროაქტიური თვისებებიდან ცნობილია ამილოიდის β პეპტიდის აგრეგაციის ინჰიბირება ალცჰაიმერის დაავადების დროს (McLaurin *et. al.*, 2006). კიდევ ერთხელ უნდა აღვნიშნოთ, რომ ვირთაგვას თავის ტვინში სპეციფიკური ეპიმერაზებით ხდება მიო-ინოზიტოლის გარდაქმნა სქილო-ინოზიტოლად (Sherman *et. al.*, 1968). შესაძლებელია, რომ მიო-ინოზიტოლის ეფექტიც გარკვეულწილად მისი სქილო-ინოზიტოლად გარდაქმნით იყოს გამოწვეული.

ის ფაქტი, რომ მიო- და სქილო-ინოზიტოლის ანტი-კონვულსიური ეფექტურობა არის თუ არა ინოზიტოლების სპეციფიკური თვისება გათვალისწინებული იყო ექსპერიმენტის მსვლელობისას. საკონტროლო ჯგუფად გამოვიყენეთ მანიტოლით დამუშავებული ცხოველები. როგორც ცნობილია

მანიტოლი არის პოლიოლი მსგავსი მოლეკულური წონით, თუმცა არავითარი სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება არ მოიძებნა ფიზიოლოგიური ხსნარით და მანიტოლით დამუშავებულ ცხოველებისგან შემდგარ ორ საკონტროლო ჯგუფს შორის, რაც დამაჯერებლად მიუთითებს იმაზე, რომ როგორც მيو-ინოზიტოლის ასევე სქილო-ინოზიტოლის ეფექტები სპეციფიკურია ამ ნაერთებისათვის.

#### 4.3. მيو-ინოზიტოლის მოქმედების შესწავლა კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსით ინდუცირებულ ბიოქიმიურ ცვლილებებზე

რადგან მيو-ინოზიტოლის მოქმედება იყო ეფექტური პენტილენტეტრაზოლით და კაინის მჟავით გამოწვეული კრუნჩხვების სიძლიერის შესამცირებლად (Solomon et al., 2007), ლოგიკურად წარმოიშვა ძირეული შეკითხვა ეპილეფსიის პრობლემისა: ძალუძს თუ არა მيو-ინოზიტოლს ეპილეპტოგენეზის პროცესის შეფერხება? ამავდროულად ჩნდება მეორე შეკითხვაც: როდის უნდა დავიწყოთ ექსპერიმენტში მيو-ინოზიტოლის ადმინისტრაცია - ეპილეფსიური მდგომარეობის ჩამოყალიბებამდე თუ მისი ჩამოყალიბების შემდეგ? თუ გავითვალისწინებთ იმას, რომ პირველი ეპილეფსიური სტატუსი არაპროგნოზირებადია (მაგალითად ტრავმისას ან სხვა რამე პრო-კონვულსიური მდგომარეობისას) უფრო მნიშვნელოვანია ეპილეპტოგენეზზე პრეპარატის ზეგავლენის შესწავლა პირველი კონვულსიური მდგომარეობის შემდეგ. ასეთ შემთხვევაში გამოსაცდელი პრეპარატის დადებითი ეფექტი უფრო მნიშვნელოვანს გახდის მას. ყოველივე ამის გათვალისწინებით ჩვენი ექსპერიმენტული დიზაინი ითვალისწინებდა ჯერ ეპილეფსიური სტატუსის ჩამოყალიბებას და შემდეგ დამუშავების დაწყებას.

აუკ-ების ნეიროპროტექტორული ეფექტების შესწავლა ექსპერიმენტულ დონეზე ძირითადად ფოკუსირებულია დამბლის და სტატუს ეპილეპტიკუსის მოდელებზე. აქედან კაინის მჟავათი გამოწვეული კრუნჩხვები ცხოველებში იმეორებენ ადამიანების საფეთქლის წილის ეპილეფსიის ბევრ ფენომელოგიურ

თვისებებს და წარმატებით შეიძლება იყოს გამოყენებული ეპილეპტოგენეზის ბაზისური მექანიზმების შესასწავლად (Pitkanen 2002; Ben-Ari 1985).

როგორც ავღნიშნეთ ეპილეფსიური კრუნჩხვების დროს ადგილი აქვს მიო-ინოზიტოლის მეტაბოლურ დარღვევებს, რაც ნანახი იქნა მაგნიტურ-რეზონანსული სპექტროსკოპის საშუალებით საფეთქლის წილის ეპილეფსიის დროს ადამიანებში. როგორც ვიცით მიო-ინოზიტოლი არის სპეციფიკური ლიპიდი გლიური უჯრედებისთვის, რომელიც იზრდება გლიოზის დროს (Wellard *et. al.*, 2003) ან ჰიპეროსმოსურობის შედეგად (Gullans & Verbalis 1993). ამასთან საფეთქლის წილის N-ასპარტატის დონე იკლებს და მიო-ინოზიტოლის კი იზრდება საფეთქლის წილის ეპილეფსიით დაავადებულ პაციენტებში. მიო-ინოზიტოლის რაოდენობის ზრდა გამოწვეული უნდა იყოს ასტროციტოზის გამო. ხოლო შუბლის წილის მიო-ინოზიტოლის რაოდენობა ყველა პაციენტში იყო დაკლებული, რაც შესაძლოა აიხსნას ოსმოლიტური თვისებით. ამრიგად, მიო-ინოზიტოლი მცირდება კრუნჩხვების გავრცელების არეალში და იზრდება კრუნჩხვების ფოკუსირების მიდამოში (Wellard *et. al.*, 2003). ეს შესაძლოა აიხსნას  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მ-რნმ-ის ზრდით, რაც ვირთაგვებში კაინის მჟავის ინტრაპერიტონიალური ადმინისტრირებით იქნა დადგენილი. ეს არის ზემოქმედება რომელსაც თან სდევს ნეირონების განმუხტვა და ადგილი აქვს უჯრედშიდა ელექტროლიტების გაზრდას.  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის მ-რნმ-ის მომატება ყველაზე მკვეთრად გამოხატულია ფრონტალური და პარიეტალურ კორტექსში (Nonaka *et. al.*, 1999).  $\text{Na}^+$ /მიო-ინოზიტოლის ტრანსპორტერის ექსპრესია რეგულირდება თვითონ ინოზიტოლითაც (Lubrich *et. al.*, 2000). საბოლოოდ, ნმიტ რნმ-ის ლოკალიზაცია ხდება კაინის მჟავით გამოწვეული კრუნჩხვების დროს, ექსპრესია იწყება CA3 ველის პირამიდულ უჯრედებში და ბოლოს CA1 პირამიდული უჯრედებში და ნეოკორტექსში ნმიტ რნმ სუსტად იზრდება და მაქსიმუმს აღწევს 12 საათში (Nonaka *et. al.* 1999). ნმიტ რნმ-ის ლოკალიზაციის გზა ეპილეპტიფორმული აქტივობების ლოკალიზაციის თანამდევია. ცნობილია რომ კაინის მჟავის შეყვანის შემდეგ ძლიერი ეპილეპტიფორმული აქტივობები ნანახია CA3 პირამიდულ უჯრედების შრეში და

დენტალურ გრანულარულ უჯრედების შრეში (Nonaka *et. al.* 1999), რაც კიდევ უფრო ამყარებს ჩვენი კვლევის ძირითად მიზანს მიო-ინოზიტოლის ფუნქციის მნიშვნელობის შესახებ ნეიროლოგიური დარღვევების კერძოდ ეპილეფსიის დროს და მისი დროული ადმინისტრირებით ეპილეპტოგენეზის შესაძლო შეფერხებისათვის.

რაც შეეხება გლუტამატური ამჰმ რეცეპტორის GluR1 სუბერთეულს, ის მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ჰიპოკამპურ გრძელვადიან პოტენციაციაში და ამჰმ რეცეპტორები განაპირობებენ სიგნალის სწრაფ აგზნებით გადაცემას. როგორც ცნობილია, ჰიპოქსიური კრუნჩხვების დროს იზრდება კალციუმის იონების გამტარი ამჰმ რეცეპტორების აქტივაცია P10 ვირთაგვებში. ეს აქტივაცია იწვევს კალცინეირინის გააქტივებას, გაემ-ა რეცეპტორის  $\beta 2/3$  სუბერთეულის დეფოსფორილირებას და გაემ-ით გამოწვეული სინაფსური ინჰიბიციის შემცირებას CA1 პირამიდულ უჯრედებში. ამ მოვლენების თანამიმდევრობა უნდა იწვევდეს ეპილეპტოგენეზს (McNamara *et. al.*, 2006). ზრდასრული ორგანიზმის ჰიპოკამპის ამაგზნებელ სინაფსებში ძირითადად GluR1 სუბერთეული გვხვდება, რომლის კამკII-ით ფოსფორილირების შედეგად ხდება არხის მოქმედების გაძლიერება. თუმცა ნორმალურ პირობებში ეს რეგულირდება და ჰიპოკამპში GluR1-ის გარდა ამჰმ რეცეპტორები ასევე GluR2-საც შეიცავენ (Holman *et. al.*, 2007). GluR2 სუბერთეული ხასიათდება ედიტინგით, რაც არხის გამტარებლობას ამცირებს, შედეგად რეგულირდება ამაგზნებელი სინაფსების აქტივაცია. სავარაუდოდ ამ რეგულაციის დარღვევა იწვევს ნეირონის დაწვას.

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები გვიჩვენებს რომ, კაინის მჟავის ადმინისტრაციიდან და ეპილეფსიური სტატუსიდან 28-ე (და არა 24 საათის შემდეგ) ადგილი აქვს ამჰმ რეცეპტორის GluR1 სუბერთეულის რაოდენობრივი მკვეთრ კლებას ჰიპოკამპის ჰომოგენატურ ფრაქციაში. გამოყენებული ბიოქიმიური მეთოდი არ გვაძლევს ამ კარგვის მექანიზმების შეცნობის საშუალებას, მაგრამ ჩვენ ვვარაუდობთ ეს პროცესი სწორედ ჰიპოკამპური ნეირონების კარგვის და სინაფსური რეორგანიზაციის შედეგია. ეს შემცირება 28 დღიანი მიო-ინოზიტოლის ორჯერადი



ადმინისტრირების შედეგად სარწმუნოდ ნიველირებულია. ჩვენი აზრით ეს ეფექტი მიუთითებს მიო-ინოზიტოლის ნეიროპროტექტორულ თვისებებზე და ეპილეპტოგენეზის შეფერხების სავარაუდო გზებზე.

ეპილეპტოგენეზის პროცესების აქტიური მონაწილე კომპონენტია კამკII, რომელიც ძუძუმწოვრების ცნს-ის პოსტინაფსური სიმკვრივის ძირითადი ცილაა და ჩართულია სიგნალის გადაცემის არაერთ მნიშვნელოვან პროცესში. კამკII-ის აქტივაცია დამოკიდებულია უჯრედშიდა  $Ca^{2+}$ -ის იონების კონცენტრაციაზე. ბიოქიმიური მონაცემები კამკII-ის შემცირებული აქტივობის შესახებ და გენეტიკური და ფარმაკოლოგიური მონაცემები მიუთითებს რომ, კამკII-ის შემცირება ადგილზე საკმარისია იმ მოლეკულური და უჯრედული ცვლილებებისთვის რომ ტვინი გარდაიქმნას ეპილეპტიკურად (Merrill *et. al.*, 2005). ჩვენი მიერ მიღებული შედეგებიც ეთანხმება ამ აზრს, რადგან კაინის მჟავის შეყვანის შედეგად ვირთაგვების ჰიპოკამპში კამკII-ის რაოდენობა სარწმუნოდ მცირდება. ისევე როგორც ამჰმ რეცეპტორის შემთხვევაში მიო-ინოზიტოლის ადმინისტრირება ამუხრუჭებს ამ შემცირებას და ამ ჯგუფის ცხოველებში კამკII-ის რაოდენობა სარწმუნოდ არ განსხვავდება საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებლებისაგან. სშც90 გავრცელებული ჩაპერონია ცნს-ში, რომელიც მონაწილეობს მრავალი სასიგნალო მოლეკულის სტაბილიზაციასა და კონფორმაციული მომწიფების პროცესში. ეპილეფსიის და ეპილეფტოგენეზის პროცესში ადგილი აქვს სხვადასხვა სიციხით შოკირებადი ცილების რაოდენობრივ ცვლილებებს, თუმცა სშც 90-ისათვის ეს არ აღირიცხება (Gass *et. al.*, 1995; Yang *et. al.*, 2008; Kharlamov *et. al.*, 2011). ზუსტად ამის გამო, ჩვენს მიერ შერჩეული იქნა ერთი ისეთი ცილა, რომელიც ლიტერატურული მონაცემების თანახმად უცვლელი უნდა ყოფილიყო ჩვენ ექსპერიმენტების სერიაში. მართლაც სშც90 არ იცვლება არც ჯგუფებისა, არც დროისა და არც რეგიონის მიხედვით. ანუ მიო-ინოზიტოლის მოქმედება ეპილეპტოგენეზი პროცესში უცვლელი ცილის რაოდენობაზე თავისთავად არ აღირიცხება.

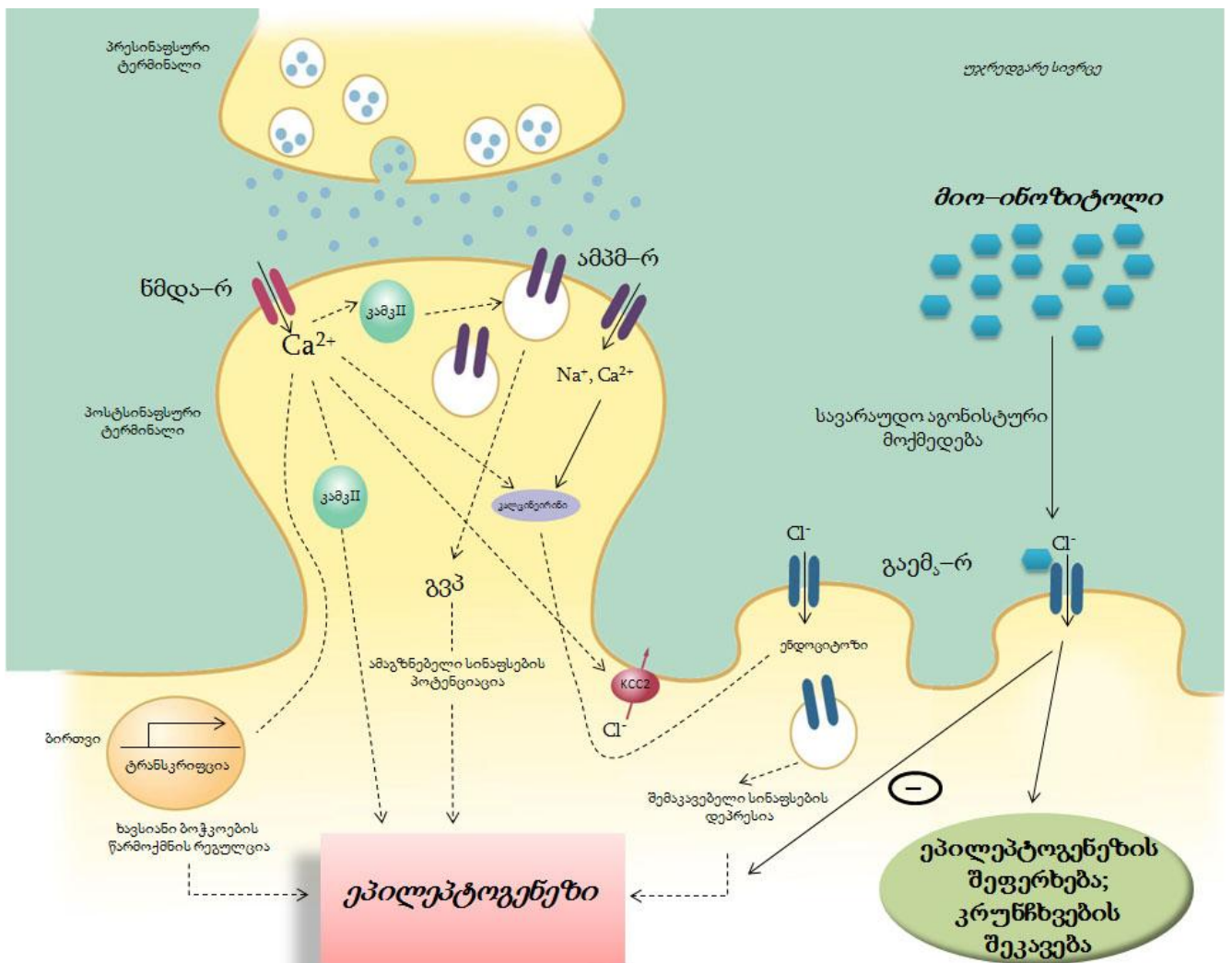
**რეგიონალური ეფექტი.** კაინის მჟავით და კაინის მჟავა+მიო-ინოზიტოლით გამოწვეულ ეფექტებს მხოლოდ ჰიპოკამპში ჰქონდა ადგილი. არანაირი სარწმუნო

ცვლილებებები არ იქნა დაფიქსირებული ნეოკორტექსში. გამომდინარე იქიდან, რომ კაინის მჟავის მოქმედების მთავარ სამიზნეს ჰიპოკამპი წარმოადგენს ეს შედეგი ლოგიკურად გამოიყურება. ამავე დროს ჩვენ არ გამოვრიცხავთ ნეოკორტექსის სუბრეგიონალურ დონეზე ცვლილებების არსებობას.

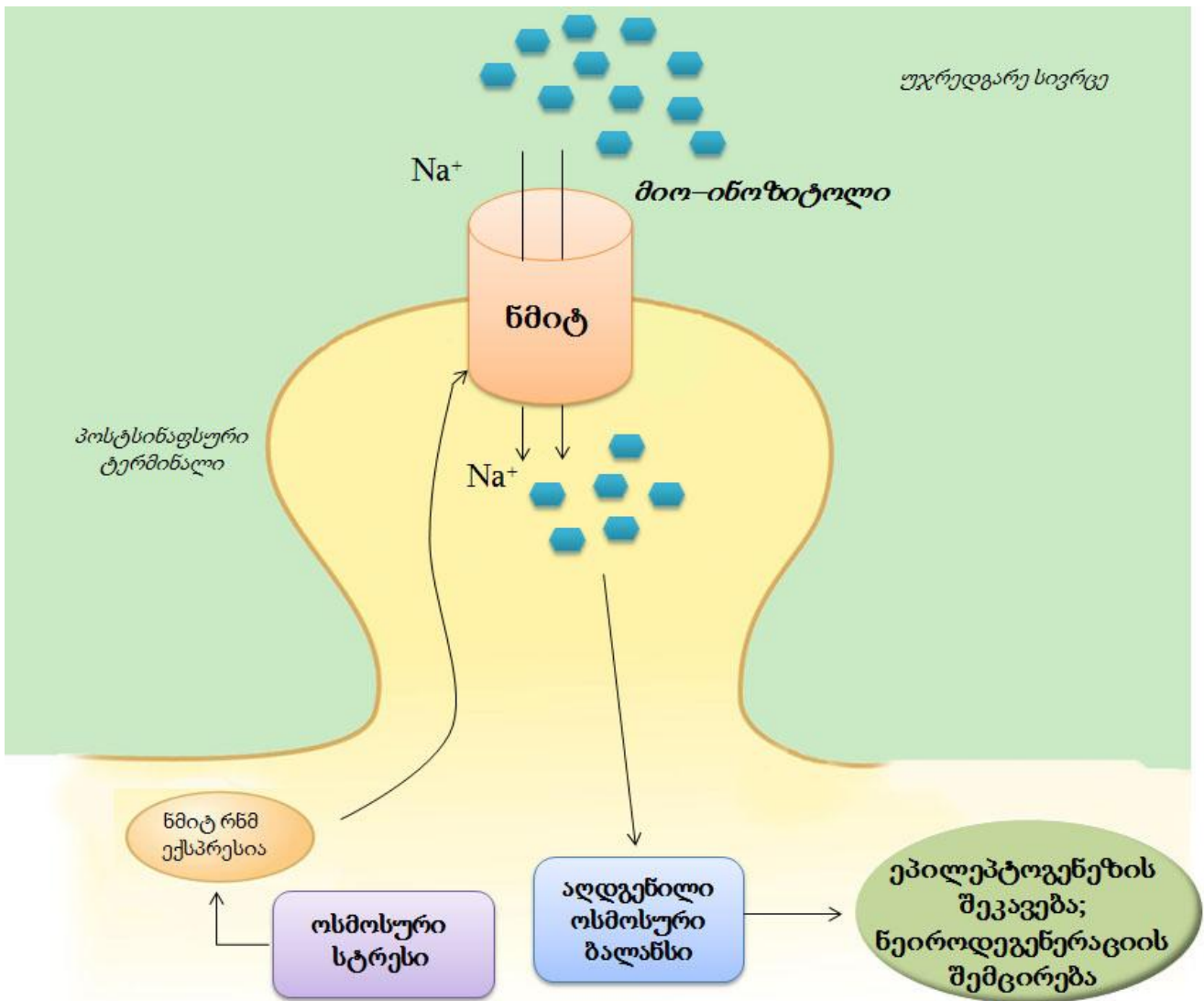
**დროის ფაქტორი.** უნდა აღინიშნოს რომ, კაინის მჟავის შეყვანიდან და აგრეთვე კაინის მჟავა + მიო-ინოზიტოლის ერთდღიანი ადმინისტრირების შედეგად ექსპერიმენტულ ჯგუფებში შორის არცერთი ჩვენს მიერ შესწავლილი ცილის რაოდენობრივ ცვლილებას არ ჰქონდა ადგილი არც ჰიპოკამპში და არც ნეოკორტექსში. ჰიპოკამპი შემადგენელი სუბრეგიონებით (მაგალითად CA1, CA3 ველი) მკვეთრად გამოხატული სპეციფიკით ხასიათდება. ჩვენ არ გამოვრიცხავთ რომ ამ შემთხვევაში მხოლოდ სუბრეგიონების მიხედვით ჰქონდეს ცვლილებებს ადგილი, რომელიც არ ვლინდება მთლიანი ჰიპოკამპის დონეზე.

**მოქმედების მექანიზმები.** რა შესაძლო მექანიზმით მოქმედებს მიო-ინოზიტოლი ჩვენს მიერ ჩატარებული ექსპერიმენტის დროს რთული სათქმელია. კაინის მჟავის შეყვანის შემდეგ უჯრედში ნმიტ მრნმ-ის ექსპრესიის მნიშვნელოვანი მატება მიუთითებს მიო-ინოზიტოლის საჭიროებაზე და ამ ნაერთის უჯრედული ფუნქციების დარღვევების შეფერხების პოტენციალზე.

ჩვენი მონაცემებიდან გამომდინარე ვვარაუდობთ, რომ მიო-ინოზიტოლის და სქილო-ინოზიტოლის სწრაფი ანტი-კონვულსიური მოქმედება შეიძლება განპირობებული იყოს მათი აგონისტური მოქმედებით გაემ-ა რეცეპტორებზე, ხოლო გრძელვადიანი - მოლეკულურ დონეზე ანტიეპილეპტოგენური ეფექტი კი გარდა გაემ-ა რეცეპტორებზე მოქმედებისა შეიძლება განპირობებული იყოს ინოზიტოლის ოსმოლიტური თვისებებით. ამ უკანასკნელში ჩვენ ვგულისხმობთ ჩამოყალიბებად ეპილეფსიურ კერაში ოსმოსური ბალანსის აღდგენით. გენთა სპეციფიკური კრებულის აქტივაციით და ასე შემდეგ. ჩვენი სავარაუდო სქემა გადმოცემულია სქემებზე (სურათი 19 და 20).



სურ.19. მოქმედების ერთი გზა, რომელიც შეიძლება საერთო იყოს კრუნჩხვების შეკავებასა და ეპილუპტოგენეზის შეფერხებისთვის.



სურ.20. მოქმედების მეორე გზა, რომელიც შეიძლება საერთო იყოს ოსმოსური ბალანსის აღდგენით გამოწვეულ ნეიროდეგენერაციის შემცირებას და ეპილეპტოგენეზის შეფერხებისთვის.

## თავი V. დასკვნები

1. ოლეამიდი ხასიათდება ანტიკონვულსიური თვისებებით პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეული კრუნჩხვების მიმართ. მისი პრეადმინისტრაცია სარწმუნოდ ამცირებს კრუნჩხვების სიძლიერეს და ცხოველთა სიკვდილიანობას პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეული კრუნჩხვების დროს.

2. მიო-ინოზიტოლი ხასიათდება ანტიკონვულსიური თვისებებით პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეული კრუნჩხვების მიმართ. მისი პრეადმინისტრაცია სარწმუნოდ ამცირებს კრუნჩხვების სიძლიერეს და ხანგრძლივობას, ასევე ზრდის პირველი კონვულსიის ლატენტურ პერიოდს პენტილენტეტრაზოლის ადმინისტრირების შემდეგ.

3. სქილო-ინოზიტოლი გვევლინება ანტიეპილეფსიური თვისების მატარებლად პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეული კრუნჩხვების მიმართ. მისი წინასწარი შეყვანა ასევე სარწმუნოდ ამცირებს პენტილენტეტრაზოლით გამოწვეულ კრუნჩხვების სიძლიერეს და ხანგრძლივობას.

4. კაინის მჟავის ადმინისტრირების შედეგად ეპილეფსიური მდგომარეობის მქონე ვირთაგვების ჰიპოკამპში 28 დღის შემდეგ ადგილი აქვს ამჰმ რეცეპტორის GluR1 სუბერთეულის და კამკII-ის რაოდენობის სარწმუნო და მკვეთრ შემცირებას, ხოლო სმც90 ის რაოდენობა არ იცვლებოდა სარწმუნოდ. ცხოველთა ნეოკორტექსში კი არცერთი ცილის რაოდენობა არ იცვლებოდა სარწმუნოდ. აღნიშნული ცილების ცვლილებებს ადგილი არ აქვს კაინის მჟავას ადმინისტრირებიდან 1 დღის შემდეგ.

5. კაინის მჟავის ადმინისტრირებიდან სტატუს ეპილეპტიკუსის მქონე ვირთაგვებში 28 დღიანი მიო-ინოზიტოლის ყოველდღიური 2-ჯერადი ინექცია სარწმუნოდ აფერხებს ამჰმ რეცეპტორის GluR1 სუბერთეულის და კამკII-ის რაოდენობის შემცირებას ჰიპოკამპში.

მიო-ინოზიტოლის და სქილო-ინოზიტოლის როგორც ანტიეპილეფსიური ნაერთების პოტენცია საჭიროებს შემდგომ შესწავლას ეპილეფსიის სხვა მოდელებზე მათი შემდგომი შესაძლო კლინიკური გამოყენებისათვის.

## VI. დისერტაციის რეზიუმე ინგლისურ ენაზე

### Research of the antiepileptic properties of Oleamide and Inositols

#### *(RESUME)*

Epilepsy is the most common neurological disorder of the brain, affecting approximately 0.8% of the population (Pitkanen 2002). It is a heterogeneous group of disorders, with a 2-3% lifetime risk of being given a diagnosis of epilepsy (Browne *et. al.*, 2001). The age-adjusted prevalence of epilepsy is in the range of 4 to 10 per 1000 people in most locations. The burden associated with epilepsy is great, both for the individual with epilepsy and for society at large (Giblin & Blumenfeld 2010). Over the last decades, there has been considerable progress in the pharmacotherapy of epilepsy, due to the introduction of several new antiepileptic drugs (AEDs) and improved formulations of older drugs (McCabe 2000). However, despite this progress, about one third of patients with epilepsy are resistant to current pharmacotherapies (Loscher 2002). The most important challenge is to prevent epileptogenesis, the process by which brain becomes epileptic. However, the belief that AEDs in addition to suppressing seizures alter the underlying epileptogenic process and in doing so, the course of the disease, is not supported by the available data (Loscher 2002). Work on epilepsy prevention can for the most part be parsed into prevention of epilepsy after a known inciting event and prevention of epilepsy in genetic models where the time of epilepsy development is well characterized and may be dependent on a transient developmental background. Both of these approaches rest upon identification of epileptogenesis, understanding of the underlying mechanisms of epilepsy development, and intervention targeted to these mechanisms in an appropriate time period. While prevention of epilepsy in human subjects has been largely unsuccessful to this point, recent studies in animal models have been encouraging and show certain treatments to be efficacious (Giblin & Blumenfeld 2010). Thus, the search for antiepileptogenic drugs and study of molecular mechanisms of epileptogenesis is a problem of outstanding importance for modern biomedical sciences.

For this task adequate animal models of epilepsy are necessary. The final goal of antiepilepsy research is the human being and animal models used in research should reflect the processes underlying human epilepsy. Pilocarpine and kainic models of epilepsy replicate several phenomenological features of human temporal lobe epilepsy and can be used as animal preparations to understand the basic mechanisms, as well as for the screening on new antiepileptogenic drugs (Pitkanen 2002, Ben-ari 1985).

The aqueous extract from the herb *Aquilegia vulgaris* since the times immemorial was implemented in Chinese and Tibetan medicine as sleep-promoting and antiepileptic means (Shreter 1975). In our laboratory several years ago it was found that the water extract of *Aquilegia vulgaris* inhibits <sup>3</sup>H-muscimol (a GABA<sub>A</sub> receptor agonist) binding to rat brain membranes and also increases <sup>3</sup>H-flunitrazepam (a specific ligand for the GABA<sub>A</sub> receptor benzodiazepine site) binding by a factor of approximately two. Compounds from the *Aquilegia vulgaris* extract influencing <sup>3</sup>H-muscimol and <sup>3</sup>H-flunitrazepam binding are characterized by low molecular weight (<1 kDa) and exhibit anti-epileptic features when tested on audiogenically evoked epileptic seizures in Kroushinsky-Molodkina rats (Solomonina *et. al.*, 1996).

γ-aminobutyric acid (GABA) is the main inhibitory neurotransmitter of the mammalian central nervous system and several antiseizure medicines act through the GABA system. GABA itself is unable to penetrate the blood-brain barrier and therefore systemic intraperitoneal administration of GABA is not accompanied by anticonvulsive activity (Laborit 1973). Therefore the identification of the substances which specifically affect the GABA<sub>A</sub> type receptors is important.

Two compounds of this extract acting on GABA-A receptors were further identified: (1) myo-inositol (MI) and (2) oleamide—sleep inducing lipid. It was shown that MI inhibits <sup>3</sup>H-muscimol binding to GABA<sub>A</sub> receptors and oleamide stimulates binding of <sup>3</sup>H-flunitrazepam binding in vitro (Solomonina *et. al.*, 2004).

These compounds has not been reviewed previously as anti-epileptic or anti-epileptogenic agents and during last few years, research of anti-epileptic properties of

oleamide and inositols became main research topic in our laboratory. Thus, study of antiepileptic and antiepileptogenic properties of MI, scyllo-inositol (SCI) and oleamide was a major purpose of presented thesis.

Oleamide first was isolated from the cerebrospinal fluid of sleep-deprived cats and received the name of sleep-inducing lipid (Cravatt *et. al.*, 1995). Oleamide has unique pharmacological properties and modulates activity of three important signal systems: neuroreceptors - positive modulation of GABA-A receptors and inhibitory glycine receptors (Lees *et. al.*, 1998), voltage-dependent Na<sup>+</sup> channels - blockade of function (Verdon *et. al.*, 2000), and gap junction-mediated communication between glial cells - selective inhibition of communication (Guan *et. al.*, 1997). These systems mediate the effect of antiepileptic compounds. It was hypothesized that oleamide is an endogenous anticonvulsant (Dougalis *et. al.*, 2004).

The inositols are the nine isomeric forms of cyclohexanehexol, a group of small and chemically very stable polar molecules that have versatile properties (Michel 2008; Fisher *et. al.*, 2002). MI is the most abundant isomer and is a ubiquitous component of all eukaryotic cells. The central nervous system (CNS) is characterized with relatively high concentrations of MI as well as the means to synthesize it. MI serves not only as a precursor molecule for inositol lipid synthesis, but also as a physiologically important osmolyte. Alteration in MI disposition may play role in the number of neuropathological conditions, where MI acts either as a physiologically important osmolyte or as a precursor molecule for phosphoinositide synthesis (Fisher *et. al.*, 2002).

SCI is one of the inositol isomers and is present in human brain in quantities estimated to be from 5 to 12% that of MI (Seaquist & Gruetter 1998). A specific epimerase in the rat and rabbit brains converts MI to SCI (Sherman *et. al.*, 1971). The existence of a specific enzyme for its synthesis suggests that SCI is physiologically important. SCI inhibits aggregation of amyloid  $\beta$  peptide into high molecular weight oligomers in the brain and ameliorates several Alzheimer disease like-phenotypes (McLaurin *et. al.*, 2006).



I. **Oleamide and PTZ induced seizures.** Oleamide in a dose of 10 mg/kg, dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO) was injected intraperitoneally to one group of animals. Second and third groups of animals received an equivalent volume of DMSO and physiological saline respectively. PTZ in a dose of 60 mg/kg was administered to all rats after 30 min. Each animal was placed in an individual chamber. The behaviour of animals was studied for 1 h. Seizures were scored according to a modified Racine scoring system from 0 to 6 (Racine 1972, Clement *et. al.*, 2003). We evaluated degree of convulsions, the latency and duration of seizures and mortality of rats after PTZ-induced seizures in each animal.

The result of these series of experiments has revealed that preadministration of Oleamide significantly decreases degree of convulsions and the mortality during PTZ-induced seizures in rats. No significant changes were observed for the latency or duration of seizures.

II. **MI, SCI and PTZ induced seizures.** Half an hour after intraperitoneal pretreatment with MI (30 mg/kg) or SCI (5 mg/kg) seizures were induced in Wistar rats with PTZ (60 mg/kg). Control animals were treated either by normal saline or mannitol (control polyol of the same molecular weight), given at the same time interval before PTZ injection, as MI and SCI groups. The anticonvulsant effects of MI/SCI treatment were assessed by the latent period (the time from PTZ-injection to the onset of first seizures), and the duration and degree of seizures. The mortality rate was also assessed. Both MI and SCI treatment significantly reduced the seizure score, seizure duration and increased the latent period to the onset of seizures.

In conclusion the results of these series of experiments indicate that MI and SCI in the range of physiological concentrations possess anticonvulsant properties on PTZ induced convulsions.

III. **MI pretreatment and biochemical changes triggered by KA induced SE.** One of the aims of the present work was to study the effects of MI treatment on biochemical changes following KA-induced SE before the onset of chronic seizures. We were interested if MI pretreatment could interfere with the process of epileptogenesis. After KA induced SE one group of rats was treated with intraperitoneal injections of saline, whereas the second

group with MI (30 mg/kg) twice per day. Control groups received either saline or MI administration. Changes in the amounts of following proteins were studied in the hippocampus and neocortex of rats:  $\alpha$ -subunit of calcium-calmodulin-dependent protein kinase II ( $\alpha$ CaMKII); GluR1 subunit of  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate (AMPA) type glutamate receptors (GluR1) and heat shock protein 90 (HSP90).

No changes were found 28–30 h after experiments. However on 28th day of experiment the amounts of GLUR1 and CaMKII were strongly reduced in the hippocampus of KA treated animals but MI significantly halted this reduction. Obtained results indicate anti-epileptogenic features of MI on biochemical level.

Based on our original findings we have made following conclusions:

1. Oleamide has the anticonvulsant effects on PTZ-induced seizures. Preadministration of Oleamide significantly decreases degree of convulsions and the mortality during PTZ-induced seizure in rats.

2. Myo-inositol has the anticonvulsant effects on PTZ-induced seizures. Preadministration of MI significantly decreases degree and duration of convulsions, also increases latent period after PTZ injection in rats.

3. Scyllo-inositol has the anticonvulsant effects against PTZ-induced seizures. Preadministration of SCI significantly decreases degree of convulsions and duration of seizures during PTZ-induced seizure in rats.

4. On 28<sup>th</sup> day of experiment the amount of GluR1 and CaMKII were significantly reduced in the hippocampus of KA treated rats with status epilepticus, but the amount of HSP90 did not change at all. The amount of neither the proteins was changed in neocortex of rats by experimental conditions. No changes of proteins were found after 1 day experiments.

5. During 28 days MI daily treatment significantly halts decrease in the amounts of GluR1 and CaMKII initiated by KA induced SE in the hippocampus of rats. We propose that in addition to other functions MI and SCI are endogenous anticonvulsants and their action should be explored in a broader range of epilepsy models.

## თავი VII. ბიბლიოგრაფია

1. Acevedo L.D., Holloway H.W., Rapoport S.I. & Shetty H.U. (1997) Application of stable isotope tracer combined with mass spectrometric detection for studying myo-inositol uptake by cultured neurons from fetal mouse: effect of trisomy 16. *J. Mass Spectrom.* 32, 395–400
2. Agam G, Shapiro Y, Bersudsky Y, Kofman O & Belmaker RH. (1994) High-dose peripheral inositol raises brain inositol levels and reverses behavioral effects of inositol depletion by lithium. *Pharmacol Biochem Behav.*; 49(2), 341-343
3. Agranoff B.W. & Fisher S.K. (2001) Inositol, lithium and the brain. *Psychopharmacol. Bull.* 35, 5–18
4. Arner R.J., Prabhu K.S., Thompson J.T., Hildenbrandt G.R., Liken A.D. & Reddy C.C. (2001) myo-Inositol oxygenase. Molecular cloning and expression of a unique enzyme that oxidizes myo-inositol and D-chiro-inositol. *Biochem. J.* 360, 313–320
5. Barbarosie M. & Avoli M. (1997) CA3-driven hippocampal-entorhinal loop controls rather than sustains in vitro limbic seizures. *J Neurosci.* 17, 9308–9314
6. Barria A., Muller D., Derkach V., Griffith L.C. & Soderling T.R. (1997) Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation. *Science* 276, 2042–2045
7. Ben-Ari Y. (1985) Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid: mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*; 14(2), 375-403
8. Berridge M.J. (1987) Inositol trisphosphate and diacylglycerol: two interacting second messengers. *Ann. Rev. Biochem.* 56, 159–193
9. Berridge MJ, Downes CP & Hanley MR (1982) Lithium amplifies agonist-dependent phosphatidylinositol responses in brain and salivary glands. *Biochem.J.* 206, 587–95
10. Berridge MJ, Downes CP & Hanley MR. (1989) Neural and developmental actions of lithium: a unifying hypothesis. *Cell.*; 59(3), 411-9

11. Berry G.T., Mallee J.J., Kwon H.M., Rim J.S., Mulla W.R., Muenke M. & Spinner N.B. (1995) The human osmoregulatory Na<sup>+</sup>/myoinositol cotransporter gene (SLC5A3): molecular cloning and localization to chromosome 21. *Genomics* 25, 507–513
12. Bisogno T., Sepe N., De Petrocellis L., Mechoulam R. & Di Marzo V. (1997) The sleep inducing factor oleamide is produced by mouse neuroblastoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 239, 473–479
13. Bouveault L. (1894) De l'isomé'rie optique dans les corps a` chaines ferme'es. *Bull. la Socie'te' Chimique Paris* 11, 144–147
14. Brecht D.S. & Nicoll R.A. (2003) AMPA receptor trafficking at excitatory synapses. *Neuron* 40, 361–379
15. Browne T.R. & Holmes G.L. (2001) Epilepsy. *New Engl. J. Med.*, 344, 1145-51
16. Buchner J. (1999) Hsp90 & Co. - a holding for folding. *Trends Biochem Sci.*; 24(4), 136-141
17. Burg MB, Kwon ED & Kültz D. (1996) Osmotic regulation of gene expression. *FASEB J.*; 10(14), 1598-1606
18. Butler L.S., Silva A.J., Abeliovich A., Watanabe Y., Tonegawa S. & McNamara J.O. (1995) Limbic epilepsy in transgenic mice carrying Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase II alpha-subunit mutation. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 92, 6852-6855
19. Caffrey J.J., Safrany S.T., Yang X. & Shears S.B. (2000) Discovery of molecular and catalytic diversity among human diphosphoinositol-polyphosphate phosphohydrolases. *An expanding Nudt family. J. Biol. Chem.* 275, 12730–12736
20. Churn S.B., Sombati S., Jakoi E.R., Severt L. & DeLorenzo R.J. (2000) Inhibition of calcium/calmodulin kinase II alpha subunit expression results in epileptiform activity in cultured hippocampal neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97, 5604–5609.
21. Clement AB, Hawkins A, Lichtman AH., Cravatt BF. Increased Seizure Susceptibility and Proconvulsant Activity of Anandamide in Mice Lacking Fatty Acid Amide Hydrolase. *Journal of Neuroscience.* 2003; 23, 3916-3923

22. Clements R.S.Jr & Diethelm A.G. (1979) The metabolism of myoinositol by the human kidney. *J. Laboratory Clin. Med.* 93, 210–219
23. Coady M.J., Pajor A.M. & Wright E.M. (1990) Sequence homologies among intestinal and renal Na<sup>+</sup>/glucose cotransporters. *Am. J. Physiol.* 259, 605–610
24. Cooper I., Lord T. & Tice P. A. (1995) Hydrolysis studies on oleamide in simulated gastrointestinal fluids. *Food Additives Contaminants* 12, 769-777
25. Coyne L, Lees G, Nicholson RA, Zheng J & Neufeld KD (2002) The sleep hormone oleamide modulates inhibitory ionotropic receptors in mammalian CNS in vitro. *Br J Pharmacol.*; 135(8), 1977-1987
26. Cravatt B.F., Prospero-Garcia O., Siuzdak G., Gilula N.B., Henriksen S.J., Boger D.L. & Lerner R.A. (1995) Chemical characterization of a family of brain lipids that induce sleep. *Science.* 268, 5216, 1506-1509
27. DeLorenzo RJ., Pal S. & Sombati S. (1998) Prolonged activation of the *N*-methyl-D-aspartate receptor-Ca<sup>2+</sup> transduction pathway causes spontaneous recurrent epileptiform discharges in hippocampal neurons in culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 14482-14487
28. Di Marzo V., Bisogno T. & De Petrocellis L. (2001) Anandamide: some like it hot. *Trends Pharmacol. Sci.*, 22, 346–349
29. Doherty J. & Dingledine R. (2000) A DNA microarray analysis of epileptogenesis in the mouse dentate gyrus. *Epilepsia (Suppl.)* 41, 5.
30. Dougalis A., Lees G. & Ganellin C.R. (2004) The sleep lipid oleamide may represent an endogenous anticonvulsant: an in vitro comparative study in the 4-aminopyridine rat brain-slice model. *Neuropharmacology* 46, 541-554
31. Eagle H., Agranoff B.W. & Snell S.E. (1960) The biosynthesis of meso-inositol by cultured mammalian cells, and the parabiotic growth of inositol-dependent and inositol-independent strains. *J. Biol. Chem.* 235, 1891–1893
32. Eastcott V. (1928) Wildiers' bios: the isolation and identification of 'bios I.' *J. Phys. Chem.* 32, 1094–1111

33. Ebert U., Brandt C. & Loscher W. (2002) Delayed sclerosis, neuroprotection and limbic epileptogenesis after status epilepticus in the rat. *Epilepsia*, 43 Suppl 5, 86-95.
34. Elliot RC, Zhang DM, Kruegel BR, Miles MF, Callo E. & Lowenstein DH (2001) DNA microarray analysis indicates that extracellular matrix components sparc and SC1 are differentially regulated in the rat dentate gyrus after status epilepticus. *Epilepsia (Suppl.)* 42, 96
35. Engel J, Williamson P & Wieser H (1997) Mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsy: A Comprehensive Textbook*, 2417-2426
36. Fedorova I., Hashimoto A., Fecik R. A., Hedrick P. M., Hanu L.O., Boger D.L., Rice K.C. & Basile A. S. (2001) Behavioral evidence for the interaction of oleamide with multiple neurotransmitter systems. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 299, 332–342
37. Fisher K.S., Novak J.E. & Agranoff B.W. (2002) Inositol and higher inositol phosphates in neuronal tissues: homeostasis, metabolism and functional significance. *J. Neurochem.* 82, 736–754
38. Fisher S.K., Heacock A.M. & Agranoff B.W. (1992) Inositol lipids and signal transduction in the nervous system: an update. *J. Neurochem.* 58, 18–38
39. Folch J. & Woolley D.W. (1942) Inositol, a constituent of a brain phosphatide. *J. Biol. Chem.* 142, 963–964
40. Fowler C.J. (2004) Oleamide: a member of the endocannabinoid family? *Br. J. Pharmacol.* 141, 195-196
41. Fu J., Gaetani S., Oveisi F., Lo Verme J., Serrano A., Rodriguez de fonseca F., Rosengath A., Luecke H., Di Giacomo B., Tarzia G. & Piomelli D. (2003) Oleyethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR- $\alpha$ . *Nature*, 425, 90–93
42. Gass P., P. Prior, M. Kiessling, Correlation between seizure intensity and stress protein expression after limbic epilepsy in the rat brain, *Neuroscience* 65 (1995) 27–36

43. Gerges N.Z., Tran I.C., Backos D.S., Harrell J.M., Chinkers M. & Pratt W.B. (2004) Independent Functions of hsp90 in Neurotransmitter Release and in the Continuous Synaptic Cycling of AMPA Receptors. *The Journal of Neuroscience* 24(20), 4758 – 4766
44. Giblin K.A. & Blumenfeld H. (2010) Is epilepsy a preventable disorder? New evidence from animal models. *Neuroscientist.*, 16(3), 253-275
45. Goodkin H. P., Yeh J. L. & Kapur J., (2005) Status epilepticus increases the intracellular accumulation of GABAA receptors. *J. Neurosci.* 25, 5511-5520
46. Gray D.W., Challiss R.A. & Nahorski S.R. (1994) Differential effects of lithium on muscarinic cholinergic-stimulated CMP-phosphatidate accumulation in cerebellar granule cells, CHO-M3 cells, and SH-SY5Y neuroblastoma cells. *J. Neurochem.* 63, 1354–60
47. Greene N.D. & Copp A.J. (1997) Inositol prevents folate-resistant neural tube defects in the mouse. *Nat. Med.* 3, 60–66
48. Guan X, Cravatt BF, Ehring GR, Hall JE, Boger DL, Lerner RA & Gilula NB. (1997) The sleep-inducing lipid oleamide deconvolutes gap junction communication and calcium wave transmission in glial cells. *J Cell Biol.*; 139(7), 1785-1792
49. Gullans SR & Verbalis JG Control of brain volume during hyperosmolar and hypoosmolar conditions. *Annu Rev Med.*; 44, 289-301
50. Guo W., Shimada S., Tajiri H., Yamauchi A., Yamashita T., Okada S. & Tohyama M. (1997) Developmental regulation of Na<sup>+</sup>/myo-inositol cotransporter gene expression. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 51, 91–96
51. Hager K., Hazama A., Kwon H. M., Loo D. D., Handler J. S. & Wright E. M. (1995) Kinetics and specificity of the renal Na<sup>+</sup>/myo-inositol cotransporter expressed in *Xenopus* oocytes. *J. Membr. Biol.* 143, 103–113
52. Hanus L.O., Fales H.M., Spande T.F. & Basile A.S. (1999) A gas chromatographic-mass spectral assay for the quantitative determination of oleamide in biological fluids. *Anal Biochem.*, 270 (1), 159-66
53. Hauser G. & Finelli V.N. (1963) The biosynthesis of free and phosphatide myo-inositol from glucose in mammalian tissues. *J. Biol. Chem.* 238, 3224–3228

54. Hauser W.A. (1997) Incidence and prevalence. *Epilepsy: A Comprehensive Textbook*, 47-57
55. Haussinger D., Laubenberger J., vom Dahl S., Ernst T., Bayer S., Langer M., Gerok W. & Hennig J. (1994) Proton magnetic resonance spectroscopy studies on human brain myo-inositol in hypo-osmolarity and hepatic encephalopathy. *Gastroenterology* 107, 1475–1480
56. Hayashi Y., Shi S.H., Esteban J.A., Piccini A., Poncer J.C. & Malinow R. (2000) Driving AMPA receptors into synapses by LTP and CaMKII: requirement for GluR1 and PDZ domain interaction. *Science* 287, 2262–2267
57. Heo H.J., Park Y.J., Suh Y.M., Choi S.J., Kim M.J., Cho H.Y., Chang Y.J., Hong B., Kim H.K., Kim E., Kim C.J., Kim B.,G. & Shin D.H. (2003) Effects of oleamide on Choline acetyltransferase and cognitive activities. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67 (6), 1284-1291
58. Hesdorffer D.C., Logroscino G., Cascino G., Annegers J.F. & Hauser W.A. (1998) Risk of unprovoked seizure after acute symptomatic seizure: effect of status epilepticus. *Ann. Neurol.* 44, 908–912
59. Hollmann M. & Heinemann S. (1994) Cloned glutamate receptors. *Annu. Rev. Neurosci.* 17, 31–108
60. Holman D., Feligioni M. & Henley J.M. (2007) Differential redistribution of native AMPA receptor complexes following LTD induction in acute hippocampal slices. *Neuropharmacology* 52(1), 92-99
61. Holub B.J. (1986) Metabolism and function of myo-inositol and inositol phospholipids. *Annu. Rev. Nutr.* 6, 563–597
62. Huang C.F., Voglmaier S.M., Bembenek M.E., Saiardi A. & Snyder S.H. (1998) Identification and purification of diphosphoinositol pentakisphosphate kinase, which synthesizes the inositol pyrophosphate bis (diphospho) inositol tetrakisphosphate. *Biochemistry* 37, 14998–15004
63. Huang RQ, Bell-Horner CL, Dibas MI, Covey DF, Drewe JA, Dillon GH. (2001) Pentylentetrazole-induced inhibition of recombinant gamma-aminobutyric acid type



A (GABA(A)) receptors: mechanism and site of action. *J Pharmacol Exp Ther.*; 298(3), 986-995

64. Huang W., Alexander G.E., Daly E.M., Shetty H.U., Krasuski J.S., Rapoport S.I. & Schapiro M.B. (1999) High brain myo-inositol levels in the predementia phase of Alzheimer's disease in adults with Down's syndrome: a 1H MRS study. *Am. J. Psychiatry* 156,1879–1886

65. Hudmon A. & Schulman H. (2002) Neuronal Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II: the role of structure and autoregulation in cellular function. *Annu. Rev. Biochem.* 71, 473–510

66. Ibsen L. & Strange K. (1996) In situ localization and osmotic regulation of the Na<sup>+</sup>-myo-inositol cotransporter in rat brain. *Am. J. Physiol.* 271, 877–885

67. Inoue K., Shimada S., Minami Y., Morimura H., Miyai A., Yamauchi A. & Tohyama M. (1996) Cellular localization of Na<sup>+</sup>/MYO-inositol co-transporter mRNA in the rat brain. *Neuroreport* 7, 1195–1198

68. Irvine R.F. & Schell M.J. (2001) Backin the water: the return of the inositol phosphates. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2, 327–338

69. Isaacks R.E., Bender A.S., Kim C.Y. & Norenberg M.D. (1997) Effect of osmolality and myo-inositol deprivation on the transport properties of myo-inositol in primary astrocyte cultures. *Neurochem. Res.* 22, 1461–1469

70. Isaacks R.E., Bender A.S., Kim C.Y., Shi Y.F. & Norenberg M.D.(1999b) Effect of ammonia and methionine sulfoximine on myoinositol transport in cultured astrocytes. *Neurochem. Res.* 24, 51–59

71. Ishiuchi S, Tsuzuki K, Yamada N, Okado H, Miwa A, Kuromi H, Yokoo H, Nakazato Y, Sasaki T, and Ozawa S (2001) Extension of glial processes by activation of Ca<sup>2+</sup>-permeable AMPA receptor channels. *Neuroreport* 12, 745–748

72. Jensen F.E., Wang C., Stafstrom C.E., Liu Z., Geary C. & Stevens M.C. (1998) Acute and chronic increases in excitability in rat hippocampal slices after perinatal hypoxia in vivo. *J. Neurophysiol.* 79, 73-81

73. Jutila L, Immonen A, Partanen K, Partanen J, Mervaala E, Ylinen A, Alafuzoff I, Paljärvi L, Karkola K, Vapalahti M & Pitkänen A (2002) Neurobiology of epileptogenesis in the temporal lobe. *Adv Tech Stand Neurosurg.*; 27, 5-22
74. Kask K. et al. (1998) The AMPA receptor subunit GluR-B in its Q/R site-unedited form is not essential for brain development and function. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 95, 13777–13782
75. Keinänen K, Wisden W, Sommer B, Werner P, Herb A, Verdoorn TA, Sakmann B & Seeburg PH (1990) A family of AMPA-selective glutamate receptors. *Science (Wash DC)* 249, 556–560
76. Kessels H.W & Malinow R. (2009) Synaptic AMPA Receptor Plasticity and Behavior. *Neuron* 61, 340-350
77. Kharlamov EA, Lepsveridze E, Meparishvili M, Solomonina RO, Lu B, Miller ER, Kelly KM & Mtchedlishvili Z. (2011) Alterations of GABA(A) and glutamate receptor subunits and heat shock protein in rat hippocampus following traumatic brain injury and in posttraumatic epilepsy. *Epilepsy Res.*; 95(1-2), 20-34
78. Kofman O, Sherman WR, Katz V & Belmaker RH (1993) Restoration of brain myo-inositol levels in rats increases latency to lithium-pilocarpine seizures. *Psychopharmacology (Berl).*; 110(1-2), 229-234
79. Koh S., Storey T.W., Santos T.C., Mian A.Y. & Cole A.J. (1999) Early-life seizures in rats increase susceptibility to seizure-induced brain injury in adulthood. *Neurology* 53, 915-921
80. Krestel H.E., Shimshek D.R., Jensen V., Nevian T., Kim J., Geng Y., Bast T., Depaulis A., Schonig K., Schwenk F., Bujard H., Hvalby O., Sprengel R. & Seeburg P.H (2004) A genetic switch for epilepsy in adult mice. *J. Neurosci.* 24, 10568-10578
81. Kwan P., Sills G. J & Brodie M. J. (2001) The mechanisms of action of commonly used antiepileptic drugs. *Pharmacol Ther.*, 90(1), 21-34

82. Kwon H.M., Yamauchi A., Uchida S., Preston A.S., Garcia-Perez A., Burg M.B. & Handler J.S. (1992) Cloning of the cDNA for a Na<sup>+</sup>/myo-inositol cotransporter, a hypertonicity stress protein. *J. Biol. Chem.* 267, 6297–6301
83. Laborit H. (1973) Gamma-hydroxybutyrate succinic semialdehyde and sleep. *Prog. Neurobiol.* (eds Kerkut, G.A. & Phillis, S.W.), 1(4), 255–274
84. Lee CC, Lin TW, Ko TP & Wang AH. (2011) The hexameric structures of human heat shock protein 90. *PLoS One.*; 6(5), e19961
85. Lee H.K., Barbarosie M., Kameyama K., Bear M. F. & Huganir R.L. (2000) Regulation of distinct AMPA receptor phosphorylation sites during bidirectional synaptic plasticity. *Nature* 405, 955–959
86. Lee J.H., Arcinue E. & Ross B.D. (1994) Brief report: organic osmolytes in the brain of an infant with hypernatremia. *N. Engl. J. Med.* 331, 439–442
87. Lees G., Edwards M.D., Hassoni A.A., Ganellin C.R. & Galanakis D. (1998) Modulation of GABA(A) receptors and inhibitory synaptic currents by the endogenous CNS sleep regulator cis-9,10-octadecenoamide (cOA). *Br. J. Pharmacol.*, 124 (5), 873-82
88. Leggett J.D., Aspley S., Beckett, S.R.G., D'antona A.M., Kendall D.A. & Kendall D.A. (2004) Oleamide is a selective endogenous agonist of rat and human CB1 cannabinoid receptors. *Br. J. Pharmacol.*, 141(2), 253-62
89. Leite J.P., Garcia-Cairasco N., Cavalheiro E.A. (2002) New insights from the use of pilocarpine and kainate models. *Epilepsy Res* 50, 93-103
90. Lichtman A.H., Hawkins E.G., Griffin G. & Cravatt B.F. (2002) Pharmacological activity of fatty acid amides is regulated, but not mediated, by fatty acid amide hydrolase in vivo. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 302, 73–79
91. Lisman J, Schulman H & Cline H. (2002) The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci.*; 3(3), 175-190
92. Long C. (1961) Biochemists' Handbook. *D. Van Nostrand Company, Inc, Princeton, New Jersey*,640

93. Loscher W. (2002) Current status and future directions in the pharmacotherapy of epilepsy. *Trends Pharmacol.Sci.*, 23, 113-118
94. Low M.G. (2000) Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins and their phospholipases, *Biology of Phosphoinositides (Cockcroft S.,ed.)*, 210–239
95. Lu C & Mattson MP. Dimethyl sulfoxide suppresses NMDA- and AMPA-induced ion currents and calcium influx and protects against excitotoxic death in hippocampal neurons. *Exp Neurol.*; 170(1), 180-185
96. Lubrich B, Spleiss O, Gebicke-Haerter P. J. & van Calcar D. (2000) Differential expression, activity and regulation of the sodium/myoinositol cotransporter in astrocyte cultures from different regions of the rat brain. *Neuropharmacology.* 39, 680–690
97. Luo W., Rodina A. & Chiosis G. (2008) Heat shock protein 90: translation from cancer to Alzheimer's disease treatment? *BMC Neuroscience*, 9, 1-8
98. Lüthi A, Wikström MA, Palmer MJ, Matthews P, Benke TA, Isaac JT & Collingridge GL. (2004) Bi-directional modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity. *BC Neurosci.* 5, 44
99. Lynd-Balta E., Pilcher W.H. & Joseph S.A. (1996) Distribution of AMPA receptor subunits in the hippocampal formation of temporal lobe epilepsy patients. *Neuroscience*, 72, 15–29
100. Manford M, Hart YM, Sander JW & Shorvon SD (1992) The National General Practice Study of Epilepsy. The syndromic classification of the International League Against Epilepsy applied to epilepsy in a general population. *Arch Neurol.*; 49(8), 801-808
101. Martin J. B., Laussmann T., Bakker-Grunwald T., Vogel G. & Klein G. (2000) neo-Inositol polyphosphates in the amoeba *Entamoeba histolytica*. *J. Biol. Chem.* 275, 10134–10140
102. Matskevitch J., Wagner C. A., Risler T., Kwon H. M., Handler J. S., Waldegger S., Busch A. E. & Lang F. (1998) Effect of extracellular pH on the myo-inositol transporter SMIT expressed in *Xenopus* oocytes. *Pflügers Arch.* 436, 854–857

103. McCabe P.H. (2000) New anti-epileptic drugs for the 21<sup>st</sup> century. *Exp. Opin.Pharmacother.*, 1, 633-674
104. McLaurin J., Golomb R., Jurewicz A., Antel J.P. & Fraser P.E. (2000) Inositol stereoisomers stabilize an oligomeric aggregate of Alzheimer amyloid  $\beta$  peptide and inhibit  $A\beta$ -induced toxicity. *J. Biol. Chem.* 275, 18495–18502
105. McLaurin JA, Kierstead ME, Brown ME, Hawkes CA, Lambermon MHL, Phinney AL, Darabie1 AA, Cousins JE, French JE, Lan MF, Chen F, Wong SSN, Mount HTJ, Fraser PE, Westaway D & George-Hyslop PS. (2006) Cyclohexanehexol inhibitors of Ab aggregation prevent and reverse Alzheimer phenotype in a mouse model. *Nature Medicine*, 6, 801-808
106. McNamara J.O. (1995) Analysis of the molecular basis of kindling development. *Psychiatry Clin. Neurosci.*, 49, 175–178.
107. McNamara JO, Huang YZ & Leonard AS. (2006) Molecular signaling mechanisms underlying epileptogenesis. *Sci STKE.*; 2006(356), re12
108. Mendelson W.B. & Basile A.S. (1999) The hypnotic actions of oleamide are blocked by a cannabinoid receptor antagonist. *Neuroreport.*, 10(15), 3237-3239
109. Meng SZ, Ohyu J & Takashima S (1997)Changes in AMPA glutamate and dopamineD2 receptors in hypoxic-ischemic basal ganglia necrosis. *Pediatr.Neurol.*17,139–43
110. Merrill M.A., Chen Y., Strack S. & Hell J.W. (2005) Activity-driven postsynaptic translocation of CaMKII. *Trends Pharmacol. Sci.* 26, 645-653
111. Meyer T. & Stryer L. (1991) Calcium spiking. *Annu Rev Biophys Biophys Chem.*; 20, 153-174
112. Michell RH (2008) Inositol derivatives: evolution and functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*; 9, 151-161
113. Minami Y, Kimura Y, Kawasaki H, Suzuki K, Yahara I (1994) The carboxyterminal region of mammalian HSP90 is required for its dimerization and function in vivo. *Mol Cell Biol* 14, 1459–1464

114. Nicholson R.A., Zheng J., Ganellin C.R., Verdon B. & Lees G. (2001) Anesthetic-like interaction of the sleep-inducing lipid oleamide with voltage-gated sodium channels in mammalian brain. *Anesthesiology* 94, 120–128
115. Nishida E.S, Koyasu S.Q, Sakai S.H. & Yaharae I. (1986) Calmodulin-regulated Binding of the 90-kDa Heat Shock Protein to Actin Filaments Vol. 261, No.34, 16033-16036
116. Nissinen J.P.T., Narkilahti S., Lukasiuk K. & Pitkanen A. (2001) Diazepam treatment has a disease-modifying effect on the developing epilepsy after status epilepticus in rat. *Epilepsia (Suppl.)* 42, 131
117. Nitz M, Fenili D, Darabie A.A, Wu L, Cousins J.E & McLaurin J. (2008) Modulation of amyloid-beta aggregation and toxicity by inosose stereoisomers. *FEBS J*; 275(8), 1663-1674
118. Noebels J (2003) The biology of epilepsy genes. *Annu.Rev.Neurosci.* 26,599-625
119. Nonaka M., Kohmura E., Yamashita T., Yamauchi A., Fujinaka T., Yoshimine T., Tohyama M. & Hayakawa T. (1999) Kainic acid-induced seizure upregulates Na<sup>+</sup>/myo-inositol cotransporter mRNA in rat brain. *Mol. Brain Res.* 70, 179–186
120. Novak J.E., Turner R.S., Agranoff B.W. & Fisher S.K. (1999) Differentiated human NT2-N neurons possess a high intracellular content of myo-inositol. *J. Neurochem.* 72, 1431–1440
121. Nozadze M. (2006) The study of influence of Myo-inositol on Kainic acid induced convulsions and on biochemical parameters of epileptogenesis (PhD Thesis)
122. Oh M.C. & Derkach V.A. (2005) Dominant role of the GluR2 subunit in regulation of AMPA receptors by CaMKII. *Nature Neurosci.* 8, 853–854
123. Okamoto K, Bosch M & Hayashi Y. (2009) The roles of CaMKII and F-actin in the structural plasticity of dendritic spines: a potential molecular identity of a synaptic tag? *Physiology (Bethesda)*; 24, 357-366
124. Pellegrini-Giampietro D.E., Gorter J.A., Bennett M.V. & Zukin R.S. (1997) The GluR2 (GluR-B) hypothesis: Ca<sup>2+</sup>-permeable AMPA receptors in neurological disorders. *Trends Neurosci.* 20, 464-470

125. Perreault P. & Avoli M. (1992) 4-aminopyridine-induced epileptiform activity and a GABA-mediated long-lasting depolarization in the rat hippocampus. *J. Neurosci.* 12, 104–115
126. Pitkänen A & Lukasiuk K. (2000) Epileptogenesis related changes in gene expression in the rat model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia (Suppl.)* 41, 161
127. Pitkänen A & Sutula (2002) Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy. *Lancet Neurol.*; 1(3),173-181
128. Pitkanen A. (2002) Efficacy of current antiepileptics to prevent neurodegeneration in epilepsy models. *Epilepsy Research*, 50, 141-160
129. Pitkanen A., Schwartzkroin P. & Moshe S. (2006) Models of Seizures and Epilepsy. *Elsevier Academic Press; San Diego*, 477–493
130. Porcellati F., Hlaing T., Togawa M., Stevens M.J., Larkin D.D., Hosaka Y., Glover T.W., Henry D.N., Greene D.A. & Killen P.D. (1998) Human Na<sup>+</sup>-myo-inositol cotransporter gene: alternate splicing generates diverse transcripts. *Am. J. Physiol.* 274, 1215–1225
131. Pratt WB. (1998) The hsp90-based chaperone system: involvement in signal transduction from a variety of hormone and growth factor receptors. *Proc Soc Exp Biol Med* 217,420-434
132. Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW & Pearl LH. (1997) Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the Hsp90 molecular chaperone. *Cell*, 90(1), 65-75
133. Racine R. J. (1972) *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 32 (3), 281-294
134. Rice ASC (2001) Cannabinoids and pain. *Curr. Opin. Invest. Drugs*, 2, 399–414
135. Ross R.A. (2003) Anandamide and vanilloid TRPV1 receptors. *Br. J. Pharmacol.*, 140, 790–801
136. Rutecki P.A., Lebeda F.J. & Johnston D. (1987) 4-Aminopyridine produces epileptiform activity in hippocampus and enhances synaptic excitation and inhibition. *J. Neurophysiol.* 57, 1911–1924

137. Safrany S.T. & Shears S.B. (1998) Turnover of bis-diphosphoinositol tetrakisphosphate in a smooth muscle cell line is regulated by b2-adrenergic receptors through a cAMP-mediated, A-kinaseindependent mechanism. *EMBO J.* 17, 1710–1716
138. Saiardi A., Nagata E., Luo H.R., Sawa A., Luo X., Snowman A.M. & Snyder S.H. (2001a) Mammalian inositol polyphosphate multikinase synthesizes inositol 1,4,5-trisphosphate and an inositol pyrophosphate. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 98, 2306–2311
139. Sanchez R.M., Dai W., Levada R.E., Lippman J.J. & Jensen F.E. (2005) AMPA/kainate receptor-mediated downregulation of GABAergic synaptic transmission by calcineurin after seizures in the developing rat brain. *J. Neurosci.* 25, 3442–3451
140. Scherer J. (1850) Ueber eine neue, aus dem Muskelfleische gewonnene Zuckerart. *Liebigs Ann. Chem.* 73, 322–328
141. Seaquist E.R. & Gruetter R. (1998) Identification of a high concentration of scyllo-inositol in the brain of a healthy human subject using <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR. *Magn. Reson. Med.* 39, 313–316
142. Sherman W.R., Goodwin S.L. & Gunnell K.D. (1971) Neo-Inositol in mammalian tissues. Identification, measurement and enzymatic synthesis from mannose 6-phosphate. *Biochemistry* 10, 3491–3499
143. Sherman W.R., Stewart M.A., Kurien M.M. & Goodwin S.L. (1968a) The measurement of myo-inositol, myo-inosose-2 and scyllo-inositol in mammalian tissues. *Biochim. Biophys. Acta* 158, 197–205
144. Shetty H.U., Siarey R.J., Galdzicki Z., Stoll J. & Rapoport S.I. (2000) Ts65Dn mouse, a Down syndrome model, exhibits elevated myoinositol in selected brain regions and peripheral tissues. *Neurochem. Res.* 25, 431–435
145. Shreter A.I. (1975) Medicinal Herbs of Soviet Far East. *Moscow: Medicina*, 105–106 (in Russian)
146. Sigal S.H., Yandrasitz J.R. & Berry G.T. (1993) Kinetic evidence for compartmentalization of myo-inositol in hepatocytes. *Metabolism* 42, 395–401



147. Soderling T.R., Chang B. & Brickey D. (2001) Cellular signaling through multifunctional Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II. *J. Biol. Chem.* 276, 3719–22
148. Solomonias R., Mchedlishvili Z. & Dalakishvili N. (1996) Anticonvulsant effect of water extract of *Aquilegia vulgaris* on audiogenically evoked seizures in Kroushinsky-Molodkina epileptic rats. *Bull. Georgian Acad. Sci.* 153, 270–272
149. Solomonias R., Kuchiashvili N., Berulava A., Pkhakadze V., Trapaidze N., Zhvania M., Abesadze I., Kojima H. & Dalakishvili N. (2004) Purification and identification of components of the *Aquilegia vulgaris* extract fraction exhibiting anti-epileptic activity. *J. Biol. Phys. Chem.*, 4, 185-192
150. Solomonias R., Kuchiashvili N., Berulava A., Pkhakadze V., Trapaidze N., Zhvania M., Abesadze I., Kojima H. & Dalakishvili N. (2004) Purification and identification of components of the *Aquilegia vulgaris* extract fraction exhibiting anti-epileptic activity. *J. Biol. Physics and Chemistry* 4, 187-192
151. Solomonias R., Nozadze M., Kuchiashvili N., Bolkvadze T., Kiladze M., Zhvania M., Kigyradze T. & Pkhakadze V. (2007) Effect of myo-inositol on convulsions induced by pentylentetrazole and kainic acid in rats. *Bull Exp Biol Med.*, 143(1), 58-60
152. Souza MA, Oliveira MS, Furian AF, Rambo LM, Ribeiro LR, Lima FD, Dalla Corte LC, Silva LF, Retamoso LT, Dalla Corte CL, Puntel GO, de Avila DS, Soares FA, Figuera MR, de Mello CF & Royes LF. (2009) Swimming training prevents pentylentetrazol-induced inhibition of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity, seizures, and oxidative stress. *Epilepsia.*; 50(4), 811-23
153. Spreafico R, Frassoni C, Arcelli P, Battaglia G, Wenthold RJ & De Biasi S (1994) Distribution of AMPA selective glutamate receptors in the thalamus of adult rats and during postnatal development. A light and ultrastructural immunocytochemical study. *Brain Res Dev Brain Res* 82, 231–244
154. Sreedhar AS, Kalm-r E, Csermely P & Shen YF. (2004) Hsp90 isoforms: functions, expression and clinical importance. *FEBS Lett.* 26; 562(1-3), 11-15
155. Strange K. (1992) Regulation of solute and water balance and cell Volume in the central nervous system. *J. Am. Soc. Nephrol.* 3, 12–27

156. Strange K., Morrison R., Heilig C.W., DiPietro S. and Gullans S.R. (1991) Upregulation of inositol transport mediates inositol accumulation in hyperosmolar brain cells. *Am. J. Physiol.* 260, C784–C790.
157. Sugiura T, Kondo S, Kodaka T, Tonegawa T, Nakane S, Yamashita A, Ishima Y. & Waku K. (1996) Enzymatic synthesis of oleamide (cis-9,10-octadecenoamide), an endogenous sleep-inducing lipid by rat brain microsomes. *Biochem Mol Biol Int.*, 40(5), 931-8
158. Tang FR, Chia SC, Zhang S, Chen PM, Gao H, Liu CP, Khanna S & Lee WL (2005) Glutamate receptor 1-immunopositive neurons in the gliotic CA1 area of the mouse hippocampus after pilocarpine-induced status epilepticus. *European J Neurosci* 21, 2361–74
159. Temkin N.R., Jarell A.D & Anderson G.D. (2001) Antiepileptogenic agents: how close we are. *Drugs*, 61, 1045-10055
160. Tobimatsu T. & Fujisawa H. (1989) Tissue-specific expression of four types of rat calmodulin-dependent protein kinase II mRNAs. *J Biol Chem*; 264(30), 17907-17912
161. Toker A. & Cantley L.C. (1997) Signalling through the lipid products of phosphoinositide-3-OH kinase. *Nature* 387, 673–676.
162. Tsui J, Inagaki M & Schulman H. (2005) Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) localization acts in concert with substrate targeting to create spatial restriction for phosphorylation. *J Biol Chem.*; 280(10), 9210-9206.
163. Uldry M., Ibberson M., Horisberger J.D., Chatton J.Y., Riederer B.M. & Thorens B. (2001) Identification of a mammalian H (+)-myoinositol symporter expressed predominantly in the brain. *EMBO J.* 20, 4467–4477
164. Vanhaesebroeck B., Leever S.J., Ahmadi K., Timms J., Katso R., Driscoll P.C., Woscholski R., Parker P.J. & Waterfield M.D. (2001) Synthesis and function of 3-phosphorylated inositol lipids. *Annu. Rev. Biochem.* 70, 535–602.
165. Verdon B., Zheng J., Nicholson R.A., Ganelli C.R. & Lees G. (2000) Stereoselective modulatory actions of oleamide on GABA(A) receptors and voltage-gated Na(+) channels in vitro: a putative endogenous ligand for depressant drug sites in CNS. *Br J Pharmacol.*, 129(2), 283-90

166. Videen J.S., Michaelis T., Pinto P. & Ross B.D. (1995) Human cerebral osmolytes during chronic hyponatremia. A proton magnetic resonance spectroscopy study. *J. Clin. Invest.* 95, 788–793
167. Viola A, Nicoli F, Denis B, Confort-Gouny S, Le Fur Y, Ranjeva JP, Viout P & Cozzone PJ. High cerebral scyllo-inositol: a new marker of brain metabolism disturbances induced by chronic alcoholism. *MAGMA*;17(1), 47-61.
168. Vogel Ed. H.G. (2008) Drug discovery and evaluation – pharmacological assays, *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, 467-468, 422-423
169. Wallace M.J., Martin B.R. & DeLorenzo R.J., (2002) Evidence for a physiological role of endocannabinoids in the modulation of seizure threshold and severity. *Eur. J. Pharmacol.* 452, 295–301
170. Wasterlain C.G. & Farber D.B. (1984) Kindling alters the calcium/calmodulin-dependent phosphorylation of synaptic plasma membrane proteins in rat hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 81, 1253–1257
171. Wellard RM, Briellmann RS, Prichard JW, Syngienotis A & Jackson GD. (2003) Myo-inositol abnormalities in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.*; 44(6), 815-21
172. Wiese T.J., Dunlap J.A., Conner C.E., Grzybowski J.A., Lowe W.L. & Yorek M.A. (1996) Osmotic regulation of Na-myo-inositol cotransporter mRNA level and activity in endothelial and neural cells. *Am. J. Physiol.* 270, C990–C997
173. Williams MB & Jope RS (1995) Modulation by inositol of cholinergic- and serotonergic-induced seizures in lithium-treated rats. *Brain Res.*; 685(1-2), 169-78
174. Wilson R.I. & Nicoll R.A. (2001) Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature* 410, 588–592
175. Wilson R.I. & Nicoll R.A. (2002) Endocannabinoid signaling in the brain. *Science* 296, 678–682
176. Wolfson M., Bersudsky Y., Hertz E., Berkin V., Zinger E. & Hertz L. (2000) A model of inositol compartmentation in astrocytes based upon efflux kinetics and slow inositol depletion after uptake inhibition. *Neurochem. Res.* 5, 977–982

177. Yamagata Y. & Obata K. (2004)  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase II is reversibly autophosphorylated, inactivated and made sedimentable by acute neuronal excitation in rats in vivo. *J. Neurochem.* 91, 745–754
178. Yamashita T., Shimada S., Yamauchi A., Guo W., Kohmura E., Hayakawa T. & Tohyama M. (1997) Induction of  $\text{Na}^+$ /myoinositol co-transporter mRNA after rat cryogenic injury. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 46, 236–242
179. Yang, T., Hsu, C., Liao, W., Chuang, J.S., 2008. Heat shock protein70 expression in epilepsy suggests stress rather than protection. *Acta Neuropathol.* 115, 219-230
180. Ye G.L. et al. (2005) AMPA and NMDA receptor-mediated currents in the developing dentate gyrus granule cells. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 155, 26–32
181. Yechikhov S., Morenkov E., Chulanova T., Godukhin O. & Shchipakina T. (2001) Involvement of cAMP<sup>o</sup> and  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-dependent neuronal protein phosphorylation in mechanisms underlying genetic predisposition to audiogenic seizures in rats. *Epilepsy Res.* 46, 15-25