

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

დოქტორანტურის საგანმანათლებლო პროგრამა ბიოლოგია

ცირა კაპანაძე

ორექსინერგული სისტემის როლი ეპილეფსიის პათოფიზიოლოგიაში

ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი დისერტაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

ნანული დორეული, ბ.მ.დ. პროფესორი

თბილისი,

2026

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University
Faculty of Exact and Natural Sciences

Doctoral Program: Biology

Tsira Kapanadze

The Role of the Orexinergic System in the Pathophysiology of Epilepsy

The thesis work is performed to obtain a PhD academic degree in Biology

Scientific Supervisor: Nanuli Doreulee

PhD, Professor

Tbilisi,

2026

აბსტრაქტი

ორექსინერგული ანუ ჰიპოკრეტინერგული სისტემა წარმოადგენს ჰიპოთალამური ნეირონული ქსელების უმნიშვნელოვანეს რგოლს, რომელიც გამოიმუშავებს ნეიროპეპტიდებს ორექსინ A-ს და B-ს. ორექსინერგული ნეირონები ფართო აქსონურ პროექციებს აგზავნიან ცენტრალური ნერვული სისტემის პრაქტიკულად ყველა სტრუქტურაში და მონაწილეობენ მრავალი ფიზიოლოგიური პროცესის, მათ შორის ძილ-ღვიძილის ციკლის, მოტივაციური ქცევისა და ენერგეტიკული ბალანსის რეგულაციაში. აღნიშნული სისტემის დისფუნქცია განაპირობებს სხვადასხვა ნევროლოგიური დაავადების განვითარებასა და პროგრესირებას. მაგალითად დადასტურებულია, რომ ნარკოლეფსია გამოწვეულია ლატერალურ ჰიპოთალამუსში ორექსინერგული ნეირონების 90-95%-ით შემცირებით, რაც კლინიკურად ვლინდება დღის განმავლობაში ჭარბი ძილიანობითა და კატაპლექსიით (კუნთების უეცარი სისუსტე). ეპილეფსიის პათოგენეზში ორექსინის ჩართულობასთან დაკავშირებით არსებული მონაცემები ერთმნიშვნელოვანი არ არის: მრავალრიცხოვანი კვლევების მიუხედავად, აღწერილია როგორც მისი პროკონვულსიური, ისე ანტიეპილეფსიური ეფექტები.

ეპილეფსიის მკურნალობის თანამედროვე სტრატეგიების შემუშავებისას განსაკუთრებული ყურადღება ეთმობა ტემპორალური წილის ეპილეფსიას, რომელიც ხშირად რეზისტენტულია არსებული ანტიეპილეფსიური მედიკამენტების მიმართ. იგი წარმოადგენს ფოკალური ეპილეფსიის ყველაზე გავრცელებულ ფორმას და ხშირ შემთხვევაში დაკავშირებულია ჰიპოკამპის ჩართულობასთან. ტემპორალური წილის ეპილეფსიას ახასიათებს ფოკალური კრუნჩხვები, რომლებიც შესაძლოა გენერალიზებულ ეპილეფტიფორმულ ქერქულ აქტივობაში გადაიზარდოს. პათოლოგიური პროცესები ხშირად ჰიპოკამპში იწყება და დროთა განმავლობაში შეიძლება გამოიწვიოს ნეირონების კვდომა და გლიოზი. ჰიპოკამპში ორექსინერგული რეცეპტორების მაღალი სიმჭიდროვიდან გამომდინარე ცხადია, რომ აღნიშნული სტრუქტურის ნეირონული ქსელების აქტივობის რეგულაციაში ორექსინებს მნიშვნელოვანი როლი უკავიათ. ჰიპოკამპთან დაკავშირებულ ნორმალურ ფიზიოლოგიურ პროცესებში ორექსინების როლი მრავალი კვლევით არის დადასტურებული. თუმცა, ნაკლებადაა შესწავლილი ჰიპოკამპთან ასოცირებული ეპილეფსიური სტატუსისა და ეპილეფტიფორმული აქტივობის მგრძნობელობა ორექსინერგული მოდულაციის მიმართ, რაც აღნიშნულ საკითხს მნიშვნელოვან სამეცნიერო ინტერესს ანიჭებს.

ზემოაღნიშნულიდან გამომდინარე, მოცემული კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ეგზოგენური ორექსინის როლის შეფასება ტემპორალური წილის ეპილეფსიის პათოგენეზში. ამ მიზნით კვლევა განხორციელდა როგორც *in vivo*, ისე *in vitro* ექსპერიმენტული მოდელების გამოყენებით.

In vivo ექსპერიმენტებში, ტემპორალური წილის ეპილეფსიის ცხოველურ მოდელში (კაინის მჟავას ეპილეფსიური სტატუსი) შეფასდა ეგზოგენური ორექსინ-A/B-ის ეფექტები ჰიპოკამპის ნეირონულ აქტივობაში ეპილეფსიით განპირობებულ ცვლილებებზე.

ჰიპოკამპის ნეირონულ აქტივობაში ქერქული პროექციების მნიშვნელოვანი როლის გათვალისწინებით, მწვავე ექსპერიმენტებში ორექსინის *in vivo* ადმინისტრირების ორი განსხვავებული მიდგომა იქნა გამოყენებული - ქერქული აპლიკაცია და მესამე პარკუჭში შეყვანა. აღნიშნული მიდგომების მიზანს წარმოადგენდა ჰიპოკამპის მაღალსიხშიროვანი ელექტრული სტიმულაციით ინიცირებულ ეპილეფტიფორმულ აქტივობაზე ორექსინის ეფექტებში აპლიკაციის ლოკუსის მნიშვნელობის შეფასება.

In vitro ელექტროფიზიოლოგიურ ექსპერიმენტებში ჰიპოკამპის ანათლებზე ეპილეფსიის ბიკუკულინის მოდელში უჯრედგარე რეგისტრაციის მეთოდით შევისწავლეთ ორექსინის მოქმედების ნატიფი მექანიზმები. ორექსინ A/B-ს ეფექტები შევაფასეთ CA1 ველის ამაგზნებელი პოსტინაფსური პოტენციალებზე, პოპულაციური სპაიკების მრავლობით განმუხტვებსა და CA3 ველის ზალპური ნეირონების აქტივობაზე. Mg^{2+} -ისგან თავისუფალ არეში, AMPA-რეცეპტორების შერჩევითი ბლოკატორის CNQX ფონზე შევისწავლეთ ორექსინის გავლენა გლუტამატერგული NMDA რეცეპტორების აქტივაციით განპირობებულ იზოლირებულ პასუხებზე.

მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა, რომ ორექსინის ეფექტები განსხვავებულია საკონტროლო და კაინის მჟავით ინდუცირებული ეპილეფსიური სტატუსის მქონე ცხოველებში, რაც, სავარაუდოდ, დაკავშირებულია პათოლოგიური მდგომარეობით განპირობებულ მორფოლოგიურ და ფუნქციურ ცვლილებებთან ჰიპოკამპსა და ჰიპოთალამუსში. აღნიშნული ცვლილებები მოიცავს ჰიპოკამპში GAD-პოზიტიური ნეირონების დანაკარგსა და ლატერალურ ჰიპოთალამუსში ორექსინ-B-პოზიტიური ნეირონების რაოდენობის შემცირებას. მწვავე ექსპერიმენტებში გამოვლინდა, რომ ორექსინ-A-ს ეფექტი დამოკიდებულია მისი აპლიკაციის ლოკუსზე: ქერქული აპლიკაცია ამცირებს ჰიპოკამპში მაღალი ამპლიტუდის ეპილეფტიფორმული განმუხტვების რაოდენობას, მაშინ როდესაც პარკუჭშია ადმინისტრაცია უპირატესად თრგუნავს განმუხტვების ხანგრძლივობას. *In vitro* ექსპერიმენტებმა აჩვენა ორექსინის ინჰიბიტორული როლი CA3 ველის ზალპური ნეირონების მაღალსიხშიროვან განმუხტვებსა და იზოლირებულ NMDA-პასუხებზე, რასაც NMDA-პასუხებთან მიმართებაში ხანგრძლივი ეფექტი ჰქონდა.

ამრიგად, კვლევის შედეგები მიუთითებს, რომ ორექსინის ეფექტები ჰიპოკამპურ ნეირონულ ქსელებზე განისაზღვრება როგორც ტვინის ფუნქციური მდგომარეობით აპლიკაციის მომენტში, ისე მათი ადმინისტრირების ლოკუსით. ეპილეფსიური სტატუსით გამოწვეული მორფოლოგიური ცვლილებები ჰიპოკამპსა და ჰიპოთალამუსში, რომლებიც ცვლიან ჰიპოკამპური ნეირონული წრეებისა და

რეცეპტორული სისტემების ფუნქციურ მდგომარეობას, უნდა განაპირობებდეს ეგზოგენური ორქესინის ეფექტების მოდიფიკაციას.

Abstract

The orexinergic, or hypocretinergic, system constitutes a key component of hypothalamic neuronal networks and is responsible for the synthesis of the neuropeptides orexin-A and orexin-B. Orexin-producing neurons send extensive axonal projections throughout virtually all regions of the central nervous system and are involved in the regulation of numerous physiological processes, including the sleep–wake cycle, motivated behavior, and energy homeostasis. Dysfunction of this system has been implicated in the development and progression of a variety of neurological disorders. For instance, narcolepsy has been shown to result from a 90–95% loss of orexinergic neurons in the lateral hypothalamus, a condition that is clinically characterized by excessive daytime sleepiness and cataplexy, the sudden loss of muscle tone. However, the role of orexin in the pathogenesis of epilepsy remains incompletely understood. Despite extensive investigation, the available evidence is inconclusive, with studies reporting both proconvulsant and anticonvulsant effects of orexin.

The development of contemporary therapeutic strategies for epilepsy places particular emphasis on temporal lobe epilepsy (TLE), a condition that is frequently resistant to currently available antiepileptic medications. TLE represents the most common form of focal epilepsy and is often associated with hippocampal involvement. Clinically, it is characterized by focal seizures that may subsequently evolve into generalized epileptiform cortical activity. The underlying pathological processes frequently originate within the hippocampus and, over time, may lead to neuronal loss and gliosis. Given the high density of orexin receptors expressed in the hippocampus, it is evident that orexins play a significant role in regulating the activity of hippocampal neuronal networks. Their involvement in normal hippocampus-dependent physiological processes has been well documented in numerous studies. However, considerably less is known about the susceptibility of hippocampus-associated status epilepticus and epileptiform activity to orexinergic modulation. This gap in knowledge highlights the importance of further investigation and underscores the substantial scientific interest in elucidating the role of the orexinergic system in the pathophysiology of temporal lobe epilepsy.

Based on the above, the aim of the present study was to investigate the role of exogenous orexins in the pathogenesis of temporal lobe epilepsy. For this purpose, both *in vivo* and *in vitro* experimental models were employed.

In the *in vivo* experiments, the effects of exogenous orexin-A /B on epilepsy-related alterations in hippocampal neuronal activity were evaluated in an animal model of temporal lobe epilepsy (kainic acid status epilepticus).

Considering the important role of cortical projections in the regulation of hippocampal neuronal activity, two distinct routes of *in vivo* orexin administration were utilized in the

acute experiments: cortical application and injection into the third ventricle. The aim of these approaches was to evaluate the significance of the administration site in orexin-mediated modulation of hippocampal high-frequency stimulation-induced epileptiform activity.

Using extracellular recording techniques, *in vitro* electrophysiological experiments were performed in hippocampal slices in the bicuculline model of epilepsy to investigate the mechanisms of orexin action. The effects of orexin-A and orexin-B were evaluated on CA1 excitatory postsynaptic potentials, multiple population spike discharges, and the activity of bursting neurons in the CA3 field. Furthermore, in Mg^{2+} -free medium and in the presence of CNQX, a selective AMPA receptor antagonist, the effects of orexins on isolated NMDA receptor-mediated responses were studied.

The obtained results demonstrated that the effects of orexins differ between control animals and animals with kainic acid-induced status epilepticus. These differences are likely associated with pathological morphological and functional alterations in the hippocampus and hypothalamus. Such alterations include the loss of GAD-positive neurons in the hippocampus and a reduction in the number of orexin-B-positive neurons in the lateral hypothalamus. Acute *in vivo* experiments revealed that the effects of orexin-A depend on its site of administration: cortical application reduced the number of high-amplitude epileptiform discharges in the hippocampus, whereas intraventricular administration predominantly suppressed the duration of epileptiform discharges. *In vitro* experiments demonstrated an inhibitory effect of orexin on high-frequency discharges of bursting neurons in the CA3 field and on isolated NMDA-mediated responses, the latter being characterized by a long-lasting effect.

Thus, the findings of the present study indicate that the effects of orexins on hippocampal neuronal networks are determined both by the functional state of the brain at the time of administration and by the site of their administration. Morphological alterations in the hippocampus and hypothalamus induced by status epilepticus, which modify the functional state of hippocampal neuronal circuits and receptor systems, are likely to underlie the observed changes in the effects of exogenous orexins.

სარჩევი

თავი I.....	1
შესავალი	1
თავი II.....	4
ლიტერატურის მიმოხილვა	4
2.1 ორექსინერგული სისტემის ორგანიზება და ფუნქციური როლი ფიზიოლოგიური პროცესების რეგულაციაში.....	4
2.2 ორექსინერგული სისტემის როლი ნერვული სისტემის პათოფიზიოლოგიურ პროცესებში	10
2.3 ეპილეფსია, მისი ბიოქიმიური საფუძვლები	18
2.3.1 ეპილეფსიის პათოგენეზში ჩართული ნეიროტრანსმიტერები	19
2.4. ჰიპოკამპი, მისი როლი თავის ტვინის ფუნქციონირებაში	35
2.5 ეპილეფსიის ცხოველური მოდელები	40
თავი III: მეთოდები.....	44
3.1. ცდის ობიექტი	44
3.2 კვლევის მიმართულებები.....	44
3.2.1 <i>In vivo</i> ექსპერიმენტები	45
3.2.2. <i>In vitro</i> ექსპერიმენტები	66
3.3. ექსპერიმენტებში გამოყენებული ფარმაკოლოგიური ნივთიერებები	69
3.4 მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება	70
თავი IV	71
მიღებული შედეგები და მათი ანალიზი	71
4.1 <i>In vitro</i> ელექტროფიზიოლოგიური ექსპერიმენტების შედეგები.....	71
4.2 <i>In vivo</i> ექსპერიმენტების შედეგები.....	88
4.2.1 ქვევითი ექსპერიმენტების შედეგები	89
4.2.2. მორფოლოგიური ექსპერიმენტების შედეგები.....	96
4.2.3 <i>In vivo</i> ელექტროფიზიოლოგიური კვლევის შედეგები (კმ-ეს მოდელში).....	104
4.2.4. <i>In vivo</i> ელექტროფიზიოლოგიურ ექსპერიმენტები (მადალსიხშიროვანი ელექტრული სტიმულაციის მოდელი).....	110
4.3 კვლევის მთავარი მიგნებები	116
თავი V	118
5. მსჯელობა.....	118
6. დასკვნები	126
7. გამოყენებული ლიტერატურა	128

ტექსტში გამოყენებული აბრევიატურები

ცნს- ცენტრალური ნერვული სისტემა

ხზ - ხავსისებრი ბოჭკოები

შკ -შაფერის კოლატერალები

ტწე - ტემპორალური წილის ეპილეფსია

ვაპსპ - ველის ამაგზნებელი პოსტსინაფსური პოტენციალი

კმ-ეს - კაინის ჟავა ეპილეფსიის სტატუსი

მსეს - მაღალსიხშიროვანი ელექტრული სტიმულაცია

გეგ - გამოწვეული ეპილეფტიფორმული განმუხტვები

გპ - გამოწვეული პოტენციალები

AMPA - α -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლპროპიონმჟავას

NMDA - N-მეთილ-D-ასპარტატი

დგ - დაკბილული ფასცია

გაემ - გამა ამინო ერბოს მჟავა

NE- ნორეპინეფრინი

PTZ - პენტილენტეტრაზოლი

ADK - ადენოზინკინაზა

NE- ნორეპინეფრინი

PTZ - პენტილენტეტრაზოლი

ADK - ადენოზინკინაზა

თავი I

შესავალი

ორექსინერგული სისტემა წარმოადგენს ცენტრალური ნერვული სისტემის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ნეირომოდულატორულ ქსელს, რომელიც ჩართულია მრავალი ფიზიოლოგიური პროცესის რეგულაციაში. მისი ძირითადი მედიატორია ნეიროპეპტიდი ორექსინი (ჰიპოკრეტინი), რომელიც XX საუკუნის ბოლოს ჰიპოთალამუსში ერთმანეთისგან დამოუკიდებლად იქნა იდენტიფიცირებული ორი სამეცნიერო კვლევითი ჯგუფის მიერ (de Lecea et al., 1998; Sakurai et al., 1998a). მიუხედავად იმისა, რომ ორექსინერგული ნეირონები ლოკალიზებულია ტვინის შედარებით მცირე ანატომიურ უბანში - ლატერალურ ჰიპოთალამუსში, მათი ფართო აქსონური პროექციები ცენტრალური ნერვული სისტემის პრაქტიკულად ყველა ძირითად სტრუქტურას მოიცავს, რაც ორექსინერგული სისტემის მრავალმხრივ და ფართო მარეგულირებელ როლზე მიუთითებს.

ლიტერატურის მონაცემები აჩვენებს, რომ ორექსინერგული სისტემა ჩართულია ენერგეტიკულ ჰომეოსტაზში (Sakurai, 2003), ვეგეტატიური და ნეიროენდოკრინული ფუნქციების მოდულაციაში (Mondal et al., 2000), აგრეთვე ცირკადული რიტმებისა და ძილ-ღვიძილის ციკლის კონტროლში (Inutsuka & Yamanaka, 2013; S.-B. Li et al., 2017). ორექსინერგული სისტემის დისფუნქცია ასოცირებულია ნერვული სისტემის სხვადასხვა პათოლოგიურ მდგომარეობასთან, რაც განაპირობებს მის მიმართ გაზრდილ სამეცნიერო ინტერესს (Berhe et al., 2020a). მიუხედავად მისი ფართო ფუნქციური სპექტრისა, ორექსინერგული სისტემის ზუსტი როლი ნეირონული წრეების აქტივობის რეგულაციაში, განსაკუთრებით ისეთი პათოლოგიური მდგომარეობების დროს, როგორიცაა ეპილეფსია, დღემდე სრულად არ არის შესწავლილი. ცნობილია, რომ ორექსინერგული სისტემა მონაწილეობს გლუტამატერგული და გაემ-ერგული ნეიროტრანსმიტერული სისტემების მოდულაციაში, რომლებიც განსაზღვრავენ ნეირონული ქსელების აგზნება-შეკავების

ბალანსს. აღნიშნული ბალანსის დარღვევა კი წარმოადგენს ეპილეფსიის პათოფიზიოლოგიის ერთ-ერთ ცენტრალურ მექანიზმს. ორექსინი ჩართულია ჰისტამინერგული, სეროტონინერგული, ადრენერგული და ადენოზინერგული სისტემების რეგულაციაში, რაც მას ნეირონული აქტივობის ინტეგრირებულ მოდულატორად წარმოაჩენს (Anschel et al., 2004; Mishra & Goel, 2019; Salgado & Alkadhi, 1995).

ეპილეფსიის პათოფიზიოლოგიაში ორექსინის როლის შესახებ არსებული ლიტერატურული მონაცემები არაერთგვაროვანია. ერთის მხრივ, რიგი კვლევები მიუთითებს ორექსინ-A-ს ანტიეპილეფსიურ ეფექტებზე, რაც გამოიხატება ეპილეფტიფორმული აქტივობის შემცირებასა და ნეირონული აგზნებადობის დაქვეითებაში (Toplu et al., 2023; Zhao et al., 2014a). მეორეს მხრივ, არსებობს მონაცემები, რომლებიც აღწერს ორექსინის მიერ ეპილეფტიფორმული განმუხტვების გენერაციას ან პოტენციაციას (Goudarzi et al., 2015; Ng, 2017; Ni et al., 2014; Roundtree et al., 2016a). ლიტერატურაში არსებული ურთიერთსაწინააღმდეგო მონაცემების გათვალისწინებით, წინამდებარე კვლევაში გამოითქვა ჰიპოთეზა, რომ ეგზოგენური ორექსინის ეფექტები შესაძლოა განისაზღვრებოდეს როგორც ტვინის ფუნქციური მდგომარეობით მისი ზემოქმედების მომენტში (ნორმა vs პათოლოგია), ისე მისი ადმინისტრირების ლოკუსით.

მოცემული კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ორექსინის როლის შეფასება ეპილეფსიის პათოგენეზში. *In vitro* ექსპერიმენტებში ჰიპოკამპის ანათლებში ბიკუპულინის მეთოდით გამოწვეულ ეპილეფტიფორმულ აქტივობაზე შეფასდა ეგზოგენური ორექსინის ეფექტები ველის ამაგზნებელ პოსტინაფსურ პოტენციალებზე, იზოლირებულ NMDA პასუხებზე და CA3 ველის ზალპურ ნეირონებზე. *In vivo* ექსპერიმენტებში კი შევისწავლეთ ორექსინის ეფექტი როგორც კაინის მჟავით ინდუცირებული ეპილეფსიური სტატუსის მქონე ცხოველებში, ასევე მწვავე ექსპერიმენტულ მოდელში, სადაც ეპილეფტიფორმული აქტივობა გამოწვეული იყო ინტრაჰიპოკამპური მაღალსიხშიროვანი ელექტრული სტიმულაციით. ორექსინის

აპლიკაციის ლოკუსზე დამოკიდებული ეფექტების შესაფასებლად გამოყენებულ იქნა ორი მიდგომა: პარკუჭშიდა და ქერქული აპლიკაცია.

კვლევის აქტუალობა განისაზღვრება ეპილეფსიის პათოფიზიოლოგიაში ორექსინერგული სისტემის როლის შესახებ ლიტერატურაში არსებული წინააღმდეგობრივი მონაცემებითა და მისი ნეირობიოლოგიური მოქმედების მექანიზმების არასრული გააზრებით. აღნიშნული გარემოება ცხადყოფს ორექსინების ეფექტების კონტექსტდამოკიდებული მექანიზმების სისტემური ექსპერიმენტული შესწავლის აუცილებლობას როგორც ფიზიოლოგიურ, ისე პათოლოგიურად შეცვლილ ნეირონულ ქსელებში. ეპილეფსიის მზარდი შემთხვევები, ფარმაკორეზისტენტული ფორმების მნიშვნელოვანი წილი და არსებული ანტიეპილეფსიური მკურნალობის შეზღუდული ეფექტიანობა, რომელსაც ხშირად თან ახლავს არასასურველი გვერდითი ეფექტები, ხაზს უსვამს დაავადების პათოგენეზში მონაწილე ნეირომოდულატორული სისტემების კვლევისა და ახალი თერაპიული სამიზნეების იდენტიფიკაციის აუცილებლობას. აღნიშნული მიმართულებით ჩატარებული ექსპერიმენტული კვლევები ქმნის როგორც თეორიულ, ისე პრაქტიკულ საფუძველს ეპილეფსიის ახალი თერაპიული სტრატეგიების შემუშავებისთვის, რომლებიც ეფუძნება ენდოგენური ნეირომოდულატორული სისტემების მიზნობრივ მოდულაციას და პოტენციურად უზრუნველყოფს მკურნალობის ეფექტიანობის გაზრდასა და არასასურველი გვერდითი ეფექტების შემცირებას

თავი II

ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1 ორექსინერგული სისტემის ორგანიზება და ფუნქციური როლი ფიზიოლოგიური პროცესების რეგულაციაში

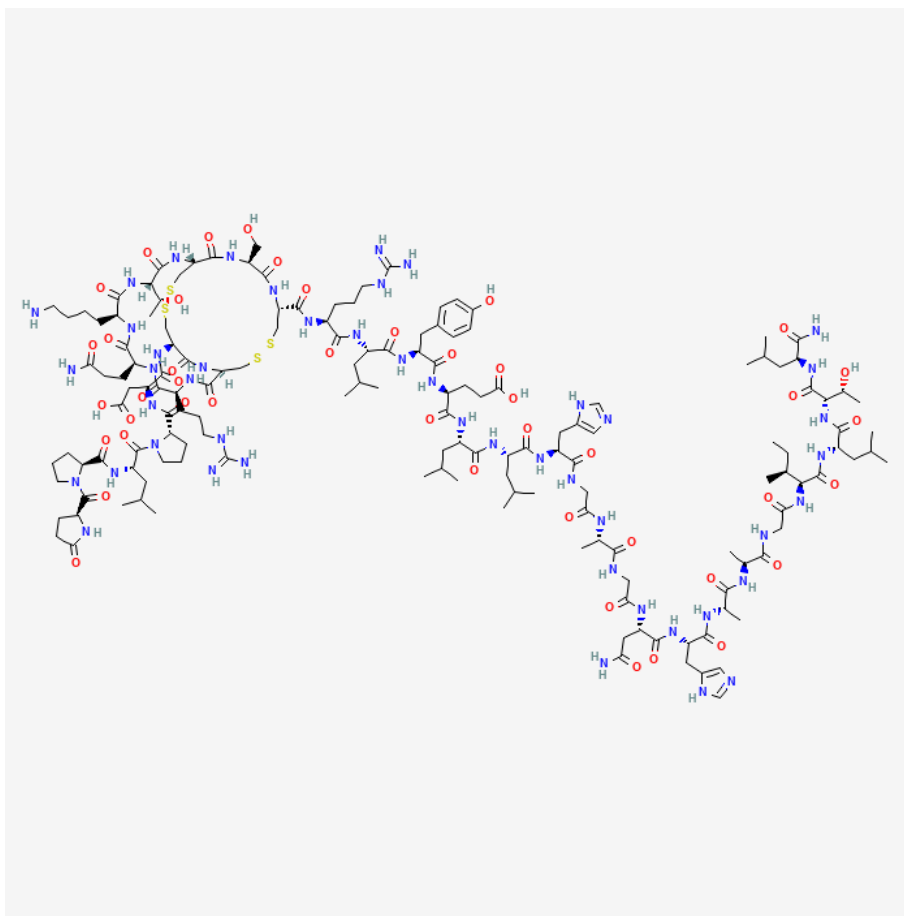
ორექსინერგული სისტემა, რომელიც პირველად გასული საუკუნის ბოლოს იქნა აღწერილი, წარმოადგენს ლატერალურ ჰიპოთალამუსში ლოკალიზებული ნეირონების შედარებით მცირე, თუმცა ფუნქციურად ძალზე მრავალმხრივ პოპულაციას. ორექსინები, რომლებიც ჰიპოკრეტინების სახელითაც არის ცნობილი, 1998 წელს თითქმის ერთდროულად, თუმცა ერთმანეთისგან დამოუკიდებლად, მკვლევართა ორი ჯგუფის მიერ იქნა აღმოჩენილი. Luis de Lecea-ს ჯგუფმა ეს პეპტიდები გენური ექსპრესიის ანალიზის შედეგად გამოავლინა და „ჰიპოკრეტინები“ უწოდა. სახელწოდება შედგენილია ორი კომპონენტისგან: „ჰიპო“ - ჰიპოთალამუსი, რადგან პეპტიდები სწორედ ამ სტრუქტურაში გამოვლინდა; „კრეტინ“ - სეკრეტინისგან, რადგან მათი ამინომჟავური თანმიმდევრობა და სტრუქტურული მახასიათებლები გარკვეულ მსგავსებას ავლენდა სეკრეტინთან (de Lecea et al., 1998). ხოლო მეორე მეცნიერის - Takeshi Sakurai-ის ჯგუფმა ისინი აღწერა როგორც მანამდე უცნობი ფუნქციის მქონე G-ცილასთან დაკავშირებული რეცეპტორების ენდოგენური ლიგანდები და „ორექსინები“ დაარქვა. სახელწოდება განაპირობა მდრღნელებზე ჩატარებული ექსპერიმენტის მონაცემებმა, სადაც აღნიშნული ნეიროპეპტიდები საკვების მიღების სტიმულაციასთან იქნა დაკავშირებული. ამ შედეგების გამო თავდაპირველად მიიჩნეოდა, რომ მათი ძირითადი ფუნქცია კვებითი ქცევის რეგულაცია იყო (Sakurai et al., 1998a).

შემდგომ წლებში დაგროვილმა ექსპერიმენტულმა მონაცემებმა ორექსინერგული სისტემის მნიშვნელობა ბევრად უფრო ფართო კონტექსტში წარმოაჩინა. კვლევებით ნანახია, რომ ორექსინ მასინთეზირებელი ნეირონები აგზავნიან ფართო პროექციებს

ცნს-ის პრაქტიკულად ყველა უბანში - ქერქიდან ზურგის ტვინამდე (Mahoney et al., 2019). ფართო პროექციები განაპირობებს აღნიშნული სისტემის ჩართულობას ცნს-ში მიმდინარე ისეთ მნიშვნელოვანი პროცესებში, როგორიცაა: ბიოლოგიური რიტმების რეგულაცია (Inutsuka & Yamanaka, 2013), სიფხიზლის შენარჩუნება (S.-B. Li et al., 2017), ემოციური რეაქტიულობის კონტროლი (Kuwaki & Zhang, 2012), და შემეცნებითი პროცესები (Liguori et al., 2014a).

კვლევებით ნაჩვენებია, რომ ადამიანის ტვინში დაახლოებით 10,000–20,000 ორექსინერგული ნეირონია, ხოლო ვირთაგვებში მათი რაოდენობა დაახლოებით 1100-ს შეადგენს. მორფოლოგიურად, ეს ნეირონები შეიძლება იყოს მრგვალი, ელიფსური ან თითისტარისებრი ფორმის, ბი- ან უნიპოლარული (Cheng et al., 2003), საშუალო დიამეტრით დაახლოებით 21 μm (Grafe & Bhatnagar, 2018).

ორექსინერგული გადაცემა ხორციელდება ორი ენდოგენური ლიგანდის - ორექსინ-A-ს (ჰიპოკრეტინი-1) და ორექსინ-B-ს (ჰიპოკრეტინი-2) - მეშვეობით. ორექსინ-A შედგება 33 ამინომჟავისგან (სურ. 1), ხოლო ორექსინ-B - 28 ამინომჟავისგან; ორივე პეპტიდი წარმოიქმნება საერთო წინამორბედი პეპტიდის, პრეპრო-ორექსინის პროტეოლიზური დაშლის შედეგად. პრეპრო-ორექსინი კოდირდება მე-17 ქრომოსომაზე ლოკალიზებული გენით, რომლის ექსპრესია დამოკიდებულია სხვადასხვა ფიზიოლოგიურ ფაქტორზე, მათ შორის კვების სტატუსსა და ძილის ხანგრძლივობაზე (Sieminski et al., 2018).



სურ. 1 ორექსინ-*A* ქიმიური სტრუქტურა (PubChem, n.d.)

ორექსინები თავიანთ ეფექტებს ახორციელებენ G-ცილასთან დაკავშირებული რეცეპტორების - OX1R და OX2R - მეშვეობით. ამ რეცეპტორებს განსხვავებული აფინურობა აქვთ ლიგანდების მიმართ: პირველი ტიპის რეცეპტორს - OX1R გაცილებით მაღალი, დაახლოებით 100-ჯერ მეტი აფინურობა აქვს ორექსინ-*A* -ს მიმართ, მაშინ როდესაც OX2R თანაბარი აფინურობით რეაგირებს ორივე პეპტიდზე (Wang et al., 2018). რეცეპტორების გააქტიურება იწვევს პოსტსინაფსური მემბრანის დეპოლარიზაციას, რაც განპირობებულია კალიუმის არხების ინჰიბირებით, არასელექტიური კათიონური არხების გააქტიურებითა და კალციუმის იონების უჯრედში შესვლით (Kukkonen & Leonard, 2014). ორექსინის რეცეპტორები ფართოდ არის ექსპრესირებული თავის ტვინის სხვადასხვა უბანში, მათ შორის ჰიპოთალამუსში, პარავენტრიკულურ ბირთვში, ტემენტუმში, ჰიპოკამპურ

ფორმაციაში, დორსალურ რაფესა და ლურჯ ლაქაში, აგრეთვე არანეირონულ უჯრედებზე - მიკროგლიასა და ასტროციტებზე (Berhe et al., 2020a).

ორექსინერგული ნეირონების სტიმულაციისას აღნიშნულია გლუტამატის გამოთავისუფლებაც, რაც ორექსინის ამაგზნებელ ეფექტებს აძლიერებს (Schöne et al., 2014). ასევე, აღწერილია ნეირონების აქტივობის მარეგულირებელი პენტარაქსინის (NARP) გამოყოფაც, რომელიც ხელს უწყობს გლუტამატერგული AMPA რეცეპტორების აგრეგაციას ამაგზნებელ სინაფსებზე, თუმცა მისი ზუსტი ფუნქცია ორექსინერგული სისტემის ფუნქციონირებაში კვლავაც აქტიური კვლევის საგანია (Blouin et al., 2005). სხვა კვლევებით ნაჩვენებია, ორექსინის ნეირონების მიერ დინორფინის გამოთავისუფლებაც, ეს უკანასკნელი, კი κ -ოპიოიდური რეცეპტორების მეშვეობით ახდენს ნეირონული აქტივობის დათრგუნვას. საინტერესოა, რომ κ -ოპიოიდური და ორექსინის რეცეპტორები ლოკალიზებულია ტვინის ერთსა და იმავე უბნებში, რაც მიუთითებს ამაგზნებელ და შემაკავებელ სიგნალებს შორის არსებულ რთულ ინტეგრაციულ ურთიერთქმედებაზე (Muschamp et al., 2014).

ორექსინერგული სისტემის როლი ცენტრალური ნერვული სისტემის ფუნქციური ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში

ორექსინერგული სისტემა ჩართულია შემეცნებით პროცესების რეგულაციაში. ორექსინერგული პროექციები ნაჩვენებია ბაზალური წინა ტვინის ქოლინერგულ ნეირონებზე, რომლებიც კრიტიკულად მნიშვნელოვანია დასწავლისა და მეხსიერებისათვის. ექსპერიმენტულ კვლევებში ნაჩვენებია, რომ OX1R-ის ანტაგონისტი ამცირებს კოგნიტურ ფუნქციებს, მაშინ როდესაც Orexin-A-ის შეყვანა აუმჯობესებს დასწავლასა და მეხსიერებას (Piantadosi et al., 2015). ორექსინ A-ს აღნიშნული ეფექტები სავარაუდოდ გამოწვეულია ბაზალურ წინა ტვინში აცეტილქოლინის გამოყოფის გაძლიერებით. ორექსინის დეფიციტის მქონე

ცხოველებში ნაჩვენებია ჰიპოკამპთან დაკავშირებული მეხსიერების დარღვევა, რომელის კორექციაც აღინიშნა ორექსინის ლოკალური, მათ შორის ინტრაჰიპოკამპური, შეყვანით (Mavanji et al., 2017a). ორექსინის კოგნიტური ეფექტები შეიძლება აიხსნას ჰიპოკამპში ნეიროგენეზის სტიმულაციით, რომელიც ორექსინერგული სისტემის მოქმედებით არის მოდულირებული (Zhao et al., 2014a).

ორექსინები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ სტრესზე პასუხშიც. ორექსინის დეფიციტის მქონე ცხოველებს ახასიათებთ დაქვეითებული ქცევითი რეაგირება სტრესზე. საინტერესოა, რომ მწვავე სტრესი, თავის მხრივ, ააქტიურებს ორექსინის ნეირონებს და ზრდის ორექსინერგულ გადაცემას (Grafe & Bhatnagar, 2018). ამასთან, ორექსინის ზედმეტად მაღალი დონე, როგორც ეს ნაჩვენებია სტრესის პირობებში, შესაძლოა შემეცნებითი ფუნქციების დაქვეითებასაც იწვევდეს, სავარაუდოდ რეცეპტორების დესენსიტიზაციის ან დაუნრეგულაციის გზით (Black et al., 2016). შესაბამისად, ნათელია, რომ შემეცნებითი პროცესების ოპტიმალური ფუნქციონირება საჭიროებს ორექსინერგული სისტემის აქტივობის ფიზიოლოგიურ ბალანსს.

პრეკლინიკური და კლინიკური მონაცემები მიუთითებს, რომ ორექსინერგული სისტემა მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგულირებაში, ხოლო მისი დისფუნქცია აღინიშნება ძილის პათოფიზიოლოგიაში (Prober et al., 2006). ნაჩვენებია, რომ ეგზოგენური ორექსინის ცენტრალური ადმინისტრირება ზრდის სიფხიზლეს და ორექსინის ნეირონების ოპტოგენეტიკური გააქტიურება იწვევს ძილიდან ღვიძილში გადასვლას (Nagahara et al., 2015). ცხოველურ მოდელებზე ჩატარებული კვლევებით ნაჩვენებია, რომ ორექსინები უზრუნველყოფენ ხანგრძლივ სიფხიზლეს ტვინის სიფხიზლის ხელშემწყობ ცენტრებში - ტუბერომამილარულ ბირთვში (TMN), ცისფერ ლაქასა (LC) და ბაზალურ წინა ტვინში - ორექსინერგული პროექციების გააქტივებით. აღსანიშნავია, რომ ორექსინის რეცეპტორების დეფიციტის პირობებში OX2R რეცეპტორების რეგულაცია TMN-ში (Mochizuki et al., 2011), ხოლო OX1R რეცეპტორების - LC-ში

(Hasegawa et al., 2014), საკმარისია სიფხიზლის ხანგრძლივად შესანარჩუნებლად, რაც ადასტურებს ორექსინული ნეირონების კრიტიკულ როლს ამ პროცესში (Mahoney et al., 2019). სხვა კვლევები ასევე აჩვენებს, რომ ენდოგენური ორექსინის დონე მაქსიმალურია სიფხიზლის დროს და მინიმალურია ძილის ფაზაში (Kuwaki & Zhang, 2012), ხოლო ორექსინის რეცეპტორების ანტაგონისტები ეფექტურ თერაპიულ საშუალებებს წარმოადგენს უძილობის სამკურნალოდ (M. Nakamura & Nagamine, 2017). ამის საპირისპიროდ, ორექსინერგული ნეირონების კვდომით გამოწვეული ორექსინის დეფიციტი, რაც აღინიშნება ნარკოლეფსიის შემთხვევაში, იწვევს ჰიპერსომნიას, კატაპლექსიასა და REM ძილის რეგულაციის დარღვევას (Mahoney et al., 2019). აღნიშნული შესაძლოა განპირობებული იყოს REM ძილის ცირკადული კონტროლის მოშლით ან შესაბამის ნეირონულ ქსელებში შემაკავებელი პროცესების დათრგუნვით (Mahoney et al., 2019).

ორექსინერგული სისტემის დისფუნქცია გავლენას ახდენს ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმზეც. ნარკოლეფსიით დაავადებული პირები, რომლებიც ჰიპოორექსინულ მდგომარეობაში იმყოფებიან, ხშირად მიდრეკილნი არიან წონის მომატებისკენ, რაც შესაძლოა ასოცირებული იყოს ენერგიის ხარჯვის შემცირებასთან. მიუხედავად ამისა, მეტაბოლური ცვლილებების ზუსტი მექანიზმები და მათი მასშტაბი ამ პაციენტებში სრულად ჯერ კიდევ არ არის შესწავლილი (Mahoney et al., 2019).

ექსპერიმენტული კვლევების შედეგად დადასტურებულია ორექსინერგული სისტემის ჩართულობა მოტივაციური და დაჯილდოების პროცესების რეგულაციაში. ნაჩვენებია, რომ ორექსინული ნეირონების დეგენერაცია იწვევს სხვადასხვა ფსიქოაქტიური ნივთიერების, მათ შორის კოკაინის, ამფეტამინის, ნიკოტინის, ოპიატებისა და ეთანოლის მიმართ ძიებითი ქცევის შესუსტებას (Mahoney et al., 2019). ბოლო ათწლეულის კვლევები აჩვენებს, რომ ორექსინერგული სისტემა ვეგეტატიური ფუნქციების რეგულაციაში ასრულებს მთავარ მოდულატორის როლს, რომელიც ახდენს სიფხიზლის ინტეგრაციას გულ-სისხლძარღვთა, რესპირატორულ და

მეტაბოლურ ფუნქციებთან. ორექსინერგული პროექციები ტვინის ღეროს ავტონომურ ბირთვებზე (ლურჯ ლაქა, პარავენტრიკულური ბირთვი და როსტრალურ ვენტროლატერალურ ბირთვზე) აძლიერებს სიმპათიკურ ნერვულ აქტივობას; იწვევს არტერიული წნევის მომატებას (Huber et al., 2017; Meusel et al., 2022) გულისცემის გახშირებას, აძლიერებს სუნთქვით აქტივობას და ხელს უწყობს ენერგეტიკული ჰომეოსტაზის შენარჩუნებას, განსაკუთრებით ფიზიკური დატვირთვისა და სტრესის პირობებში (Bigalke et al., 2022).

ორექსინების აღმოჩენისთანავე გამოიკვეთა მათი როლი მადის რეგულაციაში, თუმცა შემდგომმა კვლევებმა ნათლად აჩვენა ამ სისტემის მონაწილეობა ენერგიის ხარჯვაში, ლოკომოტორულ აქტივობაში, მოტივაციასა და ადიქციაში, შემეცნებით პროცესებში, ემოციურ კონტროლსა და გულ-სისხლძარღვთა სისტემის რეგულაციაში. ფუნქციების ასეთი ფართო სპექტრი ორექსინებს წარმოაჩენს, როგორც პერსპექტიულ თერაპიულ სამიზნეს ნევროლოგიური დარღვევების, კოგნიტური დისფუნქციების, ადიქციის, უძილობისა და გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების სამკურნალოდ (Sieminski et al., 2018).

2.2 ორექსინერგული სისტემის როლი ნერვული სისტემის პათოფიზიოლოგიურ პროცესებში

ორექსინების მონაწილეობა მრავალ ფიზიოლოგიურ პროცესში ზემოთ უკვე განხილულია. მოცემულ თავში მიმოვიხილავთ ორექსინერგული სისტემის როლს ნეიროდეგენერაციული დაავადებების პათოგენეზში.

ორექსინი და ეპილეფსია - ბოლო პერიოდში მკვლევართა ინტერესი მნიშვნელოვნად გაიზარდა ორექსინერგული სისტემის მიმართ, რომელიც ეპილეფსიის შესაძლო თერაპიულ სამიზნედ განიხილება. მიუხედავად ამ მიმართულებით განხორციელებული მრავალრიცხოვანი კვლევებისა, ორექსინების როლი ეპილეფსიის პათოგენეზში დღემდე საკამათო საკითხად რჩება. ლიტერატურაში

არსებული მონაცემები მიუთითებს ორექსინების როგორც ანტიეპილეფსიურ (Doreulee et al., 2010; Rejdak et al., 2009a; Zhao et al., 2014b), ასევე პროეპილეფსიურ ეფექტებზე (Goudarzi et al., 2015; Roundtree et al., 2016a), რაც, სავარაუდოდ, დაკავშირებულია ექსპერიმენტული მოდელების, გამოყენებული მეთოდოლოგიის, ეპილეფტოგენური პროცესის სტადიისა და ორექსინების ადმინისტრირების ლოკუსის განსხვავებებთან. აღნიშნული წინააღმდეგობები ხაზს უსვამს ორექსინერგული მოდულაციის მექანიზმების სიღრმისეული შესწავლის აუცილებლობას ნორმალურ და პათოლოგიურად შეცვლილ ნეირონულ ქსელებში.

ცნობილია, რომ ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევა მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ეპილეფსიური გულყრების სიხშირესა და სიმწვავეზე. ნაჩვენებია, რომ სიფხიზლის პერიოდში გულყრები დაახლოებით რვაჯერ უფრო ხშირად ვითარდება, ვიდრე REM ძილის დროს (Ng, 2017). ინტერიქტალური ეპილეფსიური განმუხტვები შედარებით იშვიათია ღამის მეორე მესამედში, როდესაც REM ძილის წილი იზრდება (Anderson et al., 2015), ხოლო იქტალური განმუხტვების რისკი განსაკუთრებით მაღალია REM ძილიდან სიფხიზლეზე გადასვლის ფაზებში (Ng, 2017). თავის მხრივ ნანახია, რომ ორექსინები ცენტრალურ როლს ასრულებენ ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგულირებაში და ამავდროულად ხასიათდებიან გამოხატული ცირკადული ფლუქტუაციით - მაღალი დონით სიფხიზლისას, საშუალო დონით ნელტალღოვანი ძილისას და მინიმალური REM ძილის ფაზაში (Schwartz & Kilduff, 2015). აღნიშნული ცირკადული დინამიკა მიუთითებს ორექსინების მნიშვნელოვან როლზე ნეირონული აგზნებადობისა და ქსელური აქტივობის რეგულაციაში, რაც ქმნის საფუძველს მათი მონაწილეობის განხილვისთვის პათოლოგიურ მდგომარეობებში, მათ შორის ეპილეფტოგენეზში. ექსპერიმენტულ მოდელებში ნაჩვენებია, რომ პენიცილინის კორტიკალური ადმინისტრირებით გამოწვეულ ეპილეფტიფორმულ აქტივობაზე ორექსინ-A და ორექსინ-B-ის ინტრაკორტიკალური შეყვანა აძლიერებს ეპილეფსიურ აქტივობას, რაც ვლინდება სპაიკების რაოდენობისა და ამპლიტუდის, აგრეთვე ეგ-ს სპექტრული სიმძლავრის ზრდით (Kortunay et al., 2012). ანალოგიურად, Erken-ისა და

კოლეგების კვლევაში ორექსინ-A და B-ის ადმინისტრირებამ, სხვა ეპილეფტოგენური აგენტების გამოყენების გარეშე, გამოიწვია ეგ-ს სპექტრული სიმძლავრის მატება და ვირთაგვებში ტონურ-კლონური გულყრების გენერირება (Erken et al., 2012). მეორეს მხრივ, რიგმა კვლევებმა აჩვენა, რომ ორექსინის რეცეპტორების დაბლოკვას აქვს ანტიეპილეფსიური ეფექტები. კერძოდ, ორექსინის რეცეპტორების ანტაგონისტების ინტრაჰიპოკამპურმა და ინტრავენტრიკულურმა შეყვანამ პენტილენეტეტრაზოლის (PTZ) ეპილეფსიის ცხოველურ მოდელებში შეამცირა გულყრების ხანგრძლივობა და სიმძიმე (Goudarzi et al., 2015; Ni et al., 2014). ასევე ნაჩვენებია, რომ SB-334867-ის, OX1 რეცეპტორის სელექტიური ანტაგონისტის, დაბალი დოზით გამოყენებას პროტექტორული ეფექტი ჰქონდა 4-ამინოპირიდინით (4-AP) გამოწვეულ ეპილეფტიფორმულ აქტივობაზე (Hayatdavoudi et al., 2017). გარდა ამისა, ორექსინის ორივე ტიპის რეცეპტორის ანტაგონისტი ალმორექსანტი ამცირებდა ეპილეფსიურ აქტივობას Kcna1 გენ-ნოკაუტირებულ ვირთაგვებში, რაც ეპილეფსიის გენეტიკურ მოდელს წარმოადგენს (Roundtree et al., 2016b). ანალოგიურად, ნაჩვენებია, რომ ორექსინის რეცეპტორების ბლოკირება ზრდის PTZ-ით ინდუცირებული კლონური გულყრების განვითარების ზღურბლს (Socafă et al., 2016). ეს მონაცემები, ერთობლიობაში მიუთითებს ორექსინერგული სისტემის პროეპილეფსიურ პოტენციალზე და მისი ინჰიბირების შესაძლო თერაპიულ მნიშვნელობაზე.

თუმცა, ლიტერატურაში აღწერილია საპირისპირო შედეგებიც. კერძოდ, კლინიკურმა კვლევებმა აჩვენა, რომ თავზურგტვინის სითხეში ორექსინ-A-ს დონე მცირდება განმეორებითი გენერალიზებული გულყრების შემდეგ, რის საფუძველზეც კვლევის ავტორები ვარაუდობენ, რომ ორექსინის დეფიციტი შესაძლოა ასოცირებული იყოს გენერალიზებული ეპილეფსიის პათოგენეზთან (Kaciński et al., 2012; Rejdak et al., 2009b). გარდა ამისა, PTZ-ით გამოწვეული ეპილეფსიის ცხოველურ მოდელში ორექსინ-A-მ გამოავლინა ნეიროპროტექტორული ეფექტები, კერძოდ დაკბილულ ხვეულში ნეიროგენეზის სტიმულაციის გზით შეამცირა სივრცითი დასწავლისა და მეხსიერების დარღვევები, ხოლო ამ ეფექტების ბლოკირება შესაძლებელი გახდა

OX1R ანტაგონისტის - SB-334867-ის შეყვანით (Zhao et al., 2014b). ამრიგად, არსებული ექსპერიმენტული და კლინიკური მონაცემები ცხადყოფს, რომ ორექსინებს შეუძლიათ როგორც პროეპილეფსიური, ისე ანტიეპილეფსიური მოქმედების გამოვლენა, რაც სავარაუდოდ დამოკიდებულია ტვინის ფუნქციურ მდგომარეობაზე, რეცეპტორულ სუბტიპებზე, შეყვანის ადგილსა და დოზაზე. აღნიშნული ურთიერთსაწინააღმდეგო შედეგები ხაზს უსვამს ამ მიმართულებით დამატებითი, მიზანმიმართული კვლევების აუცილებლობას.

ორექსინი და ალცჰეიმერის დაავადება - ექსპერიმენტული კვლევებით დადასტურებულია, რომ ორექსინები ჰიპოკამპში ქოლინერგული, გლუტამატერგული, გაემერგული და ნორადრენერგული ნეიროტრანსმისიის მოდულაციის გზით გავლენას ახდენენ ხანგრძლივ სინაფსურ პლასტიკურობაზე, დასწავლასა და მეხსიერებაზე (Calva & Fadel, 2020; Selbach et al., 2004; Yang et al., 2013). ორექსინის ინტრანაზალურმა ადმინისტრირებამ ექსპერიმენტულ ცხოველებში გამოიწვია წინა ტვინის ქოლინერგული და გლუტამატერგული ნეირონების გააქტიურება, რაც კიდევ ერთხელ მიუთითებს ორექსინების მნიშვნელოვან როლზე ამ ნეიროტრანსმიტერული სისტემების ფუნქციურ რეგულაციაში (Calva & Fadel, 2020). ჰიპოკამპზე დამოკიდებული დასწავლისა და მეხსიერების დარღვევა აღწერილია ორექსინ/ატაქსინ-3 ტრანსგენურ თაგვებში, რომლებიც ადამიანის ნარკოლეფსიის მოდელს წარმოადგენენ და ხასიათდებიან ორექსინერგული ნეირონების პროგრესირებადი დეგენერაციით. აღსანიშნავია, რომ აღნიშნული კოგნიტური დეფიციტების ნაწილობრივი კორექცია შესაძლებელია ორექსინის ინტრაჰიპოკამპური შეყვანით (Mavanji et al., 2017b). ამასთან, როგორც დაბერება, ისე ნარკოლეფსია ასოცირებულია ქცევით და კოგნიტურ დარღვევებთან, რაც ორივე შემთხვევაში ორექსინერგული ნეირონების შერჩევით დაკარგვას უკავშირდება (Calva & Fadel, 2020). გენეტიკურმა კვლევებმა ასევე აჩვენა, რომ ორექსინის პრეპროპეპტიდის გენის დელეცია იწვევს სივრცითი და მუშა მეხსიერების

დაქვეითებას (Dang et al., 2018), მაშინ როდესაც ეგზოგენური ორექსინის შეყვანა ამ ეფექტების შერბილებას იწვევს (Mavanji et al., 2017b).

ფარმაკოგენეტიკურმა კვლევებმა დაადასტურა, რომ ორექსინერგული ნეირონების სელექტიური გააქტიურება აძლიერებს მოკლევადიანი სივრცითი მეხსიერების ფორმირებას. ამ მოსაზრებას ამყარებს დაკბილულ ხვეულში ორექსინის რეცეპტორების ანტაგონისტის (SB-334867-A) მიერ გამოწვეული ხანგრძლივი პოტენციაციის დაქვეითება (Akbari et al., 2011). ანალოგიურად, ამავე ანტაგონისტის ბაზოლატერალურ ამიგდალაში შეყვანა არღვევს მეხსიერების კონსოლიდაციასა და აღდგენას (Ardeshiri et al., 2017). საერთო ჯამში, არსებული ექსპერიმენტული მონაცემები მიუთითებს ორექსინების დადებით გავლენაზე მეხსიერების ფორმირებაზე.

მიუხედავად ამისა, პარადოქსულად, ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტებში აღწერილია ორექსინის მომატებული დონე ცერებროსპინალურ სითხეში. ნაჩვენებია კორელაცია ორექსინის დონეს, კოგნიტური დაქვეითების ხარისხსა და ალცჰეიმერის დაავადების ბიომარკერებს შორის, მათ შორის β -ამილოიდსა ($A\beta_{1-42}$) და ტაუ პროტეინებს შორის (Liguori et al., 2014b). ლიტერატურული მონაცემების უმრავლესობა მიუთითებს დადებით კორელაციაზე $A\beta$ -სა და ორექსინს შორის (Liguori et al., 2014b; Slats et al., 2012). მაშინ როდესაც $A\beta$ -ის დაგროვება ალცჰეიმერის დაავადების ერთ-ერთ ძირითად პათოლოგიურ ნიშანს წარმოადგენს (Z. Liu et al., 2019). ნაჩვენებია, რომ ორექსინის ინტრაცერებროვენტრიკულური შეყვანა ზრდის როგორც სიფხიზლის დონეს, ისე $A\beta$ -ის კონცენტრაციას უჯრედგარე სითხეში, მაშინ როდესაც ორექსინის რეცეპტორის ანტაგონისტი ალმორექსანტი ამცირებს $A\beta$ -ის დონეს (Kang et al., 2009). ამ მონაცემებზე დაყრდნობით ვარაუდობენ, რომ არსებობს $A\beta$ -სა და ორექსინებს შორის ორმხრივ დადებით უკუკავშირი: $A\beta$ -ის დაგროვება იწვევს ორექსინერგული ნეირონების ჰიპერაქტივობას და ძილის დარღვევას, რაც

თავის მხრივ ხელს უწყობს Aβ-ის შემდგომ დაგროვებას და ქმნის მანკიერ წრეს (Dufort-Gervais et al., 2019).

გარდა ამისა, ორექსინი მონაწილეობს ალცჰეიმერის დაავადების პათოფიზიოლოგიაში ტაუპათიის მოდულაციით. ნანახია, რომ ორექსინის დონე პოზიტიურად კორელირებს სრულ და ფოსფორილირებულ ტაუს დონესთან, ხოლო ტაუ პროტეინების ჰიპერფოსფორილება და აგრეგაცია წარმოადგენს დაავადების მნიშვნელოვან მორფოლოგიურ მახასიათებელს (Šimić et al., 2016)(Osorio et al., 2016). ამავე დროს, აღწერილია ორექსინების ნეიროპროტექტორული ეფექტები ოქსიდაციური სტრესის შემცირების გზით (Zawilska, 2015). კერძოდ, ორექსინ-A ამცირებს წყალბადის ზეჟანგით გამოწვეულ უჯრედულ დაზიანებას, თრგუნავს კასპაზა-დამოკიდებულ აპოპტოზს, არეგულირებს Bcl-2/Bax გენების ექსპრესიას და ზღუდავს რეაქტიული ჟანგბადის სახეობების წარმოქმნას (Sokołowska et al., 2013) (Duffy et al., 2016).

ამრიგად, ალცჰეიმერის დაავადებაში ორექსინების როლთან დაკავშირებული მონაცემები ურთიერთსაწინააღმდეგოა და მიუთითებს მათ მრავალმხრივ, კონტექსტზე დამოკიდებულ მოქმედებაზე. ლიტერატურაში არსებული ურთიერთსაწინააღმდეგო მონაცემები განაპირობებს დამატებითი კვლევების აუცილებლობას, რომლებიც ხელს შეუწყობს ორექსინებისა და მათი ანტაგონისტების პათოფიზიოლოგიური ეფექტებისა და მოქმედების მექანიზმების დაზუსტებას.

ორექსინი და პარკინსონის დაავადება - ორექსინები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ მოძრაობის ცენტრალურ კონტროლში, რაც აისახება მათი რეცეპტორების მაღალი ექსპრესიით მოტორულ კონტროლში ჩართულ სტრუქტურებში (Xue et al., 2016). პარკინსონის დაავადების ძირითადი პათოლოგიური მახასიათებელია შავი სუბსტანციის დოფამინერგული ნეირონების სელექტიური დეგენერაცია (Vernier et al., 2004). მორფოლოგიურმა კვლევებმა აჩვენა, რომ ორექსინერგული პროექციები და ორექსინული რეცეპტორები უხვად არის წარმოდგენილი შავ სუბსტანციაში

(Hrabovszky et al., 2013). ორექსინ A-სა და B-ის აპლიკაცია ზრდის შავი სუბსტანციის დოფამინერგული ნეირონების სპონტანურ აქტივობას, მაშინ როდესაც ორექსინის რეცეპტორების ანტაგონისტები ამ ეფექტს ამცირებენ (C. Liu et al., 2018), გარდა ამისა, ეგზოგენურმა ორექსინმა შეამცირა ჰალოპერიდოლით გამოწვეული მოტორული დარღვევები და დაასუსტა 1-მეთილ-4-ფენილ-1,2,3,6-ტეტრაჰიდროპირიდინით (MPTP) ინდუცირებული დოფამინერგული ნეირონების დეგენერაცია, რითაც გააუმჯობესა მოტორული ფუნქცია (Berhe et al., 2020b; C. Liu et al., 2018). ორექსინ-A ზრდის ტვინის ნეიროტროფული ფაქტორის (BDNF) ექსპრესიას შავი სუბსტანციის დოფამინერგულ ნეირონებში, ხოლო ამ ეფექტის ბლოკირება შესაძლებელია ორექსინის რეცეპტორების ანტაგონისტით. BDNF-ის ექსპრესიის დაქვეითება კი დაკავშირებულია ნიგრალური დოფამინერგული ნეირონების რაოდენობრივ შემცირებასთან (Fumagalli et al., 2006; Pasban-Aliabadi et al., 2017). მნიშვნელოვანია, რომ პარკინსონის დაავადების მქონე პაციენტებსა და ცხოველურ მოდელებში აღწერილია ორექსინერგული ნეირონების რაოდენობის მნიშვნელოვანი შემცირება, აგრეთვე ორექსინის დაბალი დონე ცერებროსპინალურ სითხეში (Drouot et al., 2003; Fronczek et al., 2007). ამრიგად, ორექსინები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ნორმალური მოტორული ფუნქციის შენარჩუნებაში და მათი დისფუნქცია დაკავშირებულია დაავადების პათოფიზიოლოგიასთან. ორექსინების ნეიროპროტექტორული მოქმედებები და ბაზალური განგლიების ნეირონული წრედების მოდულაცია მიუთითებს ორექსინერგული სისტემის თერაპიულ პოტენციალზე პარკინსონის დაავადების პროგრესირების კონტროლში.

ორექსინი და ჰანტინგტონის დაავადება

ჰანტინგტონის დაავადების (HD) დროს პათოლოგიურ პროცესში ჩართული ტვინის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან სტრუქტურას წარმოადგენს ჰიპოთალამუსი, სადაც ლოკალიზებულია ორექსინერგული ნეირონები (Petersén & Gabery, 2012). არაერთი კვლევა მიუთითებს, რომ როგორც ჰანტინგტონის დაავადების მქონე პაციენტებში,

ისე დაავადების ცხოველურ მოდელებში, აღინიშნება ორექსინის ნეირონების რაოდენობის შემცირება (Meier et al., 2005; Petersén & Gabery, 2012). პოსტმორტალური ანალიზის შედეგად ნაჩვენებია ორექსინის mRNA-ის დონის დაქვეითება HD პაციენტების ლატერალურ ჰიპოთალამუსში, ანალოგიური ცვლილებები კი დაფიქსირებულია დაავადების ცხოველურ მოდელებშიც (Baldo et al., 2019). ექსპერიმენტულ პირობებში მუტანტური huntingtin (htt) გენის შეყვანამ ახალშობილი ვირთაგვების დორსალურ სტრიატუმში გამოიწვია ჰიპოთალამუსში ორექსინის ნეირონების რაოდენობის შემცირება, რაც მიუთითებს, რომ huntingtin-ის პათოლოგიური ეფექტები შესაძლოა არაპირდაპირ ვრცელდებოდეს ჰიპოთალამურ ორექსინერგულ სისტემაზეც (Gabery et al., 2012). თუმცა, მონაცემები ერთგვაროვანი არ არის. მაგალითად, BACHD თავის მოდელზე ჩატარებულმა კვლევამ აჩვენა, რომ მიუხედავად ორექსინის ნეირონების რაოდენობის მატებისა, მათი განივკვეთის ფართობი მნიშვნელოვნად შემცირებულია, რაც უჯრედულ ატროფიაზე მიუთითებს (Hult Lundh et al., 2013). ამავე კვლევაში ნაჩვენებია კორელაცია ორექსინის ნეირონების სტრუქტურულ ცვლილებებსა და ჰანტინგტონის დაავადების გარკვეულ კლინიკურ გამოვლინებებს შორის, განსაკუთრებით ადრეულ სიმპტომებთან მიმართებაში (Hult Lundh et al., 2013).

მიუხედავად ამისა, არსებობს კვლევები, რომლებიც ვერ ადასტურებს ორექსინერგული სისტემის არსებით ცვლილებებს არც ჰანტინგტონის დაავადების მქონე პაციენტებში და არც ცხოველურ მოდელებში (Gaus et al., 2005; Williams et al., 2011). აღნიშნული წინააღმდეგობრივი მონაცემები მიუთითებს, რომ ორექსინერგული სისტემის ჩართულობა ჰანტინგტონის დაავადების პათოგენეზში შესაძლოა დამოკიდებული იყოს დაავადების სტადიაზე, გამოყენებულ მოდელზე ან კვლევის მეთოდოლოგიურ თავისებურებებზე. შესაბამისად, ამ მიმართულებით დამატებითი, სისტემური კვლევების ჩატარება კვლავაც აქტუალურ ამოცანად რჩება.

ზემოაღნიშნული მიუთითებს, რომ ორექსინერგული სისტემა წარმოადგენს რთულ, მრავალფუნქციურ ნეირომოდულატორულ ქსელს, რომლის როლი ცენტრალური ნერვული სისტემის პათოლოგიებში დამოკიდებულია მრავალ ფაქტორზე და ვერ აიხსნება ერთიანი მექანიზმით. შესაბამისად, ორექსინების როლის შემდგომი სისტემური კვლევა მნიშვნელოვანია როგორც ეპილეფსიის ისე სხვა ნეიროდეგენერაციული დაავადებების პათოგენეზის უკეთ გასაგებად.

2.3 ეპილეფსია, მისი ბიოქიმიური საფუძვლები

ეპილეფსია წარმოადგენს ფართოდ გავრცელებულ ნევროლოგიურ დაავადებას, რომელიც შეიძლება გამოვლინდეს ნებისმიერი ასაკის პირებში. ეპიდემიოლოგიური კვლევების თანახმად, მსოფლიოში ეპილეფსიით დაავადებულია დაახლოებით 50 მილიონი ადამიანი, რომელთა თითქმის 90 % განვითარებად რეგიონებზე მოდის (Beghi, 2019). საბჭოთა კავშირის დაშლის შემდგომ საქართველოში ჩატარებული ეპიდემიოლოგიური კვლევების შედეგად ნანახია, რომ ეპილეფსიის აქტიური ფორმის პრევალენტობა შეადგენდა 5.7 შემთხვევას 1000 მოსახლეზე, რაც დაახლოებით 25 000–30 000 პირს შეესაბამება. 1990-იან წლებში ქვეყნის ეკონომიკური მდგომარეობისა და ჯანდაცვის სისტემის დესტაბილიზაციამ, აგრეთვე ალტერნატიული მკურნალობის მეთოდების გავრცელებამ, ეპიდემიოლოგიური სურათი კიდევ უფრო გაართულა. თბილისის მასშტაბით ჩატარებული ბოლო ეპიდემიოლოგიური კვლევის მიხედვით, აქტიური ეპილეფსიის პრევალენტობა შეფასდა 8.8 შემთხვევად 1000 მოსახლეზე (Lomidze et al., 2012).

დაბალშემოსავლიან ქვეყნებში ეპილეფსიის მართვის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენს მკურნალობის ხელმისაწვდომობის დეფიციტი; არსებული მონაცემების თანახმად, ეპილეფსიის მქონე პირთა დაახლოებით 75% სათანადო თერაპიას ვერ იღებს (Meyer et al., 2010). ამასთან, პაციენტთა დაახლოებით 30%

რეზისტენტულია არსებული ანტიეპილეფსიური მედიკამენტების მიმართ (Moshé et al., 2015). ეპილეფსიით დაავადებულ პირთა მნიშვნელოვან ნაწილში აღინიშნება ფსიქოლოგიური და სოციოკოგნიტური დარღვევები (Bertran, 2018). რაც ნეგატიურად აისახება მათი ცხოვრების ხარისხზე და მნიშვნელოვნად ზრდის დაავადების სოციალურ და ეკონომიკურ ტვირთს როგორც ოჯახის, ისე სახელმწიფოს დონეზე.

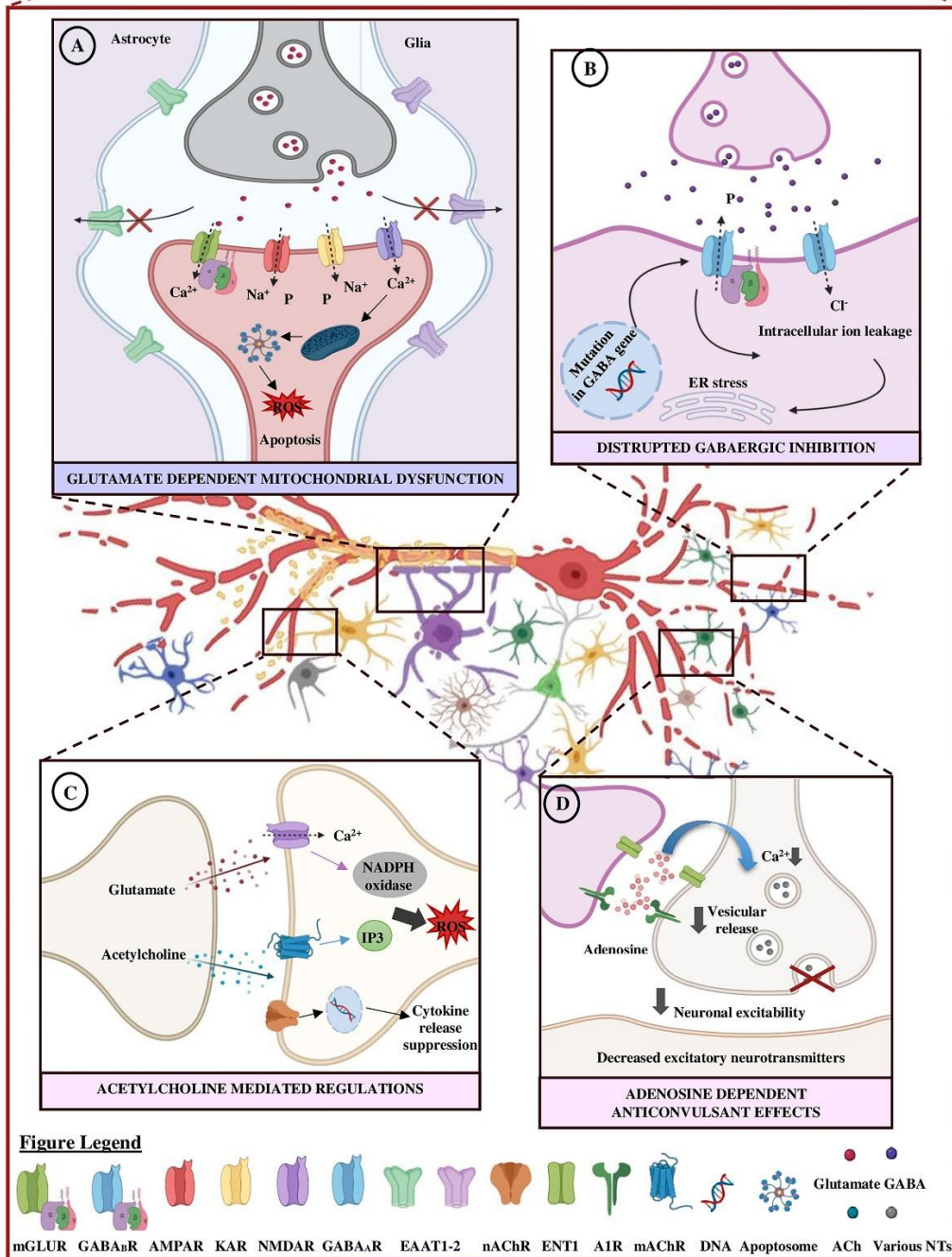
ეპილეფსიის განვითარებასთან ასოცირებული მრავალი რისკფაქტორია აღწერილი, მათ შორის: მშობიარობის დროს მიღებული ტრავმები (Fong & Harvey, 2014), სიცოცხლის განმავლობაში განვითარებული თავის ტვინის ტრავმები (Lolk et al., 2022), გენეტიკური სინდრომები (Myers, 2022), მეტაბოლიზმის თანდაყოლილი დარღვევები (Almannai et al., 2021; Lee & Chi, 2023), ცენტრალური ნერვული სისტემის სიმსივნეები (Aronica et al., 2023) და ინფექციური დაავადებები (Vezzani et al., 2015). ინფექციით განპირობებული ეპილეფსია მსოფლიო მასშტაბით ეპილეფსიის ერთ-ერთ ყველაზე პრევენცირებად ეტიოლოგიურ ფაქტორად მიიჩნევა, მაშინ როდესაც დაბალი შემოსავლის მქონე ქვეყნებში იგი კვლავ ავადობისა და სიკვდილიანობის მნიშვნელოვან მიზეზს წარმოადგენს (Singh & Trevick, 2016).

2.3.1 ეპილეფსიის პათოგენეზში ჩართული ნეიროტრანსმიტერები

ეპილეფტიფორმული აქტივობის განვითარებაში მონაწილე მრავალრიცხოვან ფაქტორთა შორის ნეიროტრანსმიტერულ სისტემებს მნიშვნელოვანი ადგილი უკავიათ. ეპილეფსიური განმუხტვები წარმოიქმნება ნეირონთა აქტივობის უეცარი და დროებითი სინქრონიზაციის შედეგად (Cloix & Hévor, 2009) ხოლო ნეირონულ გადაცემაში ჩართული ნეიროტრანსმიტერები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ აღნიშნული პროცესების მოდულაციაში და, შესაბამისად, ეპილეფსიის პათოგენეზში (Lascano et al., 2016). ნერვულ სისტემაში სინაფსური გადაცემის რეგულაცია ეფუძნება ამაგზნებელი და შემაკავებელი ნეიროტრანსმიტერული სისტემების დინამიკურ ბალანსს (სურ. 2). *In vitro* და *In vivo* ექსპერიმენტული მოდელების მონაცემებით

ნაჩვენებია, რომ ეპილეფტიფორმული განმუხტვების გენერაცია და პოტენციაცია დაკავშირებულია ამაგზნებელი ტრანსმიტერების სასარგებლოდ ნეიროტრანსმიტერული ბალანსის დარღვევასთან (Akyuz et al., 2021a). ზემოაღნიშნულიდან გამომდინარე, შემდეგ თავში განხილულია ეპილეფსიის პათოგენეზში ჩართული ძირითადი ნეიროტრანსმიტერული სისტემების როლი.

THE MAIN NEUROTRANSMITTERS in EPILEPSY



სურ. 2 სურათზე წარმოდგენილია ეპილეფსიის პათოგენეზში ჩართული ძირითადი ნეირომედიატორული სისტემები. **A. გლუტამატი:** გლუტამატი ახდენს თავის მოქმედებას NMDA, AMPA, კაინატური და მეტაბოტროპული (mGlu) რეცეპტორების მეშვეობით. NMDAR-ებისა და AMPAR-ების აქტივობის ცვლილებები, უჯრედშიგა Ca^{2+} -ის კონცენტრაციის მატება,

რეაქტიული ჟანგბადის ფორმების წარმოქმნა და გლუტამატის დონის ზრდა დაკავშირებულია აგზნებით გამოწვეულ ნეიროტოქსიკურობასთან. ოქსიდაციური სტრესი, რომელიც ასოცირებულია მიტოქონდრიულ დისფუნქციასთან, ასტიმულირებს აპოპტოზურ სასიგნალო გზებს. **B. გაემ (GABA):** გაემ-ი ინჰიბიტორულ მოქმედებას ახორციელებს GABA_A ტიპის რეცეპტორების მეშვეობით, რომლებიც ზრდიან Cl⁻ იონების უჯრედში შესვლას, და GABA_B ტიპის რეცეპტორების საშუალებით, რომლებიც ხელს უწყობენ K⁺ იონების უჯრედიდან გამოდინებას. ეპილეფტოგენეზის პროცესში GABA რეცეპტორების სუბერთეულების გენეტიკური მუტაციები უკავშირდება ისეთი პათოლოგიური მექანიზმების გააქტიურებას, როგორებიცაა იონების დისბალანსი და ენდოპლაზმური ბადის სტრესი. **C. აცეტილქოლინი (ACh):** აცეტილქოლინის ზოგიერთი ნიკოტინური რეცეპტორი მონაწილეობს ციტოკინების გამოყოფის რეგულაციაში და, ამ კონტექსტში, მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ეპილეფსიის დროს ნეირონული ანთებითი პროცესების ფორმირებაში. აცეტილქოლინის მუსკარინული რეცეპტორები, გლუტამატის რეცეპტორებთან ერთად, IP₃-სასიგნალო გზით ჩართულია რეაქტიული ჟანგბადის ფორმების გენერაციაში, რაც გავლენას ახდენს აპოპტოზურ მექანიზმებზე და დაკავშირებულია ეპილეფსიის პათოგენეზთან. **D. ადენოზინი:** ადენოზინი მონაწილეობს ანთების საწინააღმდეგო პროცესებში A1R და ENT1 რეცეპტორების მეშვეობით, რაც ამცირებს სინაფსური ვეზიკულებიდან ნეირომედიატორების გამოთავისუფლებას. აღნიშნული მექანიზმების შედეგად ადენოზინი ამცირებს ნეირონულ აგზნებადობას და ავლენს ანტიეპილეფსიურ ეფექტს. (Akyuz et al., 2021).

გლუტამატი

გლუტამატი წარმოადგენს ცენტრალური ნერვული სისტემის ძირითად ამაგზნებელ ნეიროტრანსმიტერს (Zhou & Danbolt, 2014), და მონაწილეობს დასწავლაში, მეხსიერებაში, შემცნებასა და ემოციურ რეგულაციაში (Barker-Haliski & White, 2015).

ფიზიოლოგიურ პირობებში გლუტამატის დონე მკაცრად რეგულირდება, თუმცა მისი ჭარბი დაგროვება იწვევს რეცეპტორების გადაჭარბებულ სტიმულაციას, ნეირონულ ჰიპერაგზნებას, ოქსიდაციურ სტრესსა და მიტოქონდრიულ დისფუნქციას, რაც საბოლოოდ აპოპტოზურ მექანიზმებთან ერთად მონაწილეობს ეპილეფსიის განვითარებასა და პროგრესირებაში (Grande et al., 2014; Méndez-Armenta et al., 2014).

ამ პროცესების კონტროლში მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ასტროციტები და ნატრიუმზე დამოკიდებული გლუტამატის ტრანსპორტერები, რომლებიც სინაფსური ნაპრალიდან ტრანსმიტერის სწრაფ უკუმიტაცებას უზრუნველყოფენ (Zhou & Danbolt, 2014). თუმცა ეპილეფსიის დროს ეს ჰომეოსტაზი ხშირად ირღვევა, რაც რეცეპტორული ფუნქციის ცვლილებებსა და ტრანსპორტერების ექსპრესიის დაქვეითებას უკავშირდება (Coulter & Eid, 2012). დამატებით, აღწერილია NMDAR გენების (GRIN1, GRIN2B, GRIN2D) მუტაციები და AMPAR-ის ცვლილებები, რომლებიც ზრდის პირამიდული ნეირონების აგზნებადობას და ხელს უწყობს ანთებით პროცესებს (Banerjee et al., 2015; Devinsky et al., 2013; Hanada, 2020). კვლევებით ასევე ნაჩვენებია, რომ მელატონინი ამცირებს უჯრედშიდა Ca^{2+} -ის კონცენტრაციას NMDA რეცეპტორების ინჰიბირების გზით და შესაძლოა მონაწილეობდეს უჯრედების კვდომის პრევენციაში ეპილეფსიის დროს (Carvajal et al., 2016). აღნიშნული ეფექტი დაკავშირებულია აზოტის ოქსიდის სინთაზის

ინჰიბირებასთან და NMDA რეცეპტორების ჟანგვა-აღდგენის (redox) ზონის მოდულაციასთან (López et al., 2017).

ექსპერიმენტულად ნაჩვენებია, რომ AMPAR/KAR და mGluR5 ანტაგონისტები ამცირებენ ეპილეფტოგენზთან ასოცირებულ მაღალსიხშირიან ოსცილაციებს, ხოლო mGlu2/3 რეცეპტორები და ასტროციტული ტრანსპორტერები EAAT1 და EAAT2 განიხილება პერსპექტიულ თერაპიულ სამიზნეებად (Banerjee et al., 2015; Dedeurwaerdere et al., 2015; Mahmoud et al., 2019; Soni et al., 2014; Zubareva et al., 2018).

აღნიშნული მონაცემები მიუთითებს, რომ გლუტამატერგული სიგნალიზაციის დისრეგულაცია ეპილეფსიის პათოგენეზის ერთ-ერთ ცენტრალურ მექანიზმს წარმოადგენს

გამა-ამინო ერბოს მჟავა (გაემ) - ცენტრალური ნერვული სისტემის ძირითადი შემაკავებელი ნეიროტრანსმიტერია და გადამწყვეტ როლს ასრულებს ნეირონული აგზნებადობის კონტროლში. იგი სინთეზირდება გლუტამატისგან ფერმენტ გლუტამატდეკარბოქსილაზის (GAD) მეშვეობით (Rowley et al., 2012)., ხოლო მისი დეფიციტი ან GAD1 გენის დისფუნქცია არღვევს ამაგზნებელ-შემაკავებელ ბალანსს, რაც ეპილეფტოგენეზის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მექანიზმად მიიჩნევა (Neuray et al., 2020).

გაემერგული ინტერნეირონები სომატურ და აქსონურ უბნებზე ახორციელებენ შემაკავებელ კონტროლს და ამ გზით ზღუდავენ პათოლოგიურ ჭარბ აგზნებადობას. გაემ-ის მოქმედება ძირითადად ხორციელდება GABA_A და GABA_B რეცეპტორების მეშვეობით: პირველი ქლორის იონების გამტარობის გაზრდით უზრუნველყოფენ სწრაფ ინჰიბირებას, ხოლო მეორე - G-ცილასთან დაკავშირებული რეცეპტორებია და კალიუმის უჯრედგარე ტრანსპორტის გაზრდითა და კალციუმის უჯრედშიდა შესვლის შემცირებით იწვევენ ნელ ინჰიბირებას (Akyuz et al., 2021b). ამ სისტემის დისფუნქცია მჭიდროდ არის დაკავშირებული ეპილეფსიურ აქტივობასთან. ნაჩვენებია, რომ გაემ-ის დონის შემცირება ან რეცეპტორული ფუნქციის დაქვეითება

აძლიერებს ეპილეფტიფორმულ განმუხტვებს და ხელს უწყობს სპონტანური კრუნჩხვების განვითარებას (Soukupová et al., 2014).

განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია GABA_A რეცეპტორებით განპირობებული ფაზური და ტონური ინჰიბირება, რომელთა დარღვევა საფუძვლად უდევს ნეირონული ქსელების ჭარბ აგზნებადობას (Whissell et al., 2015). აღნიშნული მექანიზმები კარგად არის აღწერილი ეპილეფსიის ექსპერიმენტულ მოდელებშიც, კერძოდ პენტილენეტეტრაზოლი (PTZ), რომელიც არის GABA_A რეცეპტორების ანტაგონისტი, ბლოკავს რა ქლორის არხებს, იწვევს ეპილეფტიფორმულ აქტივობას, რასაც თან ახლავს ჰიპოკამპში რეცეპტორული ქვეტიპების ($\alpha 1$, $\gamma 2$ და δ) ექსპრესიის ცვლილებები და ტონური ინჰიბირების დაქვეითება (Homayoun et al., 2020; Huang et al., 2001; Szyndler et al., 2018).

შესაბამისად, თერაპიული სტრატეგიების მნიშვნელოვანი ნაწილი მიმართულია გაემერგული გადაცემის გაძლიერებისკენ: ბენზოდიაზეპინები და ბარბიტურატები აძლიერებს რეცეპტორულ პასუხს, ხოლო ვიგაბატრინი და ტიაგაბინი ზრდის სინაფსურ გაემ-ის დონეს. ამის საპირისპიროდ, გაემ ანტაგონისტები (ბიკუკულინი, პიკროტოქსინი) პროკონვულსიურ ეფექტებს ავლენენ (Greenfield, 2013). გაემ-ის სინთეზის ინჰიბიტორებს, მათ შორის 4-დეოქსიმპირიდოქსინს, იზონიაზიდს, თიოსენიკარბაზიდს და L-ალილგლიცინს, ასევე ახასიათებთ პროკონვულსიური მოქმედება (Akyuz et al., 2021b).

ამგვარად, გაემ-ერგული შეკავების დარღვევა ეპილეფსიის პათოგენეზის ერთ-ერთ ცენტრალურ ნეირობიოლოგიურ საფუძველს წარმოადგენს.

ბიოგენური ამინები

დოფამინი - მიუხედავად იმისა, რომ ეპილეფსიის პათოგენეზში წამყვან როლს გლუტამატერგული და გაემ-ერგული სისტემები ასრულებენ, მნიშვნელოვანი

მოდულატორული გავლენა აქვს დოფამინსაც. დოფამინი, როგორც ენდოგენური ნეირომოდულატორი, მონაწილეობს ეპილეფტიფორმული აქტივობის რეგულაციაში, განსაკუთრებით ლიმბურ სტრუქტურებში, რომლებიც ხშირად ჩართულია ფოკალურ კრუნჩხვებში (Luna-Munguia et al., 2019).

მისი ეფექტები რეალიზდება ხუთი ტიპის რეცეპტორის მეშვეობით, რომლებიც ფუნქციურად ორ ჯგუფად იყოფა: D1-ტიპის რეცეპტორები აძლიერებენ უჯრედულ აგზნებადობას, ხოლო D2-ტიპის რეცეპტორები ინჰიბიტორულ გავლენას ახდენენ ნეირონულ აქტივობაზე (Mishra et al., 2018).

ექსპერიმენტულმა მონაცემებმა აჩვენა, რომ ამ ორი გზის მოქმედება ეპილეფტოგენეზში ურთიერთსაპირისპიროა: D1 რეცეპტორების აქტივაცია ასოცირდება პროეპილეფტოგენურ ეფექტებთან, ხოლო D2 რეცეპტორების აქტივაციას ანტიეპილეფტოგენური მოქმედება ახასიათებს (Bozzi & Borrelli, 2013). რეცეპტორული ტიპების აქტივობის ბალანსის დარღვევა, მათ შორის დოფამინის რეცეპტორების დაუნრეგულაცია და დოფამინერგული ტონუსის ცვლილება, შესაძლოა იწვევდეს თალამოკორტიკული წრედების დისფუნქციასა და ქერქულ ჰიპერაგზნებადობას (Akyuz et al., 2021b).

ნეირომიჯინგისა და ცხოველური მოდელების კვლევებმა დაადასტურა დოფამინერგული სისტემის სტრუქტურული და ფუნქციური ცვლილებები ეპილეფსიის დროს. ტემპორალური წილის ეპილეფსიის პილოკარპინის მოდელში გამოვლენილია D2/3 რეცეპტორების ექსპრესიის შემცირება წინა კუდიან ბირთვებსა და ჩენჩოში (Yakushev et al., 2010). ხოლო გენეტიკურ აბსენსის მოდელში - დოფამინის ტრანსპორტერის დისრეგულაცია და ბაზალური დოფამინის დონის დაქვეითება (Cavarec et al., 2019). ეს მონაცემები მიუთითებს, რომ დოფამინერგული დეფიციტი ხელს უწყობს ეპილეფტიფორმული აქტივობის ჩამოყალიბებას. ფარმაკოლოგიურად, დოფამინერგული გადაცემის გაძლიერებას ანტიკონვულსიური ეფექტი ახასიათებს: D2 აგონისტები, მათ შორის ბრომოკრიპტინი, ამცირებენ

კრუნჩხვების სიხშირეს როგორც ექსპერიმენტულ მოდელებში, ისე კლინიკურ შემთხვევებში (Bozzi & Borrelli, 2013; Deepak et al., 2007). ამგვარად, დოფამინერგული სისტემა განიხილება ეპილეფსიის პათოგენეზში მნიშვნელოვან მოდულატორულ როლად და პოტენციურ თერაპიულ სამიზნედ.

ნორეპინეფრინი - ეპილეფსიის დროს ენდოგენური ნორეპინეფრინი (NE) უმეტესად ავლენს ანტიკონვულსიურ მოქმედებას და განიხილება როგორც ნეირონული აგზნებადობის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი დამთრგუნველი მოდულატორი. მისი დონის შემცირება ასოცირებულია აბსენსური გულყრების გაძლიერებასა და ლიმბურ სტრუქტურებში ნეირონულ დაზიანებასთან (Akyuz et al., 2021b). ექსპერიმენტული მონაცემები მიუთითებს, რომ NE ზღუდავს ეპილეფსიური წრედების ჩამოყალიბებას, რაც მიიღწევა როგორც იონური არხების პირდაპირი მოდულაციით, ასევე გაემ-ერგული და გლუტამატერგული გადაცემის რეგულაციით (Ghasemi & Mehranfard, 2018). ამდენად, კატექოლამინები, განსაკუთრებით ნორადრენალინი და დოფამინი, ცენტრალურ კონვულსიურ პროცესებზე ინჰიბიტორულ კონტროლს ახორციელებენ (Hui Yin et al., 2013). თუმცა ნორადრენერგული ეფექტი ერთმნიშვნელოვანი არ არის და დამოკიდებულია რეცეპტორულ მექანიზმებზე. ადრენერგული რეცეპტორების სუბტიპების განსხვავებული ლოკალიზაცია და ფუნქცია განაპირობებს როგორც ანტიკონვულსიურ, ისე პროკონვულსიურ პასუხებს (Ramos & Arnsten, 2007). კერძოდ, $\alpha 1$ -ადრენერგული რეცეპტორების აქტივაცია ზრდის გაემ-ერგული ინტერნეირონების ინჰიბიტორულ ტონუსს (Hillman et al., 2009). ხოლო $\alpha 2$ -რეცეპტორები არეგულირებენ ეპილეფტიფორმულ აქტივობას ჰიპოკამპსა და ლიმბურ სტრუქტურებში (Chachua et al., 2010). ამავე დროს, პრესინაპტურ $\alpha 2$ -რეცეპტორებზე ზემოქმედებამ შეიძლება შეამციროს ნორეპინეფრინის გამოთავისუფლება და გამოიწვიოს პროკონვულსიური ეფექტი, რაც ხსნის $\alpha 2$ აგონისტების დოზადამოკიდებულ, ორმხრივ მოქმედებას (Carr et al., 2007; Xiao et al., 2009). ფარმაკოლოგიური მონაცემებიც ადასტურებს ნორადრენერგული სისტემის ნეიროპროტექტორულ პოტენციალს: სეროტონინისა და ნორეპინეფრინის

უკუშეწოვის ინჰიბიტორებმა, მაგალითად დულოქსეტინმა, შეამცირა კაინის მქავით ინდუცირებული ჰიპოკამპური ნეიროდეგენერაცია (Choi et al., 2015) ამგვარად, ნორადრენერგული სისტემა ეპილეფსიის პათოგენეზში მოქმედებს როგორც მნიშვნელოვანი მოდულატორული მექანიზმი, რომლის დისრეგულაციაც ხელს უწყობს ჰიპერაგზნებადობას, ხოლო მისი გადაცემის გაძლიერება განიხილება პერსპექტიულ თერაპიულ სტრატეგიად.

სეროტონინი - (5-ჰიდროქსიტრიპტამინი, 5-HT) წარმოადგენს მნიშვნელოვან ნეირომოდულატორს, რომელიც ეპილეფსიური აქტივობის რეგულაციაში ძირითადად ინჰიბიტორულ, ანტიკონვულსიურ როლს ასრულებს. ექსპერიმენტულ მოდელებში სეროტონინის პრეკურსორის - 5-ჰიდროქსიტრიფტოფანის - ადმინისტრაცია დოზადამოკიდებულად ამცირებს ეპილეფტიფორმულ სპაიკ აქტივობას, რაც მიუთითებს სეროტონერგული სისტემის ანტიეპილეფსიურ ეფექტზე (Taskiran et al., 2019).

ამასთან, სეროტონინის დონის დაქვეითება ასოცირდება გულყრების ზღურბლის შემცირებასთან და ნეირონული ჰიპერაგზნებადობის ზრდასთან, ხოლო ნივთიერებებს, რომლებიც ზრდიან სეროტონინის უჯრედგარე დონეს, ახასიათებთ ანტიკონვულსიური ეფექტი (Mazarati et al., 2005). ქრონიკული ეპილეფსიის დროს აღწერილია სეროტონინერგული ქსელის სტრუქტურული რეორგანიზაცია, მათ შორის ბოჭკოების შემცირება და სინაფსური გაფართოებების მორფოლოგიური ცვლილებები, რაც შესაძლოა დაკავშირებული იყოს გლუტამატთან კოტრანსმისიასა და გლუტამატერგული ჰომეოსტაზის დარღვევასთან (Jackson et al., 2009; Maia et al., 2019) ტემპორალური წილის ეპილეფსიის პირობებში გლუტამატის ტრანსპორტერების ექსპრესიის ცვლილებებიც მიუთითებს სეროტონინერგულ და გლუტამატერგულ სისტემებს შორის მჭიდრო ფუნქციურ ურთიერთქმედებაზე (Hoshi, 2020; Y. Zhang et al., 2020). რეცეპტორულ დონეზე, სხვადასხვა 5-HT სუბტიპი

განსხვავებულად ზემოქმედებს ეპილეფტიფორმულ აქტივობაზე. მაგალითად, 5-HT₆ რეცეპტორის ანტაგონისტი ამცირებს პირამიდული ნეირონების აგზნებადობას და ამაგზნებელ-შემაკავებელ ბალანსს აღადგენს (C. Zhu et al., 2020). ხოლო 5-HT_{2A/2C} რეცეპტორების გააქტივება ამცირებს გულყრების სიმძიმეს და აუმჯობესებს კოგნიტიურ ფუნქციებს (Mishra & Goel, 2019). ცნობილია, რომ 5-HT რეცეპტორები ასევე არეგულირებს სხვა ნეიროტრანსმიტერების - გლუტამატის, გაემ-ის, დოფამინისა და ნორადრენალინის - გამოთავისუფლებას და მათთან დაკავშირებული იონური არხების რეგულირებას, რაც მათ მრავალმხრივ მოდულატორულ გავლენას განაპირობებს (Pytliak et al., 2011). ამრიგად, სეროტონინერგული სისტემის დისრეგულაცია ასოცირებულია ეპილეფტოგენეზთან, ხოლო მისი ფარმაკოლოგიური მოდულაცია განიხილება პერსპექტიულ ანტიეპილეფსიურ სტრატეგიად.

ჰისტამინი - წარმოადგენს ცენტრალური ნერვული სისტემის მნიშვნელოვან ნეირომოდულატორს, რომელიც მონაწილეობს ნეირონული აგზნებადობისა და სინაფსური გადაცემის რეგულაციაში და, შესაბამისად, გავლენას ახდენს ეპილეფტიფორმული აქტივობის კონტროლზე. ჰისტამინერგული ნეირონები ლოკალიზებულია ჰიპოთალამუსის ტუბერომამილარულ ბირთვებში და ფართო პროექციების საშუალებით არეგულირებენ ტვინის მრავალ სტრუქტურას. მათი ეფექტები რეალიზდება ოთხი G-ცილასთან დაკავშირებული რეცეპტორის (H₁-H₄) მეშვეობით, ხოლო განსაკუთრებით მნიშვნელოვანი ჩანს H₃ რეცეპტორი, რომელიც პრესინაფსურად აკონტროლებს სხვადასხვა ნეიროტრანსმიტერის - გლუტამატის, გაემ-ის, აცეტილქოლინის, დოფამინის, სეროტონინისა და ნორეპინეფრინის - გამოთავისუფლებას, რითაც აკონტროლებს ნეირონული ქსელების აგზნებადობას (Brown et al., 2001). ექსპერიმენტული მონაცემები მიუთითებს, რომ ჰისტამინერგული გადაცემა უმეტესად ანტიკონვულსიურ და ნეიროპროტექტორულ მოქმედებას ავლენს. PTZ-ით ინდუცირებულ მოდელებში ჰისტამინის დონის ცვლილებები კორელირებს კრუნჩხვით აქტივობასთან, ხოლო ნეირონული ჰისტამინის ზრდა

ამცირებს კოგნიტიურ დარღვევებს და ნეირონების კვდომას (L. Zhang et al., 2017) ანალოგიურად, მაქსიმალური ელექტროშოკით გამოწვეულ ეპილევსიაში აღწერილია მისი დამცავი ეფექტი (Sadek et al., 2016). განსაკუთრებით საყურადღებოა H3 რეცეპტორის ანტაგონისტების მოქმედება: პილოკარპინის მოდელში მათი გამოყენება ამცირებს კრუნჩხვების სიხშირესა და ლეტალობას, რაც მიუთითებს ჰისტამინერგული ტონის გაძლიერების ანტიეპილევსიურ პოტენციალზე (Alachkar et al., 2019). ამასთან, გარკვეულ გენეტიკურ ფორმებში H1 რეცეპტორების გაზრდილი სიმჭიდროვე დაკავშირებულია პათოლოგიურ ჰიპერაგზნებადობასთან (Midzyanovskaya et al., 2016). ამრიგად, ჰისტამინერგული სისტემა წარმოადგენს ეპილევსიის პათოგენეზში მნიშვნელოვან მოდულატორულ რგოლს, ხოლო მისი რეცეპტორები - განსაკუთრებით H3 - განიხილება პერსპექტიულ თერაპიულ სამიზნედ.

ალკალოიდური სტრუქტურის ნეიროტრანსმიტერები

აცეტილქოლინი — მნიშვნელოვან მოდულატორულ გავლენას ახდენს ნეირონულ აგზნებადობაზე და ეპილევსიური აქტივობის რეგულაციაზე. პრეკლინიკური კვლევები მიუთითებს, რომ ქოლინერგული სისტემის დისფუნქცია დაკავშირებულია ეპილევტოგენეზთან და შესაძლოა ხელს უწყობდეს პათოლოგიური ნეირონული ქსელების ფორმირებას (Gigout et al., 2015). ექსპერიმენტულ მოდელებში ნაჩვენებია სეპტოჰიპოკამპალური ქოლინერგული პროექციების რეორგანიზაცია, კერძოდ, დაკბილული ხვეულის მოლეკულურ შრეში ბოჭკოების სიმჭიდროვის ზრდა და ჰილუსში მისი შემცირება, რაც ასახავს ლოკალური ნეირონული აგზნებადობის რეგულაციის ცვლილებას (Soares et al., 2017). ეპილევსიური სტატუსის დროს აღწერილია უჯრედგარე აცეტილქოლინის დონის მნიშვნელოვანი ზრდაც. ლითიუმ-პილოკარპინის მოდელში ჰიპოკამპში მისი გამოყოფა გულყრების დროს რამდენჯერმე მატულობს, რაც ადასტურებს ქოლინერგული გადაცემის უშუალო

ჩართულობას ეპილეფტიფორმულ აქტივობაში (Hillert et al., 2014; Iha et al., 2017). რეცეპტორულ დონეზე, მუსკარინული M1 რეცეპტორების აქტივაცია ასოცირებულია გენერალიზებული გულყრების ინიცირებასთან, მაშინ როდესაც ნიკოტინური $\alpha 7$ რეცეპტორების ექსპრესიის შემცირება პათოლოგიურ მდგომარეობებში შესაძლოა იწვევდეს ნეირონთა ჭარბ აგზნებადობას (Akyuz et al., 2021a; Baranowska & Wiśniewska, 2017).

ეთანოამიდური სტრუქტურის ნეიროტრანსმიტერები

მელატონინი როგორც ენდოგენური ნეირომოდულატორი, მონაწილეობს ჰიპოკამპური ნეირონების ფუნქციისა და ნეირონული აგზნებადობის რეგულაციაში და ავლენს ნეიროპროტექტორულ, ანტიოქსიდანტურ და ანთების საწინააღმდეგო ეფექტებს (Comai & Gobbi, 2014; D. Y. Li et al., 2013). მისი როლი ეპილეფსიის პათოგენეზში ბოლომდე შესწავლილი არ არის, თუმცა მონაცემების მნიშვნელოვანი ნაწილი მიუთითებს ანტიკონვულსიურ პოტენციალზე. კლინიკურ კვლევებში, განსაკუთრებით ბავშვთა რეზისტენტული ეპილეფსიის შემთხვევაში, მელატონინის დაბალი დონის ფონზე მისი დამატებითი მიღება ასოცირებულია გულყრების სიხშირის შემცირებასთან, მიუხედავად იმისა, რომ ცალკეულ კვლევებში აღწერილია პროეპილეფსიური ეფექტებიც (Coppola et al., 2004).

მელატონინი არეგულირებს ნეირონების ელექტრულ აქტივობას გლუტამატერგული და გაემ-ერგული გადაცემის მოდულაციით და ზრდის გაემ-ის დონეს, რაც ხელს უწყობს ინჰიბიტორული ტონის გაძლიერებას (Vishnoi et al., 2016). ექსპერიმენტულ მოდელებში მელატონინის რეცეპტორების აგონისტმა აგომელატინმა შეამცირა PTZ-ით ინდუცირებული კრუნჩხვები და გააუმჯობესა კოგნიტიური ფუნქციები, რაც მიუთითებს MT1/MT2 რეცეპტორებით განპირობებულ ანტიკონვულსიური მექანიზმების არსებობაზე (Azim et al., 2017; Moezi et al., 2011). თუმცა ეფექტი მოდელ-სპეციფიკურია და ყველა კონვულსიურ პარადიგმაში არ ფიქსირდება (Aguiar et al., 2012). შესაბამისად, მელატონინის როლის სრულფასოვანი შეფასებისთვის ეპილეფსიის პათოგენეზში დამატებითი კვლევების ჩატარება აუცილებელია.

აზოტის ოქსიდი (NO) აზოტის ოქსიდი (NO) ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში მოქმედებს როგორც ნეიროტრანსმიტერი და მეორად მესენჯერული მოლეკულა, რომლის სინთეზი ნეირონულ NO-სინთაზაზე (nNOS) არის დამოკიდებული და კალციუმის მატებით აქტიურდება. მიუხედავად იმისა, რომ NO მონაწილეობს ფიზიოლოგიურ პროცესებში, როგორიცაა სინაფსური პლასტიურობა და კოგნიტიური ფუნქციები, მისი ჭარბი წარმოქმნა პათოლოგიურ პირობებში უკავშირდება ნეიროტოქსიკურობასა და აპოპტოზს (Esplugues, 2002; V. Paul & Ekambaram, 2011). ეპილეფსიის დროს აღნიშნული მექანიზმები განსაკუთრებით აქტიურდება, რადგან ჟანგვით სტრესს და თავისუფალი რადიკალების დაგროვებას მნიშვნელოვანი წვლილი შეაქვს ნეირონულ დაზიანებასა და დაავადების პროგრესირებაში (Méndez-Armenta et al., 2014).

ექსპერიმენტული კვლევებით ნაჩვენებია, რომ გლუტამატით ინდუცირებული ნეირონული აქტივაცია აძლიერებს NO-ის წარმოქმნას, ხოლო თავად NO ხელს უწყობს გლუტამატის დამატებით გამოთავისუფლებას, რაც ქმნის პოზიტიურ უკუკავშირს და ზრდის ჰიპერაგზნებადობასა და აგზნებით გამოწვეულ ნეიროტოქსიურობას - ეპილეფტიფორმული განმუხტვების დროს ნეირონული დეგენერაციის ერთ-ერთ ძირითად მექანიზმს (Coulter & Eid, 2012). ცხოველურ მოდელებში ნაჩვენებია, რომ NOS-ის აქტივობა და NO-ის დონე მნიშვნელოვნად იზრდება როგორც მწვავე, ისე ქრონიკული ეპილეფსიის დროს (Swamy et al., 2011). კაინის მჟავით ინდუცირებულ მოდელში ნანახია ჟანგვითი სტრესით განპირობებული ჰიპოკამპური ნეიროდეგენერაცია (Shin et al., 2008), ხოლო NOS-ის ფარმაკოლოგიური ინჰიბირება ზრდის კრუნჩხვების ზღურბლს, რაც მიუთითებს NO-ის პროკონვულსიურ მოქმედებაზე (Banach et al., 2011), ანალოგიურად, PTZ-ის ერთჯერადი ინექციის შემდეგ ტვინის ქსოვილში NO-ის დონის მკვეთრი მატებაა ნაჩვენები (Watanabe et al., 2013).

ადენოზინი - ცენტრალური ნერვული სისტემის მნიშვნელოვანი ნეირომოდულატორია, რომელიც ძირითადად ინჰიბიტორულ გავლენას ახდენს ნეირონულ აგზნებადობაზე და განიხილება ეპილეფტიფორმული აქტივობის ერთ-ერთ ენდოგენურ დამთრგუნველ ფაქტორად (Boison, 2016; S. Paul et al., 2011). ეპილეფსიური აქტივობის დროს ადენოზინის გამოყოფა ხელს უწყობს ეპილეფტიფორმული განმუხტვების დათრგუნვას და მოქმედებს როგორც ენდოგენური ანტიეპილეფსიური აგენტი (Ilie et al., 2012). ადენოზინის ეფექტი მნიშვნელოვნად დამოკიდებულია მის მეტაბოლურ რეგულაციაზე, განსაკუთრებით ადენოზინკინაზის (ADK) აქტივობაზე, რომელიც განსაზღვრავს უჯრედგარე ადენოზინის დონეს. ასტროგლიური ADK-ის გადაჭარბებული ექსპრესია იწვევს ადენოზინის დეფიციტს და ასოცირებულია ეპილეფსიის დროს ტვინის პათოლოგიურ ცვლილებებთან, მაშინ როდესაც მისი დაქვეითება ზრდის ნეიროპროტექტორულ ეფექტებს და ამცირებს ეპილეფტიფორმულ აქტივობას (Boison, 2012). შესაბამისად, ადენოზინის ჰომეოსტაზის დარღვევა განიხილება ეპილეფტოგენეზის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მექანიზმად (Sandau et al., 2016). რეცეპტორულ დონეზე, ადენოზინი მოქმედებს A1, A2A, A2B და A3 რეცეპტორებზე, რომელთაგან განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია A1 რეცეპტორების აქტივაცია, რადგან იგი თრგუნავს სინაფსურ გადაცემას და ამცირებს როგორც ეპილეფსიურ განმუხტვებს, ისე მათთან დაკავშირებულ ნეირონულ დაზიანებას (Hamil et al., 2012). ამასთან, ადენოზინი ზღუდავს ჰიპოკამპურ გლუტამატერგულ ტრანსმისიას და არეგულირებს სხვა ნეიროტრანსმიტერების გამოყოფას, რაც მის ფართო ინჰიბიტორულ ეფექტს განაპირობებს (Kommajosyula et al., 2016; Masino et al., 2014).

ექსპერიმენტული მონაცემების მნიშვნელოვანი ნაწილი მიუთითებს ორექსინის ამაგზნებელ მოქმედებაზე. ორექსინის რეცეპტორების ანტაგონისტებმა სხვადასხვა მოდელში შეამცირეს კრუნჩხვების სიმძიმე და ხანგრძლივობა, მათ შორის პენტილენეტეტრაზოლითა და ელექტროშოკით ინდუცირებულ ეპილეფსიაში (Asadi et al., 2018; Hayatdavoudi et al., 2017; Razavi et al., 2020; Socala et al., 2016). აღნიშნული ეფექტები უკავშირდება გაემ-ერგული ინჰიბრების გაძლიერებასა და გლუტამატერგული გადაცემის შემცირებას. ცნობილია, რომ ორექსინი ზრდის ნეირონულ აგზნებადობას დეპოლარიზაციისა და იონური ნაკადების მოდულაციის გზით, რაც შესაძლოა ხელს უწყობდეს ეპილეფტიფორმული აქტივობის გაძლიერებას (C. Liu et al., 2018; Y. Nakamura et al., 2010). მიუხედავად ამისა, ცალკეული კვლევები მიუთითებს ორექსინის შესაძლო ნეიროპროტექტორულ ეფექტებზეც, მათ შორის ნეიროგენეზისა და კოგნიტიური ფუნქციების გაუმჯობესებაზე (Rejdak et al., 2009b; Zhao et al., 2014b). თანამედროვე მონაცემებით, ორექსინული ნეირონები ქმნიან ფართო ფუნქციურ კავშირებს მონოამინერგულ და ქოლინერგულ ბირთვებთან და ამით ასტიმულირებენ ნორადრენერგულ, დოფამინერგულ, სეროტონინერგულ, ქოლინერგულ და ჰისტამინერგულ აქტივობას, რაც განსაზღვრავს მათ ფუნქციურ დონეს ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში (Fadel & Burk, 2010; Sakurai et al., 2021). გარდა ამისა, ბოლო წლების მონაცემები მიუთითებს, რომ ორექსინული ნეირონების მნიშვნელოვანი ნაწილი არის გლუტამატერგული (VGLUT2-პოზიტიური), რაც მათ საშუალებას აძლევს არა მხოლოდ პეპტიდური, არამედ სწრაფი ამაგზნებელი ტრანსმისიითაც გავლენა მოახდინონ ქსელურ დინამიკაზე და ამაგზნებელ-შემაკავებელ ბალანსზე (Blanco-Centurion et al., 2018).

ზემოაღნიშნული მონაცემები მიუთითებს, რომ ეპილეფსიის პათოგენეზში ჩართულია სხვადასხვა ნეირომედიატორული სისტემა, რომელთა დისბალანსი განაპირობებს ნეირონული აგზნებადობის ზრდასა და ეპილეფსიური აქტივობის განვითარებას. აღნიშნული ნეიროტრანსმირეული სისტემების ფუნქციური ბალანსი

კი, როგორც კვლევებიდან ჩანს, ორექსინერგული სისტემის აქტივობაზე დამოკიდებული.

აღნიშნულის გათვალისწინებით, დისერტაციის ექსპერიმენტული ნაწილი მიზნად ისახავს ეგზოგენული ორექსინის ეფექტების შეფასებას ჰიპოკამპის ეპილეპტიფორმულ აქტივობაზე *in vivo* და *in vitro* მოდელებში.

2.4. ჰიპოკამპი, მისი როლი თავის ტვინის ფუნქციონირებაში

ჰიპოკამპური ფორმაცია თავდაპირველად მიიჩნეოდა, როგორც ტვინის შედარებით პრიმიტიული უბანი, რომელსაც ახასიათებს არქიტექტურულად მარტივი თუმცა მკაცრად ორგანიზებული უჯრედული სტრუქტურა. დღეს ჰიპოკამპი ცენტრალური ნერვული სისტემის ერთ-ერთ ყველაზე ინტენსიურად შესწავლილ სტრუქტურაა. დეტალურადა არის აღწერილი მისი ნეირონების მორფოლოგია, სინაფსური კავშირები, ბიოქიმიური და ელექტროფიზიოლოგიური თვისებები. მიუხედავად იმისა, რომ გამოვლენილია 100-ზე მეტი ტიპის ნერვული უჯრედი, ჰიპოკამპის ნეირონული შემადგენლობა ძირითადად წარმოდგენილია პირამიდული და მარცვლოვანი უჯრედებით. კვლევებმა დაადასტურა, რომ ჰიპოკამპი კრიტიკულ როლს ასრულებს ეპიზოდური მეხსიერების კონსოლიდაციასა და აღდგენაში, აგრეთვე სივრცული რეპრეზენტაციისა და ნავიგაციის პროცესებში (LaFlamme et al., 2021; Wheeler et al., 2015). ჰიპოკამპური სინაფსების გრძელვადიანი პლასტიურობა განიხილება მეხსიერების უჯრედულ-მოლეკულურ საფუძვლად (Martin et al., 2000), ხოლო მისი დაზიანება ექსპერიმენტულ ცხოველებში იწვევს ქცევით და კოგნიტურ დარღვევებს (Bast & Feldon, 2003). აღნიშნული ფუნქციები დაკავშირებულია ჰიპოკამპის არქიტექტურულ ორგანიზაციასთან, რიტმულ აქტივობასა და სინაფსურ პლასტიურობასთან (Wheeler et al., 2015).

ჰიპოკამპური ფორმაცია მოიცავს ენტორინალურ ქერქს, დაკბილულ ხვეულს, საკუთრივ ჰიპოკამპს ამონის რქის (CA) ველებითა და სუბიკულუმს. ჰიპოკამპური

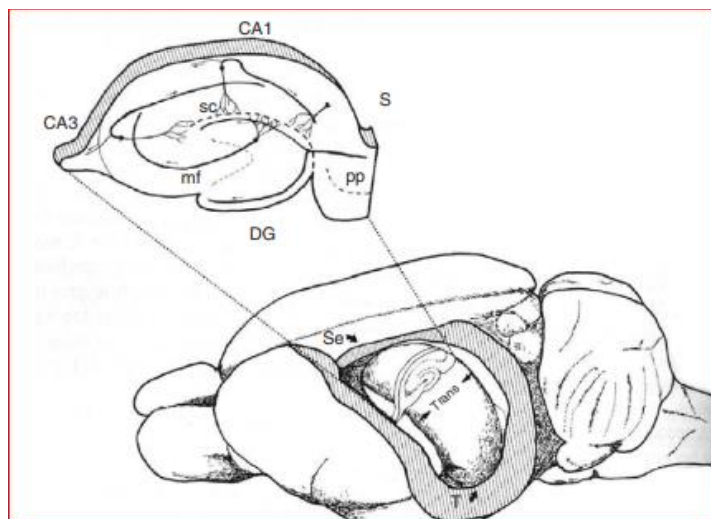
ფორმაციის თითოეული უბანი ხასიათდება ერთი ტიპის ძირითადი ნეირონების შრით, რომელიც „სენდვიჩისებურად“ არის განლაგებული ორ სხვა შრეს შორის, რაც ქერქის სტრუქტურის გამარტივებულ მოდელს წარმოადგენს (ცხრილი 1) (*Hippocampus : Anatomy, Functions and Neurobiology*, n.d.).

1.	თეთრი ნივთიერების შრე s. Alveus	შეიცავს პირამიდული ნეირონების აქსონებს, რომლებიც ფორნიქსისკენ მიემართება.
2.	s. Oriens	წარმოდგენილია შემაკავებელი ინტერნეირონებით. აქვე ლოკალიზებულია პირამიდული ნეირონების ბაზალური დენდრიტები, რომლებიც იღებენ იმპულსებს სხვა პირამიდული უჯრედებიდან, სეპტალური პროექციებიდან და კომისურული ბოჭკოების კოლატერალებიდან.
3	პირამიდული შრე s. Pyramidale	შეიცავს პირამიდული ნეირონების სხეულებს, რომლებიც ჰიპოკამპის ძირითად ამაგზნებელ უჯრედებს წარმოადგენენ. CA3 ველში აქ ფორმირდება დაკბილული ხვეულის მარცვლოვანი უჯრედების ხავსისებრი ბოჭკოების სინაფსები, რაც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ქსელის სინაფსურ ინტეგრაციასა და პლასტიკურობაში.
4.	რადიალური შრე s. Radiatum	მოიცავს სეპტალურ და კომისურულ ბოჭკოებს, ასევე შაფერის კოლატერალებს, რომლებიც უზრუნველყოფენ ინფორმაციის გადაცემასა და ინტეგრაციას. ამ შრეში განლაგებულია სხვადასხვა ტიპის ინტერნეირონები, რომლებიც მონაწილეობენ შემაკავებელ კონტროლსა და ჰიპოკამპური რიტმების

		რეგულაციაში.
5.	მოლეკულური შრე s. Moleculare	შეიცავს პერფორანტული გზის ბოჭკოებს, რომლებიც სინაფსებს ქმნიან პირამიდული ნეირონების დისტალურ აპიკალურ დენდრიტებზე და უზრუნველყოფენ ენტორინალური ქერქიდან მომდინარე ინფორმაციის მიღებასა და ინტეგრაციას.

ცხრილი 1. ჰიპოკამპის შრეობრივი აგებულება

მღრღნელებში ჰიპოკამპის დორსალური ნაწილი მდებარეობს კოჟრიანი სხეულის ქვეშ და წინა მიმართულებით ვრცელდება სეპტუმისკენ. ვირთაგვებში ჰიპოკამპსა და დაკბილულ ხვეულს ბანანისებური ფორმა ახასიათებს: როსტრალური დაახლოებით ორი მესამედი დორსალურ ჰიპოკამპს შეესაბამება, ხოლო კაუდალური ერთი მესამედი - ვენტრალურს (სურ. 3) (*Hippocampal Neurons 2007.Pdf*, n.d.).



სურ. 3 სურათზე წარმოდგენილია ვირთაგვას ჰიპოკამპური ფორმაცია, მისი ანატომიური კომპონენტებითა და ამონის რეის (CA) ველების სტრუქტურული ორგანიზებით.

ჰიპოკამპური ფორმაციის ძირითადი უჯრედული შრე საკუთრივ ჰიპოკამპსა და სუბიკულუმში წარმოდგენილია პირამიდული ნეირონების სხეულებით, ხოლო დაკბილულ ხვეულში - მარცვლოვანი ნეირონების სხეულებით. მიმდებარე შრეები

შეიცავს ამ ძირითადი ნეირონების პროქსიმალურ დენდრიტებსა და აქსონებს (*Hippocampus : Anatomy, Functions and Neurobiology*, n.d.).

ჰიპოკამპის ფუნქციონირების კლასიკური შრეობრივი მოდელი აღწერს ენტორინალური ქერქიდან მომდინარე ამაგზნებელი იმპულსების გადაცემას „სამსინავსური“ გზით (Sloviter & Lømo, 2012). ეს გზა იწყება ენტორინალური ქერქის II ფენიდან, საიდანაც პერფორანტული გზა პროექცირდება დაკბილულ ხვეულზე და სინავსებს ქმნის მარცვლოვან ნეირონებთან (I სინავსი); მათი ხავსისებრი ბოჭკოები უკავშირდება CA3 პირამიდულ ნეირონებს (II სინავსი), ხოლო შაფერის კოლატერალები - CA1 ველს (III სინავსი), რაც უზრუნველყოფს ჰიპოკამპურ ქსელში ინფორმაციის თანმიმდევრულ გადაცემასა და ინტეგრაციას.

ჰიპოკამპის ძირითადი ეფერენტული სიგნალი CA1 ნეირონებიდან მიემართება სუბიკულუმის, ენტორინალური ქერქისა და ქერქქვეშა სტრუქტურებისკენ. ჰიპოკამპური ფორმაცია განსაკუთრებით ხელსაყრელია *in vitro* კვლევებისთვის, რადგან 250–500 მკმ სისქის ანათლებშიც კი შენარჩუნებულია ელექტროფიზიოლოგიურად ფუნქციური სამსინავსური წრეები (*Hippocampal Neurons 2007.Pdf*, n.d.).

დაკბილული ხვეული ჰიპოკამპის „სამსინავსური გზის“ საწყისი რგოლია და უზრუნველყოფს ქერქული და სენსორული ინფორმაციის გაფილტვრასა და პირველად დამუშავებას. მისი მარცვლოვანი ნეირონების აქსონები - ხავსისებრი ბოჭკოები - წარმოადგენს ერთადერთ ეფერენტულ პროექციას CA3 ველისკენ, სადაც დიდი და ძლიერი სინავსური ტერმინალების მეშვეობით მნიშვნელოვნად განსაზღვრავს პირამიდული ნეირონების აგზნებადობასა და სინავსურ პლასტიურობას; ერთეული მაღალი სიხშირის აქტივობაც კი საკმარისია მოქმედების პოტენციალის ინიცირებისთვის (Sachidhanandam et al., 2009). CA3 უბნის განმეორებად ამაგზნებელ წრეებში ხავსისებრი ბოჭკოების (ხბ) შემავალი იმპულსი წარმოადგენს სინავსური პლასტიურობის მნიშვნელოვან მარეგულირებელ

მექანიზმს. შესაბამისად, ხბ-ის სინაფსური ეფექტების მოდულაცია შესაძლოა არსებითად მონაწილეობდეს როგორც ჰიპოკამპური ნეირონული აქტივობის, ისე ჰიპოკამპზე დამოკიდებული ქცევითი პროცესების რეგულირებაში.

ხბ-ის სინაფსებისთვის დამახასიათებელია აქტივობაზე დამოკიდებული მოკლევადიანი ფასილიტაცია, რაც განპირობებულია პრესინაფსურ ტერმინალში Ca^{2+} -ის აკუმულირებით და ნეიროტრანსმიტერის გამოყოფის ზრდით. პროცესში მონაწილეობს კაინატური გლუტამატური აუტორეცეპტორები, რომელთა ეფექტი კონცენტრაციაზეა დამოკიდებული: დაბალი კონცენტრაციები აძლიერებს, ხოლო მაღალი - თრგუნავს სინაფსურ გადაცემას. დამატებით, ჰეტეროსინაფსური ინჰიბირება ხორციელდება როგორც გლუტამატური, ისე გაემ_B რეცეპტორების მეშვეობით (Casanova et al., 2009).

დაკბილული ხვეული და ჰიპოკამპი ძირითად, როგორც უკვე აღვნიშნეთ აფერენტულ კავშირებს იღებს ენტორინალური ქერქიდან, რომელიც ნეოკორტექსთან რეციპროკული კავშირებით ფუნქციონირებს როგორც ჰიპოკამპურ-კორტიკული ინტეგრაციის ჰაბი. CA1 და სუბიკულუმი ქმნის მთავარ ეფერენტულ გზებს ქერქისა და ქერქქვეშა სტრუქტურებისკენ, ხოლო კომისურული კავშირები აერთიანებს ორივე ჰემისფეროს ჰიპოკამპს (*Hippocampal Neurons 2007.Pdf*, n.d.).

დაგროვებული მტკიცებულებები მიუთითებს, რომ ჰიპოკამპის სტრუქტურული და ფუნქციური დარღვევები ჩართულია რიგი ფსიქიკური და ნევროლოგიური დაავადებების პათოგენეზში, მათ შორის ეპილეფსიის, ალცჰეიმერის დაავადებისა და შიზოფრენიის (Huberfeld et al., 2015; Jaroudi et al., 2017; Collado-Torres et al., 2019). მისი უნიკალური სტრუქტურული ორგანიზაცია, ბიოქიმიური მექანიზმები, მრავალმხრივი კავშირები ქერქულ და ქერქქვეშა სტრუქტურებთან და ნეირონთა დაბალი აგზნებადობის ზღურბლი განაპირობებს როგორც ტვინის ინტეგრაციულ პროცესებში მის მნიშვნელოვან როლს, ქმნის პირობებს ეპილეფტიფორმული აქტივობის ინიცირების, შენარჩუნებისა და გავრცელებისთვის (Meador, 2007).

ნაჩვენებია, რომ ტემპორალური წილის ეპილეფსიის შემთხვევაში, რომელიც ხშირად ხასიათდება ფარმაკორეზისტენტობით, ეპილეფტოგენური პროცესების გენერაცია უმეტესად ჰიპოკამპში ხდება (Navidhamidi et al., 2017). სწორედ ამ მიზეზით იგი განიხილება როგორც ტემპორალური წილის ეპილეფსიის ძირითადი პათოფიზიოლოგიური სუბსტრატი და პრეკლინიკური კვლევების ოპტიმალური სამიზნე. ზემოაღნიშნულის გათვალისწინებით, ჰიპოკამპში წარმოდგენილ კვლევაში შეირჩა, როგორც ელექტრულად და ფარმაკოლოგიურად გამოწვეული ეპილეფტიფორმული აქტივობის *In vivo* და *In vitro* ექსპერიმენტების ძირითადი ნეირობიოლოგიური სუბსტრატი.

2.5 ეპილეფსიის ცხოველური მოდელები

დღეისათვის პოტენციური ანტიეპილეფსიური თერაპიების შესწავლა/შეფასება პრეკლინიკურ ეტაპზე ცხოველური მოდელების გამოყენებით ხდება. პირველი ანტიეპილეფსიური ფარმაკოლოგიური პრეპარატი - კალიუმის ბრომიდი - 1857 წელს იქნა გამოყენებული, ხოლო 1912 წელს აღწერილ იქნა ფენობარბიტალის ანტიკონვულსიური ეფექტი. იმ დროისათვის, კალიდური ცხოველური მოდელების არარსებობის პირობებში, პრეპარატების ეფექტიანობა ძირითადად კლინიკურ დაკვირვებებს ეყრდნობოდა, რამაც შემდგომში პრეკლინიკური მოდელების განვითარების აუცილებლობა განაპირობა.

თანამედროვე ანტიეპილეფსიური მედიკამენტების უმეტესობის ანტიკონვულსიური ეფექტი თავდაპირველად შეფასდა მღრღნელებში სხვადასხვა ცხოველური მოდელის გამოყენებით, მათ შორის მაქსიმალური ელექტროშოკის, პენტილენტეტრაზოლის (PTZ) და ელექტრული კინდლირების მიდგომით. თუმცა, აღნიშნული მიდგომები არასაკმარისად ასახავს ფარმაკორეზისტენტული ეპილეფსიის კლინიკურ სურათს.

ბოლო ათწლეულებში შეიქმნა ეპილეფსიის არაერთი ცხოველური მოდელი, რომლებიც სხვადასხვა ხარისხით ავლენს ფარმაკორეზისტენტობას, მათ შორის

რეზისტენტული კინდლირება, 6-Hz პარციალური კრუნჩხვები და კაინის მჟავით ინდუცირებული ეპილეფსიური სტატუსი სპონტანური განმეორებადი გულყრებით (Löscher, 2017). ეს მოდელები გამოიყენება წამლის მიმართ რეზისტენტობის მექანიზმების შესასწავლად (ცხრილი 2).

ტემპორალური წილის ეპილეფსიის ცხოველურ მოდელებს შორის მნიშვნელოვან ადგილს იკავებს *ეპილეფსიური სტატუსი-ს* მოდელები. აღნიშნულ მოდელებში ქიმიური (კაინის მჟავა, პილოკარპინი) ან ელექტრული სტიმულაციით ინდუცირებული ეპილეფსიური შეტევების შემდგომ ვითარდება სპონტანური, განმეორებადი გულყრები.

მოდელის ტიპი	ძირითადი მოდელები	ეპილეფსიის ფორმა	მახასიათებლები	კვლევითი დანიშნულება
მწვავე კრუნჩხვების მოდელები	MES, PTZ, 6-Hz	გენერალიზებული და ფოკალური	მწვავე, დროებითი კრუნჩხვები ნევროლოგიურად ინტაქტურ ცხოველებში	ანტიეპილეფსიური მედიკამენტების საწყისი სკრინინგი
ქრონიკული კინდლირების მოდელები	ამიგდალა- და ჰიპოკამპური კინდლირება	ტემპორალური წილის ეპილეფსია	პროგრესირებადი ეპილეფტოგენეზი, ხანგრძლივი ნეირონული ცვლილებები	ეპილეფტოგენეზის და ფარმაკორეზისტენტობის მექანიზმები
ეპილეფსიური სტატუსის მოდელები	კაინის მჟავა, პილოკარპინი, ელექტრული SE	სპონტანური განმეორებადი გულყრები	ლატენტური პერიოდი და ქრონიკული ეპილეფსია	ადამიანის ტემპორალური წილის ეპილეფსიის მოდელირება
გენეტიკური მოდელები	GAERS, DBA/2, Kcna1 ^{-/-}	აბსენს და გენეტიკური ეპილეფსიები	გენეტიკურად განსაზღვრული ეპილეფტოგენეზი	მოლეკულური მექანიზმების კვლევა
პედიატრიული მოდელები	ფებრილური კრუნჩხვები, ინფანტილური სპაზმები	ბავშვთა ეპილეფსია	ასაკდამოკიდებულობითი პათოფიზიოლოგია	განვითარების სპეციფიკური თერაპიები
შემენილი ეპილეფსიის მოდელები	პოსტტრავმული, პოსტინსულტუ	შემენილი ეპილეფსია	დაბალი რეპროდუცირებადობა	ტრანსლაციური კვლევები

მოდელის ტიპი	ძირითადი მოდელები	ეპილეფსიის ფორმა	მახასიათებლები	კვლევითი დანიშნულება
	რი			

ცხრილი 2. ეპილეფსიის ცხოველური მოდელების სქემატური კლასიფიკაცია (Löscher, 2017)

ცხოველური მოდელები მნიშვნელოვან და პრაქტიკულად შეუცვლელ ინსტრუმენტად იქცა ტემპორალური წილის ეპილეფსიის (ტწე) მექანიზმების შესწავლისა და ახალი თერაპიული მიდგომების შეფასებისათვის. არსებული ექსპერიმენტული პარადიგმები ძირითადად ორ დიდ ჯგუფად იყოფა - ფარმაკოლოგიურ და ელექტრულ მოდელებად, რომლებიც განსხვავებული გზებით ასახავენ ეპილეფტოგენეზის პროცესს.

ფარმაკოლოგიური მოდელები ეფუძნება კრუნჩხვების გამომწვევი აგენტების, როგორიცაა კაინის მჟავა, პილოკარპინი, პენტილენტეტრაზოლი ან ბიკუკულინი, სისტემურ ან ინტრაჰიპოკამპურ ადმინისტრირებას. აღნიშნული აგენტები იწვევენ ეპილეფსიურ სტატუსს, რომელიც ხასიათდება ქრონიკული ეპილეფსიური აქტივობით (Lévesque & Avoli, 2013; Reddy & Kuruba, 2013). მიუხედავად იმისა, რომ აღნიშნული მოდელები სანდოდ ასახავენ ტწე-ის ჰისტოპათოლოგიურ მახასიათებლებს, მათი შედეგები მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული დოზაზე, ადმინისტრირების გზასა და ცხოველის ხაზზე, რაც გარკვეულწილად ზღუდავს მათ რეპროდუცირებადობას (Löscher, 2017).

ფარმაკოლოგიური მიდგომებისაგან განსხვავებით, ელექტრული სტიმულაციის მოდელები in vivo პირობებში იძლევა ეპილეფტიფორმული აქტივობის ინიცირების უფრო კონტროლირებად და რეპროდუცირებად შესაძლებლობას. კერძოდ, პერფორანტული გზის ან კომისურული ბოჭკოების სტიმულაცია იწვევს შემდგომ განმუხტვებს დაკბილულ ხვეულსა და ამონის რქის (CA1/CA3) ველებში, რითაც მოდელირდება ჰიპერაგზნებადი მდგომარეობები, დამახასიათებელი ტწე-ისთვის (Bragin et al., 1997; Fujiwara-Tsukamoto et al., 2007). განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია

ის გარემოება, რომ ელექტრულად ინდუცირებული მოდელები უზრუნველყოფს სტიმულაციის პარამეტრების, დროითი მახასიათებლებისა და ლოკალიზაციის ზუსტ კონტროლს, რაც საშუალებას იძლევა უშუალოდ შეფასდეს ჰიპოკამპური ნეირონული ქსელების აგზნებადობა და ეპილეფტიფორმული აქტივობის ზღურბლი (Choy et al., 2022; Song et al., 2024). აღნიშნული მახასიათებლები მათ განსაკუთრებით ღირებულს ხდის ნეირონული წრედების სპეციფიკური მექანიზმების შესწავლისა და ნეიროსტიმულაციაზე დაფუძნებული თერაპიული მიდგომების განვითარების თვალსაზრისით.

ჩვენს *in vivo* ექსპერიმენტებში ტემპორალური წილის ეპილეფსიის ცხოველური მოდელის მისაღებად გამოვიყენეთ როგორც ფარმაკოლოგიური (კაინის მჟავას ინტრაპერიტონიული ინექცია) ასევე ელექტრული (ჰიპოკამპის მაღალსიხშიროვანის ელექტრული სტიმულაცია) მიდგომა.

თავი III: მეთოდები

3.1. ცდის ობიექტი

ექსპერიმენტები ჩატარდა Wistar- ის ხაზის ლაბორატორიულ ვირთაგვებზე, ასაკით 8-10 კვირა. ცხოველების მოვლა და შენახვა ხორციელდებოდა კონტროლირებად გარემო პირობებში: ტემპერატურა 23 ± 2 °C; ფარდობითი ტენიანობა 50–60%. ცხოველებს ჰქონდათ თავისუფალი წვდომა როგორც სასმელ წყალზე ისე სტანდარტულ საკვებზე და იმყოფებოდნენ 12:12 საათიან სინათლე/სიბნელის რეჟიმზე. ყველა ექსპერიმენტი ჩატარდა სინათლის ფაზის პერიოდში (10:00–17:00). ექსპერიმენტული სამუშაო შესრულდა საქართველოს მოქმედი კანონმდებლობისა და საერთაშორისო რეგულაციების შესაბამისად, მათ შორის ხერხემლიან ცხოველთა დაცვის შესახებ ევროპული კონვენციის მოთხოვნების გათვალისწინებით. ექსპერიმენტების დაგეგმვისა და შესრულებისას მაქსიმალურად იქნა დაცული ცხოველთა კეთილდღეობა და გამოყენებული იქნა ცხოველთა მინიმალური რაოდენობა სანდო მონაცემების მისაღებად. ცხოველების ექსპერიმენტულ ჯგუფებში განაწილება განხორციელდა შემთხვევითი (რანდომული) შერჩევის პრინციპის საფუძველზე, თითოეული ჯგუფისთვის წინასწარ განსაზღვრულ ექსპერიმენტულ კრიტერიუმებთან მათი შესაბამისობის გათვალისწინებით.

3.2 კვლევის მიმართულებები

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ორექსინერგული სისტემის როლის შეფასება ეპილეფსიის პათოფიზიოლოგიაში, რისთვისაც ეგზოგენური ორექსინების (ორექსინ ა/ბ) ეფექტები შეფასდა კაინის მჟავას ეპილეფსიური სტატუსით (კმ-ეს) განპირობებულ In Vivo ცვლილებებზე ჰიპოკამპის ნეირონულ აქტივობაში და ელექტრული სტიმულაციით/ფარმაკოლოგიური მიდგომით გამოწვეულ ეპილეფტიფორმულ აქტივობაზე In vivo /In vitro ექსპერიმენტებში.

ელექტროფიზიოლოგიურ ექსპერიმენტებში გამოყენებული ეპილეფსიის მოდელები

In Vivo და In Vitro ელექტროფიზიოლოგიურ ექსპერიმენტებში ეპილეფტიფორმული განმუხტვების გენერაციისთვის გამოვიყენეთ შემდეგი მიდგომები:

- In Vivo ექსპერიმენტების ერთ სერიაში ეპილეფსიის ცხოველური მოდელის მისაღებად გამოვიყენეთ ფარმაკოლოგიური მიდგომა, კერძოდ კაინის მჟავას ერთხელობრივი ინტრაპერიტომიული ინექცია; მეორე სერიაში ჰიპოკამპის CA1 ველის მაღალსიხშიროვანი (1500-2000 იმპულსი) ელექტრული სტიმულაცია ;
- In Vitro ელექტროფიზიოლოგიურ ექსპერიმენტებში ჰიპოკამპის ანათლებში ეპილეფტიფორმული აქტივობის ინიცირება მოხდა ბიკუკულინ მეთიოდიდის გამოყენებით, NMDA პასუხების გამოსაწვევად გამოვიყენეთ მაგნიუმისაგან თავისუფალი არე; CA3 ველის ზალპური ნეირონების აქტივობის გაზრდა მოხდა მოდიფიცირებული არის გამოყენებით, კერძოდ მაგნიუმის იონებისაგან თავისუფალი და კალიუმის იონების გაზრდილი კონცენტრაციის ხსნარით;

3.2.1 *In vivo* ექსპერიმენტები

კაინის მჟავას ეპილეფსიური სტატუსის (კმ-ეს) ცხოველური მოდელი

კმ-ეს ცხოველური მოდელი ჩამოყალიბებულად ითვლებოდა, თუ კაინის მჟავას (გლუტამატერგული აგონისტი) 15 მგ/კგ ინტრაპერიტონიული ინექციიდან დაახლოებით 5–10 წუთის შემდეგ ვირთაგვებში იწყებოდა ეპილეფსიური შეტევები (პერიფერიული კრუნჩხვა), რაც ფასდებოდა რასინის შკალის მიხედვით (ცხრილი 3) (Phelan et al., 2015). საექსპერიმენტო ჯგუფში შეგვყავდა მხოლოდ ის ცხოველები, რომლებშიც გამოვლინდა ეპილეფსიური სტატუსისთვის დამახასიათებელი ხუთივე სტადია.

ქულა	ქცევითი გამოვლინება
0	პათოლოგიური ქცევითი ცვლილებები არ აღინიშნება
1	სახისა და პირის ავტომატური მოძრაობები
2	თავის დაკვრა ან რიტმული მოძრაობები (სველი ძაღლის ფერთხვა)
3	წინა კიდურების კლონური მოძრაობები
4	უკანა კიდურებზე დგომა
5	უკანა კიდურებზე დგომა და ვარდნა

ცხრილი 3. ეპილეფსიური სტატუსის ქცევითი მანიფესტაციების შეფასება რასინის სკალის მიხედვით

კაინის მჟავას შეყვანა ეპილეფსიური სტატუსის ჩამოყალიბებას იწვევდა ცხოველების დაახლოებით 70–80%-ში, აქედან 20–30%-ში აღინიშნებოდა ლეტალური გამოსავალი. გახანგრძლივებული ან ინტენსიურად გამოხატული პერიფერიული კრუნჩხვების შემთხვევაში, ლეტალობის შესამცირებლად ვახდენდით დიაზეპამის (გაემ-აგონისტი) ინექციას (12 მგ/კგ).

კმ-ეს-ის ვირთაგვებში შეფასდა:

- ცვლილებები ქცევითი პარამეტრებში;
- მორფოლოგიური ცვლილებები ჰიპოკამპსა და ჰიპოთალამუსში;
- ცვლილებები ჰიპოკამპის ველების ელექტროფიზიოლოგიურ მახასიათებლებში.

საცდელი და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში ქცევითი ექსპერიმენტები იწყებოდა კაინის მჟავას შეყვანიდან მე-2 დღეს. ჰიპოკამპსა და ჰიპოთალამუსში

მორფოლოგიური ცვლილებების შესაფასებლად ცხოველების ნაწილისგან მასალის აღება ხდებოდა ეპილეფსიური მოდელის ჩამოყალიბებიდან მე-16 დღეს. ექსპერიმენტში ჩართული ცხოველების ნაწილში *In vivo* ელექტროფიზიოლოგიური ექსპერიმენტები განხორციელდა ქცევითი ტესტების დასრულების შემდეგ, დაახლოებით 21-25-ე დღეს.

ა. ქცევითი ექსპერიმენტები

ქცევით ექსპერიმენტებში ფასდებოდა ეპილეფსიის სტატუსით განპირობებული ქცევითი პარამეტრების ცვლილებები ღია ველის, პასიური განრიდებისა და T-მაგვარი ლაბირინთის ტესტების გამოყენებით.

„ღია ველის“ ტესტი

ღია ველის ტესტი გამოიყენება საექსპერიმენტო ცხოველებში კვლევითი ქცევის, ზოგადი მოტორული აქტივობისა და ემოციურობის დონის შესაფასებლად. ჩვენს ექსპერიმენტებში გამოვიყენეთ მრგვალი ფორმის „ღია ველის“ კაბინა, დიამეტრით 1.5 მ, კედლის სიმაღლე - 50 სმ. კაბინის შავი ფერის იატაკი ლითონის სალტეებით დაყოფილია კვადრატებად და ქმნის სამ ზონას: გარე ზონა (12 კვადრატი), შიდა ზონას (6 კვადრატი) და ცენტრალურ ზონას (სურ. 4).



სურ. 4. ღია ველის კაბინა, სურათზე ნაჩვენებია კაბინის იატაკის სამი ზონა დაყოფილი კვადრატებად.

ღია ველის ტესტი ტარდებოდა სტანდარტულად განათებულ ოთახში, 5 დღის განმავლობაში, დღე-ღამის ერთსა და იმავე მონაკვეთში, რადგან ცნობილია, რომ დღე-ღამის სხვადასხვა მონაკვეთში იცვლება ვირთაგვების მოტორული აქტივობა და ემოციური სტატუსი. გარემოსთან ადაპტაციის მიზნით, ტესტის დაწყებამდე 30 წუთით ადრე ცხოველები ვივარიუმიდან გადაგვყავდა ქცევით ლაბორატორიაში. ყოველი ცხოველის ტესტირების წინ კაბინის იატაკი იწმინდებოდა 95%-იანი ეთანოლით, წინა ცხოველის მიერ დატოვებული კვალის მოსაშორებლად. ცდა იწყებოდა ეთანოლის სრულად აორთქლების შემდეგ (დაახლოებით 5–10 წთ).

საცდელი ცხოველი თავსდებოდა კაბინის ცენტრალურ ზონაში და 5 წუთის განმავლობაში აღვრიცხავდით შემდეგ ქცევით პარამეტრებს: ვერტიკალური დგომების რაოდენობა, გადაკვეთილი გარე და შიდა კვადრატების რაოდენობა, ცენტრალურ ზონაში გამოსვლების სიხშირე, და ცენტრში დაყოვნების დრო, გრუმინგის ეპიზოდების რაოდენობა და ხანგრძლივობა, ფეკალური ბოლუსების

რაოდენობა და ურინაციის სიხშირე. ტესტის დასრულების შემდეგ ცხოველი ბრუნდებოდა გალიაში, ხოლო კაბინის სათანადო დასუფთავების შემდეგ პროცედურა მეორედებოდა მომდევნო ცხოველზე.

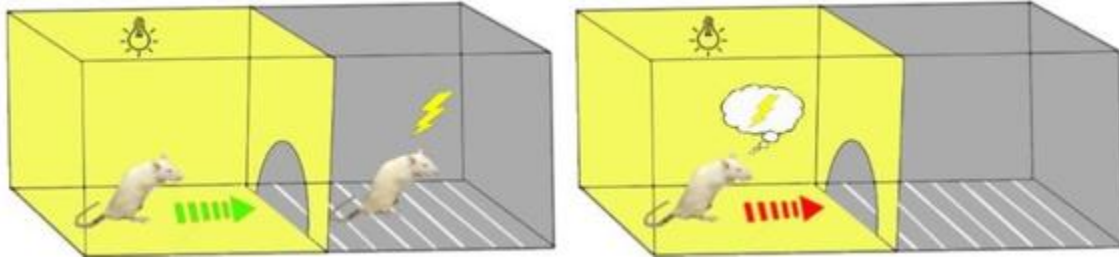
ცხოველები, რომლებიც გამოირჩეოდნენ მაღალი კვლევითი აქტივობით, გრუმინგების და ფეკალური ბოლუსების მცირე რაოდენობით, ასევე ცენტრალურ ზონაში ხშირი გამოსვლითა და ხანგრძლივი გაჩერებით, მივაკუთვნეთ დაბალემოციურ ჯგუფს. ხოლო ცხოველები დაბალი კვლევითი აქტივობით, ხშირი დეფეკაციითა და მოკლე, ხშირი გრუმინგის ეპიზოდებით - მაღალემოციურ ჯგუფს.

ერთი სერიის ვირთაგვების ღია ველის მონაცემები ექვემდებარებოდა გასაშუალებას, თითოეულ სერიაში საექსპერიმენტო ცხოველების რაოდენობა არ იყო 5-ზე ნაკლები. ყველა ცხოველზე მიღებული რვავე კომპონენტის შესაბამისი ციფრული მონაცემებით იგებოდა ჯერ ინდივიდუალური მრუდები (5 დღიანი დინამიკით), შემდგომ სუმარული მრუდები საშუალო სტანდარტული გადახრებით. თუ ხუთდღიან ტესტში მონაცემების ყოველდღიური მაჩვენებლების ცვლილებაში დინამიკა არ აღინიშნებოდა, ვახდენდით 5 დღის მონაცემების გასაშუალებას.

პასიური განრიდების ტესტი

პასიური განრიდების ტესტი ტარდებოდა სპეციალურ კაბინაში, რომელიც დაყოფილია განათებულ და ბნელ განყოფილებებად. ბნელი (V) კაბინის იატაკი ელექტროფიცირებულია. ელექტრული გაღიზიანების მიწოდება რეგულირდება პულტის საშუალებით. განათებული, სასტარტო კაბინა დამზადებულია შავი პლასტმასისგან, ზემოდან დაფარული გამჭვირვალე სახურავით, ხოლო მისი იატაკი დაყოფილია ოთხ სექტორად და ცენტრალურ ზონად (სურ. 5). სასტარტო კაბინის თავზე დამონტაჟებულია 60 ვოლტიანი ნათურა, რომლის განათების ინტენსივობა რეგულირდება სპეციალური პულტით. ეს ორი კაბინა ერთმანეთთან დაკავშირებულია მოძრავი კარით, რომელიც ცდის დასაწყისში არის ღია მდგომარეობაში. აღნიშნულ ტესტში ვირთაგვები ღია განათებულ ადგილას

მოთავსების შემთხვევაში ცდილობენ გადაადგილდნენ ბნელი მყუდრო განყოფილებისკენ, რასაც პასიური განრიდების რეაქცია ეწოდება. ცხოველი ჩაბნელებულ განყოფილებაში შესვლის შემთხვევაში ღებულობს მტკივნეულ გაღიზიანებას. პასიური განრიდების ტესტში ცდები ტარდებოდა ყოველ დღე 15 წუთის მანძილზე, 5 დღის განმავლობაში. ცხოველი თავსდებოდა განათებულ სატესტო კაბინაში (პირველ კვადრატში), პარალელურად აღირიცხება ცხოველის აქტივობა, გადაკვეთილი კვადრატების რაოდენობა, ცენტრში გამოსვლის რაოდენობა, გრუმინგების რაოდენობა და ხანგრძლივობა, ასევე ფეკალური ბოლუსების რაოდენობა, ურინაციის სიხშირე, სასტარტო კაბინასთან დაყოვნების ხანგრძლივობა და მასში შესვლის რაოდენობა/ლატენტური პერიოდი. ჩაბნელებულ (ელექტროფიცირებული V კაბინა) გალიაში შესვლის შემთხვევაში, მყისიერად იკეტებოდა კარი და 25 წამის მანძილზე ცხოველი იღებდა ელექტრომტკივნეულ გაღიზიანებას (25 ვოლტი), რის საპასუხოდაც ცხოველი ცდილობდა მტკივნეულ გაღიზიანებისგან განრიდებას, შესაბამისად ბრუნდებოდა განათებულ კაბინაში, სადაც 15 წთ-იანი ცდის სესიის დასრულებამდე ხელახლა აღვირცხავდით ზემოხსენებულ ყველა პარამეტრს. აღსანიშნავია, რომ უმეტეს შემთხვევაში ცხოველი მტკივნეული გაღიზიანების შემდეგ ირჩევდა განათებული განყოფილების რომელიმე კუთხეს. მომდევნო 4 დღის განმავლობაში პასიური განრიდების ტესტი იგივე თანმიმდევრობით ხორციელდებოდა და ჩაბნელებულ კაბინაში შესვლის შემთხვევაში ცხოველი კვლავ ღებულობდა ელექტრომტკივნეულ გაღიზიანებას. მიუხედავად იმისა, რომ ბნელი გარემო ვირთავებისთვის უფრო კომფორტულია, ცხოველთა ნაწილი ცდის შემდგომ დღეებში ბნელ კაბინაში აღარ გადადიოდა, რაშიც ვლინდება როგორც თავდაცვითი ქცევა, ისე მეხსიერება.

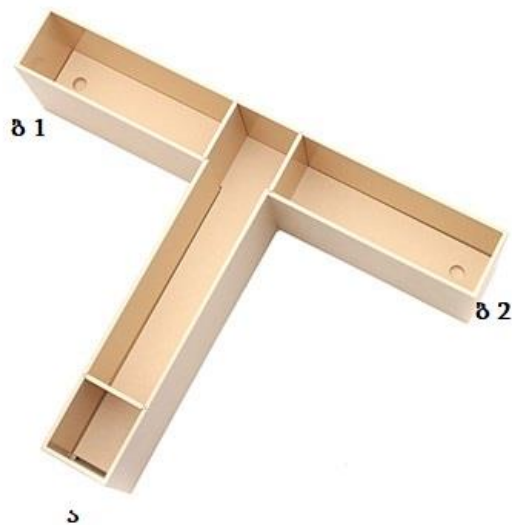


სურ. 5 პასიური განრიდების კაბინა. ყვითელი - განათებული განყოფილება ; რუხი - ჩაბნელებული, ელექტროფიცირებული განყოფილება (Badeli et al., 2023)

დასწავლის კრიტერიულ მაჩვენებლად ვთვლიდით იმ შემთხვევას, როდესაც ცხოველი სამი დღის განმავლობაში აღარ შედიოდა ელექტროფიცირებულ კაბინაში. ყოველი ცდის წინ კაბინა საგულდაგულოდ სუფთავდებოდა. პასიური განრიდების ტესტის მონაცემებიც ისეთსავე ანალიზს ექვემდებარებოდა როგორსაც ღია ველის 5 დღის მონაცემი: 8 პარამეტრს ცალ-ცაკლე თითოეულ ცხოველზე ინდივიდუალური გრაფიკების სახით ვალაგდებდით და შემდგომ ვახდენდით მონაცემთა გასაშუალებას.

სივრცითი მეხსიერების შეფასება T-ს მაგვარ ლაბირინთში

T-ს მაგვარი ლაბირინთის გამოყენებით შევაფასეთ ცხოველის სივრცითი მეხსიერება. ლაბირინთი ჰორიზონტალურად განთავსებული კონსტრუქციაა, შემოსაზღვრული დაახლოებით 15 სმ სიმაღლის გვერდითი „კედლებით“. ძირითადი დერეფნის სიგრძე 1 მეტრია, ხოლო თითოეული მკლავის სიგრძე - 50 სმ-ს (სურ. 6).



სურ. 6. T-ს მაგვარი ლაბირინთი ა- სასტარტო განყოფილება; ბ1 და ბ2. –განშტოებები (<https://sandiegoinstruments.com/product/t-maze/>)

T-სმაგვარი ლაბირინთის ძირითად დერეფანში გამოყოფილი იყო სასტარტო კაბინა. ექსპერიმენტი შედგებოდა ორი ფაზისგან: „წარდგენის“ და „არჩევანის“. წარდგენის ფაზაში ცხოველი თავსდებოდა სასტარტო კაბინაში, რომლის „კარის“ გახსნის შემდეგ იგი თავისუფლად გადაადგილდებოდა დერეფანში და მხოლოდ ერთ განშტოებაში ეძლეოდა საკვები, მაშინ როდესაც მეორე განშტოება ფიზიკურად იყო დაკეტილი. ამის შემდეგ ცხოველი ბრუნდებოდა სასტარტო კაბინაში და დაახლოებით 30-წამიანი დაყოვნების შემდეგ იწყებოდა არჩევანის ფაზა, რომლის დროსაც ლაბირინთის ორივე მკლავი ღია იყო. ცხოველს უნდა აერჩია ის განშტოება, სადაც წარდგენის ფაზაში მიიღო საკვები. შეცდომის შემთხვევაში ცხოველს არ ეძლეოდა საკვები და ბრუნდებოდა სასტარტო კაბინაში.

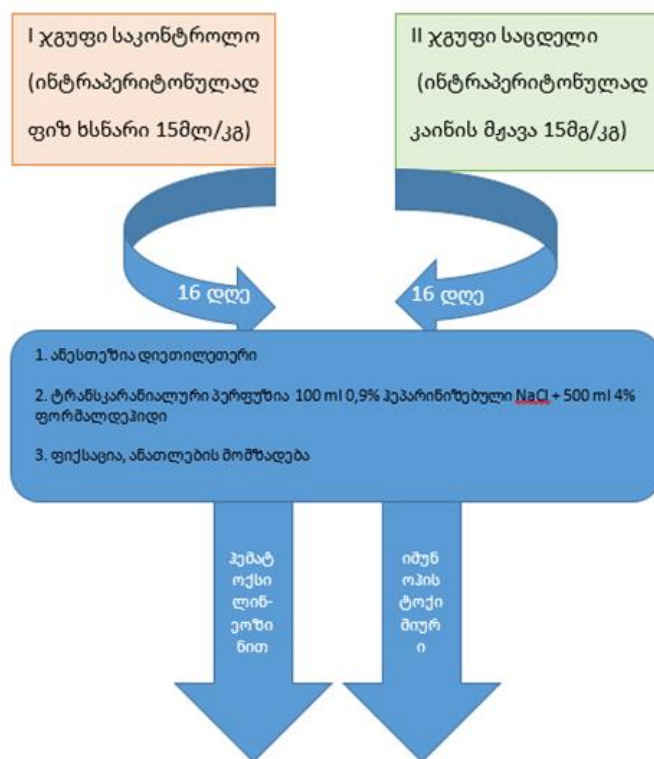
თითოეულ ცხოველზე დღეში ვატარებდით 10 სინჯს, სინჯთაშორისი ინტერვალი შეადგენდა 30 წამს. ლაბირინთის განშტოებების წარდგენის მიმდევრობა განსაზღვრული იყო გელერმანის ცხრილის საფუძველზე, რაც უზრუნველყოფდა სტიმულების რანდომულ მონაცვლეობას, მარცხენა და მარჯვენა არჩევანის ბალანსირებულ განაწილებას და ამცირებდა ექსპერიმენტატორის შესაძლო გავლენას

შედეგებზე. დასწავლის კრიტერიუმად განისაზღვრა არაუმეტეს ერთი შეცდომა 10 სინჯიდან. ექსპერიმენტი გრძელდებოდა 11 დღის განმავლობაში, რადგან საკონტროლო ცხოველებში დაახლოებით მე-9 დღეს ხდებოდა დასწავლის კრიტერიუმზე გასვლა. დასწავლის ტესტის შესრულებისათვის აუცილებელია, რომ ცხოველი იყოს მშვიერი (კვებითი დეპრივაცია), მას უნდა ჰქონდეს საკვების მიღების მოტივაცია. ამასთან, ცდის განმავლობაში არ უნდა ხდებოდეს მისი სრულად დანაყრება, ამისათვის ზუსტად ვსაზღვრავდით ერთჯერადად მიცემული საკვების რაოდენობას და ხარისხს (მაგ, ძეხვი და არა მარცვლეული ან ბოსტნეული).

ბ. მორფოლოგიური ექსპერიმენტები

ჰისტოლოგიური ანათლების დამზადების მეთოდი; მასალის ფიქსაცია და პრეპარატების მომზადება

კაინის მჟავას ეპილეფსიური სტატუსით ჰიპოკამპსა და ჰიპოთალამუსში გამოწვეული სტრუქტურული ცვლილებების შესაფასებლად დაიგეგმა მორფოლოგიური ექსპერიმენტები. კაინის მჟავას/ფიზიოლოგიური ხსნარის ინექციიდან მე-16 დღეს, როგორც საცდელი, ასევე საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებს ჩაუტარდათ ანესთეზია დიეთილის ეთერით, ტრანსკარდიალური პერფუზია გავაკეთეთ ჯერ 100 მლ ჰეპარინიზებული 0.9% NaCl ხსნარით (ჰეპარინი 1 U/მლ ხსნარზე), შემდეგ 500 მლ 4%-იანი პარაფორმალდეჰიდის ხსნარით, მომზადებული 0.1 M ფოსფატურ ბუფერზე (pH 7.4) (Wu et al., 2021). პერფუზიის დასრულების შემდეგ თავის ტვინის ქსოვილი გადაგვქონდა იმავე ფიქსატორში და ვინახავდით +4°C ტემპერატურაზე. მორფოლოგიური კვლევის ეტაპების გრაფიკული სქემა ნაჩვენებია მე-7 სურათზე.



სურ. 7 მორფოლოგიური კვლევის ეტაპების გრაფიკული სქემა

ჰემატოქსილინ-ეოზინით ლეზიების მასალის მომზადება

ფიქსაციის შემდეგ ქსოვილის გაუწყლობა მიმდინარეობდა აღმავალი კონცენტრაციის სპირტების ხსნარში ანათლების დაყოვნებით: 70% - 30 წუთი, 80% - 30 წუთი, 90% - 30 წუთი, 96% - 20 წუთი. გაუწყლობის შემდეგ ტვინი 20-20 წუთით თავსდება აცეტონში 3 -ჯერ ქსოვილის გაუწყლობის შემდგომ ტვინი ყალიბდებოდა ცვილ-პარაფინის ნარევეში: სპირტ-ქლოროფორმი - 30 წუთი, ქლოროფორმი - 30 წუთი, ქლოროფორმ-პარაფინი (2:1) - 1.5 საათი (56°C თერმოსტატი), ქლოროფორმ-პარაფინი (1:1) - 1.5 საათი (56°C), ქლოროფორმ-პარაფინი (1:2) - 1.5 საათი (56°C), სუფთა პარაფინი - 1.5 საათი (56°C). ცვილ-პარაფინი - 1,5 სთ (56° C თერმოსტატი) და ჩაყალიბება.

ჰიპოკამპის ველებში უჯრედების საერთო რაოდენობის შესაფასებლად მოვამზადეთ 5–7 მკმ სისქის ანათლები და შევღებეთ ჰემატოქსილინ-ეოზინით სტანდარტული მეთოდით (Cardiff et al., 2014). პრეპარატები მიკროსკოპიულად შევაფასეთ სინათლის მიკროსკოპით. ჰემატოქსილინ-ეოზინით შეღებილი პრეპარატებით განისაზღვრა უჯრედების საერთო რაოდენობა საკვლევ არეებში, ხოლო გაემ-ერგული უჯრედების რაოდენობის შესაფასებლად ჰიპოკამპში, და ორექსინ-პოზიტიური უჯრედების - ჰიპოთალამუსში გამოვიყენეთ იმუნოჰისტოქიმიური ღებვის მეთოდი.

ჰიპოკამპის ანათლების იმუნოჰისტოქიმიური ღებვა

ჰიპოკამპში გაემ-ერგული ნეირონების რაოდენობრივი შეფასების მიზნით ანათლები შევღებეთ anti-GAD65/67 - (გლუტამატ დეკარბოქსილაზას (GAD)) პირველადი და anti-rabbit IgG (Sigma-Aldrich, B8895) მეორადი ანტისხეულების გამოყენებით. დაგეგმილი მორფოლოგიური კვლევა მოიცავდა შემდეგ ეტაპებს:

სასაგნე მინების მომზადება - სასაგნე მინები დავფარეთ ქრომალუმინის ხსნარით, რომლის 100 მლ შეიცავდა: 1.5 გ ჟელატინს, 0.1 გ კალიუმქრომ (III) სულფატს და 30 მლ 96° ეთილის სპირტს. სასაგნე მინები მოვათავსეთ აღნიშნულ ხსნარში 10 წამის განმავლობაში, რის შემდეგაც გადავიტანეთ თერმოსტატში და დავაყოვნეთ 60°C ტემპერატურაზე საშუალოდ 5 საათის განმავლობაში.

პრეპარატების დამზადება - საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების თავის ტვინის მარცხენა ნახევარსფეროს ფიქსირებული ქსოვილიდან დავამზადეთ 13 პრეპარატი, რომელთაგან თითოეულზე განთავსებული იყო საშუალოდ სამი 5 მკმ სისქის ანათალი. დამატებით დავამზადეთ 27 პრეპარატი, რომლებზეც წარმოდგენილი იყო უშუალოდ ჰიპოკამპის ანათლები.

პრეპარატების დამუშავება (დეპარაფინიზაცია და ჰიდრატაცია) - დეპარაფინიზაციის მიზნით მე-4 ცხრილში წარმოდგენილი ვარიანტის შესაბამისად შევარჩიეთ 6

პრეპარატი, რომლებიც დავამუშავეთ ქსილოლით ორჯერ, 30-30 წუთის განმავლობაში. დეპარაფინიზაციის დასრულების შემდეგ პრეპარატების ჰიდრატაცია მოხდა ეთილის სპირტის დაღმავალი კონცენტრაციის ხსნარებში (96°, 80° და 70°). თითოეულ ხსნარში პრეპარატები დავაყოვნეთ 5 წუთის განმავლობაში, რის შემდეგაც გადავიტანეთ დისტილირებულ წყალში 5 წუთით და ბოლოს ონკანის წყალში ასევე 5 წუთით.

პირველადი ანტისხეულისთვის (anti-GAD65/67) ანტიგენის აღდგენის მიზნით, მიღებული ექვსი პრეპარატიდან სამი დაექვემდებარა თერმულ დამუშავებას. პრეპარატები მოთავსდა Tris-EDTA ბუფერში (pH 9.0) და ინკუბირდა 100°C ტემპერატურაზე 30 წუთის განმავლობაში. თერმული დამუშავების შემდეგ პრეპარატები გაირეცხა PBS-ის ხსნარით (phosphate-buffered saline, Sigma Aldrich).

ენდოგენური პეროქსიდაზული აქტივობის ინჰიბირება - თერმულად დამუშავებული (3) და დაუმუშავებელი (3) - ჯამში ექვსივე პრეპარატი მოვათავსეთ 3%-იანი წყალბადის ზეჟანგის ხსნარში 10 წუთის განმავლობაში, რის შემდეგაც გავრეცხეთ PBS-ის ხსნარით 5 წუთის განმავლობაში.

ანტისხეულების დატიტრება - ჩავატარეთ anti-GAD65/67 (გლუტამატ დეკარბოქსილაზას (GAD)) (Sigma-Aldrich, G5163) პირველადი ანტისხეულის, anti-rabbit IgG (Sigma-Aldrich, B8895) მეორადი ანტისხეულის და ექსტრავიდინ-პეროქსიდაზის (Sigma-Aldrich, E2886) დატიტრება. აღნიშნული პროცედურისთვის შევიმუშავეთ ცხრა ექსპერიმენტული ვარიანტი, რომლებიც წარმოდგენილია მე-4 ცხრილში.

I ანტისხეული	1:500	1:1000	1:1500	ექსტრავიდინ-პეროქსიდაზა
II ანტისხეული				
1:400	 1	2	3	10 mkg/ml
1:800	4	5	6	10 mkg/ml

1:1600	7	8	9	10 mkg/ml
--------	---	---	---	-----------

ცხრილი 4. ანტი-GAD65/67 (პირველადი) და anti-Rabbit IgG (მეორადი) ანტისხეულების ოპტიმალური განზავებების შერჩევა

პრეპარატების ინკუბაცია პირველადი ანტისხეულით (anti-GAD65/67) - არასპეციფიკური ბმების ბლოკირების მიზნით პრეპარატებზე დავიტანეთ 300 მკლ თხის ნორმალური შრავი (Sigma-Aldrich, G9023) და დავაყოვნეთ 37°C ტემპერატურაზე 30 წუთის განმავლობაში. შემდგომ პრეპარატებზე დავიტანეთ 300 მკლ პირველადი ანტისხეულის (anti-GAD65/67) ხსნარი, სამი სხვადასხვა განზავებით 1:500, 1:1000 და 1:1500 თანაფარდობით, ინკუბაცია გავაკეთეთ 24 საათის განმავლობაში +4°C ტემპერატურაზე.

პრეპარატების დამუშავება მეორადი ანტისხეულით (anti-Rabbit IgG) - პირველადი ანტისხეულის ინკუბაციის დასრულების შემდეგ პრეპარატები გავრეცხეთ PBS-ის ხსნარით და ოპტიმალური შედეგის პირობების დასადგენად დავიტანეთ მეორადი ანტისხეულის (anti-Rabbit IgG) სამი სხვადასხვა განზავების ხსნარი (1:400, 1:800 და 1:1600). ინკუბაცია მიმდინარეობდა ოთახის ტემპერატურაზე 2 საათის განმავლობაში.

პრეპარატების დამუშავება ექსტრავიდინ-პეროქსიდაზით - PBS-ის ხსნარით წინასწარ გარეცხილ პრეპარატებზე განთავსებულ თითოეულ ანათალს დავუმატეთ ექსტრავიდინ-პეროქსიდაზას (Sigma Aldrich, E2886) ხსნარი (10 მგ/მლ) და დავაყოვნეთ ოთახის ტემპერატურაზე 30 წუთის განმავლობაში.

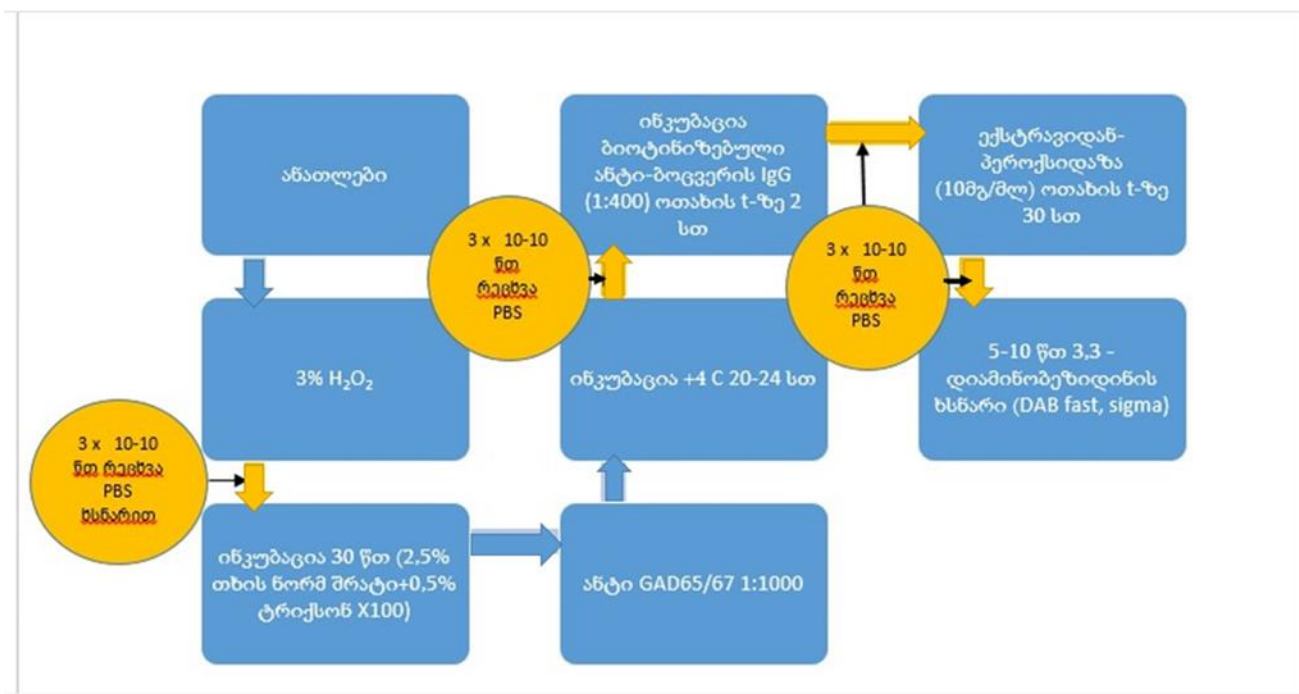
პეროქსიდაზული აქტივობის ვიზუალიზაცია - PBS-ის ხსნარით გარეცხვის შემდეგ პრეპარატები მოვათავსეთ 3,3'-დიამინობენზიდინის (DAB) ხსნარში (Sigma-Aldrich, D4418) 5–10 წუთის განმავლობაში, ყავისფერი შეფერილობის წარმოქმნამდე.

ბირთვების კონტრასტირება და პრეპარატების საბოლოო დამუშავება - თავის ტვინის ქსოვილის უჯრედებში ბირთვების სტრუქტურის გამოვლენის მიზნით გამოვიყენეთ

მაიერის ჰემატოქსილენის ხსნარი. შემდგომ გავაკეთეთ დეჰიდრატაცია სპირტების აღმავალი რიგის გამოყენებით, პრეპარატები ორჯერ დავამუშავეთ ქსილოლის ხსნარში და საბოლოოდ ანათლები დავფარეთ საფარი მინებით.

შეღებვის შეფასება - შეღებვის ინტენსიურობა შევაფასეთ სინათლის მიკროსკოპის გამოყენებით.

ამრიგად, ექსპერიმენტების I სერიაში გავაანალიზეთ პირველადი ანტისხეულის სამი სხვადასხვა განზავება, მეორადი ანტისხეულის სამი სხვადასხვა განზავება და ექსტრავიდინ-პეროქსიდაზას ერთი კონცენტრაცია (10 მგ/მლ) (ცხრილი 4). იმუნოჰისტოქიმიური ღებვის პროტოკოლი სქემატურად წარმოდგენილია სურ-8-ზე.



სურ.8 ანტი-GAD65/67 იმუნოჰისტოქიმიური ღებვის პროტოკოლის გრაფიკული სქემა

მომზადებული პრეპარატების სინათლის მიკროსკოპით (გადიდება 20×5) დათვალიერებისა და ციფრული კამერის (Olympus C4040) გამოყენებით მიღებული მიკროფოტოების შეფასების საფუძველზე დადგინდა, რომ თერმულად

დამუშავებული პრეპარატების შემთხვევაში მიიღება უფრო მკაფიო და მაღალი ხარისხის იმუნოჰისტოქიმიური გამოსახულება. შესაბამისად შემდგომი მორფოლოგიური კვლევები გაგრძელდა თერმულად დამუშავებულ პრეპარატებზე, ანტისხეულების განზავების მე-2 ვარიანტის გამოყენებით (ცხრილი 4); კერძოდ, პირველადი ანტისხეული (ანტი-GAD65/67) 1:1000 და მეორადი ანტისხეული anti-Rabbit IgG) 1:400.

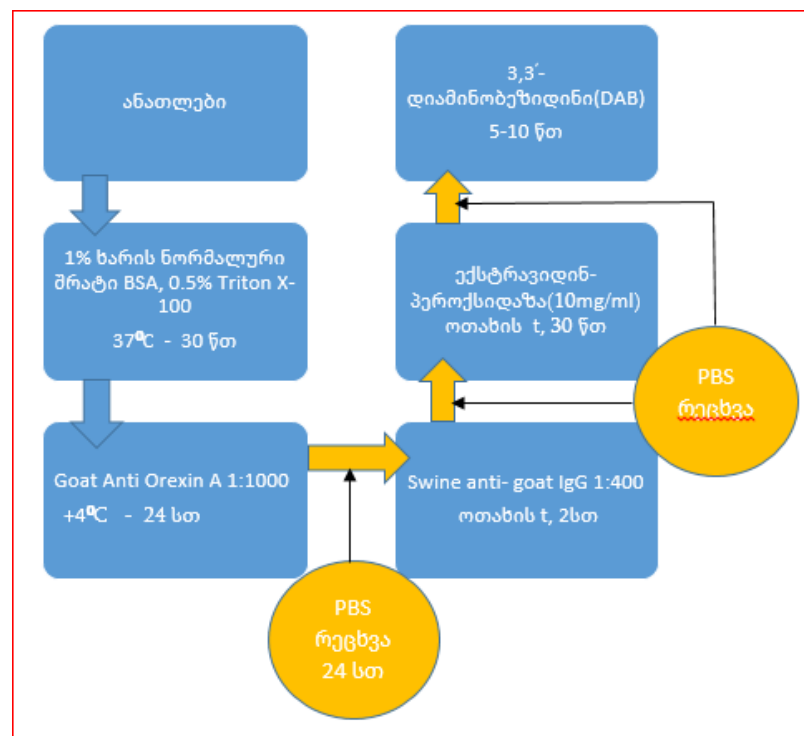
ჰიპოკამპში GAD-პოზიტიური უჯრედების რაოდენობრივი შეფასების მიზნით უჯრედების რაოდენობა დავითვალეთ თითოეული ცხოველიდან აღებულ 3 ჰისტოლოგიურ ანათალზე (კონტროლი $n = 7$; კმ-ეს $n = 12$). ჰიპოკამპის თითოეულ ველში (CA1, CA3, DG) უჯრედები დავითვალეთ მხედველობის 5 ველში (მხედველობის ველი - $156 \mu\text{m}^2$; $12.5 \times 12.5 \mu\text{m}$), ვითვლიდით GAD-პოზიტიური ნეირონების პროცენტულ წილს ნეირონების საერთო რაოდენობასთან მიმართებაში.

ვირთაგვების ჰიპოთალამუსის შეღებვა ანტი-ორექსინ A ანტისხეულებით

ჰიპოთალამუსში მორფოლოგიური ცვლილებების შესაფასებლად პრეპარატების დასამზადებლად გამოვიყენეთ პოლილიზინით დაფარული მინები. ორექსინერგული ნეირონების რაოდენობრივი შეფასების მიზნით მიღებული პრეპარატები დავამუშავეთ პირველადი ანტი-ორექსინ A და მეორადი ანტისხეულებით (ღორის წარმოშობის მეორეული ანტისხეული თხის IgG-ის წინააღმდეგ Swine anti-goat IgG).

ენდოგენური პეროქსიდაზას 3%-იანი წყალბადის ზეჟანგით ბლოკირების შემდეგ პრეპარატების წინასწარი ინკუბაცია მოხდა 2% BSA-ის ხსნარში (Sigma A9647) (2% ძროხის შრატის ალბუმინი (BSA) + 2.5% ნორმალური თხის შრატი (Sigma-Aldrich G9023) + 0.5% Triton X-100 (Sigma-Aldrich T9284)) 37°C ტემპერატურაზე, 30 წუთის განმავლობაში. შემდეგ პრეპარატებზე დავიტანეთ 300 მკლ პირველადი ანტისხეულის (Goat, anti orexin A, Santa Crus biotecnology) ხსნარი განზავებული

1:1000. დავაყოვნეთ 24 სთ-ის განმავლობაში $+4^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურაზე (მაცივარში). პრეპარატები გავრეცხეთ 24 სთ-ის განმავლობაში PBS - ის ხსნარით. ოპტიმალური შედეგის მისაღწევად დავიტანეთ მეორადი ანტისხეულის ხსნარი (Swine anti-goat IgG Santa Crus biotechnology) 1:400, დავაყოვნეთ ოთახის ტემპერატურაზე 2 სთ-ის განმავლობაში. ფოსფატბუფერული ფიზიოლოგიური ხსნარით (PBS) წინასწარ გარეცხილ პრეპარატებზე დავიტეთ ექსტრავიდინ-პეროქსიდაზას ხსნარი (10მგ/მლ) და 30 წუთი დავაყოვნეთ ოთახის ტემპერატურაზე. PBS - ის ხსნარით გარეცხვის შემდეგ, პრეპარატები 5-10 წუთით მოვათავსეთ 3,3-დიამინობენზიდინის ხსნარში (DAB-fast, sigma) ყავისფერი შეფერილობის მიღებამდე. უჯრედებში ბირთვის სტრუქტურის გამოვლენის მიზნით გამოვიყენეთ მაიერის ჰემატოქსილენის ხსნარი. შედეგის ინტენსიურობა შეფასდა სინათლის მიკროსკოპით. ჰიპოთალამუსის იმუნიჰისტოქიმიური ღებვის ეტაპები წარმოდგენილია გრაფიკული სქემის სახით მე-9 სურათზე.



სურ. 9 ანტი-ორექსინ A იმუნიჰისტოქიმიური ღებვის პროტოკოლის გრაფიკული სქემა

ორექსინ-პოზიტიური ნეირონების რაოდენობრივი შეფასება განხორციელდა როგორც მარჯვენა ისე მარცხენა ლატერალურ ჰიპოთალამუსში (LH), თითოეული ცხოველიდან მიღებულ 3 თანმიმდევრულ ანათალზე (თანმიმდევრულ ანათალებს შორის მანძილი იყო 20–30 μm). თითოეულ ანათალში შეღებილი უჯრედები ითვლებოდა 450 $\times$ გადიდების პირობებში, მხედველობის ხუთ არეში (მხედველობის არე - 156 μm^2 ; 12.5 $\times$ 12.5 μm). მიკროფოტოები გადავიღეთ ციფრული კამერის გამოყენებით (Olympus C4040).

გ. ელექტროფიზიოლოგიური ექსპერიმენტები

In vivo ელექტროფიზიოლოგიური ექსპერიმენტები

ჰიპოკამპის ველების ელექტრული მახასიათებლებზე ეგზოგენური ორექსინების ეფექტების შეფასების მიზნით ჩავატარეთ *In Vivo* ელექტროფიზიოლოგიური კვლევა.

ელექტროფიზიოლოგიური კვლევის დაწყების წინ ზოგადი ანესთეზიის მიზნით ვირთაგვებს ინტრაპერიტონიულად უკეთდებოდათ კალიფსოლის ნარკოზი - 300 მკლ (500მგ კეტამინი-გლუტამატური NMDA-რეცეპტორების არაკონკურენტული ანტაგონისტი, გახსნილი 10მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში), ხოლო ადგილობრივი ანესთეზიისთვის, ჭრილობის ადგილებზე გამოყენებული იყო ნოვოკაინი. ანესთეზიის შესაბამის დონეს ვამოწმებდით ვირთაგვას კუდზე მტკივნეულ გაღიზიანებაზე პასუხით. ქალაქის ქსელის 50ჰც სიხშირის დენების ეფექტების თავიდან აცილების მიზნით ექსპერიმენტები მიმდინარეობდა ეკრანირებული კამერის მქონე სეტაპზე.

სტერეოტაქსული აპარატის საშუალებით ანესთეზირებული ცხოველის თავის ფიქსაცია ხდებოდა ყურის, ცხვირის და ზედა 2 კბილის ფიქსატორებით. კიდურების უნებლიე მოძრაობების შესამცირებლად ვახდენდით მათ ფიქსაციას თასმებით.

ქალას დორზალურ ზედაპირს ვანთავისუფლებდით ქსოვილებისგან და ქალას ძვლებზე ნაკერების უკეთ ვიზუალიზაციისათვის ვწმენდით წყალბადის ზეჟანგით. თავს ვასწობდით ისე, რომ ბრეგმა (წინა ჯვარედინი) და ლამბდა (უკანა ჯვარედინი) ერთსა და იმავე სიმაღლეზე ყოფილიყო წარმოდგენილი. წინასწარ 3 სიბრტყეში სწორდებოდა ჩასანერგი ელექტროდები. წინასწარ განსაზღვრული კოორდინატების მიხედვით ხდებოდა თავის ქალაზე ტრეპანაციის ლოკუსის მონიშვნა. ქალას ძვლის გასაბურღად ვიყენებდით პორტატულ ბორმანქანას. ელექტროდების ჩანერგვა ხორციელდებოდა მიკრომანიპულატორებით მანუალურად.

ნეირონული აქტივობის ბიპოლარული სტიმულაციისა და უნიპოლარული რეგისტრაციისთვის, ტრიპოლარული კონსტანტანის ელექტროდები სტერეოტაქსულად ჩავნერგეთ ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველების პირამიდული უჯრედების შრეში. სტერეოტაქსული კოორდინატები განისაზღვრა Paxinos-ისა და Watson-ის ატლასის მიხედვით: 1) CA1 - AP-3.8, L-2.8, H-2.8მმ; 2) CA3- AP-3.8; L-4.1, H-3.7მმ (The rat brain in stereotaxic coordinates. G. Paxinos and Ch. Watson, 1982). ელექტროფიზიოლოგიური ექსპერიმენტების სერიაში ინტრაჰიპოკამპული მაღალსიხშიროვანი სტიმულაციით გამოწვეული ეპილეფტიფორმული აქტივობის გენერაციისა და რეგისტრაციისთვის მეტალის ელექტროდები ბილატერალურად ინერგებოდა ჰიპოკამპის მარჯვენა და მარცხენა CA1 ველებში, შესაბამისი კოორდინატების მიხედვით: მარჯვენა AP -4,3 მმ; L 3,4 მმ; H 2,8 მმ; მარცხენა AP -3,8 მმ; L 2,8 მმ; H 2,8 მმ

ჩანერგილი ელექტროდების ფიქსაცია ქალას ძვალზე ხდებოდა კბილის ცემენტის გამოყენებით (სურ. 10)



სურ. 10 სურათზე ნაჩვენებია ელექტროფიზიოლოგიურ ექსპერიმენტში გამოყენებული ვირთაგვას თავის პოზიცია, დაფიქსირებული სტერეოტაქსული აპარატით და კოორდინატების მიხედვით ჩანერგილი ელექტროდები.

ცხოველის დამიწებისა და ნეირონული აქტივობის უნიპოლარული რეგისტრაციისთვის გამოვიყენეთ ინდიფერენტული ვერცხლის ელექტროდი, რომელიც დამაგრებული იყო ქალას ძვალზე, კეფის მიდამოში.

ცდის ხანგრძლივობიდან გამომდინარე, ზოგადი ანესთეზიის სათანადო დონის შესანარჩუნებლად საჭიროებისამებრ ვახდენდით ნარკოზის დამატებით კუნთშიდა ინექციებს.

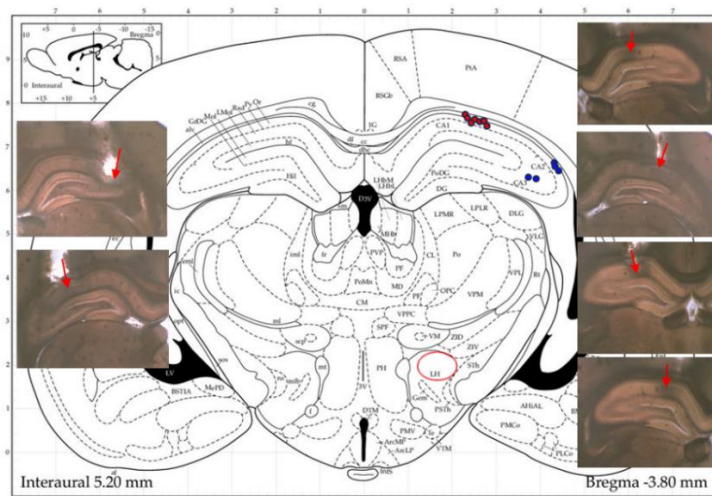
გალიზიანება

სტერეოტაქსულად ჩანერგილი ელექტროდების საშუალებით ოპერაციის დასრულებიდან 1სთ-ის შემდეგ ვიწყებდით ჰიპოკამპის ველებიდან როგორც ფონური აქტივობის, ისე ინტრაჰიპოკამპური ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეული პასუხების ჩაწერას. გალიზიანება ხდებოდა უნილატერალურად, სწორკუთხა იმპულსებით; ბიპოლარული სტიმულაციის პარამეტრები ვარიირებდა: ინტენსივობა საშუალოდ 5-10 ვ, იმპულსების ხანგრძლივობა 0.2-0.3 მსეკ. წყვილადი სტიმულაციისათვის იმპულსებს შორის ინტერვალი იყო 30 მსეკ. ჰიპოკამპის CA1 ველის მაღალსიხშიროვანი სტიმულაციისთვის გალიზიანება ხდებოდა სწორკუთხა იმპულსების ჯერით 1500-2000 იმპულსი, იმპულსის ხანგრძლივობა 0,2-0.6 მსეკ,

ინტენსივობა ვარირებად 4- 8 ვ-მდე. ვაღიზიანებდით 15-20 წთ-იანი ინტერვალებით. ეპილეფტიფორმული განმუხტვების ხანგრძლივობა ფასდებოდა გაღიზიანების არტეფაქტიდან განმუხტვების დასრულებამდე. განმუხტვების ამპლიტუდა და სიხშირე ითვლებოდა განმუხტვების 2 მონაკვეთზე: ბოლო 10 წმ. და 10 წმ-იანი ინტერვალთა წინ კიდევ ერთ 10 წმ-იან მონაკვეთზე.

ჰიპოკამპის ველებში ნეირონულ აქტივობაზე ორექსინების (A და B) (Sigma Aldrich 06012/06262) ეფექტების შესაფასებლად, ორექსინი დოზით 10 მკგ, გახსნილი 10 მკლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში, (საკონტროლო ცდებში - იგივე მოცულობის ფიზიოლოგიური ხსნარი) ქემიტროდის მეშვეობით შეგვყავდა ლატერალურ პარაკუჭში სტერეოტაქსული კოორდინატების მიხედვით: AP – 0.3 მმ; L 1.2 მმ; H 3.5 მმ. შეყვანის სიჩქარე იყო 0,5 მკლ/წთ, აღნიშნული შეყვანის რეჟიმი უზრუნველყოფდა პრეპარატის ნელ მიწოდებას, ოპტიმალურ დიფუზიას და არ იწვევდა ინტრაკრანიალური წნევის სწრაფ ცვლილებას. ორექსინების ქერქული აპლიკაციისთვის ქალაზე, შუბლის წილის პროექციაზე ვბურღავდით ხვრელს და ინერგებოდა კანულა.

ყოველი ექსპერიმენტის დასრულების შემდეგ, იმპლანტირებული ელექტროდების ლოკალიზაციის შეფასების მიზნით, მიმდებარე ტვინის ქსოვილის კოაგულაციას ვახდენდით მაღალი ინტენსივობის ელექტრული დენის გატარებით. ამის შემდგომ ტვინს ვიღებდით, ვაფიქსირებდით 5%-იან ფორმალინის ხსნარში და ვამზადებდით 20 მკმ სისქის ანათლებს. კოაგულირებული უბნების ლოკალიზაციას ჰიპოკამპის ველებში ვახდენდით ტვინის ანათლების მიკროსკოპული დათვალიერებით (სურ. 11).



სურ. 11 ვირთაგვის თავის ტვინის კორონალური ჭრილის სქემატური გამოსახულება და ექსპერიმენტული ცხოველების თავის ტვინის ანატომიის (20 მკმ) წ მიკროფოტოები, რომლებიც ასახავს ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში იმპლანტირებული ელექტროდების ლოკალიზაციას. CA1 ველში ელექტროდების მდებარეობა აღნიშნულია წითელი წერტილებით (შესაბამისი მიკროფოტოები წარმოდგენილია მარჯვენა სვეტში), ხოლო CA3 ველში - ლურჯი წერტილებით (შესაბამისი მიკროფოტოები წარმოდგენილია მარცხენა სვეტში). ლატერალურ ჰიპოთალამუსში (LH) ორექსინ-დადებითი ნეირონების იმუნოჰისტოქიმიური შედეგის არეალი მონიშნულია წითელი წრით. სტერეოტაქსული კოორდინატები განსაზღვრულია Paxinos-ისა და Watson-ის ატლასის მიხედვით. ატლასის წყარო: Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Elsevier, 2006.

In Vivo ელექტროფიზიოლოგიურ ექსპერიმენტებში მონაცემთა რეგისტრაციის მეთოდები

ჩანერგილი ელექტროდების გაღიზიანებას ვახდენდით სტიმულატორით Master 8. მიღებული ბიოელექტრული სიგნალები ამპლიფაიერის გამოყენებით (INTRACELLULAR PRE, S/N:010711, USA) გაძლიერდა 10-ჯერ და გაიფილტრა 1 კჰც სიხშირეზე. შემდგომ სიგნალები გადაეცა ანალოგურ-ციფრულ გარდამქმნელს (ADInstruments ML866 PowerLab 4/30, ავსტრალია), სადაც მოხდა მათი ციფრული რეგისტრაცია 1 კჰც სემპლირების სიხშირით. მონაცემთა ანალიზი შესრულდა

პროგრამული უზრუნველყოფის Chart 5.5 გამოყენებით, spike histogram-ის გაფართოების ჩართვით, რაც შესაძლებელს ხდიდა როგორც ცალკეული პოტენციალების, ასევე მათი დინამიკის რაოდენობრივ შეფასებას.

3.2.2. *In vitro* ექსპერიმენტები

In Vitro ელექტროფიზიოლოგიური ექსპერიმენტების ჩატარდა 8–10 კვირის ვირთაგვების ჰიპოკამპის ანათლებზე ($n = 36$). ცხოველების დეკაპიტაციისა და თავის ტვინის ამოღების შემდეგ ვიბროსლაისერით ცივ კრებს-რინგერის ხსნარში (0°C) მომზადდა ჰიპოკამპის 400–500 მკმ სისქის ჰორიზანტალური ანათლები. ოთახის ტემპერატურაზე კრებს-რინგერის ხსნარში 1-2 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ ანათლები გადაგვქონდა გამდინარე კამერაში, სადაც ისინი ფიქსირდებოდა ნეილონის ბადეზე შემდგომი რეგისტრაციისთვის. მოზადებისა და რეგისტრაციის პროცესში ანათლებს განუწყვეტლივ მიეწოდებოდათ კარბოგენი ($95\% \text{O}_2 / 5\% \text{CO}_2$).

ექსპერიმენტის მსვლელობისას ჩამწერ კამერაში უწყვეტად ცირკულირებდა ხელოვნური ცერებროსპინალური სითხე 2–3 მლ/წთ სიჩქარით, რაც უზრუნველყოფდა ყოველ 2-3 წთ-ში კამერაში ხსნარის სრულად შეცვლას. საპერფუზიო სითხე შეიცავდა შემდეგ კომპონენტებს (მილი მოლებში): $\text{NaCl} - 120$, $\text{NaHCO}_3 - 25$, გლუკოზა – 25, $\text{KCl} - 2.5$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - 1.25$, $\text{CaCl}_2 - 2$ და $\text{MgCl}_2 - 1.5$; $\text{pH} - 7.3$. ხსნარი მუდმივად თბებოდა $32-33^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურაზე. ანათლების ვარგისიანობა მოწმდებოდა როგორც მიკროსკოპის ქვეშ, ასევე მისი ელექტროფიზიოლოგიური მახასიათებლებით. მიკროსკოპული შესწავლისას გაირჩეოდა გასწვრივი მუქი ზოლი - პირამიდული უჯრედების შრე. ანათლების ელექტროფიზიოლოგიური მახასიათებლების შეფასებისას ვაკვიდებოდით ორთოდრომული პასუხების რეაქტიულობას, ანუ ველის პოტენციალის ამპლიტუდის გამდიზიანებელ ძალაზე დამოკიდებულების მრუდს. კარგად ადაპტირებულ ანათლებში სტიმულაციის

პარამეტრების გაზრდა, იწვევდა გამოწვეული პასუხების ამპლიტუდის ზრდას. ერთხელობრივ სატესტო გაღიზიანებაზე სინაფსური პასუხების სტაბილიზაციის შემდეგ ვიწყებდით ფონური აქტივობის ჩაწერას. ანათლებს, რომელთა გამოწვეულ პასუხებს არ ჰქონდა სტაბილური ფონი, აღარ ვიყენებდით შემდგომ ექსპერიმენტებში.

ველის ამაგზნებელი პოსტსინაფსური პოტენციალების (ვაპსპ), იზოლირებული NMDA პასუხებისა და პოპულაციური სპაიკების უჯრედგარე რეგისტრაციისათვის გამოვიყენეთ საპერფუზიო სითხით შევსებული მინის სარეგისტრაციო ელექტროდი (5–10 MΩ). გაღიზიანებით გამოწვეული აპსპ რეგისტრაციისთვის გამოყვანილ ელექტროდები მოთავსებული იყო ჰიპოკამპის CA1 ველის რადიალურ შრეში აპიკალური დენდრიტების დონეზე, ხოლო პოპ-სპაიკების რეგისტრაციისთვის მინის ელექტროდი თავსდება პირამიდული უჯრედების შრეში. შაფერის კოლატერალების სტიმულაციისათვის გამოვიყენეთ ბიპოლარული Ni/Cr გამღიზიანებელი ელექტროდი, რომელიც მოთავსებული იყო CA1 და CA3 ველებს შორის რადიალურ შრეში.

გამღიზიანებელი დენის ინტენსივობა შერჩეული იყო ისე, რომ გამოეწვია ველის პოტენციალები ან პოპულაციური სპაიკები მაქსიმალური ამპლიტუდის 70%-ით, ხოლო იზოლირებული NMDA პასუხები - მაქსიმალური პასუხის 50% ამპლიტუდით. სტიმულაცია ხორციელდებოდა ყოველ 20 წამში (0.5–1.5 mA, იმპულსის ხანგრძლივობა – 80 μs). ყოველ 5 წუთში მონაცემთა ერთი წერტილის გენერირების მიზნით 15 პასუხი ავტომატურად საშუალოვდებოდა.

ნეირონული აქტივობის სტაბილიზაციის შემდეგ ჰიპოკამპური უჯრედების ფონურ აქტივობას ვიწერდით 15–20 წუთის განმავლობაში, რის შემდეგაც ვახდენდით შესაბამისი ნივთიერების აპლიკაციას.

ორექსინ A-ს (100 nM; Bachem) ეფექტები შეფასდა ეპილეფსიის ბიკუკულინ-მეთიოდიდის მოდელზე (20–40 μM; Sigma B103-250MG), რომელიც წარმოადგენს გაემ_A რეცეპტორების ანტაგონისტს. ფასდებოდა ველის ამაგზნებელი

პოსტინაფსური პოტენციალების/NMDA პასუხების საწყისი დახრილობის ზრდის სიჩქარის (SLOPE) ცვლილების დინამიკა (მვ/მწმ), ასევე მრავლობითი პოპულაციური სპაიკების ამპლიტუდა და ხანგრძლივობა. გავანალიზეთ I და II პოპულაციური სპაიკების ამპლიტუდის ცვლილებები და მრავლობითი განმუხტვების საერთო ხანგრძლივობა (I პოპულაციური სპაიკიდან ბოლო სპაიკამდე პერიოდი).

იზოლირებული NMDA პასუხები შეფასდა Mg^{2+} -ისაგან თავისუფალ არეში, AMPA პასუხების ბლოკირებისთვის საპერფუზიო ხსნარი დამატებით შეიცავდა 6-ციანო-7-ნიტროქუინოქსალინ-2,3-დიონს (CNQX, 5 μM ; Research Biochemicals Incorporated, USA). NMDA რეცეპტორების როლის განსაზღვრისთვის გამოვიყენეთ ამ უკანასკნელის სელექტიური ანტაგონისტი - APV (50 μM).

CA3 ველის ნეირონების სპონტანური აქტივობის გასაზრდელად საპერფუზიო ხსნარიდან ამოვიღეთ Mg^{2+} , ხოლო K^{+} -ის კონცენტრაცია გავზარდეთ 5 მმოლ-მდე. CA3 ველის ნეირონების ზალპურ აქტივობაზე ორექსინის ეფექტები შევადარეთ ენდოგენური მოდულატორის - ჰისტამინის (10–30 μM) ეფექტებს.

CA1 ველში ორექსინ-A-ს აპლიკაციით გამოწვეულ პლასტიკურ ცვლილებებზე CA3 ველის ნეირონების წვლილის შესაფასებლად *in vitro* ექსპერიმენტების ნაწილი ჩატარდა მინიანათლებზე, სადაც CA3 ველი წინასწარ იყო მოცილებული.

In vitro ექსპერიმენტებში გამოყენებული ყველა ნივთიერების ანათლებზე მიწოდება ხდებოდა საპერფუზიო ხსნარის საშუალებით.

3.3. ექსპერიმენტებში გამოყენებული ფარმაკოლოგიური ნივთიერებები

In Vivo, In Vitro და მორფოლოგიურ კვლევაში გამოვიყენეთ შემდეგი ფარმაკოლოგიური ნივთიერებები:

In Vitro

- N-მეთილ-D-ასპარტატის რეცეპტორების სპეციფიკური ანტაგონისტი DL-2-amino-5-phosphonovaleric acid (APV. Sigma)
- AMPA რეცეპტორების ანტაგონისტი - 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX,
- ბიკუკულინის მეთიოდინი გაემ -A ანტაგონისტი (Sigma)
- ხელოვნურ ცერებროსპინალურ სითხეში შემავალი კომპონენტები (მილი მოლებში): NaCl – 120, NaHCO₃ – 25, გლუკოზა – 25, KCl – 2.5, NaH₂PO₄ – 1.25, CaCl₂ – 2 და MgCl₂ – 1.5;
- ნორეპინეფრინი (Arterenol, Sigma)
- კლონიდინის ჰიდროქლორიდი - α₂ ადრენერგული რეცეპტორის აგონისტი (Tocris)

In Vivo

- კაინის მჟავა - გლუტამატერგული რეცეპტორების აგონისტი;
- კალიფსოლი - გლუტამატური NMDA-რეცეპტორების ანტაგონისტი (კეტამინი, Gedeon Richter);
- ორექსინები (A და B) (Sigma Aldrich 06012/06262);

მორფოლოგიური კვლევისთვის:

- ანტისხეულები ფერმენტ გლუტამატ დეკარბოქსილაზას (GAD) წინააღმდეგ Anti-GAD-65/67 (Sigma Aldrich G5163)

- ძროხის შრატის ალბუმინი -BSA (Sigma A9647)
- თხის ნორმალური შრატი -(Sigma Aldrich G9023)
- Triton X-100 (Sigma Aldrich T9284)
- მეორადი ანტისხეული anti-Rabbit IgG solution (sigma B8895)
- ექსტრავიდინ-პეროქსიდაზა (sigma E2886,)
- 3,3'-დიამინობენზიდიინი(DAB) (SIGMAFAST™ DAB (D4418)
- პირველადი ანტისხეული Goat anti orexin A (Santa Crus biotechnology)
- მეორადი ანტისხეული Swine anti goat IgG (Santa Crus biotechnology)
- მეიერის ჰემატოქსილინი

3.4 მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება

ექსპერიმენტით მიღებული მონაცემების სტატისტიკური დამუშავებისთვის გამოვიყენეთ პროგრამა- GraphPad Prism. შედეგები წარმოდგენილია საშუალო მნიშვნელობებისა და საშუალოს სტანდარტული ცდომილების (Mean $\pm$ SEM) სახით. ექსპერიმენტულ და საკონტროლო ჯგუფებს შორის სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავებების დასადგენად გამოყენებული იყო unpaired Student t-ტესტი, ხოლო მრავალჯგუფიანი შედარებების შემთხვევაში - ერთფაქტორული დისპერსიული ანალიზი (one-way ANOVA), შემდგომი Šídák-ის პოსტჰოკ ტესტით, და ორფაქტორიანი დისპერსიული ანალიზი (two-way ANOVA) არაკორექტირებული Fisher-ის LSD ტესტით. სტატისტიკურად სარწმუნოდ მიიჩნეოდა განსხვავება, როდესაც $P < 0.05$ იყო.

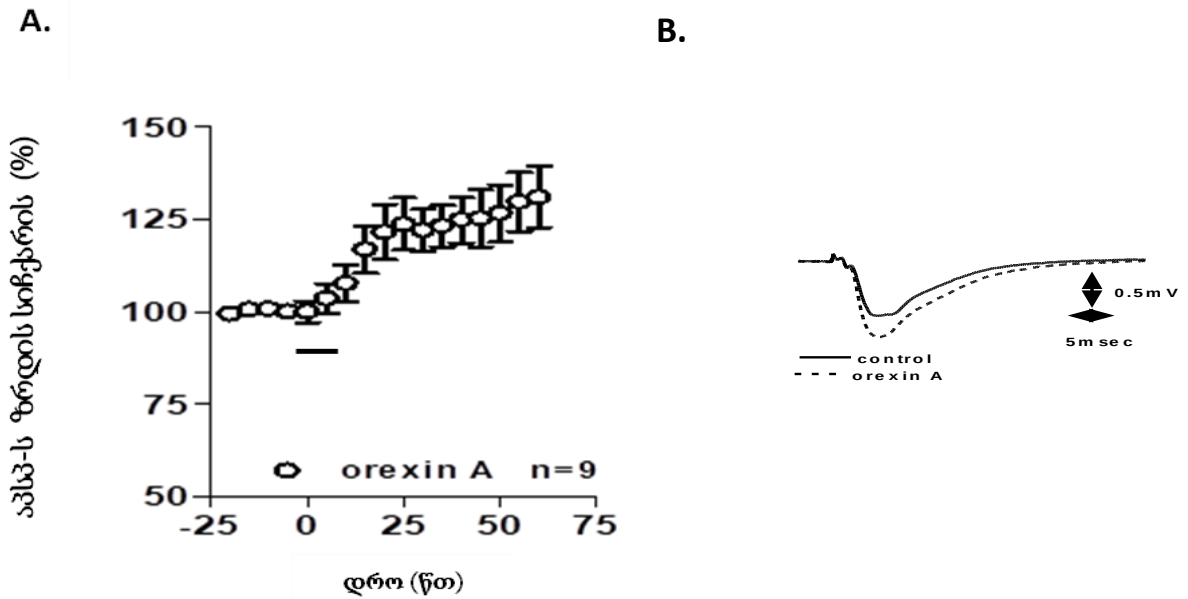
თავი IV

მიღებული შედეგები და მათი ანალიზი

4.1 *In vitro* ელექტროფიზიოლოგიური ექსპერიმენტების შედეგები

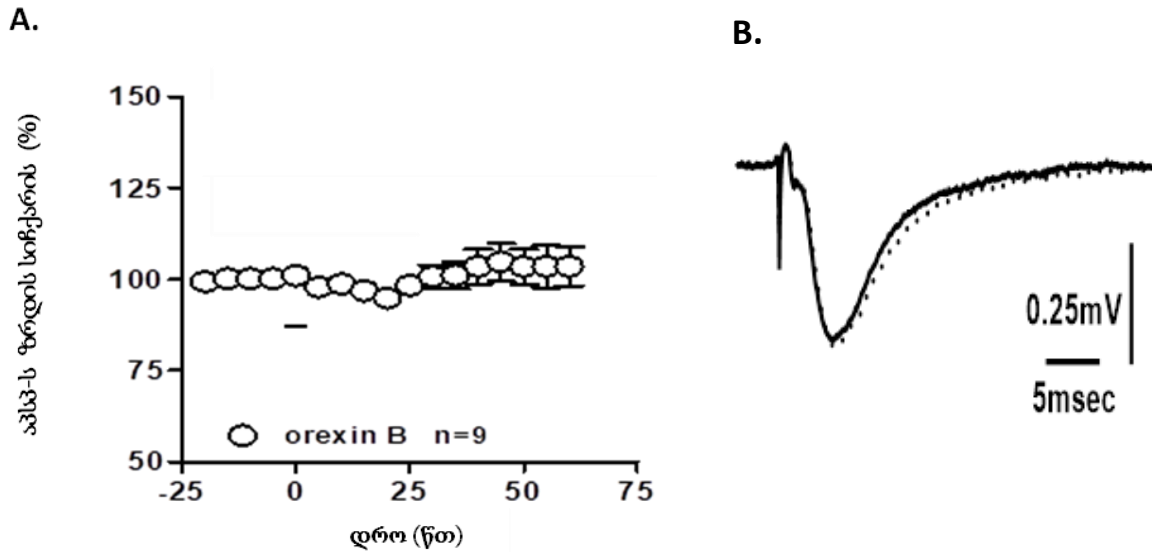
ორექსინების ეფექტები აპსპ-ზე

ექსპერიმენტის საწყის ეტაპზე საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვების ჰიპოკამპის CA1 ველში ორექსინ-A-ს (100 ნმ) ეფექტები შევაფასეთ ამაგზნებელ პოსტინაფსურ პოტენციალებზე (აპსპ). რეგისტრაციის დაწყებიდან პასუხების სტაბილიზაციის შემდეგ, 20 წუთის განმავლობაში ვიწერდით ფონურ აქტივობას, რის შემდეგაც საპერფუზიო სითხეში 10 წუთის განმავლობაში შეგვყავდა ორექსინ-A (100 ნმ). აპლიკაციამ გამოიწვია ველის პოტენციალის ნელა განვითარებადი პოტენციაცია და ამ ეფექტის შეფასება მიმდინარეობდა მომდევნო 90 წუთის განმავლობაში. თითოეულ ექსპერიმენტში ფასდებოდა გამოწვეული პასუხების პროცენტული ცვლილებები აპლიკაციამდე მონაცემთან მიმართებაში. როგორც შედეგების ანალიზიდან ჩანს, ორექსინ-A ჰიპოკამპში იწვევს აპსპ-ს საწყისი დახრილობის ზრდის სიჩქარის პროცენტული მაჩვენებლის სტატისტიკურად სარწმუნო მომატებას, აპლიკაციამდე არსებულ მონაცემებთან მიმართებაში (100 ± 2.89 % აპლიკაციამდე, 131 ± 8.37 % აპლიკაციიდან 60 წუთის შემდეგ) (სურ 12).



სურ.12. საკონტროლო ანათლების ჰიპოკამპის CA1 ველში ორექსინ- A-ს ეფექტი ველის აპსპ-ზე. (A) გრაფიკზე მოცემულია სუმატული მრუდი + SEM, რომელიც გამოხატავს CA1 ნეირონების აქტივობის ორექსინის A-ს აპლიკაციით განპირობებულ ველის პოტენციალების ფონთან მიმართებაში პროცენტულ ცვლილებას. (B) აპსპ-ის ორიგინალური ჩანაწერები ორექსინ- A-ს აპლიკაციამდე (სწორი ხაზი) და აპლიკაციის შემდეგ (წყვეტილი ხაზი).

ცნობილია, რომ ორექსინ-A თანაბრად უკავშირდება პირველი (OX1R) და მეორე ტიპის (OX2R) ორექსინერგულ რეცეპტორებს, მაშინ როდესაც ორექსინ-B შერჩევითად ააქტიურებს მხოლოდ მეორე ტიპის რეცეპტორებს; იმის გასარკვევად, ორექსინი -A- ს ეფექტი რომელი ტიპის ორექსინერგული რეცეპტორის აქტივაციით არის განპირობებული კვლევის შემდგომ ეტაპზე გამოვიყენეთ ორექსინ-B (100 ნმ, 10 წთ). ორექსინ-A-ისგან განსხვავებით, ორექსინ-B- არ იწვევს ველის აპსპ ხანგრძლივ პოტენციაციას ($100.8 \pm 1.66\%$ აპლიკაციამდე, $103.4 \pm 5.39\%$ აპლიკაციიდან 60 წთ-ის შემდეგ) (სურ. 13). აღნიშნული შედეგები მიუთითებს, რომ ორექსინ-A-ით გამოწვეული ხანგრძლივი პლასტიური ცვლილებები განპირობებული უნდა იყოს OX1 რეცეპტორების გააქტიურებით, შესაბამისად ცდები გაგრძელდა ორექსინ A-ს გამოყენებით.



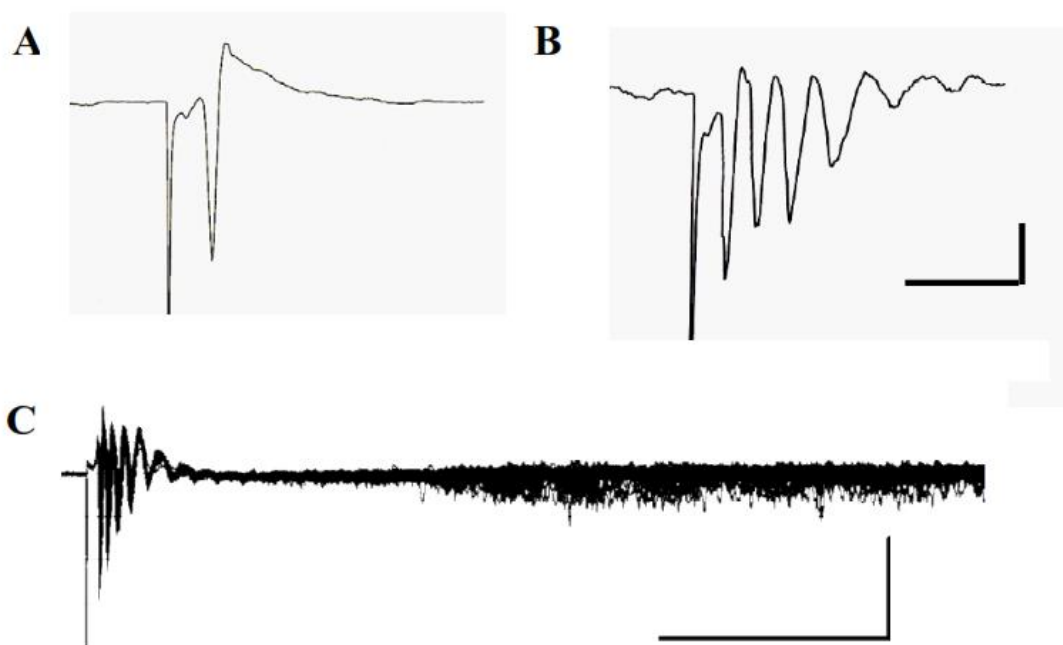
სურ.13 საკონტროლო ანათლების ჰიპოკამპის CA1 ველში ორექსინ- B-ს ეფექტი ველის აპსპ-ზე. (A) გრაფიკზე მოცემულია სუმატული მრუდი + SEM, რომელიც გამოხატავს CA1 ნეირონების აქტივობის ორექსინის B-ს აპლიკაციით განპირობებულ ველის პოტენციალების ფონთან მიმართებაში პროცენტულ ცვლილებას. (B) აპსპ-ის ორიგინალური ჩანაწერები ორექსინ- B-ს აპლიკაციამდე (სწორი ხაზი) და აპლიკაციის შემდეგ (წყვეტილი ხაზი).

ბიკუკულინის ეპილეფსიის მოდელში ორექსინ-A-ს ეფექტები CA1 ველ-ის პოპ-სპაიკებზე

ჰიპოკამპის ეპილეფტიფორმულ აქტივობაზე ორექსინ-A-ს ეფექტების შეფასების მიზნით გამოვიყენეთ *In vitro* ბიკუკულინის ეპილეფსიის მოდელი. ბიკუკულინის მეთოდით (გაემ-ანტაგონისტი) 20-40 μ M კონცენტრაციით შეგვყავდა საპერფუზიო ხსნარში. CA-1 ველის პირამიდული შრიდან აღვრიცხავდით შაფერის კოლატერალების გაღიზიანების საპასუხოდ გამოწვეულ პოპ-სპაიკებს. სინაფსური პასუხების ამპლიტუდა ასეთი ზემოქმედების საპასუხოდ გაიზარდა და პოპ-სპაიკის

დადმავალ მუხლზე გაჩნდა განმეორებადი კლებადი ამპლიტუდის პოპულაციური სპაიკები ($3,6 \pm 0,3$ სპაიკი $n=19$) (სურ. 14 A, B);

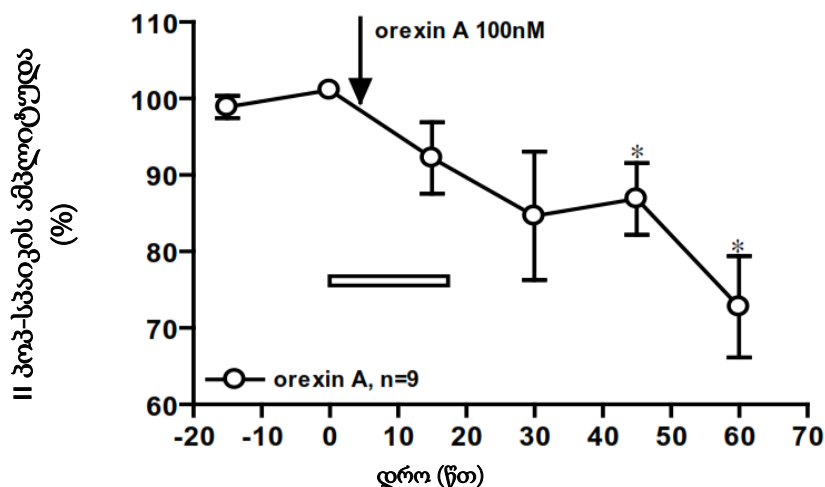
ექსპერიმენტების უმეტესობაში ბიკუკულინის აპლიკაცია, ველის პოტენციალზე დამატებითი განმუხტვების გარდა, გაღიზიანებებს შორის პერიოდში იწვევდა სპონტანურ ეპილეფსიურ შემდგომგანმუხტვებს (სურ. 14, C).



სურ. 14. ჰიპოკამპის ანატოლებიდან ორთოდრომული პოპ-სპიკები ბიკუკულინის აპლიკაციამდე (A) და აპლიკაციის შემდეგ (B და C). A და B მრუდები წარმოადგენს სამი თანმიმდევრული პასუხის სუპერპოზიციას. კალიბრება: 1 მვ ვერტიკალური და 20 მსეკ ჰორიზონტალური. (C) ჩანაწერზე ნაჩვენებია ზედიზედ 15 პასუხის სუპერპოზიცია, კალიბრება: 2.5 მვ ვერტიკალური და 100 მსეკ ჰორიზონტალური.

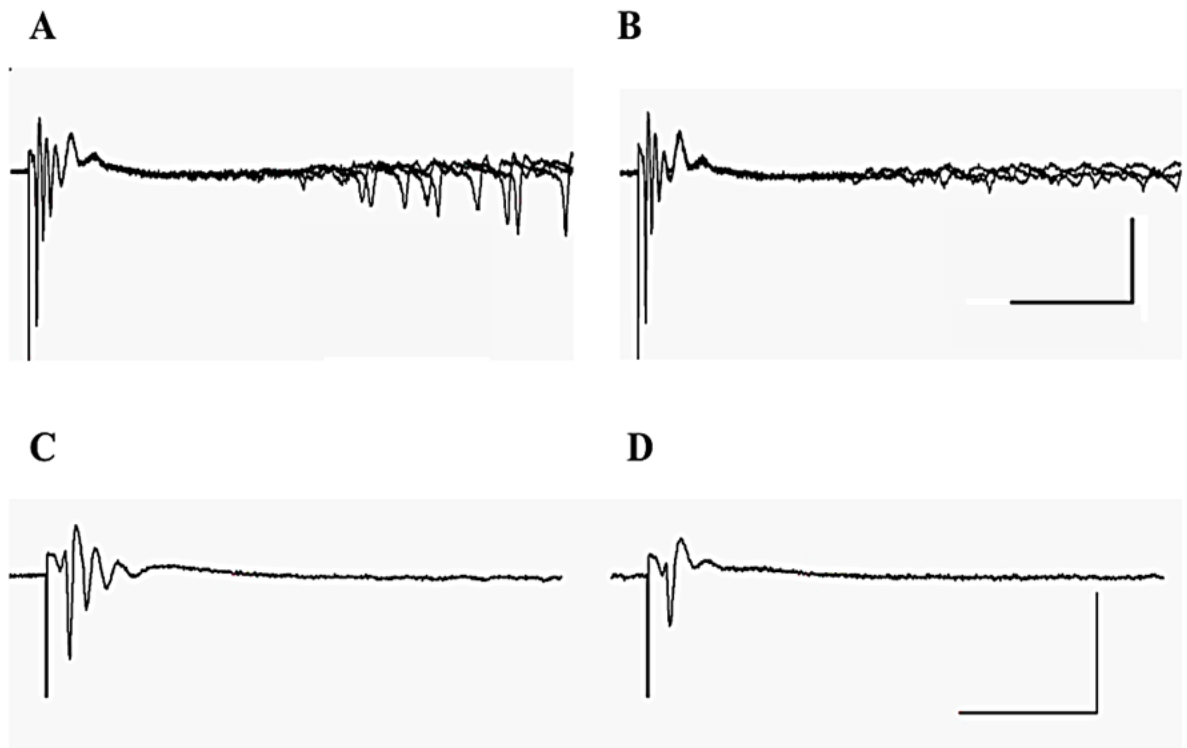
ბიკუკულინით გამოწვეულ ეპილეფტიფორმულ აქტივობაზე ორექსინ-A-ს აპლიკაციამ გამოიწვია პირველი პოპ-სპიკის ამპლიტუდის შემცირება (სურ. 16 C, D),

თუმცა სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილებები აღინიშნა პოპ-სპაიკის დამატებით განმუხტვებზე და აპლიკაციიდან 60 წთ-ის შემდეგ დაახლოებით 25%-ით შემცირდა მეორე პოპ-სპაიკის ამპლიტუდა (აპლიკაციის შემდეგ $72.8 \pm 6.6\%$, $p < 0.0001$, $n=9$) (სურ. 15).



სურ. 15. ორექსინ-A-ს ეფექტები პოპ-სპაიკის მეორე კომპონენტის ამპლიტუდაზე CA1-ველში მოცემულია სუბარული მრუდი $\pm SEM$, რომელიც გამოხატავს ორექსინ-A-თი განპირობებული პოპ-სპაიკის II კომპონენტის ამპლიტუდის პროცენტულ ცვლილებას. ორექსინ-A-ს - აპლიკაციის დრო მითითებულია მრუდის ქვეშ არსებული ხაზით.

ორექსინ-A ასევე იწვევდა ბიკუკულინით გამოწვეული სპონტანური შემდგომგანმუხტვების დათრგუნვასაც; მცირდებოდა მრავლობითი განმუხტვების ხანგრძლივობა (სურ. 16 A, B).

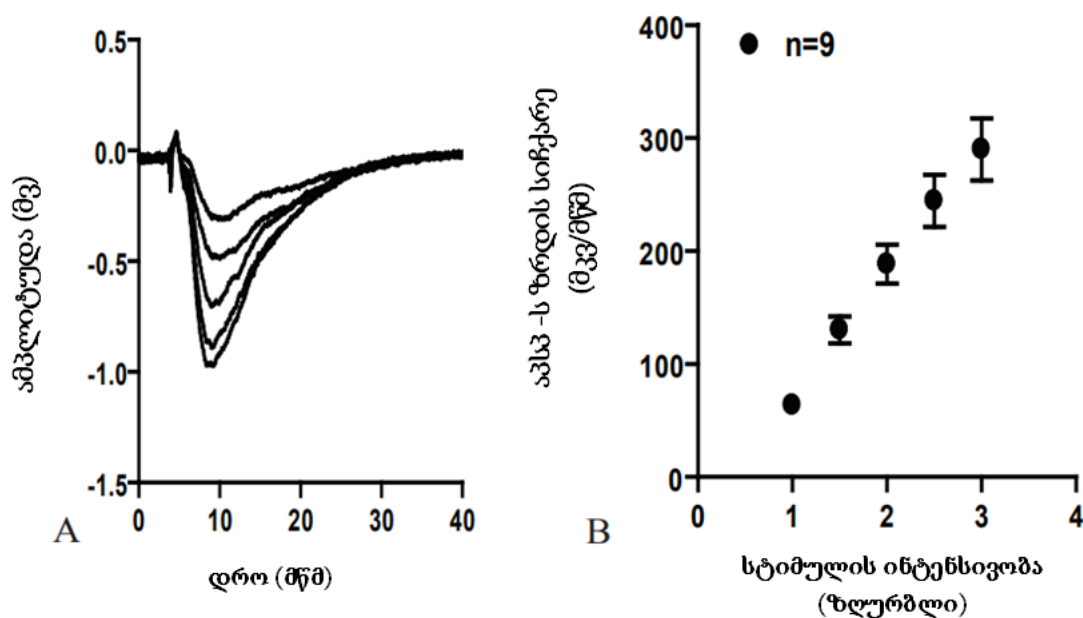


სურ. 16 ორექსინ-A-ს ეფექტები ჰიპოკამპის CA1 ველში ეპილეფტიფორმულ განმუხტვებზე. ორიგინალურ ჩანაწერებზე ნაჩვენებია ეპილეფტიფორმული განმუხტვები ორექსინის აპლიკაციამდე (A, C) და ორექსინ-A-ს (100 ნმ) აპლიკაციის შემდეგ (B, D). კალიბრება: 2 მვ (ვერტიკალური), 50 მწმ (ჰორიზონტალური). A და B ჩანაწერები წარმოადგენს სამი თანმიმდევრული პასუხის სუპერპოზიციას.

ორექსინ -A-ს ეფექტები იზოლირებულ NMDA პასუხებზე

ექსპერიმენტების წინა სერიამ გამოავლინა ორექსინ A-ს დამთრგუნველი ეფექტები CA1 ველის ეპილეფტიფორმულ აქტივობაზე, რაც გამოიხატა დამატებითი პოპ-სპაიკების ამპლიტუდის ხანგრძლივი დეპრესიით. ეპილეფსიის მოდელში პოპ-სპაიკზე დამატებითი განმუხტვების აღმოცენება განპირობებული უნდა იყოს NMDA რეცეპტორების გააქტივებით. ბიკუპულინი იწვევს რა შეკავების შეკავებას, ზრდის პირამიდული ნეირონების აგზნებადობის ხარისხს და შესაბამისად, სინაფსური სტიმულაციისას იწვევს პოსტინაფსური მემბრანის უფრო ძლიერ დეპოლარიზაციას,

რაც განაპირობებს NMDA რეცეპტორების გააქტივებას. NMDA რეცეპტორების დისფუნქცია აღნიშნულია ეპილეფსიის პათოგენეზში. CA1 ველში ორექსინის ეფექტებში NMDA რეცეპტორების წილის შეფასების მიზნით კვლევა გავაგრძელეთ იზოლირებულ NMDA რეცეპტორებზე. თავდაპირველად ნორმალურ ფიზიოლოგიურ ხსნარში ვღებულობდით შაფერის კოლატერალების გალიზიანებით განპირობებულ პასუხებს ვაგებდით შემავალ/გამომავალ მრუდებს, რომელთა გაანალიზებით განისაზღვრა მაქსიმალური პასუხი (სურ 17 A, B), ხოლო შემდგომ ჩაწერებში ელექტრული სტიმულის ინტენსივობა შევარჩიეთ ისე, რომ გამოეწვია მაქსიმალური პასუხის დაახლოებით 50%.

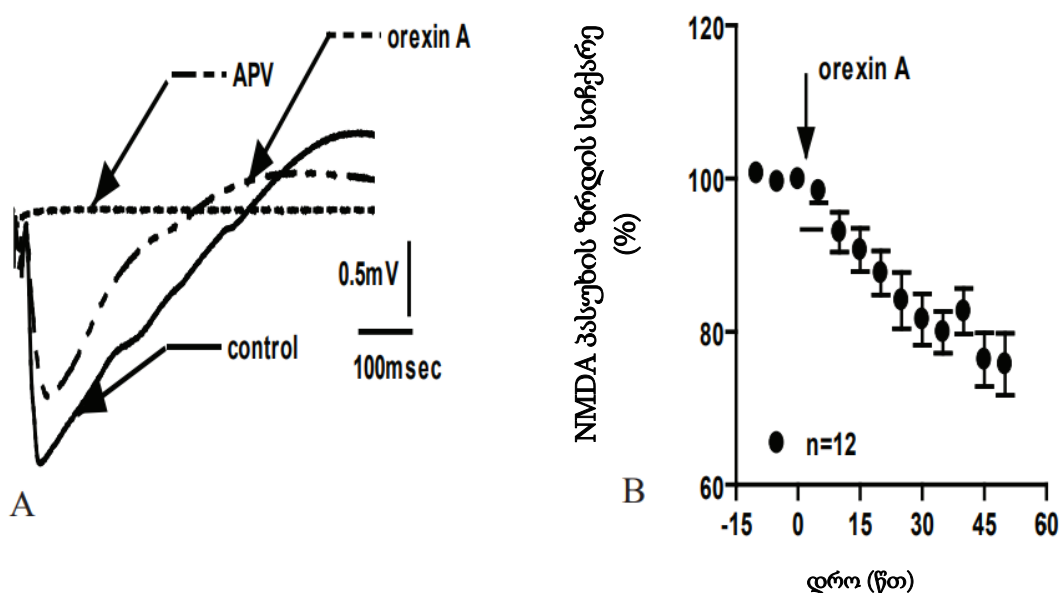


სურ. 17. ჰიპოკამპური ველის აპსკ ამპლიტუდის დამოკიდებულება სტიმულის ინტენსიობაზე (შემავალი/გამომავალი მრუდები). A. შემავალი/გამომავალი მრუდების რეალური ჩანაწერები. B. გასაშუალოებული პასუხები $\pm$ SEM ($n = 9$).

იზოლირებული NMDA-რეცეპტორული პასუხების მისაღებად, მაგნიუმის იონებისაგან თავისუფალ საპერფუზიო ხსნარს დაემატა AMPA-ტიპის გლუტამატერგული რეცეპტორების ანტაგონისტი CNQX (6-ციანო-7-

ნიტროქინოქსალინ-2,3-დიონი; 5 μ M; Research Biochemicals Incorporated, აშშ). ნორმალური ფიზიოლოგიური ხსნარიდან პრეპარატის აღნიშნულ მოდიფიცირებულ ხსნარში გადატანა იწვევდა ველის აპსპ-ის ჩანაცვლებას NMDA-რეცეპტორებით მედიირებული პასუხებით.

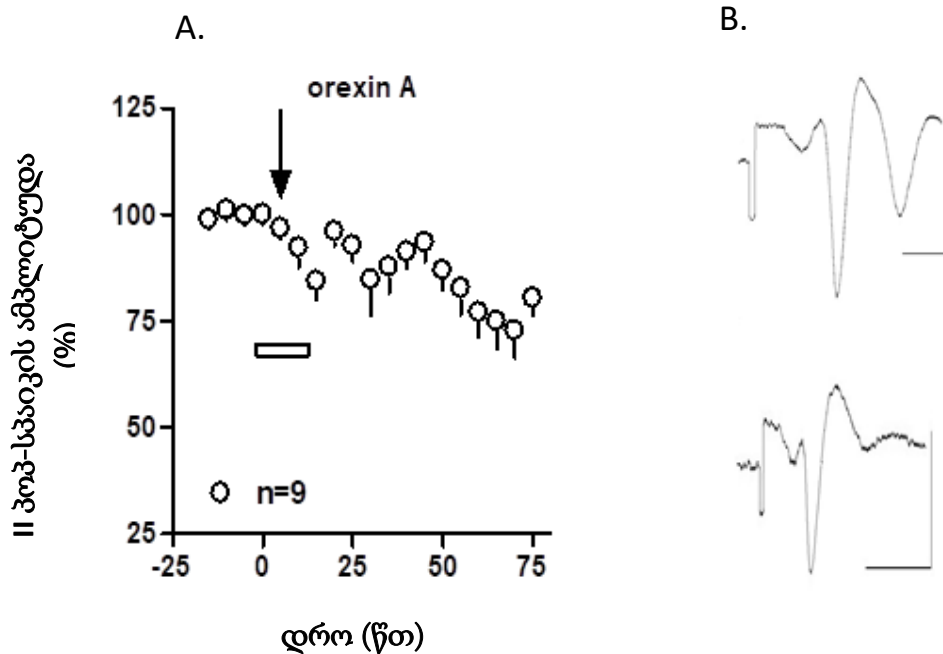
იზოლირებულ NMDA-პასუხებს განსხვავებული დროითი კურსი ახასიათებს, ვიდრე ველის ამაგზნებელ პოსტინაფსურ პოტენციალებს: მათი ხანგრძლივობა მერყეობს 200–300 მწმ-ის ფარგლებში (სურ. 18 A) და წარმოადგენენ სინაფსური პასუხების გვიან კომპონენტს, ველის აპსპ-ის ხანგრძლივობა კი 30–40 მწმ-ია (სურ. 17 A). APV-ის (NMDA რეცეპტორების შერჩევითი ანტაგონისტი) 50 μ M კონცენტრაციით აპლიკაცია სრულად ბლოკავდა აღნიშნულ პასუხებს, რაც ადასტურებს ამ კომპონენტის NMDA-რეცეპტორულ წარმომავლობას (სურ. 18 A ($n=8$)). შევაფასეთ ორექსინ- A-ს ეფექტი იზოლირებული NMDA პასუხების ამპლიტუდის ზრდის სიჩქარის ცვლილებაზე ფონურ აქტივობასთან მიმართებაში. ვნახეთ, რომ ორექსინ A-ს აპლიკაციამ გამოიწვია NMDA პასუხების ნელა განვითარებადი ხანგრძლივი დეპრესია (81.6 ± 3.3 %, $n=12$, $P < 0.01$ vs. 100.1 ± 2.4 % -აპლიკაციამდე) (სურ 18 B).



სურ. 18 ორექსინ-A იწვევს იზოლირებული NMDA-პასუხების ხანგრძლივ დეპრესიას. A. იზოლირებული NMDA-პასუხების ორიგინალური ჩანაწერები ორექსინის აპლიკაციამდე, ორექსინ-A-ს აპლიკაციის შემდეგ და APV-ის ხსნარში (იხ. ისრები). თითოეული კვალი წარმოადგენს 15 ინდივიდუალური ველის პოტენციალის საშუალო მნიშვნელობას B. იზოლირებული NMDA-პასუხების ცვლილებების დინამიკა 100 ნმ ორექსინ-A-ს აპლიკაციისა და არედან მისი გამოტანის პერიოდში. ორექსინ-A-ს აპლიკაციის დრო აღნიშნულია მრუდის ქვეშ ხაზით. წარმოდგენილია სუმარული მრუდები საშუალო სტანდარტული ცდომილებით (SEM).

ორექსინის ეფექტები პოპულაციური სპაიკების NMDA კომპონენტზე

Mg²⁺-თავისუფალ არეში, ჩვეულებრივ პოპ-სპაიკთან ერთად რეგისტრირდებოდა დამატებითი მეორე (II) პოპ-სპაიკი, რომელთა გენერირებაში ნაწილობრივ მონაწილეობენ NMDA რეცეპტორები. შევავსეთ ორექსინ-A-ს ეფექტი CA1 ველში ნეირონულ აქტივობაზე და გავანალიზეთ II პოპ-სპაიკის ამპლიტუდის ცვლილებების დინამიკა ორექსინ-A-ს აპლიკაციის (100 nM, 15 წთ) და საპერფუზიო ხსნარიდან გამოტანის პერიოდში (75 წთ). დამატებითი (II) პოპ-სპაიკის სახით წარმოდგენილი NMDA კომპონენტი ვლინდებოდა აფერენტული სტიმულაციიდან 5.2 ± 0.03 მწმ-ის შემდეგ, მაშინ როდესაც AMPA-მედიირებული პირველი (I) პოპ-სპაიკის ლატენტური პერიოდი შეადგენდა 3.1 ± 0.01 მწმ-ს. ორექსინ-A-ს აპლიკაციამ მისი მოქმედების პერიოდში გამოიწვია ველის პოტენციალების II პოპ-სპაიკის ზომიერი ინჰიბირება ($84.3 \pm 4.6\%$, $n = 9$), რომელიც ხასიათდებოდა გვიანი გამოვლენით ($72.7 \pm 6.6\%$, $n = 9$) და გრძელვადიანი ეფექტით (სურ. 19).

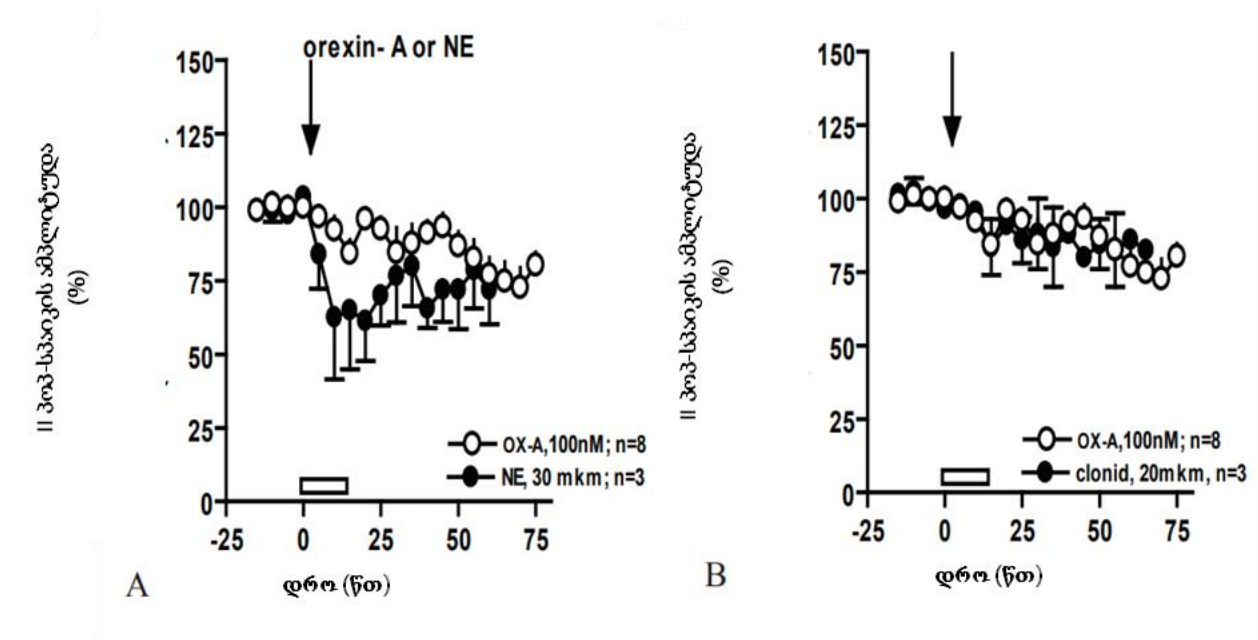


სურ. 19. ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდულ შრეში ორექსინ-A-ს ეფექტი ველის პოტენციალების NMDA კომპონენტზე (მეორე პოპ-სპაიკი). A. პოპ-სპაიკის მეორე კომპონენტის ამპლიტუდის ცვლილებების დინამიკა 100 ნმ ორექსინ-A-ს აპლიკაციის შემდეგ. ნაჩვენებია სუმატული მრუდები. orexin-A აპლიკაციის დრო მითითებულია მრუდის ქვეშ ხაზით. B. ორიგინალურ ჩანაწერებზე ნაჩვენებია ორექსინის აპლიკაციამდე პერიოდი (ზედა მრუდი, კალიბრება: ვერტიკალური - 2,5 ვ, ჰორიზონტალური - 2,5 მწმ) და საპერფუზიო ხსნარიდან ორექსინ-A-ს გამოტანიდან 45 წუთის შემდეგ (ქვედა მრუდი, კალიბრება: ვერტიკალური - 2,5 ვ, ჰორიზონტალური - 5 წმ).

როგორც ვნახეთ, ორექსინ-A-ს აპლიკაციის პერიოდში (15 წთ, 100 nM) გამოვლინდა მისი მსუბუქი შემაკავებელი ეფექტი. საპერფუზიო ხსნარიდან მისი გამორეცხვიდან დაახლოებით 20 წუთის შემდეგ პასუხები აღდგა, თუმცა მოგვიანებით განვითარდა დეპრესიის ახალი ფაზა, რომელიც, სავარაუდოდ, დაკავშირებულია დამატებითი უჯრედშიდა კასკადური მექანიზმების გააქტიურებასთან. ცნობილია, რომ თავის ტვინის ჰიპოკრეტინ/ორექსინერგული სისტემა მნიშვნელოვან როლს ასრულებს

მონოამინერგული სისტემების აქტივობაში. ნაჩვენებია, რომ ორექსინს აქვს პირდაპირი აღმგზნები ეფექტი ნორადრენერგულ ნეირონებზე (Hagan et al., 1999; Horvath et al., 1999; Soffin et al., 2002). ასევე ნანახია, რომ ჰიპოკრეტინები იწვევენ ლურჯი ლაქის (LC) ნეირონების აქსონური ტერმინალებიდან დაკბილულ ხვეულსა და ტვინის ქერქში ნორადრენალინის გამოთავისუფლებას (Hirota et al., 2001; Walling et al., 2004). აქედან გამომდინარე ექსპერიმენტის შემდგომ სერიებში გადავწყვიტეთ შეგვეფასებინა პოპ-სპაიკის მეორე კომპონენტზე ორექსინის ზემოთ აღწერილ ეფექტში ნორადრენალინის შესაძლო როლი. ვნახეთ, რომ ნორეპინეფრინის (30 μ M) ეფექტი მსგავსია ორექსინის ეფექტისა, ნორეპინეფრინის აპლიკაციაც იწვევს შეკავების ორ ფაზას, თუმცა ორექსინთან შედარებით იგი უფრო გამოხატული ხასიათისაა, როგორც აპლიკაციის პერიოდში (15 წთ) $65 \pm 19.9\%$, ($n = 3$), ისე გვიან ფაზაში $72 \pm 11.7\%$ ($n = 3$) (სურ. 20 A).

ნორეპინეფრინის ეფექტი განპირობებულია α - და β -ტიპის ადრენორეცეპტორების გააქტიურებით. იმის გასარკვევად, თუ რომელი რეცეპტორების გააქტივება იწვევდა აღნიშნულ ეფექტს ექსპერიმენტებში გამოყენებულ იქნა α -რეცეპტორების აგონისტი - კლონიდინის ჰიდროქლორიდი (20 μ M) (სურ. 20 B). კლონიდინის ეფექტები იდენტური აღმოჩნდა ორექსინის ეფექტებისა როგორც აპლიკაციის პერიოდში ($83.5 \pm 9.5\%$, $n = 3$), ისე აპლიკაციის შემდგომ პერიოდში ($82.5 \pm 2.5\%$, $n = 3$).



სურ.20 ორექსინ-A-ს ეფექტი ველის პასუხების NMDA კომპონენტზე (მეორე სპაიკი) ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდულ შრეში და ადრენერგული სისტემის როლი.

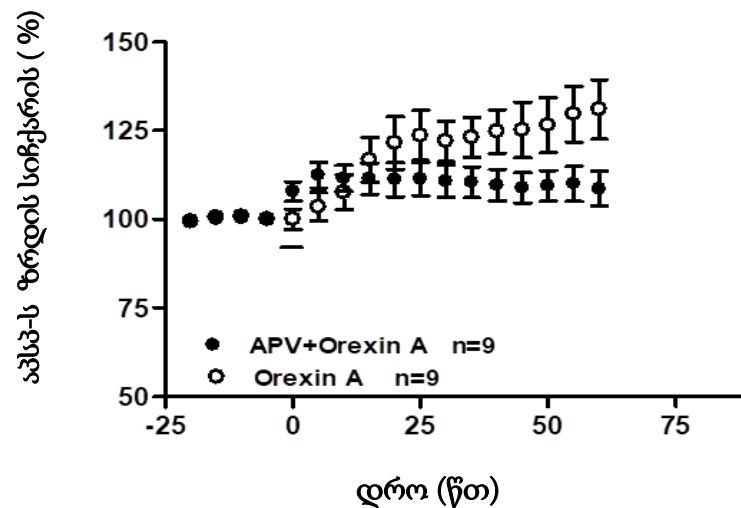
ა. პოპ-სპაიკის მეორე კომპონენტის ამპლიტუდის ცვლილებების დინამიკა 100 μ M ორექსინ-A-ს (თეთრი რგოლები) და 30 μ M ნორეპინეფრინის (შავი რგოლები) აპლიკაციის შემდეგ. წარმოდგენილია სუმა რულები SEM-ით. ბ. პოპ-სპაიკის მეორე კომპონენტის ამპლიტუდის ცვლილებების დინამიკა 100 μ M ორექსინ-A-ს (თეთრი რგოლები) და 20 μ M კლონიდინის (შავი რგოლები) გამოყენების შემდეგ. წარმოდგენილია სუმა რულები SEM-ით. ნივთიერებების აპლიკაციის დრო მითითებულია ისრით. აპლიკაციის ხანგრძლივობა მითითებულია ქვემოთ მოცემული პერიზონტალური ხაზით.

როგორც ზემოთ იყო ნაჩვენები, ორექსინ-A ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდულ შრეში იწვევს დამატებითი (II) პოპ-სპაიკის ამპლიტუდის შემცირებას. აღნიშნულ ეფექტს აქვს როგორც ადრენული, ისე გვიანი ფაზა, ხოლო გვიანი შემაკავებელი ეფექტი, შესაძლოა განპირობებული იყოს ადრენერგული მექანიზმების ჩართულობით.

NMDA რეცეპტორების შერჩევითი ანტაგონისტი - APV-ის (50 μ M), ფონზე ორექსინ-A-ს აპლიკაციამ გამოიწვია ველის პოტენციალის ზრდა, თუმცა აღნიშნული ეფექტი

მნიშვნელოვნად სუსტი იყო NMDA რეცეპტორების ბლოკირების გარეშე ნანახ პოტენციაციასთან შედარებით ($109 \pm 4.9\%$ APV-ით და $131 \pm 8.4\%$ APV-ის გარეშე) (სურ 21). ამასთან, პოტენციაცია აღინიშნებოდა APV-ით დამუშავებული ანათლების მხოლოდ 45%-ში, მაშინ როდესაც ანტაგონისტის გარეშე ეს მაჩვენებელი 63%-ს შეადგენდა.

აღნიშნული მონაცემები მიუთითებს, რომ ორექსინ-A-ს შუამავლობით განვითარებული სინაფსური პლასტიურობისთვის NMDA რეცეპტორების გააქტიურება არსებითად აუცილებელია, თუმცა მიღებული შედეგები ასევე მიუთითებს დამატებითი, NMDA-დამოუკიდებელი მექანიზმების შესაძლო ჩართულობაზეც.



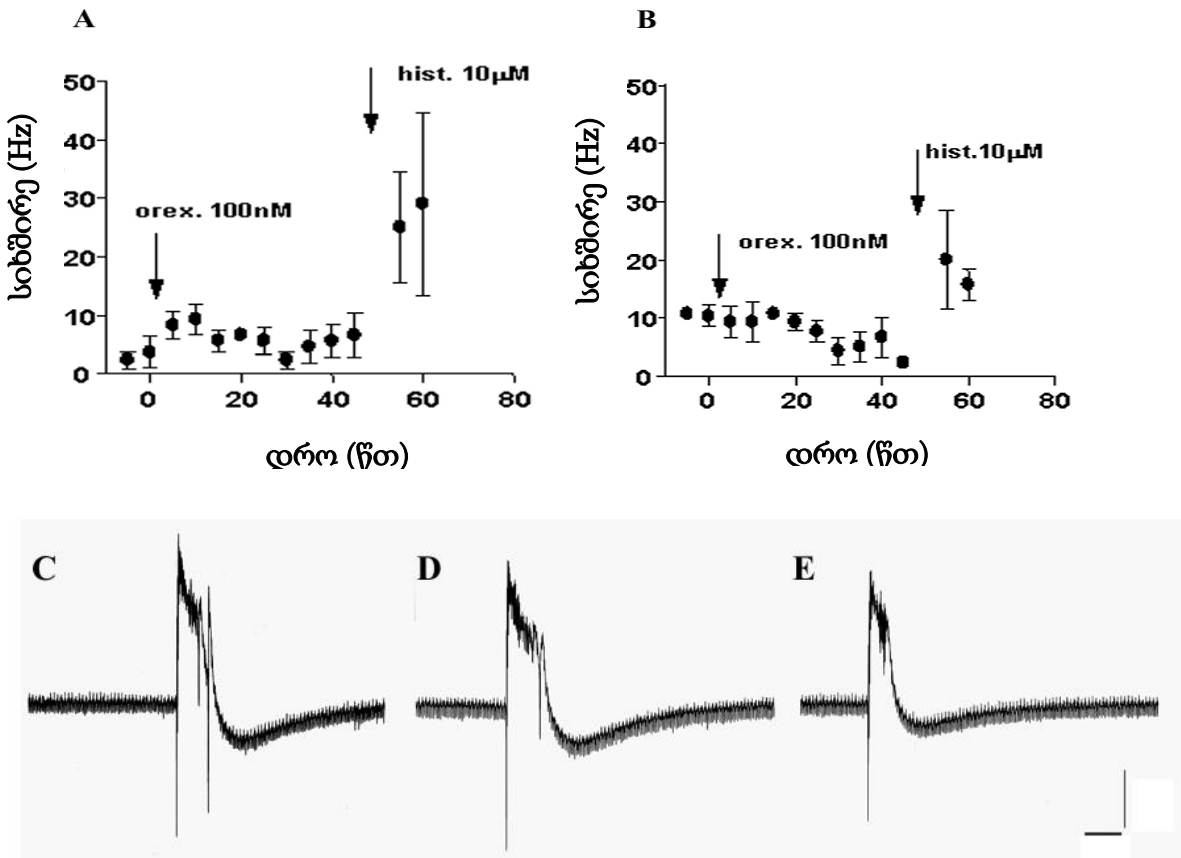
სურ 21. სურათზე ნაჩვენებია ჰიპოკამპის CA1 კელში NMDA რეცეპტორების ჩართულობა ორექსინით გამოწვეულ პლასტიურობაში, კერძოდ ველის ამაგზნებელი პოსტსინაფსური პოტენციალის ამპლიტუდის ზრდის სისწრაფე. მოცემული სუმა რულ მრუდეზე ნაჩვენებია საშუალო მნიშვნელობები საშუალო სტანდარტული ცდომილებით.

ორექსინ A-ს ეფექტები CA-3 ველის ზალპური ნეირონების აქტივობაზე

ჰიპოკამპში ეპილეფტიფორმული აქტივობა ძირითადად გამოწვეულია CA3 ველის ნეირონების ზალპური განმუხტვებით. მომდევნო ექსპერიმენტებში შევისწავლეთ ორექსინ-A-ს ეფექტი CA3 ველში ზალპური ნეირონების სპონტანურ აქტივობაზე. სპონტანური განმუხტვების პატერნის მიხედვით ნეირონები დავყავით ორ ჯგუფად: დაბალი ან მდუმარე სპონტანური აქტივობის მქონე ნეირონები (საშუალო სიხშირე < 5 ჰც) და ზომიერი ან მაღალი სიხშირის აქტივობის მქონე ნეირონები (საშუალო სიხშირე > 10 ჰც).

მიღებულმა ექსპერიმენტულმა მონაცემებმა აჩვენა, რომ ორექსინ-A ახდენს ზალპური ნეირონების სპონტანური აქტივობის ორმხრივ მოდულაციას. კერძოდ, იგი ამცირებს განმუხტვების სიხშირეს მაღალსიხშიროვანი აქტივობის მქონე ნეირონებში (სურ. 22 B), და ზრდის სიხშირეს დაბალი ან მდუმარე აქტივობის ნეირონებში (სურ. 22 A). ნეირონების განმუხტვების საშუალო სიხშირე ორექსინ-A-ს აპლიკაციიდან 20 წუთის შემდეგ მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა საწყისი მონაცემებისგან (დაბალი აქტივობის ნეირონების ჯგუფში ორექსინის აპლიკაციამდე 2.3 ± 1.4 ჰც-დან vs 5.7 ± 2.3 ჰც აპლიკაციის შემდეგ, $p < 0.0001$, $n=6$; მაღალი აქტივობის ჯგუფში აპლიკაციამდე 10.7 ± 1.2 ჰც vs 7.6 ± 1.7 ჰც აპლიკაციის შემდეგ, $p < 0.0001$, $n=5$).

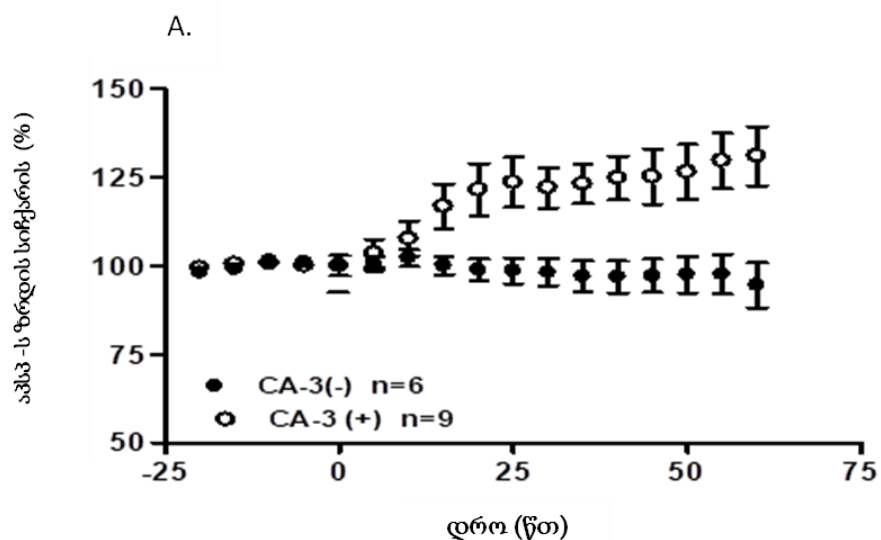
ორექსინის აღნიშნული ეფექტები შევადარეთ ენდოგენურ ანტიკონვულსანტ ჰისტამინის ეფექტებს. ვნახეთ რომ ჰისტამინი ($10 \mu\text{M}$), ორექსინ-A-სგან განსხვავებით, ზრდის განმუხტვების სიხშირეს ორივე ტიპის ნეირონებში (სურ. 22 A, B). ამასთან, ჰისტამინის ეფექტები ეპილეფტიფორმული განმუხტვების ხანგრძლივობაზე განსხვავდებოდა ორექსინ-A-ს ეფექტისგან; კერძოდ, ორექსინ-A არ იწვევდა აღნიშნული პარამეტრის ცვლილებას (სურ. 22 D), მაშინ როდესაც ჰისტამინი მას თითქმის ორჯერ ამცირებდა (სურ. 22 E) საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (სურ. 22 C).

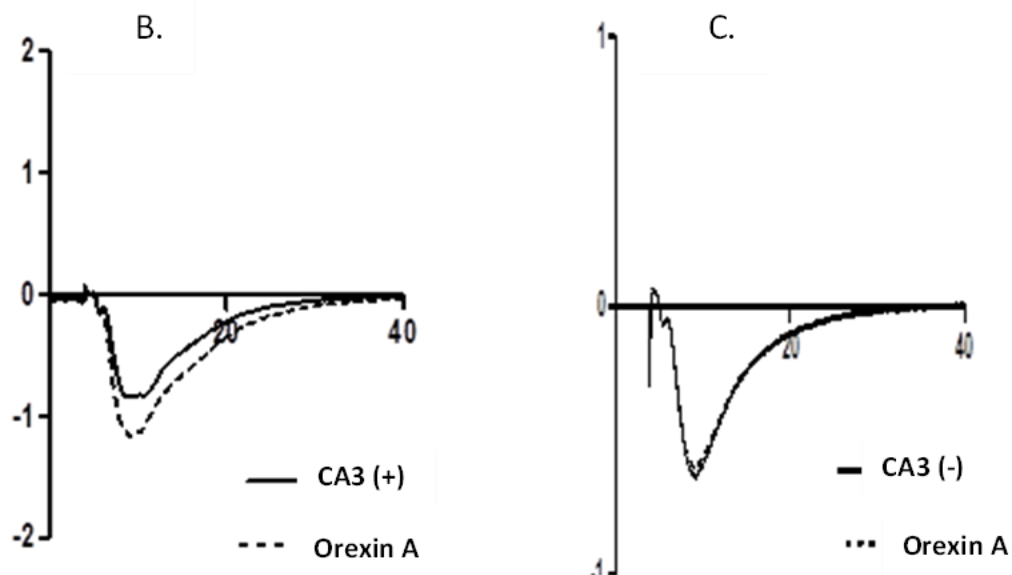


სურ. 22 ორექსინ-A-სა და ჰისტამინის ეფექტები ჰიპოკამპის CA3 ველის ზალპური ნეირონების აქტივობაზე. სუმა რული მრუდებზე ნაჩვენებია ორექსინის და ჰისტამინის აპლიკაციის ეფექტები დაბალი აქტივობის (A) და მაღალი აქტივობის ნეირონებზე, მრუდებზე წარმოდგენილია საშუალო მნიშვნელობა სტანდარტული ცდომილებით (SEM); ორექსინის და ჰისტამინის აპლიკაცია ნაჩვენებია ისრებით. ორიგინალური ჩანაწერები აჩვენებს CA3 ველის ზალპური ნეირონების განმუხტვის ხანგრძლივობას საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში (C), ორექსინის (D) და ჰისტამინის (E) აპლიკაციის შემდეგ. კალიბრება: 1 მვ (ვერტიკალური), 200 მწმ (ჰორიზონტალური).

ჰიპოკამპის CA1 ველის ერთ-ერთ ძირითად აფერენტულ გზას წარმოადგენს CA3 ველიდან მომავალი შაფერის კოლატერალები. ჩვენს კვლევაში მიღებულმა მონაცემებმა - კერძოდ, ორექსინ-A-ს მიერ CA3 ველის ზალპური ნეირონების აქტივობის მოდულაციამ და CA1-ში ველის პოტენციალების ხანგრძლივმა

პოტენციაციამ - საფუძველი მისცა ვარაუდს, რომ ჰიპოკამპის CA3 ველის ნეირონები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ორექსინ-A-ს აპლიკაციით განპირობებულ CA1 ველის პლასტიკურ პროცესებში. აღნიშნული ჰიპოთეზის შესამოწმებლად ჩატარდა *In vitro* ექსპერიმენტები ჰიპოკამპის მიკრო ანათლებზე, რომლებშიც CA3 ველი ქირურგიულად იყო მოცილებული. მიღებული მონაცემები აჩვენებს, რომ CA3 ველის მოცილების შემდეგ ორექსინ-A აღარ იწვევს შაფერის კოლატერალების სტიმულაციით გამოწვეული ველის აპსპ-ის პოტენციაციას (სურ. 23 A, C), რაც მიუთითებს CA1 ველში ორექსინით ინდუცირებული სინაფსური პლასტიურობის მექანიზმებში CA3 ველის კრიტიკულ ჩართულობაზე.





სურ.23. ორექსინ-A-ს ეფექტები ჰიპოკამპის CA1 ველის მიკროანატომიაში.

სუბარულ მრუდზე ნაჩვენებია ორექსინის A-ს ეფექტი CA1 ველის აკსპ-ზე CA3 ველის არსებობის (თეთრი რგოლები) და მოცილების შემთხვევაში (შავი რგოლები). ორიგინალური ჩანაწერებზე ნაჩვენებია Orexin-A-ს ეფექტი CA1 ველში აკსპ-ზე, CA3 ველის შემცველ (B) და მინი ანატომიაზე (C). უწყვეტი ხაზი ორექსინის A-ს აპლიკაციამდე, წყვეტილი ხაზი აპლიკაციის შემდეგ.

ამრიგად, ნაჩვენებია, რომ CA3 ველის ნეირონული კლასტერი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ჰიპოკამპის CA1 ველში ორექსინით გამოწვეულ გრძელვადიან პოტენციაში.

4.2 *In vivo* ექსპერიმენტების შედეგები

წინა თავში განხილულმა *in vitro* ექსპერიმენტულმა მონაცემებმა გამოავლინა ორექსინ-A-ს ანტიეპილეფსიური მოქმედება. კერძოდ, ბიკუპულინით ინდუცირებული ეპილეფტიფორმული აქტივობის მოდელში ორექსინ-A ამცირებდა პოპულაციური სპაიკების მრავლობითი განმუხტვების ამპლიტუდასა და ხანგრძლივობას, იწვევდა NMDA-რეცეპტორებით მედიირებული იზოლირებული პასუხების ხანგრძლივ დეპრესიას და თრგუნავდა CA1 ველში სპონტანურ ეპილეფტიფორმულ აქტივობას. ამასთან, ვნახეთ, რომ ორექსინ-A ახდენს ჰიპოკამპის CA3 ველის ზალპური ნეირონების აქტივობის მოდულაციას, რაც შეიძლება განსაზღვრავდეს CA3–CA1 წრედში აგზნებადობის დინამიკას.

მიუხედავად ჩვენი ექსპერიმენტებით გამოვლენილი ანტიეპილეფსიური ეფექტებისა, ლიტერატურაში წარმოდგენილია მონაცემები, რომელთა მიხედვითაც ნაჩვენებია *in vivo* პირობებში ორექსინების პროკონვულსიური მოქმედება. აღნიშნულმა წინააღმდეგობრივმა მონაცემებმა განსაზღვრა ჩვენი შემდგომი კვლევის მიმართულება. შესაბამისად, მიზნად დავისახეთ *in vivo* ექსპერიმენტებში შეგვეფასებინა ეგზოგენური ორექსინის ეფექტები, ერთი მხრივ ეპილეფსიური სტატუსის მქონე ცხოველებში, ხოლო მეორე მხრივ - მწვავე ექსპერიმენტულ პირობებში, რათა დაგვეზუსტებინა მისი გავლენა ჰიპოკამპურ ნეირონულ აქტივობასა და ეპილეფტიფორმული განმუხტვების დინამიკაზე.

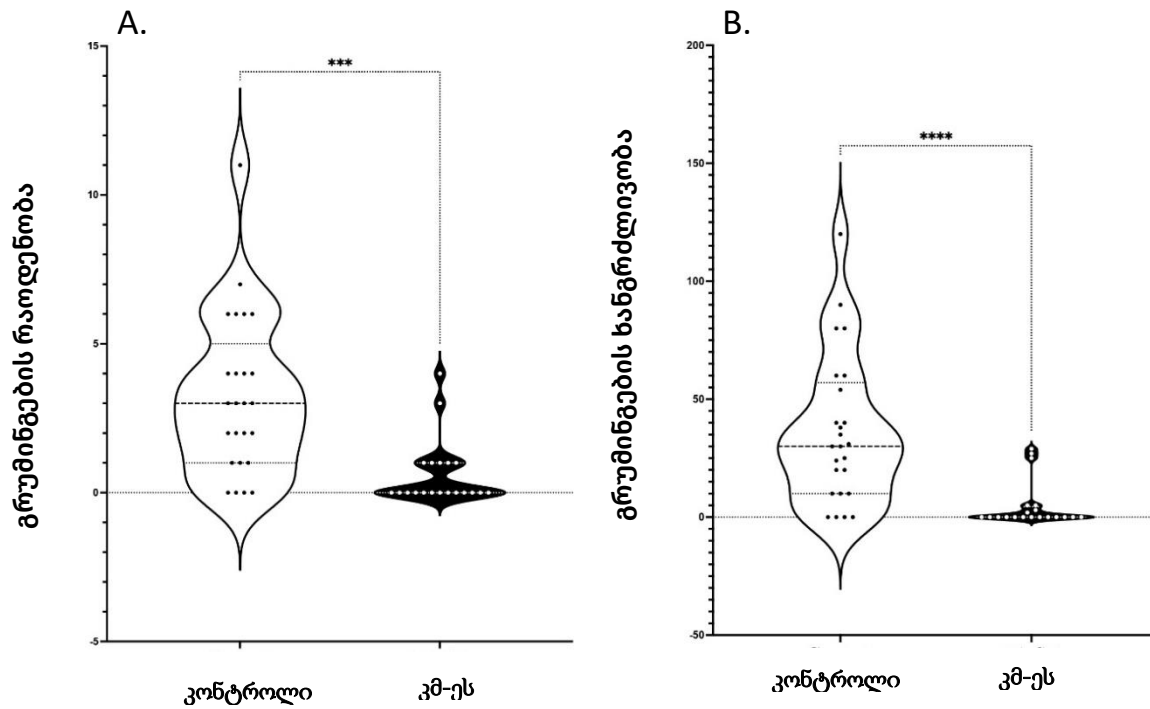
ეპილეფსიური სტატუსის მისაღებად გამოვიყენეთ ფარმაკოლოგიური მიდგომა, კერძოდ კაინის მჟავას ერთხელობრივი ინტრაპერიტონიული ინექცია. კვლევა მოიცავდა რამდენიმე ურთიერთდაკავშირებულ საფეხურს: საკვლევ ცხოველებში შეფასდა კმ-ეს-ით განპირობებული ქცევითი ცვლილებები; ჰიპოკამპსა და ჰიპოთალამუსში კმ-ეს-ით ინდუცირებული მორფოლოგიური ცვლილებები; ელექტროფიზიოლოგიური ექსპერიმენტების ფარგლებში შეფასდა ჰიპოკამპის ნეირონულ აქტივობაზე ეგზოგენური ორექსინების ეფექტები ნორმასა და კმ-ეს ცხოველებში.

4.2.1 ქცევითი ექსპერიმენტების შედეგები

ა) ღია ველის ტესტი

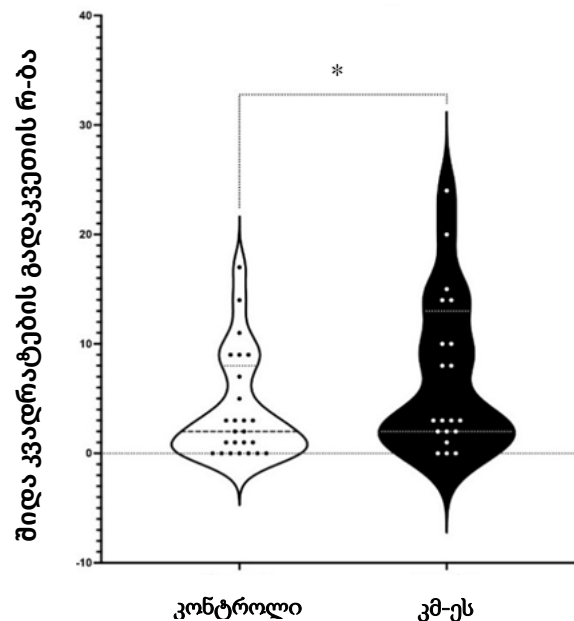
ცხოველთა ემოციური სტატუსისა და ზოგადი აქტივობის შეფასების მიზნით, ღია ველის ტესტში 5 დღის განმავლობაში აღირიცხებოდა შემდეგი პარამეტრები: ცენტრში გამოსვლის სიხშირე; ცენტრში დაყოვნების დრო; შიდა კვადრატების გადაკვეთის სიხშირე; გარე კვადრატების გადაკვეთის სიხშირე; ვერტიკალური დგომების რაოდენობა; დეფეკაცია/ურინაციის სიხშირე; გრუმინგების რაოდენობა და ხანგრძლივობა; ტესტის მიმდინარეობისას ცხოველის ქცევაზე გავლენის მოხდენა შეუძლია მრავალ პროცედურულ, გარემო თუ ბიოლოგიურ ფაქტორს (მაგ. ხმაური, შიმშილი, წინა ცხოველის კვალი კაბინაში, ეპილეფსიური შეტევა ცდის მიმდინარეობისას და ა.შ) (Seibenhener & Wooten, 2015) რაც ექსპერიმენტის დაგეგმვისა და შედეგების ანალიზის პროცესში ჩვენს მიერ იქნა გათვალისწინებული. ევოლუციურად მღრღნელებს ჩამოუყალიბდათ შიშისა და განრიდების სპეციფიკური რეაქციები გარკვეული სტიმულების მიმართ. კერძოდ, ვირთაგვებს ახასიათებთ ავერსიული დამოკიდებულება დიდ, მკვეთრად განათებულ, ღია და უცნობ გარემოსთან, რაც წარმოადგენს ღია ველის ტესტის ფსიქოფიზიოლოგიურ საფუძველს (Choleris et al., 2001).

მიღებული შედეგების ანალიზით, ჩანს, რომ რომ კაინის მჟავას ერთხელობრივი ადმინისტრირება ცხოველებში სტატისტიკურად სარწმუნოდ ამცირებს გრუმინგების საერთო რაოდენობას (0.6 ± 0.22 , (n=30) კმ-ეს vs 3.24 ± 0.57 , (n=25) საკონტროლო ჯგუფი, $P < 0.005$)) და ხანგრძლივობას (4.8 ± 2.58 sec, (n=30) კმ-ეს vs 36.3 ± 3.4 sec, (n=25) საკონტროლო ჯგუფი, $P < 0.0001$), მიღებული მონაცემების ანალიზის შედეგები წარმოდგენილია ჰისტოგრამების (საშუალო მნიშვნელობები საშუალო სტანდარტული გადახრებით) სახით (სურ. 24)



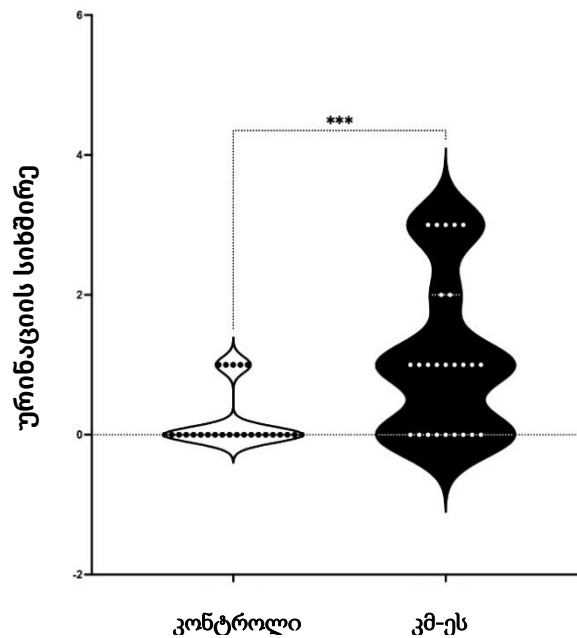
სურ. 24 ღია ველის ტესტში შეფასებული ქცევითი პარამეტრები. ჰისტოგრამები ასახავს A. გრუმინგის რაოდენობას ($P < 0.005$) და B. გრუმინგის ხანგრძლივობას ($P < 0.0001$). მონაცემები წარმოდგენილია საშუალო მნიშვნელობისა და საშუალოს სტანდარტული ცდომილების ($Mean \pm SEM$) სახით. საკონტროლო ჯგუფისთვის (თეთრი სვეტები) და კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის მქონე ვირთაგვებისთვის (შავი სვეტები). ორ ჯგუფს შორის სტატისტიკური განსხვავებების შესაფასებლად გამოყენებულ იქნა unpaired Student *t*-ტესტი.

ღია ველის ტესტში კმ-ეს მქონე ვირთაგვებში დაფიქსირდა შიდა კვადრატების გადაკვეთის სიხშირის სტატისტიკურად სარწმუნო მომატება საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (7.1 ± 1.7 , $n = 30$ კმ-ეს; საკონტროლო: 4.04 ± 0.53 , $n = 25$; $P < 0.05$) (სურ. 25). ამასთან, ჯგუფებს შორის სარწმუნო განსხვავებები არ გამოვლენილა გარე კვადრატებში გადაკვეთის რაოდენობაში (45.8 ± 5.1 , $n = 30$ კმ-ეს; 50.05 ± 5.18 , $n = 25$ საკონტროლო), ცენტრში გამოსვლის სიხშირესა (0.73 ± 0.1 , $n = 30$ კმ-ეს ; 0.75 ± 0.2 , $n = 25$ საკონტროლო) და ცენტრში გატარებულ დროში (0.6 ± 0.3 , $n = 30$ კმ-ეს; 1.3 ± 0.5 , $n = 25$ საკონტროლო).



სურ. 25. ღია ველის ტესტში შეფასებული ქცევითი პარამეტრი. ჰისტოგრამა ასახავს შიდა კვადრატების გადაკვეთის რაოდენობას. მონაცემები წარმოდგენილია საშუალო მნიშვნელობისა და საშუალოს სტანდარტული ცდომილების ($Mean \pm SEM$) სახით. საკონტროლო ჯგუფისთვის (თეთრი სვეტები) და კმ-ეს მქონე ვირთაგვებისთვის (შავი სვეტები). ორ ჯგუფს შორის სტატისტიკური განსხვავებების შესაფასებლად გამოყენებულ იქნა unpaired Student *t*-ტესტი.

ღია ველის ტესტით ცხოველის ემოციური სტატუსის შესაფასებლად ტესტის მსვლელობისას ვზომავდით ურინაციის სიხშირეს (სურ 26). 5 დღიანი მონაცემების გაანალიზებით ჩანს, რომ საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით კმ-ეს ვირთაგვებში ურინაციის სიხშირე სტატისტიკურად სარწმუნოდ გაიზარდა (1.2 ± 0.35 , ($n = 30$) კმ-ეს vs. 0.1 ± 0.07 , ($n = 25$) კონტროლი, $P < 0.05$)



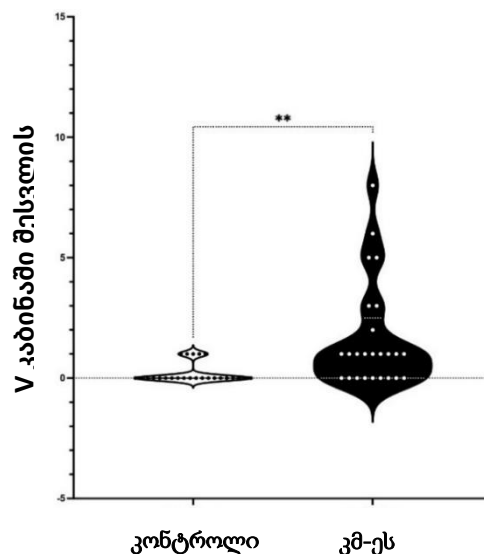
სურ. 26. ქცევითი პარამეტრების ცვლილებები ეპილეფსიის ცხოველურ მოდელში. ღია ველისა და პასიური განრიდების ტესტის მონაცემები. ჰისტოგრამაზე წარმოდგენილია ურინაციის სიხშირე, საკონტროლო (თეთრი სვეტი) და ეპილეფსიის სტატუსის (შავი სვეტი) ცხოველებში (* $P < 0.001$). მონაცემები წარმოდგენილია საშუალო მნიშვნელობისა და საშუალოს სტანდარტული ცდომილების ($Mean \pm SEM$) სახით. ორ ჯგუფს შორის სტატისტიკური განსხვავებების შესაფასებლად გამოყენებულ იქნა unpaired Student t -ტესტი.

ბ) პასიური განრიდების ტესტი

პასიური განრიდების ტესტი წარმოადგენს კლასიკურ მეთოდს მცირე ლაბორატორიულ ცხოველებში არადეკლარაციული (კონტექსტუალური) მეხსიერების შესაფასებლად. ტერმინი „პასიური განრიდება“ გამოიყენება იმ ექსპერიმენტული პარადიგმების აღსაწერად, რომლებშიც ცხოველები სწავლობენ ავერსიული, მტკივნეული გამღიზიანებლის თავიდან აცილებას. მიუხედავად იმისა, რომ ბნელი გარემოს კვლევა მღრღნელებისთვის ევოლუციურად განვითარებული ქცევაა, განმეორებითი ცდების შედეგად ცხოველი იძენს უნარს, დაუკავშიროს ბნელ გარემოში შესვლა მტკივნეულ სტიმულს (Ghafarimoghadam et al., 2022).

პასიური განრიდების ტესტში შეფასდა ელექტროფიცირებულ (V) კაბინაში შესვლის სიხშირე, დამატებით, ღია ველის ტესტის მსგავსად, ვაფასებდით ვირთაგვების ქცევით რეაქციებს 8 პარამეტრის მიხედვით.

პასიური განრიდების ტესტის შედეგების ანალიზმა აჩვენა, რომ კმ-ეს მქონე ვირთაგვებში, საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით, აღინიშნება მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესების დარღვევა, რაც ვლინდებოდა ელექტროფიცირებულ კაბინაში შესვლის სიხშირის ზრდით (1.5 ± 0.4 , (n=30) კმ-ეს vs 0.2 ± 0.1 , (n=25) კონტროლი, $P < 0.05$. (სურ.27).



სურ. 27. ქცევითი პარამეტრების ცვლილებები ეპილეფსიის ცხოველურ მოდელში. პასიური განრიდების ტესტის მონაცემები. ჰისტოგრამაზე წარმოდგენილია მეხუთე ელექტროფიციურებულ კაბინაში ვირთაგვების შესვლის სიხშირე, საკონტროლო (თეთრი სვეტი) და ეპილეფსიის სტატუსის (შავი სვეტი) ცხოველებში ($*P < 0.01$). მონაცემები წარმოდგენილია საშუალო მნიშვნელობისა და საშუალოს სტანდარტული შეცდომის ($Mean \pm SEM$) სახით. ორ ჯგუფს შორის სტატისტიკური განსხვავებების შესაფასებლად გამოყენებულ იქნა unpaired Student *t*-ტესტი.

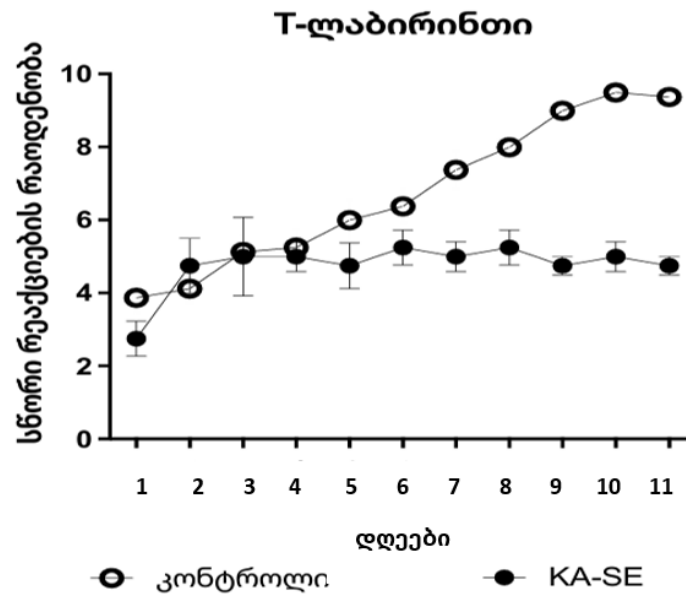
გამოვლინდა ცვლილებები ცხოველთა ზოგად მოტორულ და ემოციურ აქტივობაშიც, რაც თანხვედრაშია ღია ველის ტესტში გამოვლენილ ქცევით ცვლილებებთან. ამგვარად, ღია ველისა და პასიური განრიდების ტესტების ერთობლივი ანალიზი მიუთითებს, რომ ეპილეფსიური სტატუსი ვირთაგვებში იწვევს როგორც ზოგადი ქცევითი აქტივობის, ისე კოგნიტური ფუნქციების დარღვევას, როგორცაა დასწავლა და მეხსიერება.

გ) T-ს მაგვარი ლაბირინთი

T-სმაგვარი ლაბირინთის ტესტით კმ-ეს მქონე ვირთაგვებში შევაფასეთ მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესები. საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვებში ($n = 12$) ცდების პირველსავე დღეს სწორ რეაქციათა რაოდენობამ შეადგინა 5 ± 0.6 . აღნიშნული მაჩვენებელი 11-დღიანი ტესტირების განმავლობაში თანდათანობით იზრდებოდა, რაც ცხოველებში დასწავლის პროცესის პროგრესირებაზე მიუთითებს, და ტესტირების მე-9 დღეს მიაღწია კრიტერიულ მაჩვენებელს, რომელიც შენარჩუნდა შემდგომი სამი დღის განმავლობაში (9 ± 0.3).

T-ლაბირინთის ტესტში კმ-ეს მქონე ვირთაგვებმა ($n = 10$) 11-დღიანი ტესტირების განმავლობაში ვერ შეძლეს დასწავლის კრიტერიული მაჩვენებლის მიღწევა (სურ. 28),

სწორი პასუხების საშუალო რაოდენობა კმ-ეს ჯგუფის ცხოველებში სარწმუნოდ დაბალი იყო საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (4.7 ± 0.2 ; $n = 10$ კმ-ეს vs 6.7 ± 0.6 ; $n = 12$ საკონტროლო; $P = 0.0067$).



სურ. 28. T-სმაგვარი ლაბირინთის ტესტში დასწავლის დინამიკა. სუმატური მრუდები ასახავს სწორ პასუხთა რაოდენობის დინამიკას T-სმაგვარი ლაბირინთის ტესტში საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვებში (თეთრი სიმბოლოები) და კაინის მუცლით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის მქონე ვირთაგვებში (შავი სიმბოლოები). ჯგუფებს შორის განსხვავება სტატისტიკურად სარწმუნოა ($P = 0.0067$). მონაცემთა სტატისტიკური ანალიზი განხორციელდა ერთმხრივი დისპერსიული ანალიზით (one-way ANOVA), Šidák-ის პოსტჰოკ ტესტის გამოყენებით.

4.2.2. მორფოლოგიური ექსპერიმენტების შედეგები

კაინის მჟავას ერთჯერადი ინექციის შემდეგ განვითარებული ეპილეფსიური სტატუსით ჰიპოკამპსა და ჰიპოთალამუსში განვითარებული მორფოლოგიური ცვლილებების შესაფასებლად გამოყენებული იქნა შემდეგი ტიპის ჰისტოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური პრეპარატები:

1. უჯრედების საერთო რაოდენობის ცვლილებების შესაფასებლად ჰემატოქსილინ-ეოზინით შეღებილი პრეპარატები;
2. ჰიპოკამპში გაემ-პოზიტიური უჯრედების რაოდენობრივი შეფასების მიზნით - ანტი-GAD65/67 ანტისხეულებით შეღებილი პრეპარატები;
3. ჰიპოთალამუსის ორექსინ-პოზიტიური უჯრედების რაოდენობრივი ცვლილების შესაფასებლად კი - ანტი-ორექსინ A ანტისხეულებით შეღებილი პრეპარატები.

კვლევის საწყის ეტაპზე საკონტროლო ვირთაგვების ჰიპოკამპის ჰემატოქსილინ-ეოზინით შეღებილ პრეპარატებზე შევასეთ მარჯვენა და მარცხენა ჰიპოკამპში უჯრედების საერთო რაოდენობა. ვნახეთ, რომ მარცხენა დაკბილულ ხვეულში უჯრედების საერთო რაოდენობა 13–15%-ით აღემატება მარჯვენა ჰიპოკამპის დაკბილული ხვეულის უჯრედების რაოდენობას (მარცხენა 107.8 vs მარჯვენა 93.8).

საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვებში ერთმანეთთან იქნა შედარებული მარცხენა და მარჯვენა ჰიპოკამპის პირამიდული შრის CA1 და CA3 ველებში უჯრედების საერთო რაოდენობა. აღნიშნულ ველებში ნეირონები განლაგებულია რამდენიმე შრედ, რაც განაპირობებს მათი სტრუქტურული ორგანიზაციის თავისებურებებს. უჯრედების რაოდენობრივმა ანალიზმა აჩვენა, რომ სტატისტიკურად სარწმუნო სხვაობა გამოვლინდა მხოლოდ მარცხენა და მარჯვენა ჰიპოკამპის CA1 ველებს შორის. კერძოდ, მარცხენა ჰიპოკამპის CA1 ველში უჯრედების საერთო რაოდენობა 23%-ით აღემატებოდა მარჯვენა ჰიპოკამპის CA1 ველის შესაბამის მაჩვენებელს (მარცხენა 54.6

vs მარჯვენა 42.4). ამასთან, ვნახეთ, რომ მარცხენა და მარჯვენა ჰიპოკამპის CA3 ველები ერთმანეთისგან არ განსხვავდებოდა უჯრედების საერთო რაოდენობის მიხედვით (მარცხენა 28.6 vs მარჯვენა 29.15).

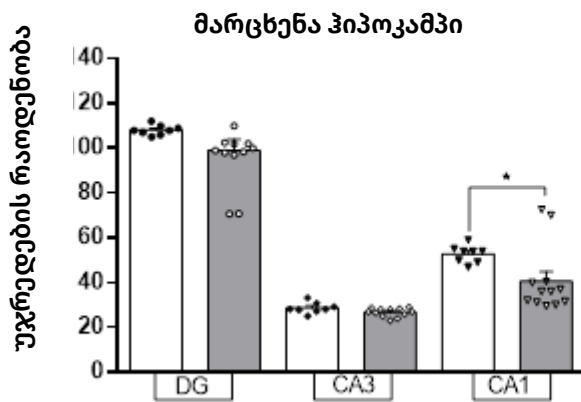
კმ-ეს-ით ინდუცირებული სტრუქტურული ცვლილებები ჰიპოკამპში

ჰიპოკამპში ეპილეფსიური სტატუსით გამოწვეული მორფოლოგიური ცვლილებების შეფასების მიზნით საკონტროლო და კმ-ეს ცხოველებში ერთმანეთს შევადარეთ უჯრედების საერთო რაოდენობა CA1, CA3 ველებსა და დაკბილულ ხვეულში. ვნახეთ, რომ რომ კაინის მჟავას ერთჯერადი ინექციიდან მე-16 დღეს, როგორც მარცხენა, ისე მარჯვენა ჰიპოკამპის დაკბილულ ხვეულში, უჯრედების საერთო რაოდენობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდება საკონტროლო ჯგუფის შესაბამისი ველის უჯრედების რაოდენობისაგან.

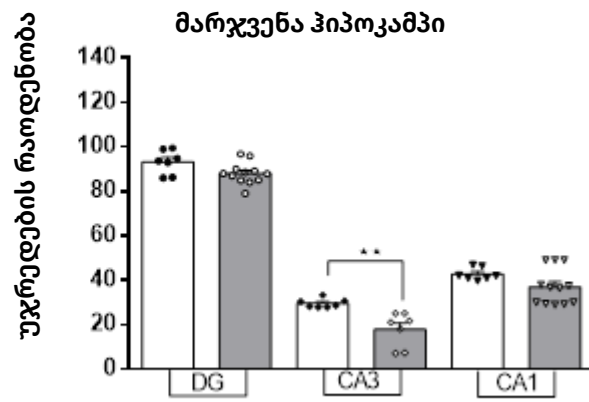
განსხვავებული სურათი ვნახეთ CA1 და CA3 ველის პირამიდული უჯრედების შრეში, სადაც ეპილეფსიური სტატუსის მქონე ცხოველებში გამოვლინდა ძირითადი სტრუქტურული ცვლილებები. კერძოდ, საცდელი ჯგუფის ცხოველებში, კონტროლთან შედარებით, მარცხენა ჰიპოკამპის CA1 ველში უჯრედების საერთო რაოდენობა 31%-ით შემცირდა (52.8 ± 6.7 , ($n = 8$) საკონტროლო vs. 38 ± 2.8 , ($n = 12$) კმ-ეს; $P < 0.05$) (სურ. 29 A), მაშინ როდესაც მარჯვენა ჰიპოკამპის CA1 ველში აღნიშნული მაჩვენებელი უცვლელი დარჩა (სურ. 29 B).

რაც შეეხება CA3 ველს, საცდელი ჯგუფის ცხოველებში მარჯვენა ჰიპოკამპის CA3 ველში უჯრედების საერთო რაოდენობა კონტროლთან შედარებით 41%-ით შემცირდა (29.5 ± 1.1 , ($n = 7$) საკონტროლო vs. 17.3 ± 2.5 , ($n = 12$) კმ-ეს; $P = 0.0022$) (სურათი 29 B), მაშინ როდესაც მარცხენა ჰიპოკამპის შესაბამის ველში ცვლილებები არ გამოვლენილა (სურათი 29 A).

A.

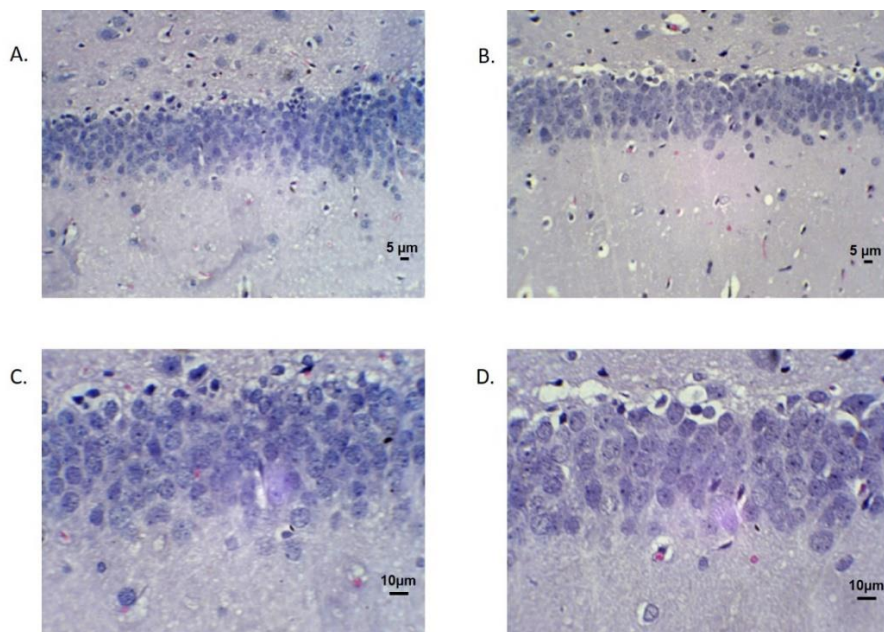


B.



სურათი 29. მარცხენა (ა) და მარჯვენა (ბ) ჰიპოკამპის ველებში ნეირონების საერთო რაოდენობა საკონტროლო (თეთრი სვეტი) და კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის მქონე ცხოველებში (ნაცრისფერი სვეტი). მონაცემები წარმოდგენილია საშუალო მნიშვნელობისა და საშუალოს სტანდარტული შეცდომის ($Mean \pm SEM$) სახით. ორ ჯგუფს შორის სტატისტიკური განსხვავებების შესაფასებლად გამოყენებულ იქნა unpaired Student t-ტესტი.

მიუხედავად იმისა, რომ დაკბილულ ხვეულში უჯრედების საერთო რაოდენობის ცვლილება კმ-ეს ცხოველებში არ გამოვლენილა მორფოლოგიური სურათის ცვლილება მაინც შეინიშნება, კერძოდ საკონტროლო ვირთაგვებში დაკბილული ხვეული ხასიათდებოდა უჯრედების ტიპური შრეობრივი ორგანიზებით და ზომიერად აქტიური ბირთვებით (სურ. 30 A, C), მაშინ როცა კმ-ეს ცხოველებში აღნიშნული შრეობრივი ორგანიზაცია თვალსაჩინოდ იყო დარღვეული (სურ. 30 B, D). და აღინიშნებოდა ბირთვების კონდენსაციის შედარებით დაბალი ხარისხი.



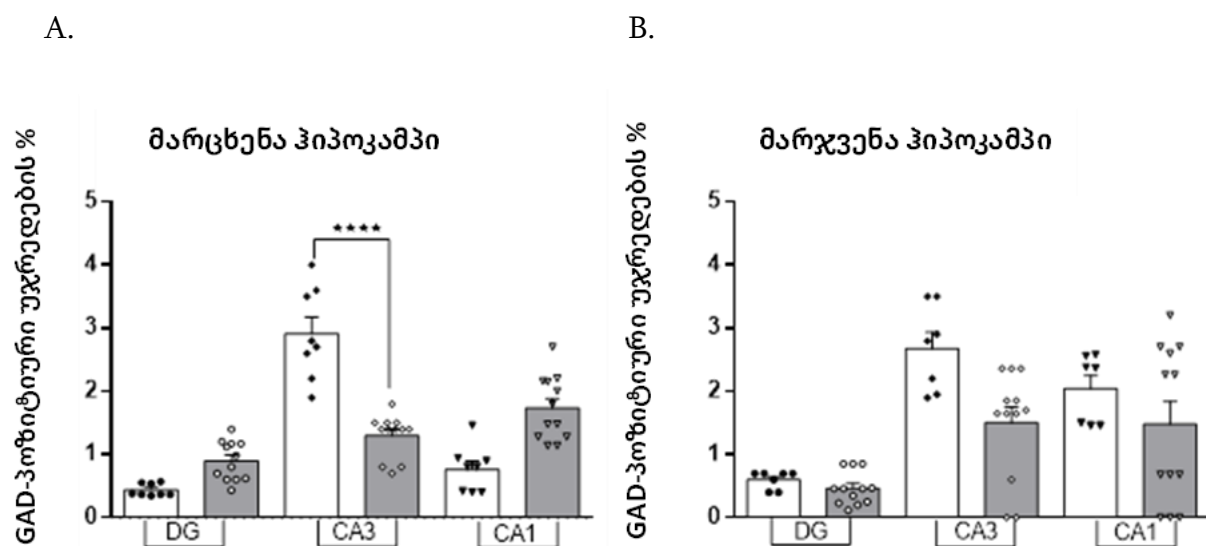
სურათი 30. დაკბილულ ხვეულში (მარცხენა ჰიპოკამპი) გამოვლენილი მორფოლოგიური ცვლილებები საკონტროლო და კაინის მჟავით ინდუცირებული ეპილეფსიური სტატუსის მქონე ცხოველებში. (A, C) საკონტროლო ჯგუფის მიკროფოტოები; (B, D) კმ-ეს ცხოველების მიკროფოტოები. გადიდება: A და B პანელები – 100X (ხედვის ველი, FOV – 1000 μm), ხოლო C და D პანელები – 200X (FOV – 500 μm).

კვლევის შემდგომ ეტაპზე გაემ-პოზიტიური ნეირონების რაოდენობრივი შეფასების მიზნით ჩატარდა საკონტროლო ჯგუფისა და კმ-ეს ცხოველების მარჯვენა და მარცხენა ჰიპოკამპის დაკბილული ხვეულისა და CA1 და CA3 ველების იმუნოჰისტოქიმიური კვლევა. აღნიშნული მიზნით ჰიპოკამპის ანატომები შეიღება ანტი-GAD65/67 პირველადი ანტისხეულით და anti-Rabbit IgG მეორადი ანტისხეულით.

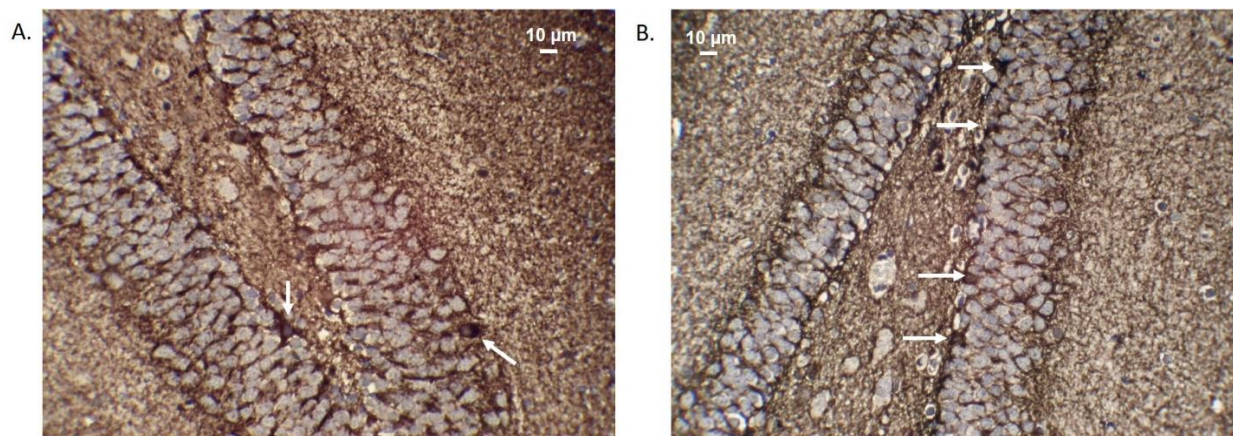
საკონტროლო ჯგუფში ჰიპოკამპის მარჯვენა და მარცხენა CA1 ველებსა და დაკბილულ ხვეულში ვნახეთ განსხვავება GAD-პოზიტიური ნეირონების რაოდენობაში (სურ. 31). კერძოდ, მარჯვენა ჰიპოკამპის შესაბამის უბნებში მათი რაოდენობა უფრო მაღალი იყო მარცხენა მხარესთან შედარებით.

კმ-ეს მქონე ცხოველებში მარცხენა CA3 ველში აღინიშნა GAD-პოზიტიური ნეირონების რაოდენობის სტატისტიკურად სარწმუნო შემცირება ($1.3 \pm 0.4\%$ კმ-ეს-ში v.s $2.9 \pm 0.4\%$ საკონტროლოში ($P < 0.0001$) (სურ. 31 A), რაც მიუთითებს შემაკავებელი ნეირონული პოპულაციის მნიშვნელოვან შემცირებაზე აღნიშნულ უბანში.

ამასთან, კმ-ეს ჯგუფის ცხოველებში მარცხენა CA1 ველსა და დაკბილულ ხვეულში დაფიქსირდა GAD-პოზიტიური ნეირონების რაოდენობის ზრდის ტენდენცია, თუმცა აღნიშნული ცვლილება სტატისტიკურად სარწმუნო არ იყო (სურ. 31A, 32 B).



სურათი 31. მარცხენა (ა) და მარჯვენა (ბ) ჰიპოკამპში GAD-დადებითი ნეირონების პროცენტული თანაფარდობა საკონტროლო ჯგუფის (თეთრი სვეტი) და კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის მქონე ვირთაგვების (ნაცრისფერი სვეტი) შემთხვევაში. მონაცემები წარმოდგენილია საშუალო მნიშვნელობისა და საშუალოს სტანდარტული შეცდომის ($Mean \pm SEM$) სახით. ორ ჯგუფს შორის სტატისტიკური განსხვავებების შესაფასებლად გამოყენებულ იქნა unpaired Student t-ტესტი.



სურათი 32. საკონტროლო ჯგუფის (A) და კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის მქონე ვირთაგვების (B) მარცხენა ჰიპოკამპის დაკბილული ფასციის მიკროფოტოსურათები. შავი ისრებით მონიშნულია GAD-დადებითი ნეირონები (გადიდება 100×, ხედვის ველი - 1000 მკმ).

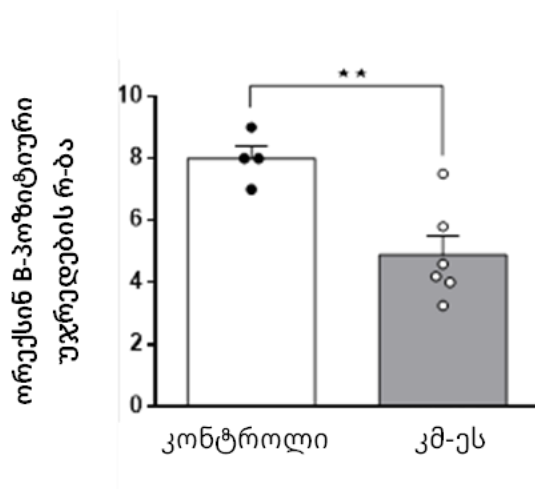
მორფოლოგიურმა კვლევებმა აჩვენა, რომ კაინის მჟავას სისტემური შეყვანა, რომელიც იწვევს ცხოველებში ეპილეფსიური სტატუსის ჩამოყალიბებას, მნიშვნელოვნად აზიანებს ჰიპოკამპის ძირითადი ნეირონების მორფოლოგიურ სტრუქტურას. კერძოდ, ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდული უჯრედების შრეში აღინიშნება ნეირონთა შრეობრივი განლაგების დარღვევა, აგრეთვე მათი საერთო რაოდენობის შემცირება.

ამასთანავე, კმ-ეს მქონე ცხოველების დაკბილულ ფასციაში დარღვეულია ზომიერად აქტიური ბირთვების მქონე ნეირონების ტიპური, ორგანიზებული შრეობრივი განლაგება და ბირთვების კონდენსაციის ხარისხის დაქვეითება, რაც მიუთითებს უჯრედული სტრუქტურის დაზიანებასა და ნეირონული დეგენერაციის პროცესებზე. ჰიპოკამპის იმუნოჰისტოქიმიურმა კვლევამ კი აჩვენა მარცხენა CA3 ველში GAD-პოზიტიური ნეირონების რაოდენობის სტატისტიკურად სარწმუნო შემცირება.

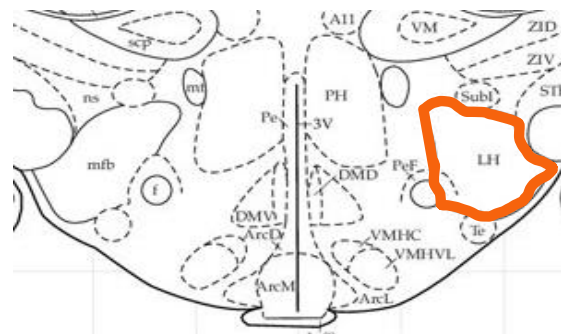
კმ-ეს ინდუცირებული მორფოლოგიური ცვლილებები ჰიპოთალამუსში

ჰიპოკამპური ფორმაციის მორფოლოგიური ცვლილებების შეფასების პარალელურად განხორციელდა ჰიპოთალამუსის ანათომიის იმუნოციტოქიმიური ანალიზი, რომელმაც გამოავლინა კმ-ეს-ით ინდუცირებული ორექსინერგული ნეირონების შერჩევითი შემცირება. კერძოდ, კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის მქონე ცხოველებში ორექსინ-B დადებითი ნეირონების რაოდენობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ შემცირებული იყო საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (5 ± 0.7 კმ-ეს, 8 ± 0.5 კონტროლი; $P < 0.005$) (სურ. 33 A, D). ორექსინ-A დადებითი ნეირონების რაოდენობაში საკონტროლო და კმ-ეს ჯგუფებს შორის სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება არ დაფიქსირებულა.

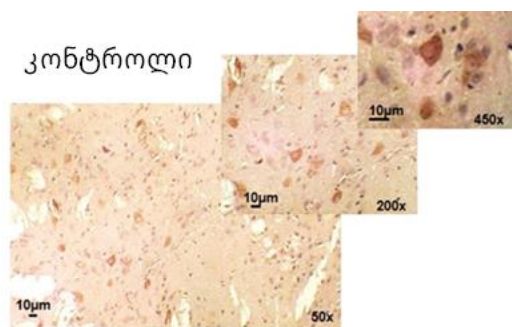
A.



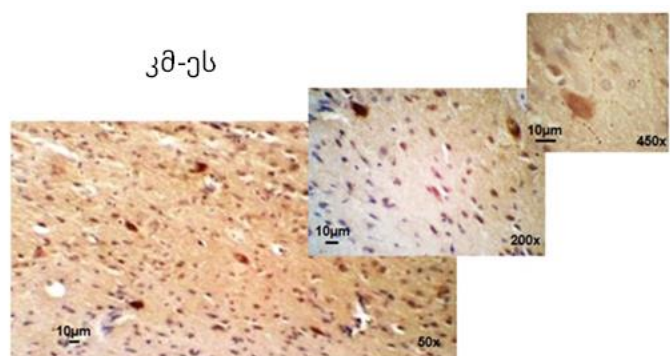
B.



C.



D.



სურ. 33. კანის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის შედეგად ჰიპოთალამუსში ორექსინ-B დადებითი ნეირონების რაოდენობის ცვლილება.

A. ჰისტოგრამები ასახავს ორექსინ-B დადებითი ნეირონების რაოდენობის შემცირებას KA-SE ჯგუფის ცხოველებში (ნაცრისფერი სვეტი) საკონტროლო ჯგუფთან (თეთრი სვეტი) შედარებით. მონაცემები წარმოდგენილია საშუალო მნიშვნელობისა და საშუალოს სტანდარტული ცდომილების ($Mean \pm SEM$) სახით. ორ ჯგუფს შორის სტატისტიკური განსხვავებების შესაფასებლად გამოყენებულ იქნა unpaired Student t-ტესტი.

B. ვირთავკას ტვინის კორონალური ჭრილის სქემატური გამოსახულება ორექსინ-დადებითი ნეირონების ღებვის არე მონიშნულია ფერადი ხაზით. ანტერო-პოსტერიორული კოორდინატები Bregma – 3.60 მმ. C, D. იმუნოციტოქიმიურად შეღებილი ორექსინ-B დადებითი ნეირონების მიკროფოტოები საკონტროლო (C) და კმ-ეს ჯგუფის (D) ცხოველებიდან (გადიდება: 50x, ხედვის არე - 2000 μ მ; 200x, ხედვის არე - 500 μ მ; 450x, ხედვის არე - 250 μ მ). ატლასის წყარო: Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Elsevier, 2006.

4.2.3 In vivo ელექტროფიზიოლოგიური კვლევის შედეგები (კმ-ეს მოდელში)

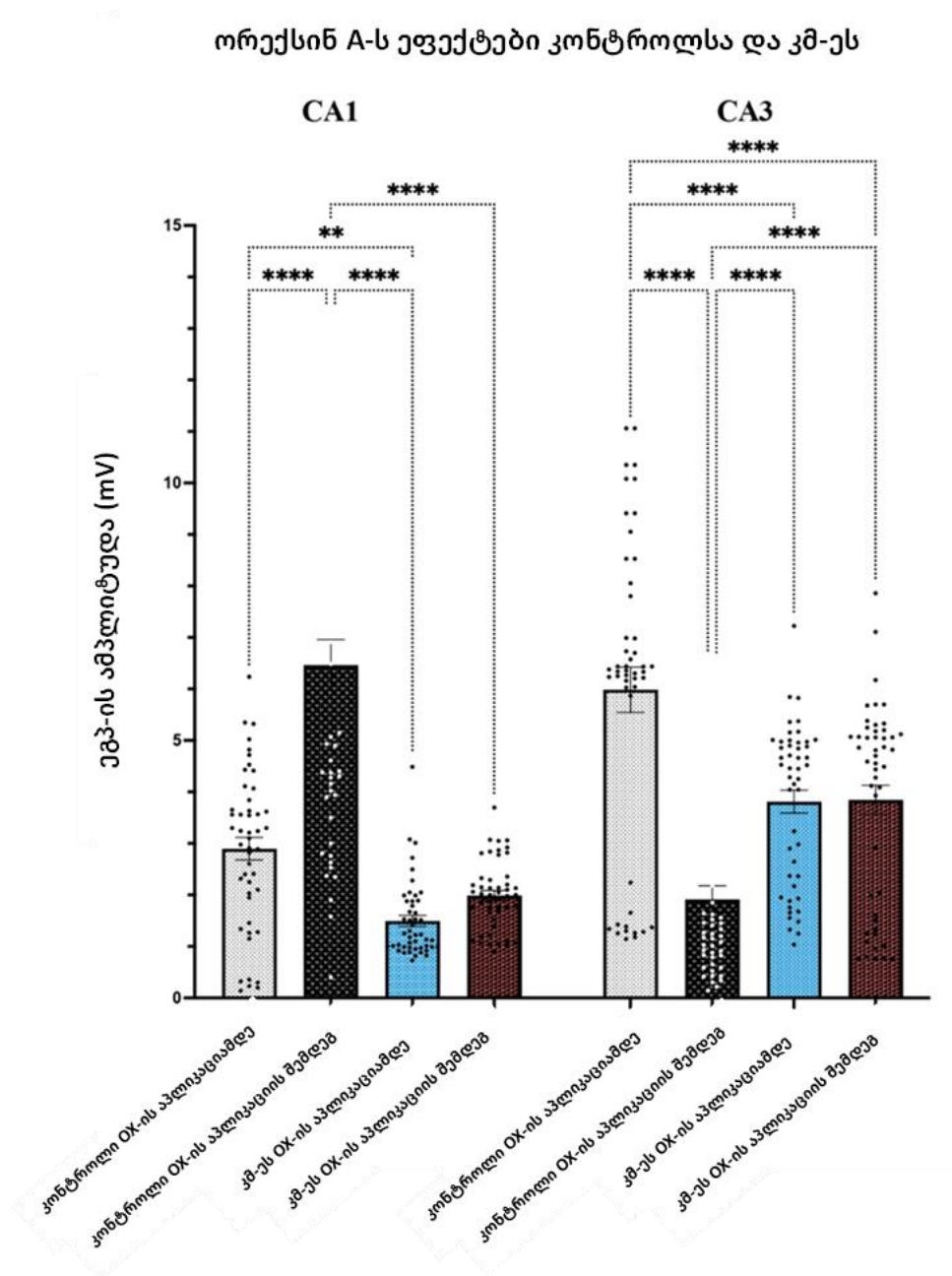
ჰიპოკამპის ველებში ფონური ელექტრული აქტივობის რეგისტრაცია ხორციელდებოდა ვირთაგვების თავის ტვინში ელექტროდების სტერეოტაქსული იმპლანტაციიდან 1 საათის განმავლობაში. მინიმუმ 1 საათიანი სტაბილური ფონური ჩანაწერის მიღების შემდეგ, ლატერალური პარაკუჭის პროექციაზე წინასწარ მომზადებული სააპლიკაციო ხვრელის საშუალებით ვახდენდით ორექსინ-A-ს ინტრავენტრიკულურ შეყვანას (10 მკგ, გახსნილი 10 მკლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში), ქემიტროდის გამოყენებით, მანუალურად. ორექსინ-A-ს ორჯერადი შეყვანა (ჯამური მოცულობა 20 მკლ) ხორციელდებოდა ნელი ტემპით, რათა თავიდან აგვეცილებინა პარაკუჭში სითხის მოცულობის სწრაფი მატებით გამოწვეული არასასურველი ჰემოდინამიკური და მექანიკური ეფექტები.

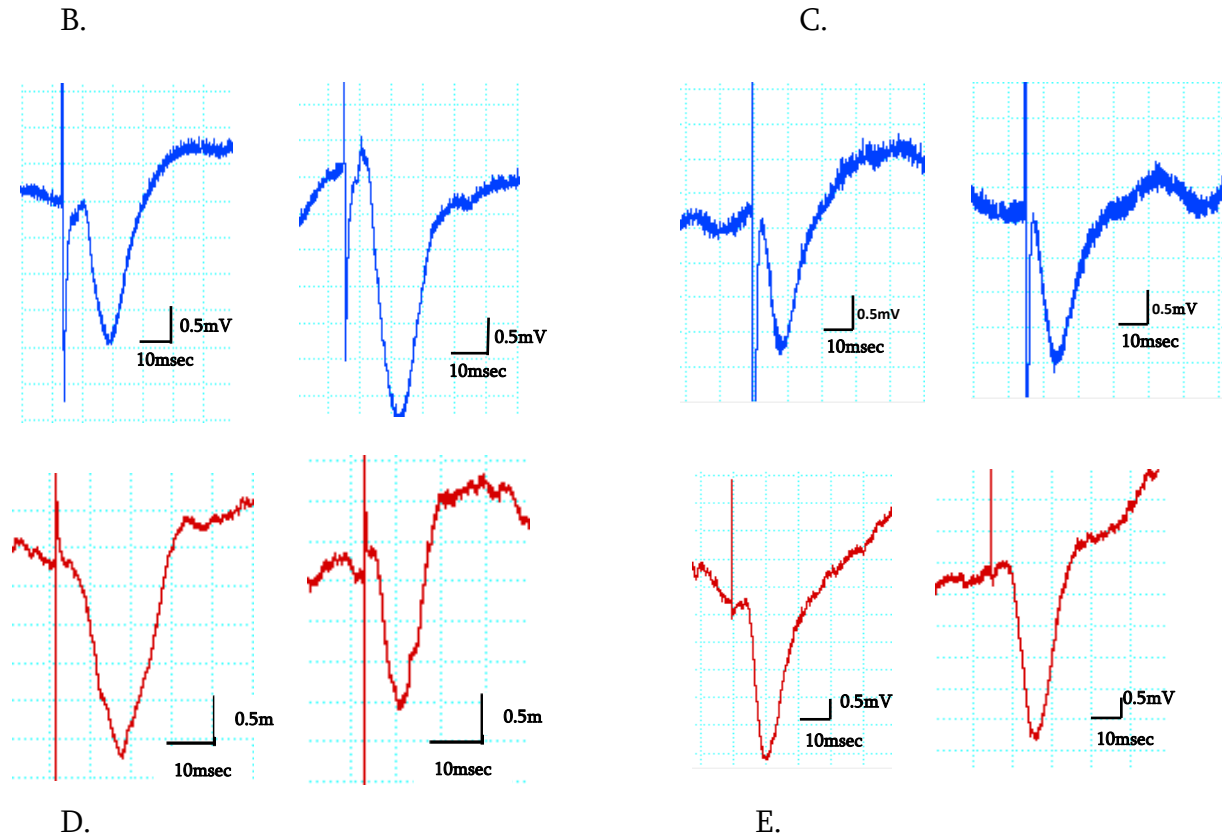
კმ-ეს-ით განპირობებული ცვლილებები ჰიპოკამპის ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეულ ერთხელობრივ პასუხებზე

საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით, ერთჯერადი ინტრაჰიპოკამპური ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეული პასუხის ამპლიტუდა კმ-ეს მქონე ცხოველების ჰიპოკამპის CA1 ველში სტატისტიკურად სარწმუნოდ მცირდებოდა (კონტროლში 2.31 ± 0.5 მვ; $n=24$ vs კმ-ეს 1.46 ± 0.1 მვ; $n=24$; $P<0.05$) (სურ. 34 A).

განსხვავებული სურათი გამოვლინდა კმ-ეს მქონე ვირთაგვების CA3 ველში, სადაც ეპილეფსიურმა სტატუსმა არ გამოიწვია სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილება ელექტრულად გამოწვეული პოტენციალების (EEP) ამპლიტუდაში, საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით (5.27 ± 0.8 მვ; $n=38$ კონტროლში 3.78 ± 0.254 მვ; $n=35$) (სურ. 34 A).

A.





სურათი 34. კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსისა და ორექსინ-A-ს ინტრავენტრიკულური აპლიკაციის ეფექტები ერთჯერადი ინტრაჰიპოკამპური სტიმულაციით გამოწვეული პასუხების ამპლიტუდაზე. A. CA1 და CA3 ველები. B და C. ორიგინალური ჩანაწერები ასახავს ორექსინ-A-ს ეფექტს საკონტროლო და კმ-ეს მქონე ცხოველების CA1 ველში გამოწვეულ პასუხებზე, შესაბამისად, აპლიკაციამდე (მარცხენა პასუხი) და აპლიკაციის შემდეგ (მარჯვენა პასუხი). D და E. ორიგინალური ჩანაწერები ასახავს ორექსინ-A-ს ეფექტს საკონტროლო და კმ-ეს მქონე ცხოველების CA3 ველში გამოწვეულ პასუხებზე, შესაბამისად, აპლიკაციამდე (მარცხენა პასუხი) და აპლიკაციის შემდეგ (მარჯვენა პასუხი). კალიბრაცია: 0.5 მვ, 10 მწმ. ჰისტოგრამებზე მონაცემები წარმოდგენილია საშუალო მნიშვნელობისა და საშუალოს სტანდარტული შეცდომის ($Mean \pm SEM$) სახით. სტატისტიკური ანალიზისთვის გამოყენებული იყო ერთფაქტორიანი ANOVA სიდაკის პოსტ-ჰოკ ტესტით (** $P < 0.005$, *** $P < 0.0005$, **** $P < 0.0001$).

ორექსინ - A -ს ეფექტების შეფასება ჰიპოკამპში ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეულ ერთხელობრივ პასუხებზე

ვნახეთ, რომ საკონტროლო ცხოველებში ორექსინ-A-მ მნიშვნელოვნად გაზარდა გამოწვეული პასუხების ამპლიტუდა CA1 ველში (აპლიკაციამდე 2.31 ± 0.5 მვ ($n=38$), აპლიკაციის შემდეგ 6.42 ± 0.67 მვ ($n=23$), $P=0.0005$) (სურ. 34 A, B) და შეამცირა იგი CA3 ველში (აპლიკაციამდე 5.27 ± 0.8 მვ ($n=38$), აპლიკაციის შემდეგ 1.99 ± 0.2 მვ ($n=33$), $P=0.0006$) (სურ. 34 A, D). კაინის მქავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის მქონე ცხოველებში, კი ორექსინ-A-მ არც CA1 და არც CA3 ველში ელექტრულად გამოწვეულ პასუხებზე სარწმუნო გავლენა არ მოახდინა (სურ. 34 A, C; E).

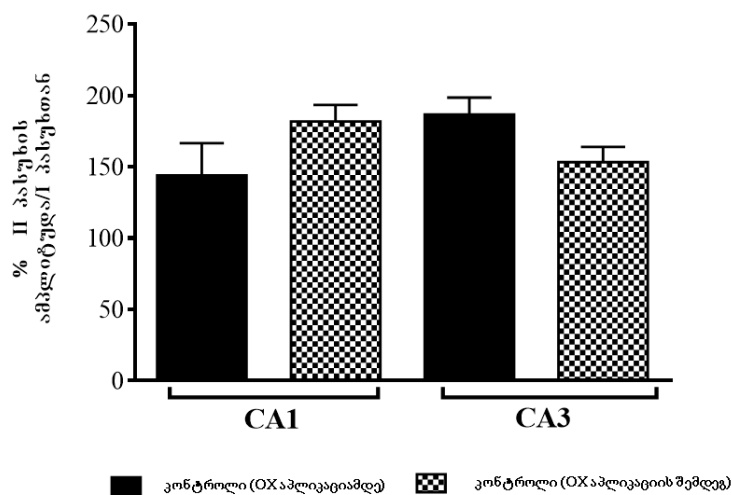
ორექსინ-A-ს ეფექტი შესაძლოა განპირობებული იყოს როგორც OXR1, ისე OXR2 რეცეპტორების აქტივაციით. საკონტროლო ჯგუფში ორექსინ-B-თი ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა არც CA1 ველში (აპლიკაციამდე 2.732 ± 0.054 მვ ($n=8$), აპლიკაციის შემდეგ 2.393 ± 0.241 მვ ($n=10$)) და არც CA3 ველში (აპლიკაციამდე 1.394 ± 0.074 მვ ($n=8$), აპლიკაციის შემდეგ 1.425 ± 0.066 მვ ($n=10$)) სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილებები არ გამოავლინა; აღნიშნული შედეგები მიუთითებს, რომ ჩვენს ექსპერიმენტულ მოდელში, სავარაუდოდ, ორექსინის ეფექტები განპირობებულია პირველი ტიპის რეცეპტორების OX1R აქტივაციით. თუმცა რეცეპტორული მექანიზმების საბოლოო დაზუსტებისა და მათი წვლილის სრულად განსაზღვრისათვის აუცილებელია დამატებითი კვლევების ჩატარება.

ორექსინი-A-ს ეფექტები CA1/ CA3 ველებში წყვილად გაადვილებაზე

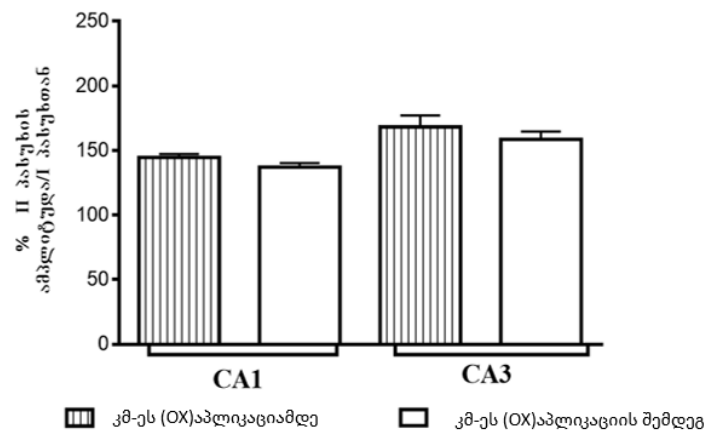
საკონტროლო და კმ-ეს-ით ვირთაგვების CA1 და CA3 ველებში წყვილად გაადვილების ტესტის მონაცემთა ანალიზმა აჩვენა, რომ ორექსინ-A არ ცვლის წყვილად გაადვილების პროცენტულ მაჩვენებელს; საკონტროლო ჯგუფში, CA1 ველში მეორე სტიმულზე პასუხის ამპლიტუდა გაიზარდა $144.1 \pm 25.0\%$ -ით ($n=33$) აპლიკაციამდე და $181.8 \pm 18.8\%$ -ით ($n=37$) ორექსინ-A-ს აპლიკაციის შემდეგ. CA3 ველში აღნიშნული ზრდა, შესაბამისად, შეადგენდა $186.6 \pm 18.5\%$ -ს ($n=38$) აპლიკაციამდე და $153.2 \pm 17.4\%$ -ს ($n=38$) აპლიკაციის შემდეგ.

კმ-ეს ვირთაგვების ჰიპოკამპის CA1 ველში მეორე პასუხის ამპლიტუდის ზრდა შეადგენდა $144.6 \pm 3.1\%$ -ს აპლიკაციამდე და $137.2 \pm 3.5\%$ -ს აპლიკაციის შემდეგ ($n=29$), ხოლო CA3 ველში შესაბამისი მაჩვენებლები იყო $168.3 \pm 6.2\%$ ($n=26$) აპლიკაციამდე და $158.5 \pm 5.3\%$ ($n=15$) აპლიკაციის შემდეგ (სურ 35 A, B).

A.



B.



სურ. 35. ორექსინი-A-ს ეფექტები წყვილადი გაადვილების პროცენტულ მაჩვენებელზე ჰიპოკამპის ველებში. ჰისტოგრამები გამოხატავს წყვილადი გაადვილების პროცენტული მაჩვენებლების საშუალო მნიშვნელობებს + საშუალო სტანდარტული გადახრებით (გაანალიზდა 2 წმ-იანი ჩანაწერები) საკონტროლო (A) და კმ-ეს-ით (B) ვირთაგვებში.

4.2.4. *In vivo* ელექტროფიზიოლოგიურ ექსპერიმენტები (მაღალსიხშიროვანი ელექტრული სტიმულაციის მოდელი)

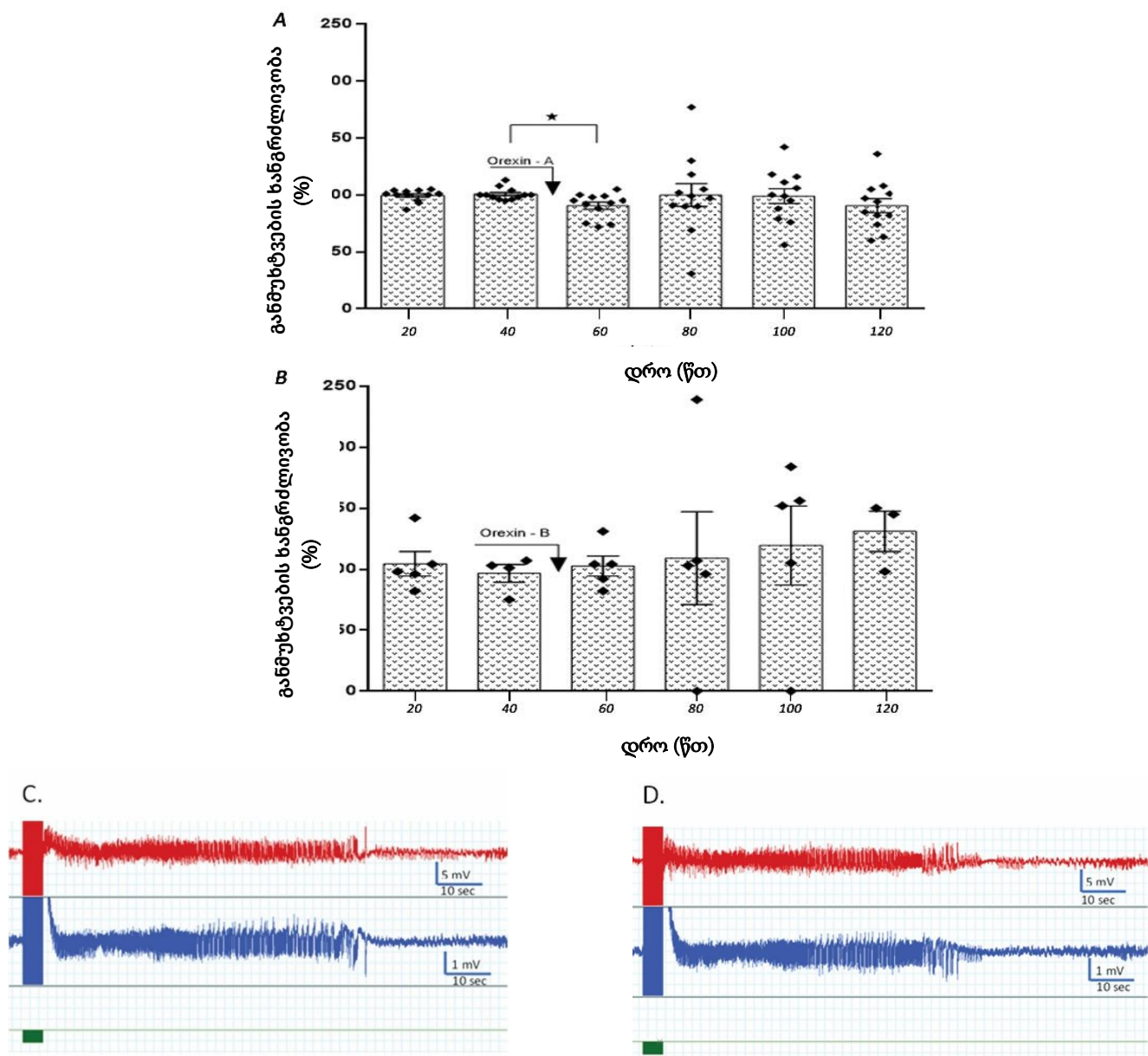
კვლევის მომდევნო ეტაპზე შევაფასეთ ორექსინების გავლენა ჰიპოკამპის ეპილეფტიფორმულ აქტივობაზე მწვავე *in vivo* ექსპერიმენტებში. ეპილეფტიფორმული აქტივობის ინიცირებისთვის გამოყენებულ იქნა ჰიპოკამპის CA1 ველის მაღალსიხშიროვანი ელექტრული სტიმულაცია, ხოლო ეგზოგენური ორექსინების ეფექტები შეფასდა პარკუჭშიდა და ქერქული აპლიკაციის პირობებში.

მაღალსიხშიროვანი ელექტრული სტიმულაციის გავლენა ჰიპოკამპის CA1 ველის ფონურ ელექტრულ აქტივობაზე

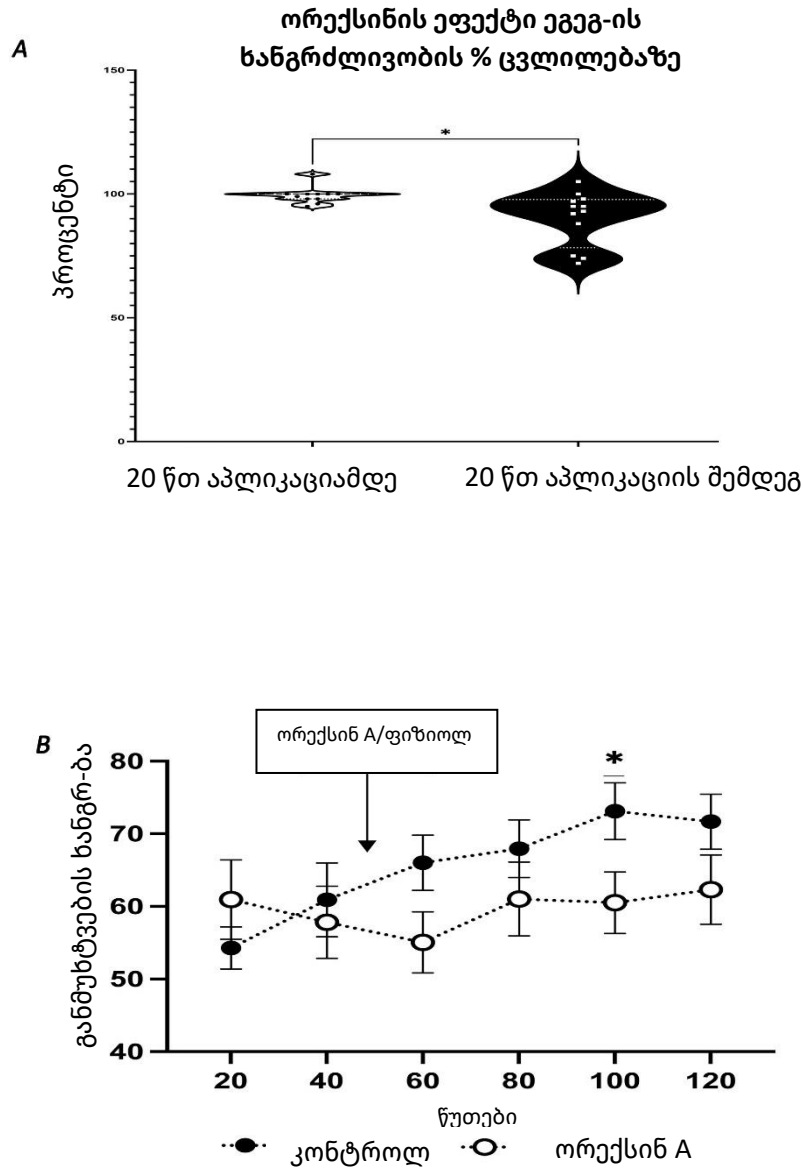
ჰიპოკამპის CA1 ველის მაღალსიხშიროვანი ელექტრული სტიმულაცია იწვევდა ეპილეფტიფორმულ განმუხტვებს, რომელთა ხანგრძლივობა საშუალოდ 30–100 წმ-ის ფარგლებში მერყეობდა. არ გაანალიზებულა იმ ცხოველთა შედეგები, რომლებშიც ელექტრულად გამოწვეული ეპილეფტიფორმული განმუხტვები (ეგეგ) აღნიშნულ დიაპაზონს სცდებოდა, კერძოდ: იყო 30 წმ-ზე ხანმოკლე ან 100 წმ-ზე ხანგრძლივი. სტიმულაციის საშუალო ინტენსივობა შეადგენდა 5–6 ვ-ს, ხოლო გამოწვეული განმუხტვების საშუალო ხანგრძლივობა იყო 67.8 ± 4.9 წმ ($n = 13$). საკონტროლო ვირთაგვებში განმეორებითმა მაღალსიხშიროვანმა ელექტრულმა სტიმულაციამ (მსეს) გამოიწვია განმუხტვების ხანგრძლივობის პროგრესული, სტიმულაციაზე დამოკიდებული ზრდა: პირველი სტიმულაციით გამოწვეული განმუხტვების ხანგრძლივობა 53.9 ± 4.8 წმ მე-100-ე წუთზე გაიზარდა 73.1 ± 6.8 წმ-მდე ($n = 13$; სურ. 37 B), რაც აჩვენებს ჰიპოკამპური ნეირონული ქსელის აქტივობაზე დამოკიდებულ პლასტიურ ცვლილებებს.

ორექსინ-A-სა და B-ს ინტრავენტრიკულური აპლიკაციის ეფექტი ეპილეფტიფორმული განმუხტვების ხანგრძლივობაზე

ორექსინ-A-სა და B-ს ინტრავენტრიკულური ადმინისტრაციის ეფექტი ელექტრულად გამოწვეულ ეპილეფტიფორმულ განმუხტვებზე შეფასდა 20-წუთიანი ინტერვალებით, 100-წუთიანი რეგისტრაციის პერიოდში. ორექსინ-A-მ გამოიწვია განმუხტვების ხანგრძლივობის გარდამავალი, მაგრამ სტატისტიკურად სარწმუნო შემცირება, რაც აპლიკაციიდან 20 წუთის შემდეგ განმუხტვების ხანგრძლივობის დაახლოებით 10%-იან კლებაში გამოვლინდა (აპლიკაციამდე - $99.45 \pm 1.003\%$, $n = 11$; აპლიკაციის შემდეგ - $90.33 \pm 3.149\%$, $n = 12$; $P < 0.05$) (სურ. 36 A, D; 37 A). განმეორებითი მსეს-ს ფონზე საკონტროლო ცხოველებში ვნახეთ განმუხტვების ხანგრძლივობის პროგრესული, სტიმულაციაზე დამოკიდებული ზრდა. ორექსინ-A-ს აპლიკაციის შემდეგ კი მსგავსი პროგრესული ზრდა აღარ დაფიქსირებულა. გამოწვეული განმუხტვების ხანგრძლივობას შორის საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება გამოვლინდა ორექსინ-A-ს აპლიკაციიდან დაახლოებით 60 წუთის შემდეგ (სურ. 37 B).



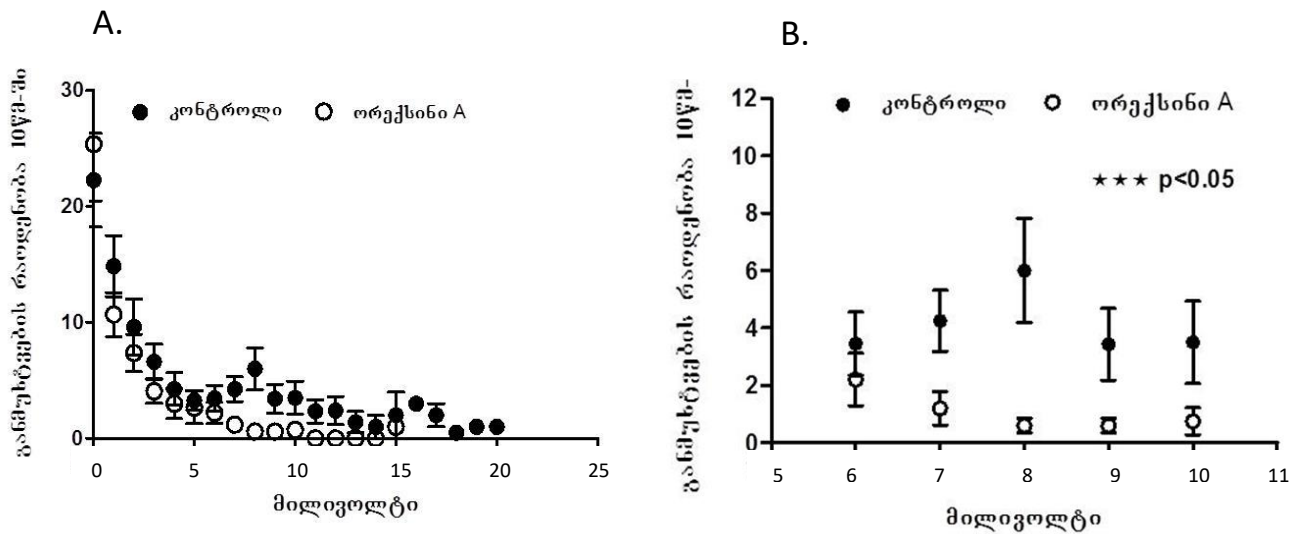
სურ. 36. ორექსინების გავლენა ეპილეფტიფორმული განმუხტვების ხანგრძლივობაზე. (A) ორექსინ-A-ს და (B) ორექსინ-B-ის ინტრავენტრიკულური ადმინისტრაციის ეფექტი ეპილეფტიფორმული განმუხტვების ხანგრძლივობის ფონთან მიმართებით პროცენტულ ცვლილებაზე. ჰისტოგრამები წარმოდგენილია საშუალო მნიშვნელობების სახით $\pm$ SEM. (C–D) ეპილეფტიფორმული განმუხტვების ორიგინალური ჩანაწერები: (C) ორექსინ-A-ს ადმინისტრაციამდე და (D) მისი ადმინისტრაციის შემდეგ. კალიბრება: წითელი კვალი – 5 mV, 10 წმ; ლურჯი კვალი – 1 mV, 10 წმ.



სურათი 37. (A) ვიოლინოს გრაფიკები ასახავს ორექსინ-A-ს ინტრავენტრიკულური აპლიკაციის ეფექტს ეპილეფტიფორმული განმუხტვების ხანგრძლივობის პროცენტულ ცვლილებაზე ადმინისტრაციიდან 20 წუთის შემდეგ. ორ ჯგუფს შორის სტატისტიკური განსხვავებების შესაფასებლად გამოყენებულია *unpaired t*-ტესტი ($* P < 0.05$). (B) სუმა რული მრუდი ასახავს განმუხტვების ხანგრძლივობის დინამიკას საკონტროლო და ორექსინ-A-ს ადმინისტრირებულ ჯგუფებში. სტატისტიკური ანალიზისთვის გამოყენებულია ორფაქტორიანი ANOVA არაკორექტირებული Fisher-ის LSD ტესტით ($* P < 0.05$).

ორექსინ-A/B-ის ქერქული აპლიკაციის ეფექტი მაღალსიხშიროვანი ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეულ ეპილექტიფორმულ განმუხტვებზე ჰიპოკამპის CA1 ველში

ჰიპოკამპში ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეულ ეპილექტიფორმულ განმუხტვებზე ორექსინების ქერქული ადმინისტრაციის ეფექტის შესაფასებლად, ნივთიერებები დავიტანეთ ქერქზე, შუბლის წილზე. მიღებული შედეგების ანალიზმა აჩვენა, რომ არც ორექსინ-A-ს (აპლიკაციამდე - $100.7 \pm 1.529\%$, $n = 12$; აპლიკაციის შემდეგ - $98.83 \pm 6.518\%$, $n = 12$; $P = 0.786$) და არც ორექსინ-B-ს (აპლიკაციამდე - $91.40 \pm 2.542\%$, $n = 5$; აპლიკაციის შემდეგ - $102.6 \pm 8.207\%$, $n = 5$; $P = 0.228$) არ გამოუწვევიათ ჰიპოკამპში ეპილექტიფორმული განმუხტვების ხანგრძლივობის სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილებები აპლიკაციამდე დაფიქსირებულ პასუხებთან შედარებით. თუმცა, ორექსინ-A-ს კორტიკალურმა ადმინისტრაციამ შერჩევითად შეამცირა ეპილექტიფორმული აქტივობის 10-წამიან მონაკვეთებში დაფიქსირებული მაღალი ამპლიტუდის (7–10 მვ) პოპულაციური სპაიკების რაოდენობა (4.3 ± 1.2 აპლიკაციამდე; 0.98 ± 0.2 აპლიკაციის შემდეგ; $n = 15$; n აღნიშნავს გაანალიზებული მონაკვეთების რაოდენობას) (სურ. 38).



სურათი 38. ორექსინ-A-ს ქერქული აპლიკაციის ეფექტი მაღალი ამპლიტუდის პოპულაციური სპაიკების რაოდენობაზე. (A) სხვადასხვა ამპლიტუდის პოპულაციური სპაიკების რაოდენობა ორექსინ-A-ს აპლიკაციამდე (შავი რგოლები) და აპლიკაციის შემდეგ (თეთრი რგოლები); (B) პანელ A-ს გადიდებული ფრაგმენტი, სადაც ნაჩვენებია ამპლიტუდის ის დიაპაზონი, რომლებშიც გამოვლინდა სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება საკონტროლო და საცდელ ჯგუფს შორის.

4.3 კვლევის მთავარი მიგნებები

1. *in vitro* ექსპერიმენტებში ჰიპოკამპის ველების ელექტრულ აქტივობაზე ორექსინ A-ს ეფექტებია:

CA1 ველში:

- ეპილეფსიის ბიკუკულინის მოდელში პოპ-სპაიკების მრავლობითი განმუხტვების ამპლიტუდისა და ხანგრძლივობის შემცირება;
- სპონტანური ეპილეფტიფორმული განმუხტვების ინჰიბირება;
- იზოლირებული NMDA პასუხების ნელა განვითარებადი, ხანგრძლივი დეპრესია;
- ველის პოტენციალების II პოპ-სპაიკის ხანგრძლივი ინჰიბირება;

CA3 ველში:

- ზალპური ნეირონების აქტივობის რეგულირება (მდუმარე ნეირონების აქტივაცია და ჰიპერაქტიური ნეირონების შეკავება).

2. *In Vivo* ელექტროფიზიოლოგიურ ექსპერიმენტებში კმ-ეს მოდელში ორექსინ - A-ს ეფექტები:

- საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში CA1 ველში ზრდის, ხოლო CA3 ველში ამცირებს ერთხელობრივი ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეული პასუხების ამპლიტუდას, რაც აღარ აღინიშნებოდა კმ-ეს ცხოველებში;
- არ აქვს გავლენა წყვილადი გაადვილების პროცენტულ მაჩვენებელზე როგორც საკონტროლო ისე კმ-ეს-ის ცხოველებში, რაც მისი მოქმედების პოსტსინაფსურ ლოკუსზე მიუთითებს.

კმ-ეს-ით გამოწვეული ცვლილებები:

- CA1 ველში ამცირებს ერთხელობრივი ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეული პასუხების ამპლიტუდას;

- იწვევს ჰიპოკამპსა და ჰიპოთალამუსში მორფოლოგიურ ცვლილებებს: მარჯვენა CA1 ველში პირამიდული ნეირონების, მარცხენა ჰიპოკამპის CA3 ველში GAD-პოზიტიური და პირამიდული ნეირონების, აგრეთვე ჰიპოთალამუსში ორექსინ-პოზიტიური ნეირონების რაოდენობის შემცირებას.
- იწვევს ქცევით და კოგნიტურ დარღვევებს.

3. ორექსინ-A-ს აპლიკაციის ლოკუსზე დამოკიდებული ეფექტები მსეს-ით ინდუცირებულ ეპილეფტიფორმულ განმუხტვებზე ჰიპოკამპში

- ინტრავენტრიკულური ადმინისტრირება ამცირებს ეპილეფტიფორმული განმუხტვების ხანგრძლივობას.
- ქერქული აპლიკაცია შერჩევითად ამცირებს მაღალამპლიტუდური ეპილეფტიფორმული განმუხტვების რაოდენობას.

თავი V

5. მსჯელობა

თავის ტვინის ორექსინერგული სისტემის ჩართულობა დასწავლა/მეხსიერების ნეირობიოლოგიურ მექანიზმებში არაერთი ექსპერიმენტული კვლევით არის დადასტურებული (Aou et al., 2003; Zhao et al., 2014c), რაც აღნიშნული სისტემის ჰიპოკამპთან დაკავშირებული ფუნქციების რეგულაციაში ჩართულობაზე მიუთითებს. ეპილეფსიის ბიკუკულინის In Vitro მოდელში ორექსინ-A ჰიპოკამპის ანათლებში იწვევს “პათოლოგიური” პოპულაციური სპაიკის დამატებით განმუხტვების (პოპ-სპაიკის II კომპონენტი) ამპლიტუდის ხანგრძლივ დეპრესიას. პოპ-სპაიკზე დამატებითი განმუხტვების გენერაცია უმეტეს წილად NMDA რეცეპტორების აქტივაციით არის განპირობებული. ეპილეფსიის პათოგენეზში NMDA რეცეპტორების დისფუნქცია მრავალი კვლევით არის ნაჩვენები (Ghasemi et al., 2024; Ghasemi & Schachter, 2011).

ჰიპოკამპში მიმდინარე სინაფსურ პლასტიკურობაში ნორადრენერგული სისტემის მნიშვნელოვანი როლი კარგად არის დადასტურებული. ასევე შესწავლილია ნორადრენალინის ანტიეპილეფსიური ეფექტებიც (Alachkar et al., 2019; Jurgens et al., 2007; Rezaei et al., 2023). პოპ-სპაიკის დამატებით განმუხტვებზე ორექსინ-A-ს ეფექტებში ნორადრენერგული გზების შესაძლო ჩართულობის შესაფასებლად გამოვიყენეთ ეგზოგენური ნორადრენალინი და მისი α_2 -რეცეპტორების აგონისტი - კლონიდინი. მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა, რომ როგორც ნორადრენალინი, ისე კლონიდინი იმეორებს ორექსინ-A-ს ეფექტს, რაც α_2 -ადრენორეცეპტორების მონაწილეობაზე მიუთითებს. ორექსინისა და კლონიდინის თანადროულ აპლიკაციას ჰქონდა ოკლუზიის ეფექტი, რაც ორივე პრეპარატით ერთი და იგივე უჯრედშიდა სასიგნალო გზების აქტივაციაზე მიუთითებს.

ნორადრენალინის კლონიდინთან შედარებით ჰქონდა უფრო გამოხატული ეფექტი, რაც შეიძლება აიხსნას ამ ორი ნივთიერების კონცენტრაციებს შორის განსხვავებით (30 μ M ნორადრენალინი vs 20 μ M კლონიდინი). ამას ამყარებს ნორადრენალინის დოზა-დამოკიდებულ ეფექტებთან დაკავშირებით ლიტერატურაში აღწერილი მონაცემები (Doreulee et al., 2005).

იზოლირებულ NMDA-პასუხებზე ეგზოგენური ორექსინის შეფასების მიზნით გამოვიყენეთ მოდიფიცირებული არე, რომელიც შეიცავდა AMPA-რეცეპტორების შერჩევით ბლოკატორს CNQX, ხოლო NMDA რეცეპტორების კალციუმის არხებზე მოხსნილი იყო მაგნიუმის ბლოკი. ვნახეთ, რომ ორექსინ-A იწვევდა იზოლირებულ NMDA პასუხების ნელა განვითარებად და ხანგრძლივ დეპრესიას.

ცნობილია, რომ ჰიპოკამპში ეპილეფტიფორმული აქტივობის გენერირებაში მნიშვნელოვანი როლი CA3 ველის ზალპურ ნეირონებს აქვთ. ექსპერიმენტის შედეგებმა აჩვენა, რომ ორექსინ-A ცვლის ზალპური ნეირონების აქტივობას: მაღალსიხშიროვანი განმუხტვების პატერნის შემთხვევაში მას აქვს დამთრგუნველი ეფექტი, ხოლო მდუმარე/დაბალი აქტივობის მქონე ნეირონებზე - მასტიმულირებელი გავკენა. ორექსინ-A-ს ამ ეფექტების შედარებამ ენდოგენურ ანტიკონვულსანტ ჰისტამინთან აჩვენა, რომ ჰისტამინი (10 μ M), ორექსინ-A-სგან განსხვავებით, ზრდიდა ზალპური განმუხტვების სიხშირეს ორივე ტიპის აქტივობის მქონე ნეირონებში. ამასთან, ჰისტამინი მნიშვნელოვნად ამცირებდა ერთეული განმუხტვების ხანგრძლივობას, მაშინ როდესაც ორექსინ-A აღნიშნულ პარამეტრზე მნიშვნელოვან გავლენას არ ახდენდა, რაც მათი მოქმედების განსხვავებული მექანიზმებით შეიძლება აიხსნას.

ქრონიკული ეპილეფსიური პათოლოგიის პირობებში ეგზოგენური ორექსინის ეფექტების შესაფასებლად გამოვიყენეთ კაინის მჟავით ინდუცირებული ეპილეფსიური სტატუსის მოდელი. კმ-ეს მქონე ცხოველებში ელექტროფიზიოლოგიური კვლევების ჩატარებამდე შეფასდა პათოლოგიით

გამოწვეული ქცევითი და მორფოლოგიური ცვლილებები. მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა ქცევითი და კოგნიტიური ფუნქციების მნიშვნელოვანი დარღვევა, რაც, კავშირშია მორფოლოგიური ექსპერიმენტით ჰიპოკამპში ნანახ სტრუქტურულ დაზიანებებთან. აღნიშნული მონაცემები თანხვედრაშია ცნობილ ფაქტთან, რომ კმ-ეს მოდელში ჰიპოკამპური ნეირონების დეგენერაცია მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს მეხსიერების, დასწავლის, შფოთვითი ქცევისა და მოტორული აქტივობის რეგულირებაზე (Faizan et al., 2023; Khatibi et al., 2023; Maia et al., 2014).

ლიტერატურული მონაცემები მიუთითებს, რომ ჰიპოკამპის CA3 ველი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს მრავალ მნემონურ პროცესში, რომლებიც აუცილებელია სივრცითი მეხსიერების ფორმირებისთვის (Gilbert & Brushfield, 2009). ამასთანავე, ჰიპოკამპთან დაკავშირებული მეხსიერების ფუნქციებში მნიშვნელოვანი წვლილი შეაქვს ჰიპოთალამუსიდან მომდინარე ორექსინერგულ პროექციებსაც (Mavanji et al., 2017a). შესაბამისად, ჩვენს ექსპერიმენტებში ნანახი ორექსინ-B-პოზიტიური ნეირონების რაოდენობის შემცირება ჰიპოთალამუსში შესაძლოა დამატებით განაპირობებდეს მეხსიერების გაუარესებას კმ-ეს ცხოველებში.

კვლევებით ნაჩვენებია, რომ ეპილეპტოგენეზის დროს CA3 ველში იზრდება ზალპური ნეირონების აქტივობა (Goldberg & Coulter, 2013; S et al., 2023). ჩვენი მორფოლოგიური ანალიზით გამოვლინდა მარცხენა CA3 ველში GAD-პოზიტიური ნეირონების შემცირება, რაც სავარაუდოდ იწვევს ინჰიბიტორული კონტროლის შესუსტებას და, შედეგად, ამ უბანში ჭარბ აგზნებადობას. CA3 ველის ჰიპერაქტივობა, შაფერის კოლატერალებისა და ასოციაციური/კომისურული პროექციების საშუალებით, იწვევს შესაბამისი ჰიპოკამპული უბნების - მარცხენა CA1-ისა და მარჯვენა CA3-ის - გადაჭარბებულ აგზნებას, რაც შესაძლოა განაპირობებდეს აღნიშნულ ველებში ნეირონთა კვდომას. ცნობილია, რომ ქრონიკული ეპილეფსიის პირობებში ნეირონების კვდომის ერთ-ერთ ძირითად მექანიზმს წარმოადგენს ჭარბი აგზნებით გამოწვეული ტოქსიურობა (Vincent & Mulle, 2009; Yalcin & Yalcin, 2018),

რომელიც ასოცირებულია რეაქტიული ჟანგბადისა და აზოტის ნაერთების ჭარბ წარმოქმნასა და ენდოგენური ანტიოქსიდანტური სისტემების აქტივობის დაქვეითებასთან (X. Zhu et al., 2017).

ეპილეფსიით ინდუცირებული ჰიპოკამპის მორფოლოგიური ცვლილებები, განსაკუთრებით უჯრედთა რაოდენობის შემცირება, ფართოდ არის აღწერილი ლიტერატურაში (X. Li et al., 2021; Postnikova et al., 2024; Sloviter, 2008). თუმცა, ჰიპოთალამუსში კაინის მჟავას ეპილეფსიური სტატუსით გამოწვეული მორფოლოგიური ცვლილებების შესახებ მონაცემები პრაქტიკულად არ მოიპოვება. ჩვენი შედეგების მიხედვით, კმ-ეს იწვევს ჰიპოთალამუსში ორექსინ-B-პოზიტიური ნეირონების რაოდენობის შემცირებას. ეს შესაძლოა განპირობებული იყოს ლატერალურ ჰიპოთალამუსში, სადაც ორექსინერგული ნეირონებია ლოკალიზებული (Nambu et al., 1999), კაინატური რეცეპტორების მასიური აქტივაციით (Sr et al., 2007).

ამასთანავე, თავად ეპილეფტიფორმულ აქტივობასაც შეუძლია ჰიპოთალამუსის ჰიპერაგზნებადობის პროვოცირება ჰიპოკამპ-ჰიპოთალამური წრეების საშუალებით. ნაჩვენებია, რომ ჰიპოკამპის ვენტრალური CA1 ველიდან გამომავალი პროექციები, რომლებიც მგრძნობიარეა გრელინის მიმართ, უშუალოდ უკავშირდება ლატერალური ჰიპოთალამუსის ორექსინერგულ ნეირონებს (Suarez et al., 2020). აღნიშნული გლუტამატერგული პროექციების ჰიპერაქტივაციამ შესაძლოა გამოიწვიოს ორექსინერგული ნეირონების დაზიანება გლუტამატის მასიური გამოთავისუფლების შედეგად, რაც ააქტიურებს როგორც კაინატურ, ისე სხვა ტიპის გლუტამატურ რეცეპტორებს, მათ შორის NMDA რეცეპტორებს. ნაჩვენებია, რომ კაინით გამოწვეული ნეირონული კვდომა მნიშვნელოვნად ძლიერდება კვინოლინატის ზემოქმედებით, რაც დიდწილად NMDA რეცეპტორების აქტივაციით არის განპირობებული (Galarraga et al., 1990).

ორექსინერგული (ჰიპოკრეტინული) ნეირონების სელექტიური კვდომა აღწერილია ნარკოლეფსიის პათოფიზიოლოგიაშიც, სადაც იგი ასოცირდება მაკროფაგებისა და მიკროგლიის MHCII-განპირობებულ აქტივაციასთან და ნეიროტოქსიკური მოლეკულების (Fas ლიგანდი, პროტეაზები, TNF, კვინოლინური მჟავა, გლუტამატი, თავისუფალი რადიკალები და აზოტის ოქსიდი) გამოყოფასთან (Fontana et al., 2010). ჭარბი NO-ს წარმოქმნა ასევე შეიძლება განაპირობებდეს ენდოპლაზმური ბადის სტრესით გამოწვეულ ორექსინერგულ ნეიროდეგენერაციას ცილა-დისულფიდიზომერაზის (PDI) ინაქტივაციისა და ორექსინის პეპტიდების არასწორი ჩახვევის გზით (Obukuro et al., 2013).

ელექტროფიზიოლოგიურმა მონაცემებმა აჩვენა, რომ ორექსინ-A ზრდის გლუტამატით გამოწვეული პასუხების ამპლიტუდას CA1 ველში, წყვილადი გაადვილების პარამეტრის ცვლილების გარეშე, რაც მიუთითებს მისი მოქმედების პოსტინაფსურ ლოკუსზე. CA3 ველში კი, ორექსინ-A ამცირებს გლუტამატერგული პასუხების ამპლიტუდას. ეს ეფექტი, სავარაუდოდ, დაკავშირებულია CA3 ველში OXR2 ტიპის რეცეპტორების მაღალ სიმჭიდროვესთან, რომლებიც ძირითადად გაემერგულ ინტერნეირონებზეა ლოკალიზებული (Krause et al., 2024). მათი აქტივაცია ზრდის გაემის გამოთავისუფლებას და აძლიერებს ინჰიბიტორულ გადაცემას, რაც ამცირებს პირამიდული ნეირონების აგზნებადობას და შედეგად ამცირებს გამოწვეულ პასუხებს.

კმ-ეს ცხოველებში CA1 ველში ორექსინ-A-ს ეფექტი გამოწვეულ პასუხებზე არ გამოვლენილა, რაც შესაძლოა აიხსნას ეპილეფსიური სტატუსის დროს განვითარებული ნეიროდეგენერაციით (X. Li et al., 2021) ან ეპილეფტოგენეზში OX1 რეცეპტორების პოპულაციის ცვლილებით (Elahdadi Salmani et al., 2022), რის შედეგადაც ეგზოგენურად შეყვანილი ორექსინის ეფექტიანობა მცირდება.

ანალოგიურად, CA3 ველში ორექსინ-A-ს ეფექტის შემცირება შეიძლება დაკავშირებული იყოს ჰიპოთალამუსში ორექსინ-B-პოზიტიური ნეირონების

შემცირებასთან. საკონტროლო ვირთაგვებში ენდოგენური ორექსინი (ორექსინ-B) და ეგზოგენურად დამატებული ორექსინ-A ერთობლივად აძლიერებდნენ გაემერგულ შეკავებას, რაც ამცირებდა პასუხების ამპლიტუდას; აღნიშნული კომპენსატორული ეფექტი პათოლოგიურ პირობებში შესუსტებულია.

ორექსინების განსხვავებული ეფექტები ნორმალურ და პათოლოგიურ პირობებში, სავარაუდოდ, აიხსნება როგორც მორფოლოგიური ცვლილებებით, ისე ორექსინერგული რეცეპტორული სისტემის სირთულით (Sakurai et al., 1998b). OXR-ები ახდენენ გადაცემას სხვადასხვა G-ცილებისა და სასიგნალო გზების მეშვეობით და შეუძლიათ სხვა G-ცილა-დამოკიდებულ რეცეპტორებთან კომპლექსების ფორმირება, რაც მნიშვნელოვნად ზრდის მათი მოქმედების მრავალფეროვნებას (Kukkonen & Leonard, 2014; Kukkonen & Turunen, 2021).

ორექსინები ასევე განიხილება სხვა ნეიროდეგენერაციულ დაავადებებთან კავშირში (Berhe et al., 2020b). ნაჩვენებია მათი ნეიროპროტექტორული ეფექტი პალმიტინის მჟავით გამოწვეული ჰიპოთალამური დისფუნქციის პირობებში - რეაქტიული ჟანგბადის ფორმების შემცირება, მიტოქონდრიული სუნთქვის გაუმჯობესება და ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის სტაბილიზაცია (Duffy et al., 2016).

ეგზოგენური ორექსინის ეფექტები In Vivo ექსპერიმენტებში შევაფასეთ ეპილეფსიური წარმოშობის მაღალსიხშიროვანი სტიმულაციით გამოწვეულ ეპილეფტიფორმულ აქტივობაზე. მაღალსიხშიროვანი ელექტრული სტიმულაცია (1500–2000 იმპულსი) იწვევდა საშუალოდ 67.8 ± 4.9 წამიანი ეპილეფტიფორმული განმუხტვებს. აღნიშნული ეფექტი განპირობებული უნდა იყოს ამაგზნებელი პირამიდული ნეირონების გადაჭარბებული სინქრონიზაციითა და შემაკავებელი კონტროლის დაქვეითებით (Scharfman, 2007). საკონტროლო ცხოველებში 20-წუთიანი ინტერვალებით განმეორებითმა სტიმულაციამ გამოიწვია ეპილეფტიფორმული განმუხტვების ხანგრძლივობის თანდათანობითი პოტენციაცია. ცნობილია, რომ მაღალი სიხშირის სტიმულაცია მოქმედებს, უპირველესად,

ხანგრძლივი პოტენციაციის მექანიზმების მეშვეობით - აძლიერებს არსებულ სინაფსურ კავშირებს და ხანგრძლივი ექსპოზიციის პირობებში ხელს უწყობს ახალი ნეირონული გზების რეკრუტირებას, რაც დაკავშირებულია როგორც სტრუქტურულ ცვლილებებთან, ისე ქსელური აგზნებადობის ზრდასთან. ნაჩვენებია, რომ მაღალი სიხშირის ელექტრული სტიმულაცია იწვევს სინაფსური ეფექტურობის ზრდას, აძლიერებს სინაფსურ კავშირებს და ხშირად ააქტიურებს მანამდე „მდუმარე“ ან ფუნქციურად არააქტიურ ნეირონულ გზებს (Hayashi, 2022).

მწვავე ექსპერიმენტებში ჰიპოკამპური წარმოშობის ეპილეფტიფორმულ აქტივობაზე ორექსინის ეფექტები შეფასდა მისი ადმინისტრირების ორი განსხვავებული ლოკუსის გამოყენებით. ვნახეთ, რომ ორექსინ-A-ს ინტრავენტრიკულურმა ადმინისტრირებამ მნიშვნელოვნად შეამცირა ჰიპოკამპის CA1 ველში ეპილეფტიფორმული განმუხტვების ხანგრძლივობა აპლიკაციიდან 20 წუთის შემდეგ და პრაქტიკულად დათრგუნა სტიმულაციაზე დამოკიდებული, პროგრესული პოტენციაცია, რომელიც დამახასიათებელი იყო საკონტროლო ცხოველებისთვის. ორექსინ-B-ის შემთხვევაში მსგავსი ეფექტი არ დაფიქსირებულა, რაც მიუთითებს, რომ ორექსინ-A-ს ეფექტი, უმეტესად I ტიპის რეცეპტორების (OX1R) აქტივაციით არის განპირობებული.

In Vivo ექსპერიმენტში ნანახი ორექსინ-A-ს ეფექტი თანხვედრაშია In Vitro ექსპერიმენტის მონაცემებთან, სადაც ვნახეთ მისი დამთრგუნველი ეფექტი მრავლობითი პოპულაციური სპაიკების ამპლიტუდასა და ხანგრძლივობაზე, სპონტანურ ეპილეფტიფორმულ შემდგომგანმუხტვებსა და იზოლირებულ NMDA-პასუხებზე.

ორექსინ-A-ს ქერქულ აპლიკაცია არ ჰქონდა სტატისტიკურად სარწმუნო ეფექტი ჰიპოკამპის CA1 ველში ეპილეფტიფორმული განმუხტვების საერთო ხანგრძლივობაზე, თუმცა გამოიწვია მაღალი ამპლიტუდის (7–10 mV) პოპულაციური სპაიკების რაოდენობის სარწმუნო შემცირება. აღნიშნული შეიძლება აიხსნას იმ

ფაქტით, რომ ორექსინი ააქტიურებს ქერქის ღრმა შრეებში მდებარე ორექსინ-მგრძნობიარე გაემერგულ ნეირონებს, რის შედეგადაც იზრდება ინჰიბიტორული ტონუსი და მცირდება ამგზნები ნეირონების სპაიკური აქტივობა (Messore et al., 2025). გარდა ამისა, ენტორინალური ქერქი - რომელიც წარმოადგენს ჰიპოკამპში ინფორმაციის ძირითად „კარიბჭეს“ - მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ეპილეფტოგენური აქტივობის რეგულაციაში; ნაჩვენებია, რომ ენტორინალურ ქერქში გენერირებული იქტალური განმუხტვები აუცილებელია ჰიპოკამპში ეპილეფტური აქტივობის წარმოქმნისთვის (Ren et al., 2014). ამასთანავე, ჰიპოკამპიდან ქერქისკენ მიმავალი პროექციებიც აქტიურად მონაწილეობს ქერქული ქსელების დინამიკაში (Bustamante & Valdés, 2025; Feng et al., 2025).

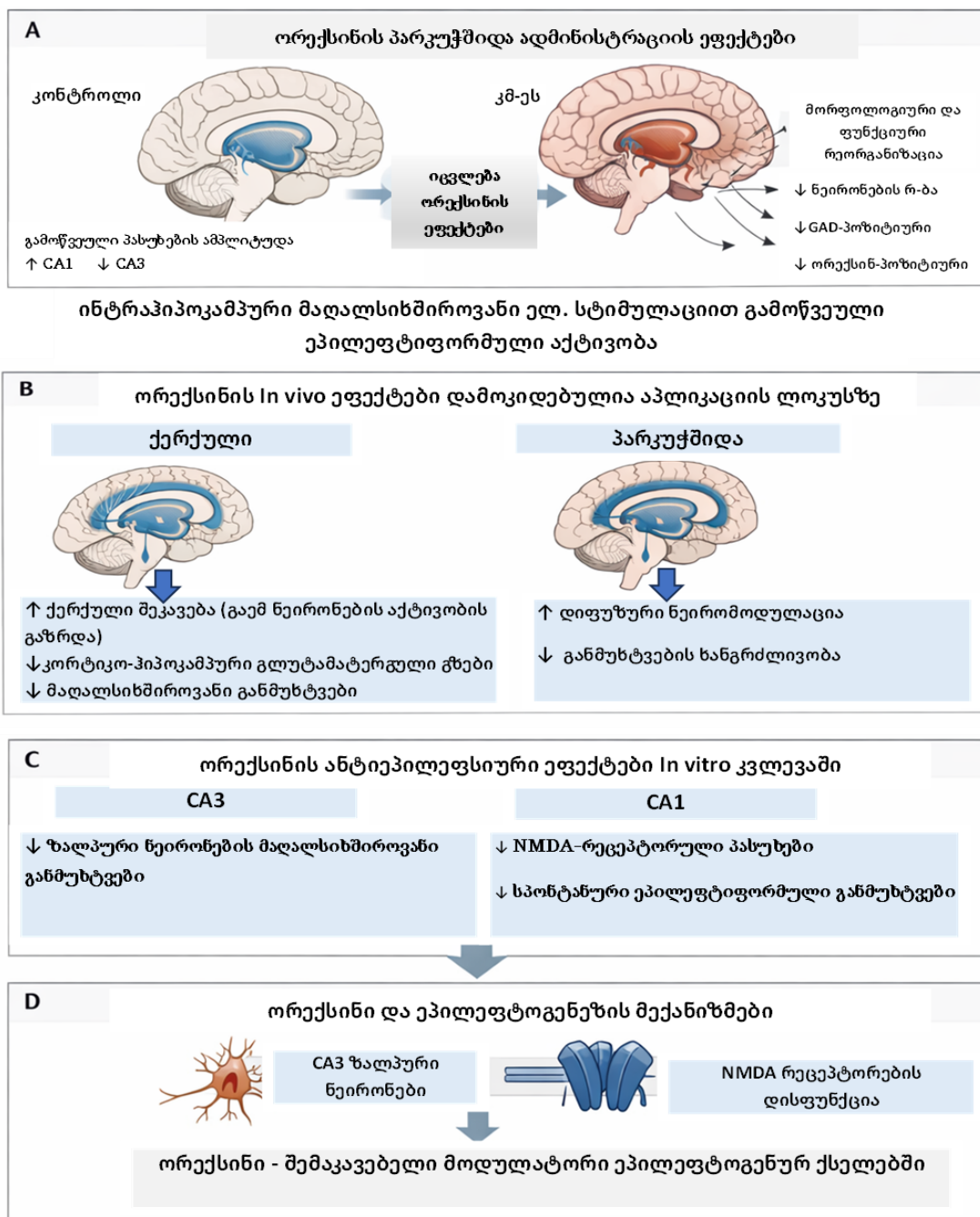
ამრიგად, ჩვენს ექსპერიმენტებში ქერქული აპლიკაციის შემდეგ მაღალი ამპლიტუდის ჰიპოკამპური სპაიკების შემცირება, სავარაუდოდ, განპირობებულია ორექსინით ინიცირებული ქერქული გაემერგული ინტერნეირონების აქტივაციით, რაც ამცირებს ქერქიდან ჰიპოკამპისკენ მიმართულ გლუტამატერგულ აგზნებას და შესაბამისად ზღუდავს ეპილეფტიფორმული აქტივობის გავრცელებას.

ამრიგად, ორექსინერგული სასიგნალო მექანიზმები წარმოადგენს რთულ, მრავალკომპონენტურ სისტემას, რომლის ეფექტიანობა მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული ორგანიზმის ფიზიოლოგიურ და პათოლოგიურ მდგომარეობაზე. წარმოდგენილი მონაცემები ცხადყოფს, რომ ორექსინერგული მექანიზმების სრულყოფილი გაგებისთვის და მათი პოტენციური თერაპიული ეფექტების განსაზღვრისთვის ამ მიმართულებით კვლევების გაგრძელება აუცილებელია.

6. დასკვნები

- კაინის მჟავას ეპილეფსიური სტატუსი საკონტროლო ცხოველებთან შედარებაში სტატისტიკურად სარწმუნოდ ცვლის ჰიპოკამპის ნეირონულ აქტივობაზე ეგზოგენური ორექსინის ეფექტებს, რაც, გამოწვეული უნდა იყოს ეპილეფტოგენიზით განპირობებული მორფოლოგიური ცვლილებით ჰიპოკამპსა და ჰიპოთალამუსში.
- ეგზოგენური ორექსინის *In vivo* ეფექტი ჰიპოკამპური წარმოშობის ეპილეფტიფორმულ განმუხტვებზე განსხვავებულია მისი აპლიკაციის ლოკუსიდან გამომდინარე; ქერქული აპლიკაცია ამცირებს მაღალამპლიტუდური განმუხტვების რაოდენობას, მაშინ როდესაც პარკუჭშიდა აპლიკაცია თრგუნავს ეპილეფტიფორმული განმუხტვების ხანგრძლივობას.
- ეგზოგენური ორექსინი იწვევს CA3 ველის ზალპური ნეირონების აქტივობის შეკავებას და იზოლირებული NMDA-პასუხების ხანგრძლივ დეპრესიას ეპილეფსიის *In vitro* მოდელში.

ორექსინერგული სისტემის როლი ეპილეფსიის
პათოფიზიოლოგიაში



7. გამოყენებული ლიტერატურა

- Aguiar, C. C. T., Almeida, A. B., Araújo, P. V. P., Vasconcelos, G. S., Chaves, E. M. C., do Vale, O. C., Macêdo, D. S., de Sousa, F. C. F., Viana, G. S. de B., & Vasconcelos, S. M. M. (2012). Anticonvulsant effects of agomelatine in mice. *Epilepsy & Behavior: E&B*, 24(3), 324–328. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2012.04.134>
- Akbari, E., Motamedi, F., Davoodi, F. G., Noorbakhshnia, M., & Ghanbarian, E. (2011). Orexin-1 receptor mediates long-term potentiation in the dentate gyrus area of freely moving rats. *Behavioural Brain Research*, 216(1), 375–380. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.08.017>
- Akyuz, E., Polat, A. K., Eroglu, E., Kullu, I., Angelopoulou, E., & Paudel, Y. N. (2021a). Revisiting the role of neurotransmitters in epilepsy: An updated review. *Life Sciences*, 265, 118826. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118826>
- Akyuz, E., Polat, A. K., Eroglu, E., Kullu, I., Angelopoulou, E., & Paudel, Y. N. (2021b). Revisiting the role of neurotransmitters in epilepsy: An updated review. *Life Sciences*, 265, 118826. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118826>
- Alachkar, A., Azimullah, S., Ojha, S. K., Beiram, R., Łażewska, D., Kieć-Kononowicz, K., & Sadek, B. (2019). The Neuroprotective Effects of Histamine H3 Receptor Antagonist E177 on Pilocarpine-Induced Status Epilepticus in Rats. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(22), 4106. <https://doi.org/10.3390/molecules24224106>
- Almannai, M., Mahmoud, R. A. A., Mekki, M., & El-Hattab, A. W. (2021). Metabolic Seizures. *Frontiers in Neurology*, 12, 640371. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.640371>
- Anderson, C. T., Tcheng, T. K., Sun, F. T., & Morrell, M. J. (2015). Day-Night Patterns of Epileptiform Activity in 65 Patients With Long-Term Ambulatory Electrocorticography. *Journal of Clinical Neurophysiology: Official Publication of the American Electroencephalographic Society*, 32(5), 406–412. <https://doi.org/10.1097/WNP.0000000000000183>
- Anschel, D. J., Ortega, E. L., Kraus, A. C., & Fisher, R. S. (2004). Focally injected adenosine prevents seizures in the rat. *Experimental Neurology*, 190(2), 544–547. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2004.07.017>
- Aou, S., Li, X.-L., Li, A.-J., Oomura, Y., Shiraishi, T., Sasaki, K., Imamura, T., & Wayner, M. J. (2003). Orexin-A (hypocretin-1) impairs Morris water maze performance and CA1-

Schaffer collateral long-term potentiation in rats. *Neuroscience*, *119*(4), 1221–1228. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(02\)00745-5](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00745-5)

Ardeshiri, M. R., Hosseinmardi, N., & Akbari, E. (2017). The effect of orexin 1 and orexin 2 receptors antagonisms in the basolateral amygdala on memory processing in a passive avoidance task. *Physiology & Behavior*, *174*, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.004>

Aronica, E., Ciusani, E., Coppola, A., Costa, C., Russo, E., Salmaggi, A., Perversi, F., & Maschio, M. (2023). Epilepsy and brain tumors: Two sides of the same coin. *Journal of the Neurological Sciences*, *446*, 120584. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2023.120584>

Asadi, S., Roohbakhsh, A., Shamsizadeh, A., Fereidoni, M., Kordijaz, E., & Moghimi, A. (2018). The effect of intracerebroventricular administration of orexin receptor type 2 antagonist on pentylenetetrazol-induced kindled seizures and anxiety in rats. *BMC Neuroscience*, *19*(1), 49. <https://doi.org/10.1186/s12868-018-0445-9>

Azim, M. S., Agarwal, N. B., & Vohora, D. (2017). Effects of agomelatine on pentylenetetrazole-induced kindling, kindling-associated oxidative stress, and behavioral despair in mice and modulation of its actions by luzindole and 1-(m-chlorophenyl) piperazine. *Epilepsy & Behavior: E&B*, *72*, 140–144. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2017.03.019>

Badeli, H., Jahanshahi, M., & Dolatabadi, L. (2023). G-CSF improved the memory and dendritic morphology impairments in the hippocampal CA1 pyramidal neurons after brain ischemia in the male rats. *Metabolic Brain Disease*, *38*, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s11011-023-01286-4>

Baldo, B., Gabery, S., Soylu-Kucharz, R., Cheong, R. Y., Henningsen, J. B., Englund, E., McLean, C., Kirik, D., Halliday, G., & Petersén, Å. (2019). SIRT1 is increased in affected brain regions and hypothalamic metabolic pathways are altered in Huntington disease. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, *45*(4), 361–379. <https://doi.org/10.1111/nan.12514>

Banach, M., Piskorska, B., Czuczwar, S. J., & Borowicz, K. K. (2011). Nitric oxide, epileptic seizures, and action of antiepileptic drugs. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, *10*(7), 808–819. <https://doi.org/10.2174/187152711798072347>

Banerjee, J., Banerjee Dixit, A., Tripathi, M., Sarkar, C., Gupta, Y. K., & Chandra, P. S. (2015). Enhanced endogenous activation of NMDA receptors in pyramidal neurons of hippocampal tissues from patients with mesial temporal lobe epilepsy: A mechanism of hyper excitation. *Epilepsy Research*, *117*, 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2015.08.007>

- Baranowska, U., & Wiśniewska, R. J. (2017). The $\alpha 7$ -nACh nicotinic receptor and its role in memory and selected diseases of the central nervous system. *Postepy Higieny I Medycyny Doswiadczałnej (Online)*, 71(0), 633–648. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0010.3844>
- Barker-Haliski, M., & White, H. S. (2015). Glutamatergic Mechanisms Associated with Seizures and Epilepsy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5(8), a022863. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022863>
- Bast, T., & Feldon, J. (2003). Hippocampal modulation of sensorimotor processes. *Progress in Neurobiology*, 70(4), 319–345. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(03\)00112-6](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(03)00112-6)
- Beghi, E. (2019). The Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology*, 54(2), 185–191. <https://doi.org/10.1159/000503831>
- Berhe, D. F., Gebre, A. K., & Assefa, B. T. (2020a). Orexins role in neurodegenerative diseases: From pathogenesis to treatment. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 194, 172929. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2020.172929>
- Berhe, D. F., Gebre, A. K., & Assefa, B. T. (2020b). Orexins role in neurodegenerative diseases: From pathogenesis to treatment. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 194, 172929. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2020.172929>
- Bigalke, J. A., Shan, Z., & Carter, J. R. (2022). Orexin, Sleep, Sympathetic Neural Activity, and Cardiovascular Function. *Hypertension*, 79(12), 2643–2655. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.122.19796>
- Black, J. B., Premont, R. T., & Daaka, Y. (2016). Feedback regulation of G protein-coupled receptor signaling by GRKs and arrestins. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 50, 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.12.015>
- Blanco-Centurion, C., Bendell, E., Zou, B., Sun, Y., Shiromani, P. J., & Liu, M. (2018). VGAT and VGLUT2 expression in MCH and orexin neurons in double transgenic reporter mice. *IBRO Reports*, 4, 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.ibror.2018.05.001>
- Blouin, A. M., Thannickal, T. C., Worley, P. F., Baraban, J. M., Reti, I. M., & Siegel, J. M. (2005). Narp immunostaining of human hypocretin (orexin) neurons: Loss in narcolepsy. *Neurology*, 65(8), 1189–1192. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000175219.01544.c8>
- Boison, D. (2012). Adenosine dysfunction in epilepsy. *Glia*, 60(8), 1234–1243. <https://doi.org/10.1002/glia.22285>
- Boison, D. (2016). Adenosinergic signaling in epilepsy. *Neuropharmacology*, 104, 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.08.046>

- Bozzi, Y., & Borrelli, E. (2013). The role of dopamine signaling in epileptogenesis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7, 157. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00157>
- Bragin, A., Penttonen, M., & Buzsáki, G. (1997). Termination of Epileptic Afterdischarge in the Hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 17(7), 2567–2579. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-07-02567.1997>
- Brown, R. E., Stevens, D. R., & Haas, H. L. (2001). The physiology of brain histamine. *Progress in Neurobiology*, 63(6), 637–672. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(00\)00039-3](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(00)00039-3)
- Bustamante, T., & Valdés, J. L. (2025). Functional connectivity linking the hippocampus, retrosplenial, and orbitofrontal cortex correlates with increased seizure severity in temporal lobe epilepsy. *Brain Research*, 1866, 149915. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2025.149915>
- Calva, C. B., & Fadel, J. R. (2020). Intranasal administration of orexin peptides: Mechanisms and therapeutic potential for age-related cognitive dysfunction. *Brain Research*, 1731, 145921. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.08.024>
- Cardiff, R. D., Miller, C. H., & Munn, R. J. (2014). Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2014(6), 655–658. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot073411>
- Carr, D. B., Andrews, G. D., Glen, W. B., & Lavin, A. (2007). Alpha2-Noradrenergic receptors activation enhances excitability and synaptic integration in rat prefrontal cortex pyramidal neurons via inhibition of HCN currents. *The Journal of Physiology*, 584(Pt 2), 437–450. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.141671>
- Casanova, E., Guetg, N., Vigot, R., Seddik, R., Julio-Pieper, M., Hyland, N. P., Cryan, J. F., Gassmann, M., & Bettler, B. (2009). A mouse model for visualization of GABA(B) receptors. *Genesis (New York, N.Y.: 2000)*, 47(9), 595–602. <https://doi.org/10.1002/dvg.20535>
- Cavarec, F., Krauss, P., Witkowski, T., Broisat, A., Ghezzi, C., De Gois, S., Giros, B., Depaulis, A., & Deransart, C. (2019). Early reduced dopaminergic tone mediated by D3 receptor and dopamine transporter in absence epileptogenesis. *Epilepsia*, 60(10), 2128–2140. <https://doi.org/10.1111/epi.16342>
- Chachua, T., Bilanishvili, I., Khizanishvili, N., & Nanobashvili, Z. (2010). Noradrenergic modulation of seizure activity. *Georgian Medical News*, (183), 34–39.
- Cheng, S.-B., Kuchiiwa, S., Gao, H.-Z., Kuchiiwa, T., & Nakagawa, S. (2003). Morphological study of orexin neurons in the hypothalamus of the Long–Evans rat, with special reference to co-expression of orexin and NADPH-diaphorase or nitric oxide synthase activities. *Neuroscience Research*, 46(1), 53–62. [https://doi.org/10.1016/S0168-0102\(03\)00026-9](https://doi.org/10.1016/S0168-0102(03)00026-9)

- Choi, H.-S., Park, J. H., Ahn, J. H., Hong, S., Cho, J. H., Won, M.-H., & Lee, C.-H. (2015). The anti-inflammatory activity of duloxetine, a serotonin/norepinephrine reuptake inhibitor, prevents kainic acid-induced hippocampal neuronal death in mice. *Journal of the Neurological Sciences*, 358(1–2), 390–397. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.10.001>
- Choleris, E., Thomas, A. W., Kavaliers, M., & Prato, F. S. (2001). A detailed ethological analysis of the mouse open field test: Effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25(3), 235–260. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(01\)00011-2](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(01)00011-2)
- Choy, M., Dadgar-Kiani, E., Cron, G. O., Duffy, B. A., Schmid, F., Edelman, B. J., Asaad, M., Chan, R. W., Vahdat, S., & Lee, J. H. (2022). Repeated hippocampal seizures lead to brain-wide reorganization of circuits and seizure propagation pathways. *Neuron*, 110(2), 221–236.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.10.010>
- Cloix, J.-F., & Hévor, T. (2009). Epilepsy, Regulation of Brain Energy Metabolism and Neurotransmission. *Current Medicinal Chemistry*, 16(7), 841. <https://doi.org/10.2174/092986709787549316>
- Collado-Torres, L., Burke, E. E., Peterson, A., Shin, J., Straub, R. E., Rajpurohit, A., Semick, S. A., Ulrich, W. S., BrainSeq Consortium, Price, A. J., Valencia, C., Tao, R., Deep-Soboslay, A., Hyde, T. M., Kleinman, J. E., Weinberger, D. R., & Jaffe, A. E. (2019). Regional Heterogeneity in Gene Expression, Regulation, and Coherence in the Frontal Cortex and Hippocampus across Development and Schizophrenia. *Neuron*, 103(2), 203–216.e8. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.05.013>
- Comai, S., & Gobbi, G. (2014). Unveiling the role of melatonin MT2 receptors in sleep, anxiety and other neuropsychiatric diseases: A novel target in psychopharmacology. *Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN*, 39(1), 6–21. <https://doi.org/10.1503/jpn.130009>
- Coppola, G., Iervolino, G., Mastro Simone, M., La Torre, G., Rui, F., & Pascotto, A. (2004). Melatonin in wake-sleep disorders in children, adolescents and young adults with mental retardation with or without epilepsy: A double-blind, cross-over, placebo-controlled trial. *Brain & Development*, 26(6), 373–376. [https://doi.org/10.1016/S0387-7604\(03\)00197-9](https://doi.org/10.1016/S0387-7604(03)00197-9)
- Coulter, D. A., & Eid, T. (2012). Astrocytic Regulation of Glutamate Homeostasis in Epilepsy. *Glia*, 60(8), 1215. <https://doi.org/10.1002/glia.22341>
- Dang, R., Chen, Q., Song, J., He, C., Zhang, J., Xia, J., & Hu, Z. (2018). Orexin knockout mice exhibit impaired spatial working memory. *Neuroscience Letters*, 668, 92–97. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.01.013>

- de Lecea, L., Kilduff, T. S., Peyron, C., Gao, X.-B., Foye, P. E., Danielson, P. E., Fukuhara, C., Battenberg, E. L. F., Gautvik, V. T., Bartlett, F. S., Frankel, W. N., van den Pol, A. N., Bloom, F. E., Gautvik, K. M., & Sutcliffe, J. G. (1998). The hypocretins: Hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(1), 322–327. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.1.322>
- Dedeurwaerdere, S., Boets, S., Janssens, P., Lavreysen, H., & Steckler, T. (2015). In the grey zone between epilepsy and schizophrenia: Alterations in group II metabotropic glutamate receptors. *Acta Neurologica Belgica*, *115*(3), 221–232. <https://doi.org/10.1007/s13760-014-0407-7>
- Deepak, D., Daousi, C., Javadpour, M., & MacFarlane, I. A. (2007). Macroprolactinomas and epilepsy. *Clinical Endocrinology*, *66*(4), 503–507. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2007.02759.x>
- Devinsky, O., Vezzani, A., Najjar, S., De Lanerolle, N. C., & Rogawski, M. A. (2013). Glia and epilepsy: Excitability and inflammation. *Trends in Neurosciences*, *36*(3), 174–184. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2012.11.008>
- Doreulee, N., Alania, M., Vashalomidze, G., Skhirtladze, E., & Kapanadze, T. (2010). Orexinergic system and pathophysiology of epilepsy. *Georgian Medical News*, (188), 74–79.
- Doreulee, N., Lepsveridze, E., Alania, M., & Chkhartishvili, B. (2005). Arterenol inhibits bicuculline-induced multiple discharges in the hippocampus via activation of α -adrenoreceptors. *Georgian J. Neuroscience*, *1*(4), 33–40.
- Drouot, X., Moutereau, S., Nguyen, J. P., Lefaucheur, J. P., Créange, A., Remy, P., Goldenberg, F., & d'Ortho, M. P. (2003). Low levels of ventricular CSF orexin/hypocretin in advanced PD. *Neurology*, *61*(4), 540–543. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000078194.53210.48>
- Duffy, C. M., Nixon, J. P., & Butterick, T. A. (2016). Orexin A attenuates palmitic acid-induced hypothalamic cell death. *Molecular and Cellular Neuroscience*, *75*, 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2016.07.003>
- Dufort-Gervais, J., Mongrain, V., & Brouillette, J. (2019). Bidirectional relationships between sleep and amyloid-beta in the hippocampus. *Neurobiology of Learning and Memory*, *160*, 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.06.009>
- Elahdadi Salmani, M., Sarfi, M., & Goudarzi, I. (2022). Hippocampal orexin receptors: Localization and function. *Vitamins and Hormones*, *118*, 393–421. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2021.12.004>

- Erken, H. A., Erken, G., Genç, O., Kortunay, S., Sahiner, M., Turgut, G., & Turgut, S. (2012). Orexins cause epileptic activity. *Peptides*, 37(1), 161–164. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.06.012>
- Esplugues, J. V. (2002). NO as a signalling molecule in the nervous system. *British Journal of Pharmacology*, 135(5), 1079–1095. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704569>
- Fadel, J., & Burk, J. A. (2010). Orexin/hypocretin modulation of the basal forebrain cholinergic system: Role in attention. *Brain Research*, 1314, 112–123. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.08.046>
- Faizan, M., Jahan, I., Ishaq, M., Alhalmi, A., Khan, R., Noman, O. M., Hasson, S., & Mothana, R. A. (2023). Neuroprotective effects of trigonelline in kainic acid-induced epilepsy: Behavioral, biochemical, and functional insights. *Saudi Pharmaceutical Journal: SPJ: The Official Publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 31(12), 101843. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.101843>
- Feng, Y., Diego, K. S., Dong, Z., Christenson Wick, Z., Page-Harley, L., Page-Harley, V., Schnipper, J., Lamsifer, S. I., Pennington, Z. T., Vetere, L. M., Philipsberg, P. A., Soler, I., Jurkowski, A., Rosado, C. J., Khan, N. N., Cai, D. J., & Shuman, T. (2025). Distinct changes to hippocampal and medial entorhinal circuits emerge across the progression of cognitive deficits in epilepsy. *Cell Reports*, 44(2), 115131. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.115131>
- Fong, C. Y., & Harvey, A. S. (2014). Variable outcome for epilepsy after neonatal hypoglycaemia. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 56(11), 1093–1099. <https://doi.org/10.1111/dmcn.12496>
- Fontana, A., Gast, H., Reith, W., Recher, M., Birchler, T., & Bassetti, C. L. (2010). Narcolepsy: Autoimmunity, effector T cell activation due to infection, or T cell independent, major histocompatibility complex class II induced neuronal loss? *Brain: A Journal of Neurology*, 133(Pt 5), 1300–1311. <https://doi.org/10.1093/brain/awq086>
- Fronczek, R., Overeem, S., Lee, S. Y. Y., Hegeman, I. M., van Pelt, J., van Duinen, S. G., Lammers, G. J., & Swaab, D. F. (2007). Hypocretin (orexin) loss in Parkinson's disease. *Brain: A Journal of Neurology*, 130(Pt 6), 1577–1585. <https://doi.org/10.1093/brain/awm090>
- Fujiwara-Tsukamoto, Y., Isomura, Y., Imanishi, M., Fukai, T., & Takada, M. (2007). Distinct types of ionic modulation of GABA actions in pyramidal cells and interneurons during electrical induction of hippocampal seizure-like network activity. *European Journal of Neuroscience*, 25(9), 2713–2725. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05543.x>

- Fumagalli, F., Racagni, G., & Riva, M. A. (2006). Shedding light into the role of BDNF in the pharmacotherapy of Parkinson's disease. *The Pharmacogenomics Journal*, 6(2), 95–104. <https://doi.org/10.1038/sj.tpj.6500360>
- Gabery, S., Sajjad, M. U., Hult, S., Soylu, R., Kirik, D., & Petersén, Å. (2012). Characterization of a rat model of Huntington's disease based on targeted expression of mutant huntingtin in the forebrain using adeno-associated viral vectors. *The European Journal of Neuroscience*, 36(6), 2789–2800. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2012.08193.x>
- Galarraga, E., Surmeier, D. J., & Kitai, S. T. (1990). Quinolinic acid and kainate neurotoxicity in neostriatal cultures is potentiated by co-culturing with neocortical neurons. *Brain Research*, 512(2), 269–276. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90636-P](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90636-P)
- Gaus, S. E., Lin, L., & Mignot, E. (2005). CSF hypocretin levels are normal in Huntington's disease patients. *Sleep*, 28(12), 1607–1608. <https://doi.org/10.1093/sleep/28.12.1607>
- Ghafarimoghadam, M., Mashayekh, R., Gholami, M., Fereydani, P., Shelley-Tremblay, J., Kandezi, N., Sabouri, E., & Motaghinejad, M. (2022). A review of behavioral methods for the evaluation of cognitive performance in animal models: Current techniques and links to human cognition. *Physiology & Behavior*, 244, 113652. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113652>
- Ghasemi, M., Amini-Khoei, H., Bijad, E., Rafieian-Kopaei, M., Suredda, A., & Lorigooini, Z. (2024). Sinapinic acid as a potential therapeutic agent for epilepsy through targeting NMDA receptors and nitrite level. *Scientific Reports*, 14(1), 24941. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-77099-x>
- Ghasemi, M., & Mehranfard, N. (2018). Mechanisms underlying anticonvulsant and proconvulsant actions of norepinephrine. *Neuropharmacology*, 137, 297–308. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.05.015>
- Ghasemi, M., & Schachter, S. (2011). The NMDA receptor complex as a therapeutic target in epilepsy: A review. *Epilepsy & Behavior: E&B*, 22, 617–640. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2011.07.024>
- Gigout, S., Wierschke, S., Dehnicke, C., & Deisz, R. A. (2015). Different pharmacology of N-desmethyldiazepam at human and rat M2 and M4 mAChRs in neocortex. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 388(5), 487–496. <https://doi.org/10.1007/s00210-014-1080-3>
- Gilbert, P. E., & Brushfield, A. M. (2009). The Role of the CA3 Hippocampal Subregion in Spatial Memory: A Process Oriented Behavioral Assessment. *Progress in Neuro-*

Psychopharmacology & Biological Psychiatry, 33(5), 774–781.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.03.037>

Goldberg, E. M., & Coulter, D. A. (2013). Mechanisms of epileptogenesis: A convergence on neural circuit dysfunction. *Nature Reviews. Neuroscience*, 14(5), 337–349.
<https://doi.org/10.1038/nrn3482>

Goudarzi, E., Elahdadi Salmani, M., Lashkarbolouki, T., & Goudarzi, I. (2015). Hippocampal orexin receptors inactivation reduces PTZ induced seizures of male rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 130, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.01.006>

Grafe, L. A., & Bhatnagar, S. (2018). Orexins and stress. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 51, 132–145. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2018.06.003>

Grande, V., Manassero, G., & Vercelli, A. (2014). Neuroprotective and anti-inflammatory roles of the phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome Ten (PTEN) Inhibition in a Mouse Model of Temporal Lobe Epilepsy. *PloS One*, 9(12), e114554.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114554>

Greenfield, L. J. (2013). Molecular mechanisms of antiseizure drug activity at GABAA receptors. *Seizure*, 22(8), 589–600. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2013.04.015>

Hamil, N. E., Cock, H. R., & Walker, M. C. (2012). Acute down-regulation of adenosine A(1) receptor activity in status epilepticus. *Epilepsia*, 53(1), 177–188.
<https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03340.x>

Hanada, T. (2020). Ionotropic Glutamate Receptors in Epilepsy: A Review Focusing on AMPA and NMDA Receptors. *Biomolecules*, 10(3), Article 3.
<https://doi.org/10.3390/biom10030464>

Hasegawa, E., Yanagisawa, M., Sakurai, T., & Mieda, M. (2014). Orexin neurons suppress narcolepsy via 2 distinct efferent pathways. *The Journal of Clinical Investigation*, 124(2), 604–616. <https://doi.org/10.1172/JCI71017>

Hayashi, Y. (2022). Molecular mechanism of hippocampal long-term potentiation – Towards multiscale understanding of learning and memory. *Neuroscience Research, Constructive Understanding of Multi-Scale Dynamism of Neuropsychiatric Disorders*, 175, 3–15.
<https://doi.org/10.1016/j.neures.2021.08.001>

Hayatdavoudi, P., Sadeghnia, H.-R., Mohamadian-Roshan, N., & Hadjzadeh, M. A.-R. (2017). Beneficial Effects of Selective Orexin-A Receptor Antagonist in 4-aminopyridine-induced Seizures in Male Rats. *Advanced Biomedical Research*, 6, 162.
https://doi.org/10.4103/abr.abr_262_16

Hillert, M. H., Imran, I., Zimmermann, M., Lau, H., Weinfurter, S., & Klein, J. (2014). Dynamics of hippocampal acetylcholine release during lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Journal of Neurochemistry*, 131(1), 42–52. <https://doi.org/10.1111/jnc.12787>

Hillman, K. L., Lei, S., Doze, V. A., & Porter, J. E. (2009). Alpha-1A adrenergic receptor activation increases inhibitory tone in CA1 hippocampus. *Epilepsy Research*, 84(2–3), 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2008.12.007>

Hippocampal Neurons 2007.pdf. (n.d.). Retrieved June 5, 2021, from <http://psych.colorado.edu/~spencer/Spencer%20Lab%20Reprints/Hippocampal%20Neurons%202007.pdf>

Hippocampus: Anatomy, Functions and Neurobiology. (n.d.). Retrieved June 8, 2021, from <http://proxy.bau.edu.tr:2068/eds/ebookviewer/ebook?sid=ab3ee59f-6c60-4bd4-960c-ab0e676fac30%40sdc-v-sessmgr01&vid=7&rid=1&format=EB>

Homayoun, M., Shafieian, R., Seghatoleslam, M., Hosseini, M., & Ebrahimzadeh-Bideskan, A. (2020). Protective impact of Rosa damascena against neural damage in a rat model of pentylenetetrazole (PTZ)-induced seizure. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 10(6), 574–583.

Hoshi, N. (2020). M-Current Suppression, Seizures and Lipid Metabolism: A Potential Link Between Neuronal Kv7 Channel Regulation and Dietary Therapies for Epilepsy. *Frontiers in Physiology*, 11, 513. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00513>

Hrabovszky, E., Molnár, C. S., Borsay, B. Á., Gergely, P., Herczeg, L., & Liposits, Z. (2013). Orexinergic input to dopaminergic neurons of the human ventral tegmental area. *PloS One*, 8(12), e83029. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083029>

Huang, R.-Q., Bell-Horner, C. L., Dibas, M. I., Covey, D. F., Drewe, J. A., & Dillon, G. H. (2001). Pentylenetetrazole-Induced Inhibition of Recombinant γ -Aminobutyric Acid Type A (GABAA) Receptors: Mechanism and Site of Action. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 298(3), 986–995.

Huber, M. J., Fan, Y., Jiang, E., Zhu, F., Larson, R. A., Yan, J., Li, N., Chen, Q.-H., & Shan, Z. (2017). Increased activity of the orexin system in the paraventricular nucleus contributes to salt-sensitive hypertension. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 313(6), H1075–H1086. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00822.2016>

- Huberfeld, G., Blauwblomme, T., & Miles, R. (2015). Hippocampus and epilepsy: Findings from human tissues. *Revue Neurologique*, 171(3), 236–251. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2015.01.563>
- Hui Yin, Y., Ahmad, N., & Makmor-Bakry, M. (2013). Pathogenesis of epilepsy: Challenges in animal models. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(11), 1119–1132.
- Hult Lundh, S., Nilsson, N., Soylu, R., Kirik, D., & Petersén, Å. (2013). Hypothalamic expression of mutant huntingtin contributes to the development of depressive-like behavior in the BAC transgenic mouse model of Huntington's disease. *Human Molecular Genetics*, 22(17), 3485–3497. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt203>
- Iha, H. A., Kunisawa, N., Shimizu, S., Tokudome, K., Mukai, T., Kinboshi, M., Ikeda, A., Ito, H., Serikawa, T., & Ohno, Y. (2017). Nicotine Elicits Convulsive Seizures by Activating Amygdalar Neurons. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 57. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00057>
- Ilie, A., Raimondo, J. V., & Akerman, C. J. (2012). Adenosine release during seizures attenuates GABAA receptor-mediated depolarization. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 32(15), 5321–5332. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5412-11.2012>
- Inutsuka, A., & Yamanaka, A. (2013). The physiological role of orexin/hypocretin neurons in the regulation of sleep/wakefulness and neuroendocrine functions. *Frontiers in Endocrinology*, 4, 18. <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00018>
- Jackson, J., Bland, B. H., & Antle, M. C. (2009). Nonserotonergic projection neurons in the midbrain raphe nuclei contain the vesicular glutamate transporter VGLUT3. *Synapse (New York, N.Y.)*, 63(1), 31–41. <https://doi.org/10.1002/syn.20581>
- Jaroudi, W., Garami, J., Garrido, S., Hornberger, M., Keri, S., & Moustafa, A. A. (2017). Factors underlying cognitive decline in old age and Alzheimer's disease: The role of the hippocampus. *Reviews in the Neurosciences*, 28(7), 705–714. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2016-0086>
- Jurgens, C. W. D., Hammad, H. M., Lichter, J. A., Boese, S. J., Nelson, B. W., Goldenstein, B. L., Davis, K. L., Xu, K., Hillman, K. L., Porter, J. E., & Doze, V. A. (2007). Alpha2A adrenergic receptor activation inhibits epileptiform activity in the rat hippocampal CA3 region. *Molecular Pharmacology*, 71(6), 1572–1581. <https://doi.org/10.1124/mol.106.031773>
- Kaciński, M., Budziszewska, B., Lasoń, W., Zajac, A., Skowronek-Bała, B., Leśkiewicz, M., Kubik, A., & Basta-Kaim, A. (2012). Level of S100B protein, neuron specific enolase, orexin

A, adiponectin and insulin-like growth factor in serum of pediatric patients suffering from sleep disorders with or without epilepsy. *Pharmacological Reports: PR*, 64(6), 1427–1433. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(12\)70940-4](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(12)70940-4)

Kang, J.-E., Lim, M. M., Bateman, R. J., Lee, J. J., Smyth, L. P., Cirrito, J. R., Fujiki, N., Nishino, S., & Holtzman, D. M. (2009). Amyloid-beta dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle. *Science (New York, N.Y.)*, 326(5955), 1005–1007. <https://doi.org/10.1126/science.1180962>

Khatibi, V. A., Rahdar, M., Rezaei, M., Davoudi, S., Nazari, M., Mohammadi, M., Raoufy, M. R., Mirnajafi-Zadeh, J., Hosseinmardi, N., Behzadi, G., & Janahmadi, M. (2023). The Glycolysis Inhibitor 2-Deoxy-D-Glucose Exerts Different Neuronal Effects at Circuit and Cellular Levels, Partially Reverses Behavioral Alterations and does not Prevent NADPH Diaphorase Activity Reduction in the Intrahippocampal Kainic Acid Model of Temporal Lobe Epilepsy. *Neurochemical Research*, 48(1), 210–228. <https://doi.org/10.1007/s11064-022-03740-8>

Kommajosyula, S. P., Randall, M. E., & Faingold, C. L. (2016). Inhibition of adenosine metabolism induces changes in post-ictal depression, respiration, and mortality in genetically epilepsy prone rats. *Epilepsy Research*, 119, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2015.11.001>

Kortunay, S., Erken, H. A., Erken, G., Genç, O., Sahiner, M., Turgut, S., & Turgut, G. (2012). Orexins increase penicillin-induced epileptic activity. *Peptides*, 34(2), 419–422. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.02.013>

Krause, G. M., Barreira, L. M. C., & Albrecht, A. (2024). *Spatial mRNA expression patterns of orexin receptors in the dorsal hippocampus* (p. 2024.04.15.589483). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2024.04.15.589483>

Kukkonen, J. P., & Leonard, C. S. (2014). Orexin/hypocretin receptor signalling cascades. *British Journal of Pharmacology*, 171(2), 314–331. <https://doi.org/10.1111/bph.12324>

Kukkonen, J. P., & Turunen, P. M. (2021). Cellular Signaling Mechanisms of Hypocretin/Orexin. *Frontiers of Neurology and Neuroscience*, 45, 91–102. <https://doi.org/10.1159/000514962>

Kuwaki, T., & Zhang, W. (2012). Orexin neurons and emotional stress. *Vitamins and Hormones*, 89, 135–158. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394623-2.00008-1>

LaFlamme, E. M., Waguespack, H. F., Forcelli, P. A., & Malkova, L. (2021). The parahippocampal cortex and its functional connection with the hippocampus are critical for

- nonnavigational spatial memory in macaques. *Cerebral Cortex*, 31(4), 2251–2267. (2021-31711-027). <https://doi.org/10.1093/cercor/bhaa358>
- Lascano, A. M., Korff, C. M., & Picard, F. (2016). Seizures and Epilepsies due to Channelopathies and Neurotransmitter Receptor Dysfunction: A Parallel between Genetic and Immune Aspects. *Molecular Syndromology*, 7(4), 197–209. <https://doi.org/10.1159/000447707>
- Lee, H.-F., & Chi, C.-S. (2023). Congenital disorders of glycosylation and infantile epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, 142, 109214. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2023.109214>
- Lévesque, M., & Avoli, M. (2013). The kainic acid model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(10 Pt 2), 2887–2899. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.10.011>
- Li, D. Y., Smith, D. G., Hardeland, R., Yang, M. Y., Xu, H. L., Zhang, L., Yin, H. D., & Zhu, Q. (2013). Melatonin receptor genes in vertebrates. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(6), 11208–11223. <https://doi.org/10.3390/ijms140611208>
- Li, S.-B., Giardino, W. J., & de Lecea, L. (2017). Hypocretins and Arousal. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 33, 93–104. https://doi.org/10.1007/7854_2016_58
- Li, X., Yang, C., Shi, Y., Guan, L., Li, H., Li, S., Li, Y., Zhang, Y., & Lin, J. (2021). Abnormal neuronal damage and inflammation in the hippocampus of kainic acid-induced epilepsy mice. *Cell Biochemistry and Function*, 39(6), 791–801. <https://doi.org/10.1002/cbf.3651>
- Liguori, C., Romigi, A., Nuccetelli, M., Zannino, S., Sancesario, G., Martorana, A., Albanese, M., Mercuri, N. B., Izzi, F., Bernardini, S., Nitti, A., Sancesario, G. M., Sica, F., Marciani, M. G., & Placidi, F. (2014a). Orexinergic system dysregulation, sleep impairment, and cognitive decline in Alzheimer disease. *JAMA Neurology*, 71(12), 1498–1505. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.2510>
- Liguori, C., Romigi, A., Nuccetelli, M., Zannino, S., Sancesario, G., Martorana, A., Albanese, M., Mercuri, N. B., Izzi, F., Bernardini, S., Nitti, A., Sancesario, G. M., Sica, F., Marciani, M. G., & Placidi, F. (2014b). Orexinergic system dysregulation, sleep impairment, and cognitive decline in Alzheimer disease. *JAMA Neurology*, 71(12), 1498–1505. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.2510>
- Liu, C., Xue, Y., Liu, M.-F., Wang, Y., Liu, Z.-R., Diao, H.-L., & Chen, L. (2018). Orexins increase the firing activity of nigral dopaminergic neurons and participate in motor control in rats. *Journal of Neurochemistry*, 147(3), 380–394. <https://doi.org/10.1111/jnc.14568>

- Liu, Z., Wang, F., Tang, M., Zhao, Y., & Wang, X. (2019). Amyloid β and tau are involved in sleep disorder in Alzheimer's disease by orexin A and adenosine A(1) receptor. *International Journal of Molecular Medicine*, 43(1), 435–442. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3935>
- Lolk, K., Dreier, J. W., Sun, Y., & Christensen, J. (2022). Perinatal adversities and risk of epilepsy after traumatic brain injury: A Danish nationwide cohort study. *Acta Neurologica Scandinavica*, 145(6), 721. <https://doi.org/10.1111/ane.13605>
- Lomidze, G., Kasradze, S., Kvernadze, D., Okujava, N., Toidze, O., de Boer, H. M., Dua, T., & Sander, J. W. (2012). The prevalence and treatment gap of epilepsy in Tbilisi, Georgia. *Epilepsy Research*, 98(2–3), 123–129. (21959334). <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2011.08.021>
- Löscher, W. (2017). Animal Models of Seizures and Epilepsy: Past, Present, and Future Role for the Discovery of Antiseizure Drugs. *Neurochemical Research*, 42(7), 1873. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2222-z>
- Luna-Munguia, H., Zestos, A. G., Gliske, S. V., Kennedy, R. T., & Stacey, W. C. (2019). Chemical biomarkers of epileptogenesis and ictogenesis in experimental epilepsy. *Neurobiology of Disease*, 121, 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.10.005>
- Mahmoud, S., Gharagozloo, M., Simard, C., & Gris, D. (2019). Astrocytes Maintain Glutamate Homeostasis in the CNS by Controlling the Balance between Glutamate Uptake and Release. *Cells*, 8(2), 184. <https://doi.org/10.3390/cells8020184>
- Mahoney, C. E., Cogswell, A., Koralnik, I. J., & Scammell, T. E. (2019). The neurobiological basis of narcolepsy. *Nature Reviews. Neuroscience*, 20(2), 83–93. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0097-x>
- Maia, G. H., Quesado, J. L., Soares, J. I., do Carmo, J. M., Andrade, P. A., Andrade, J. P., & Lukoyanov, N. V. (2014). Loss of hippocampal neurons after kainate treatment correlates with behavioral deficits. *PloS One*, 9(1), e84722. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084722>
- Maia, G. H., Soares, J. I., Almeida, S. G., Leite, J. M., Baptista, H. X., Lukoyanova, A. N., Brazete, C. S., & Lukoyanov, N. V. (2019). Altered serotonin innervation in the rat epileptic brain. *Brain Research Bulletin*, 152, 95–106. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2019.07.009>
- Martin, S. J., Grimwood, P. D., & Morris, R. G. (2000). Synaptic plasticity and memory: An evaluation of the hypothesis. *Annual Review of Neuroscience*, 23, 649–711. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.23.1.649>

- Masino, S. A., Kawamura, M., & Ruskin, D. N. (2014). Adenosine receptors and epilepsy: Current evidence and future potential. *International Review of Neurobiology*, *119*, 233–255. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801022-8.00011-8>
- Mavanji, V., Butterick, T. A., Duffy, C. M., Nixon, J. P., Billington, C. J., & Kotz, C. M. (2017a). Orexin/hypocretin treatment restores hippocampal-dependent memory in orexin-deficient mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, *146*, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.10.014>
- Mavanji, V., Butterick, T. A., Duffy, C. M., Nixon, J. P., Billington, C. J., & Kotz, C. M. (2017b). Orexin/hypocretin treatment restores hippocampal-dependent memory in orexin-deficient mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, *146*, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.10.014>
- Mazarati, A. M., Baldwin, R. A., Shinmei, S., & Sankar, R. (2005). In vivo interaction between serotonin and galanin receptors types 1 and 2 in the dorsal raphe: Implication for limbic seizures. *Journal of Neurochemistry*, *95*(5), 1495–1503. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03498.x>
- Meador, K. J. (2007). The basic science of memory as it applies to epilepsy. *Epilepsia*, *48*(s9), 23–25. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01396.x>
- Meier, A., Mollenhauer, B., Cohrs, S., Rodenbeck, A., Jordan, W., Meller, J., & Otto, M. (2005). Normal hypocretin-1 (orexin-A) levels in the cerebrospinal fluid of patients with Huntington's disease. *Brain Research*, *1063*(2), 201–203. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.09.028>
- Méndez-Armenta, M., Nava-Ruíz, C., Juárez-Rebollar, D., Rodríguez-Martínez, E., & Gómez, P. Y. (2014). Oxidative stress associated with neuronal apoptosis in experimental models of epilepsy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2014*, 293689. <https://doi.org/10.1155/2014/293689>
- Messore, F., Narayanan Therpurakal, R., Dufour, J.-P., Hoerder-Suabedissen, A., Guidi, L., Korrell, K., Mueller, M., Abuelem, M., Lak, A., Bannerman, D. M., Mann, E. O., & Molnár, Z. (2025). An orexin-sensitive subpopulation of layer 6 neurons regulates cortical excitability and anxiety behaviour. *Translational Psychiatry*, *15*, 147. <https://doi.org/10.1038/s41398-025-03350-2>
- Meusel, M., Voß, J., Krapalis, A., Machleidt, F., Vonthein, R., Hallschmid, M., & Sayk, F. (2022). Intranasal orexin A modulates sympathetic vascular tone: A pilot study in healthy male humans. *Journal of Neurophysiology*, *127*(2), 548–558. <https://doi.org/10.1152/jn.00452.2021>

- Meyer, A.-C., Dua, T., Ma, J., Saxena, S., & Birbeck, G. (2010). Global disparities in the epilepsy treatment gap: A systematic review. *Bulletin of the World Health Organization*, 88(4), 260–266. <https://doi.org/10.2471/BLT.09.064147>
- Midzyanovskaya, I. S., Birioukova, L. M., Shatskova, A. B., van Luijtelaa, G., & Tuomisto, L. M. (2016). H1 histamine receptor densities are increased in brain regions of rats with genetically generalized epilepsies. *Epilepsy Research*, 127, 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2016.08.029>
- Mishra, A., & Goel, R. K. (2019). Modulatory Effect of Serotonergic System in Pentylentetrazole-Induced Seizures and Associated Memory Deficit: Role of 5-HT1A and 5-HT2A/2C. *Journal of Epilepsy Research*, 9(2), 119–125. <https://doi.org/10.14581/jer.19012>
- Mishra, A., Singh, S., & Shukla, S. (2018). Physiological and Functional Basis of Dopamine Receptors and Their Role in Neurogenesis: Possible Implication for Parkinson's disease. *Journal of Experimental Neuroscience*, 12, 1179069518779829. <https://doi.org/10.1177/1179069518779829>
- Mochizuki, T., Arrigoni, E., Marcus, J. N., Clark, E. L., Yamamoto, M., Honer, M., Borroni, E., Lowell, B. B., Elmquist, J. K., & Scammell, T. E. (2011). Orexin receptor 2 expression in the posterior hypothalamus rescues sleepiness in narcoleptic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(11), 4471–4476. <https://doi.org/10.1073/pnas.1012456108>
- Moezi, L., Shafaroodi, H., Hojati, A., & Dehpour, A. R. (2011). The interaction of melatonin and agmatine on pentylentetrazole-induced seizure threshold in mice. *Epilepsy & Behavior: E&B*, 22(2), 200–206. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2011.07.002>
- Mondal, M. S., Nakazato, M., & Matsukura, S. (2000). Orexins (hypocretins): Novel hypothalamic peptides with divergent functions. *Biochemistry and Cell Biology = Biochimie Et Biologie Cellulaire*, 78(3), 299–305.
- Moshé, S. L., Perucca, E., Ryvlin, P., & Tomson, T. (2015). Epilepsy: New advances. *Lancet (London, England)*, 385(9971), 884–898. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60456-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60456-6)
- Muschamp, J. W., Hollander, J. A., Thompson, J. L., Voren, G., Hassinger, L. C., Onvani, S., Kamenecka, T. M., Borgland, S. L., Kenny, P. J., & Carlezon, W. A. (2014). Hypocretin (orexin) facilitates reward by attenuating the antireward effects of its cotransmitter dynorphin in ventral tegmental area. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(16), E1648–1655. <https://doi.org/10.1073/pnas.1315542111>

- Myers, K. A. (2022). Genetic Epilepsy Syndromes. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 28(2), 339–362. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000001077>
- Nagahara, T., Saitoh, T., Kutsumura, N., Irukayama-Tomobe, Y., Ogawa, Y., Kuroda, D., Gouda, H., Kumagai, H., Fujii, H., Yanagisawa, M., & Nagase, H. (2015). Design and Synthesis of Non-Peptide, Selective Orexin Receptor 2 Agonists. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(20), 7931–7937. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00988>
- Nakamura, M., & Nagamine, T. (2017). Neuroendocrine, Autonomic, and Metabolic Responses to an Orexin Antagonist, Suvorexant, in Psychiatric Patients with Insomnia. *Innovations in Clinical Neuroscience*, 14(3–4), 30–37.
- Nakamura, Y., Miura, S., Yoshida, T., Kim, J., & Sasaki, K. (2010). Cytosolic calcium elevation induced by orexin/hypocretin in granule cell domain cells of the rat cochlear nucleus in vitro. *Peptides*, 31(8), 1579–1588. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.04.029>
- Nambu, T., Sakurai, T., Mizukami, K., Hosoya, Y., Yanagisawa, M., & Goto, K. (1999). Distribution of orexin neurons in the adult rat brain1. *Brain Research*, 827(1), 243–260. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01336-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01336-0)
- Navidhamidi, M., Ghasemi, M., & Mehranfard, N. (2017). Epilepsy-associated alterations in hippocampal excitability. *Reviews in the Neurosciences*, 28(3), 307–334. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2016-0059>
- Neuray, C., Maroofian, R., Scala, M., Sultan, T., Pai, G. S., Mojarad, M., Khashab, H. E., deHoll, L., Yue, W., Alsaif, H. S., Zanetti, M. N., Bello, O., Person, R., Eslahi, A., Khazaei, Z., Feizabadi, M. H., Efthymiou, S., Group, Syn. S., El-Bassyouni, H. T., ... Houlden, H. (2020). Early-infantile onset epilepsy and developmental delay caused by bi-allelic GAD1 variants. *Brain*, 143(8), 2388. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa178>
- Ng, M. C. (2017). Orexin and Epilepsy: Potential Role of REM Sleep. *Sleep*, 40(3). <https://doi.org/10.1093/sleep/zsw061>
- Ni, L. Y., Zhu, M. J., Song, Y., Liu, X. M., & Tang, J. Y. (2014). Pentylenetetrazol-induced seizures are exacerbated by sleep deprivation through orexin receptor-mediated hippocampal cell proliferation. *Neurological Sciences: Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 35(2), 245–252. <https://doi.org/10.1007/s10072-013-1495-5>
- Obukuro, K., Nobunaga, M., Takigawa, M., Morioka, H., Hisatsune, A., Isohama, Y., Shimokawa, H., Tsutsui, M., & Katsuki, H. (2013). Nitric Oxide Mediates Selective Degeneration of Hypothalamic Orexin Neurons through Dysfunction of Protein Disulfide

Isomerase. *Journal of Neuroscience*, 33(31), 12557–12568. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0595-13.2013>

Osorio, R. S., Ducca, E. L., Wohlleber, M. E., Tanzi, E. B., Gumb, T., Twumasi, A., Tweardy, S., Lewis, C., Fischer, E., Koushyk, V., Cuartero-Toledo, M., Sheikh, M. O., Pirraglia, E., Zetterberg, H., Blennow, K., Lu, S.-E., Mosconi, L., Glodzik, L., Schuetz, S., ... de Leon, M. J. (2016). Orexin-A is Associated with Increases in Cerebrospinal Fluid Phosphorylated-Tau in Cognitively Normal Elderly Subjects. *Sleep*, 39(6), 1253–1260. <https://doi.org/10.5665/sleep.5846>

Pasban-Aliabadi, H., Esmaeili-Mahani, S., & Abbasnejad, M. (2017). Orexin-A Protects Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells Against 6-Hydroxydopamine-Induced Neurotoxicity: Involvement of PKC and PI3K Signaling Pathways. *Rejuvenation Research*, 20(2), 125–133. <https://doi.org/10.1089/rej.2016.1836>

Paul, S., Elsinga, P. H., Ishiwata, K., Dierckx, R. a. J. O., & van Waarde, A. (2011). Adenosine A(1) receptors in the central nervous system: Their functions in health and disease, and possible elucidation by PET imaging. *Current Medicinal Chemistry*, 18(31), 4820–4835. <https://doi.org/10.2174/092986711797535335>

Paul, V., & Ekambaram, P. (2011). Involvement of nitric oxide in learning & memory processes. *The Indian Journal of Medical Research*, 133(5), 471–478.

Petersén, A., & Gabery, S. (2012). Hypothalamic and Limbic System Changes in Huntington's Disease. *Journal of Huntington's Disease*, 1(1), 5–16. <https://doi.org/10.3233/JHD-2012-120006>

Phelan, K. D., Shwe, U. T., Williams, D. K., Greenfield, L. J., & Zheng, F. (2015). Pilocarpine-induced status epilepticus in mice: A comparison of spectral analysis of electroencephalogram and behavioral grading using the Racine scale. *Epilepsy Research*, 117, 90–96. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2015.09.008>

Piantadosi, P. T., Holmes, A., Roberts, B. M., & Bailey, A. M. (2015). Orexin receptor activity in the basal forebrain alters performance on an olfactory discrimination task. *Brain Research*, 1594, 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.10.041>

Postnikova, T. Y., Diespirov, G. P., Malkin, S. L., Chernyshev, A. S., Vylekzhanina, E. N., & Zaitsev, A. V. (2024). Morphological and Functional Alterations in the CA1 Pyramidal Neurons of the Rat Hippocampus in the Chronic Phase of the Lithium-Pilocarpine Model of Epilepsy. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(14), 7568. <https://doi.org/10.3390/ijms25147568>

- Prober, D. A., Rihel, J., Onah, A. A., Sung, R.-J., & Schier, A. F. (2006). Hypocretin/orexin overexpression induces an insomnia-like phenotype in zebrafish. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *26*(51), 13400–13410. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4332-06.2006>
- PubChem. (n.d.). *Orexine A*. Retrieved June 3, 2021, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/56842143>
- Pytliak, M., Vargová, V., Mechírová, V., & Felšöci, M. (2011). Serotonin receptors—From molecular biology to clinical applications. *Physiological Research*, *60*(1), 15–25. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931903>
- Ramos, B. P., & Arnsten, A. F. T. (2007). Adrenergic pharmacology and cognition: Focus on the prefrontal cortex. *Pharmacology & Therapeutics*, *113*(3), 523–536. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.11.006>
- Razavi, B. M., Farivar, O., Etemad, L., & Hosseinzadeh, H. (2020). Suvorexant, a Dual Orexin Receptor Antagonist, Protected Seizure through Interaction with GABAA and Glutamate Receptors. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, *19*(2), 383–390. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2019.14688.12584>
- Reddy, D. S., & Kuruba, R. (2013). Experimental models of status epilepticus and neuronal injury for evaluation of therapeutic interventions. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*(9), 18284–18318. <https://doi.org/10.3390/ijms140918284>
- Rejdak, K., Papuč, E., Grieb, P., & Stelmasiak, Z. (2009a). Decreased cerebrospinal fluid hypocretin-1 (orexin A) in patients after repetitive generalized tonic-clonic seizures. *Epilepsia*, *50*(6), 1641–1644. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01990.x>
- Rejdak, K., Papuč, E., Grieb, P., & Stelmasiak, Z. (2009b). Decreased cerebrospinal fluid hypocretin-1 (orexin A) in patients after repetitive generalized tonic-clonic seizures. *Epilepsia*, *50*(6), 1641–1644. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01990.x>
- Ren, H., Shi, Y.-J., Lu, Q.-C., Liang, P.-J., & Zhang, P.-M. (2014). The role of the entorhinal cortex in epileptiform activities of the hippocampus. *Theoretical Biology & Medical Modelling*, *11*, 14. <https://doi.org/10.1186/1742-4682-11-14>
- Rezaei, M., Ahmadirad, N., Ghasemi, Z., Shojaei, A., Raoufy, M. R., Barkley, V., Fathollahi, Y., & Mirnajafi-Zadeh, J. (2023). Alpha adrenergic receptors have role in the inhibitory effect of electrical low frequency stimulation on epileptiform activity in rats. *The International Journal of Neuroscience*, *133*(5), 496–504. <https://doi.org/10.1080/00207454.2021.1929211>

Roundtree, H. M., Simeone, T. A., Johnson, C., Matthews, S. A., Samson, K. K., & Simeone, K. A. (2016a). Orexin Receptor Antagonism Improves Sleep and Reduces Seizures in Kcna1-null Mice. *Sleep*, 39(2), 357–368. <https://doi.org/10.5665/sleep.5444>

Roundtree, H. M., Simeone, T. A., Johnson, C., Matthews, S. A., Samson, K. K., & Simeone, K. A. (2016b). Orexin Receptor Antagonism Improves Sleep and Reduces Seizures in Kcna1-null Mice. *Sleep*, 39(2), 357–368. <https://doi.org/10.5665/sleep.5444>

Rowley, N. M., Madsen, K. K., Schousboe, A., & Steve White, H. (2012). Glutamate and GABA synthesis, release, transport and metabolism as targets for seizure control. *Neurochemistry International, The Glutamatergic Synapse*, 61(4), 546–558. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.02.013>

S, W., M, L., Taj, F., Te, K., & M, A. (2023). CA3 principal cell activation triggers hypersynchronous-onset seizures in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Journal of Neurophysiology*, 130(4). <https://doi.org/10.1152/jn.00244.2023>

Sachidhanandam, S., Blanchet, C., Jeantet, Y., Cho, Y. H., & Mulle, C. (2009). Kainate receptors act as conditional amplifiers of spike transmission at hippocampal mossy fiber synapses. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(15), 5000–5008. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5807-08.2009>

Sadek, B., Saad, A., Subramanian, D., Shafiullah, M., Łażewska, D., & Kieć-Kononowicz, K. (2016). Anticonvulsant and procognitive properties of the non-imidazole histamine H3 receptor antagonist DL77 in male adult rats. *Neuropharmacology*, 106, 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.10.023>

Sakurai, T. (2003). Orexin: A link between energy homeostasis and adaptive behaviour. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 6(4), 353–360. <https://doi.org/10.1097/01.mco.0000078995.96795.91>

Sakurai, T., Amemiya, A., Ishii, M., Matsuzaki, I., Chemelli, R. M., Tanaka, H., Williams, S. C., Richardson, J. A., Kozlowski, G. P., Wilson, S., Arch, J. R. S., Buckingham, R. E., Haynes, A. C., Carr, S. A., Annan, R. S., McNulty, D. E., Liu, W.-S., Terrett, J. A., Elshourbagy, N. A., ... Yanagisawa, M. (1998a). Orexins and Orexin Receptors: A Family of Hypothalamic Neuropeptides and G Protein-Coupled Receptors that Regulate Feeding Behavior. *Cell*, 92(4), 573–585. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80949-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80949-6)

Sakurai, T., Amemiya, A., Ishii, M., Matsuzaki, I., Chemelli, R. M., Tanaka, H., Williams, S. C., Richardson, J. A., Kozlowski, G. P., Wilson, S., Arch, J. R. S., Buckingham, R. E., Haynes, A. C., Carr, S. A., Annan, R. S., McNulty, D. E., Liu, W.-S., Terrett, J. A., Elshourbagy, N. A., ... Yanagisawa, M. (1998b). Orexins and Orexin Receptors: A Family of Hypothalamic

Neuropeptides and G Protein-Coupled Receptors that Regulate Feeding Behavior. *Cell*, 92(4), 573–585. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80949-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80949-6)

Sakurai, T., Saito, Y. C., & Yanagisawa, M. (2021). Interaction between Orexin Neurons and Monoaminergic Systems. *Frontiers of Neurology and Neuroscience*, 45, 11–21. <https://doi.org/10.1159/000514955>

Salgado, D., & Alkadhi, K. A. (1995). Inhibition of epileptiform activity by serotonin in rat CA1 neurons. *Brain Research*, 669(2), 176–182. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)01235-A](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)01235-A)

Sandau, U. S., Colino-Oliveira, M., Jones, A., Saleumvong, B., Coffman, S. Q., Liu, L., Miranda-Lourenço, C., Palminha, C., Batalha, V. L., Xu, Y., Huo, Y., Diógenes, M. J., Sebastião, A. M., & Boison, D. (2016). Adenosine Kinase Deficiency in the Brain Results in Maladaptive Synaptic Plasticity. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 36(48), 12117–12128. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2146-16.2016>

Scharfman, H. E. (2007). The neurobiology of epilepsy. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 7(4), 348–354. <https://doi.org/10.1007/s11910-007-0053-z>

Schöne, C., Apergis-Schoute, J., Sakurai, T., Adamantidis, A., & Burdakov, D. (2014). Coreleased orexin and glutamate evoke nonredundant spike outputs and computations in histamine neurons. *Cell Reports*, 7(3), 697–704. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.03.055>

Schwartz, M. D., & Kilduff, T. S. (2015). The Neurobiology of Sleep and Wakefulness. *The Psychiatric Clinics of North America*, 38(4), 615–644. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2015.07.002>

Seibenhener, M. L., & Wooten, M. C. (2015). Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, (96), 52434. <https://doi.org/10.3791/52434>

Selbach, O., Doreulee, N., Bohla, C., Eriksson, K. S., Sergeeva, O. A., Poelchen, W., Brown, R. E., & Haas, H. L. (2004). Orexins/hypocretins cause sharp wave- and theta-related synaptic plasticity in the hippocampus via glutamatergic, gabaergic, noradrenergic, and cholinergic signaling. *Neuroscience*, 127(2), 519–528. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.05.012>

Shin, E.-J., Ko, K. H., Kim, W.-K., Chae, J. S., Yen, T. P. H., Kim, H. J., Wie, M.-B., & Kim, H.-C. (2008). Role of glutathione peroxidase in the ontogeny of hippocampal oxidative stress and kainate seizure sensitivity in the genetically epilepsy-prone rats. *Neurochemistry International*, 52(6), 1134–1147. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2007.12.003>

- Sieminski, M., Szypienbejl, J., & Partinen, E. (2018). Orexins, Sleep, and Blood Pressure. *Current Hypertension Reports*, 20(9). <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0879-6>
- Šimić, G., Babić Leko, M., Wray, S., Harrington, C., Delalle, I., Jovanov-Milošević, N., Bažadona, D., Buée, L., de Silva, R., Di Giovanni, G., Wischik, C., & Hof, P. R. (2016). Tau Protein Hyperphosphorylation and Aggregation in Alzheimer's Disease and Other Tauopathies, and Possible Neuroprotective Strategies. *Biomolecules*, 6(1), 6. <https://doi.org/10.3390/biom6010006>
- Singh, A., & Trevick, S. (2016). The Epidemiology of Global Epilepsy. *Neurologic Clinics*, 34(4), 837–847. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2016.06.015>
- Slats, D., Claassen, J. A. H. R., Lammers, G. J., Melis, R. J., Verbeek, M. M., & Overeem, S. (2012). Association between hypocretin-1 and amyloid- β 42 cerebrospinal fluid levels in Alzheimer's disease and healthy controls. *Current Alzheimer Research*, 9(10), 1119–1125. <https://doi.org/10.2174/156720512804142840>
- Sloviter, R. S. (2008). Hippocampal epileptogenesis in animal models of mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis: The importance of the “latent period” and other concepts. *Epilepsia*, 49 Suppl 9, 85–92. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01931.x>
- Sloviter, R. S., & Lømo, T. (2012). Updating the Lamellar Hypothesis of Hippocampal Organization. *Frontiers in Neural Circuits*, 6. <https://doi.org/10.3389/fncir.2012.00102>
- Soares, J. I., Valente, M. C., Andrade, P. A., Maia, G. H., & Lukoyanov, N. V. (2017). Reorganization of the septohippocampal cholinergic fiber system in experimental epilepsy. *The Journal of Comparative Neurology*, 525(12), 2690–2705. <https://doi.org/10.1002/cne.24235>
- Socała, K., Szuster-Ciesielska, A., & Wlaź, P. (2016). SB 334867, a selective orexin receptor type 1 antagonist, elevates seizure threshold in mice. *Life Sciences*, 150, 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.02.075>
- Sokołowska, P., Urbańska, A., Biegańska, K., Wagner, W., Ciszewski, W., Namiecińska, M., & Zawilska, J. B. (2013). Orexins Protect Neuronal Cell Cultures Against Hypoxic Stress: An Involvement of Akt Signaling. *Journal of Molecular Neuroscience*, 52(1), 48. <https://doi.org/10.1007/s12031-013-0165-7>
- Song, H., Mah, B., Sun, Y., Aloysius, N., Bai, Y., & Zhang, L. (2024). Development of spontaneous recurrent seizures accompanied with increased rates of interictal spikes and decreased hippocampal delta and theta activities following extended kindling in mice. *Experimental Neurology*, 379, 114860. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2024.114860>

- Soni, N., Reddy, B. V. K., & Kumar, P. (2014). GLT-1 transporter: An effective pharmacological target for various neurological disorders. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 127, 70–81. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.10.001>
- Soukupová, M., Binaschi, A., Falcicchia, C., Zucchini, S., Roncon, P., Palma, E., Magri, E., Grandi, E., & Simonato, M. (2014). Impairment of GABA release in the hippocampus at the time of the first spontaneous seizure in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Experimental Neurology*, 257, 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.04.014>
- Sr, H., Tw, H., & Bg, S. (2007). Stimulation of lateral hypothalamic kainate receptors selectively elicits feeding behavior. *Brain Research*, 1184. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.09.060>
- Suarez, A. N., Liu, C. M., Cortella, A. M., Noble, E. E., & Kanoski, S. E. (2020). Ghrelin and orexin interact to increase meal size through a descending hippocampus to hindbrain signaling pathway. *Biological Psychiatry*, 87(11), 1001–1011. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.10.012>
- Swamy, M., Yusof, W. R. W., Sirajudeen, K. N. S., Mustapha, Z., & Govindasamy, C. (2011). Decreased glutamine synthetase, increased citrulline-nitric oxide cycle activities, and oxidative stress in different regions of brain in epilepsy rat model. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 67(1), 105–113. <https://doi.org/10.1007/s13105-010-0054-2>
- Szyndler, J., Maciejak, P., Kołosowska, K., Chmielewska, N., Skórzewska, A., Daszczuk, P., & Płaźnik, A. (2018). Altered expression of GABA-A receptor subunits in the hippocampus of PTZ-kindled rats. *Pharmacological Reports*, 70(1), 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.07.008>
- Taskiran, M., Tasdemir, A., Ayyildiz, N., Ayyildiz, M., & Agar, E. (2019). The effect of serotonin on penicillin-induced epileptiform activity. *The International Journal of Neuroscience*, 129(7), 687–697. <https://doi.org/10.1080/00207454.2018.1557166>
- Toplu, A., Mutlu, N., Erdeve, E. T., Sariyildiz, Ö., Çelik, M., Öz-Arslan, D., Akman, Ö., Molnár, Z., Çarçak, N., & Onat, F. (2023). Involvement of orexin type-2 receptors in genetic absence epilepsy rats. *Frontiers in Neurology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1282494>
- Vernier, P., Moret, F., Callier, S., Snapyan, M., Wersinger, C., & Sidhu, A. (2004). The degeneration of dopamine neurons in Parkinson's disease: Insights from embryology and evolution of the mesostriatocortical system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1035, 231–249. <https://doi.org/10.1196/annals.1332.015>

- Vezzani, A., Fujinami, R. S., White, H. S., Preux, P.-M., Blümcke, I., Sander, J. W., & Löscher, W. (2015). Infections, inflammation and epilepsy. *Acta Neuropathologica*, *131*(2), 211. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1481-5>
- Vincent, P., & Mulle, C. (2009). Kainate receptors in epilepsy and excitotoxicity. *Neuroscience*, *158*(1), 309–323. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.02.066>
- Vishnoi, S., Raisuddin, S., & Parvez, S. (2016). Glutamate Excitotoxicity and Oxidative Stress in Epilepsy: Modulatory Role of Melatonin. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology: Official Organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, *35*(4), 365–374. <https://doi.org/10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2016016399>
- Wang, C., Wang, Q., Ji, B., Pan, Y., Xu, C., Cheng, B., Bai, B., & Chen, J. (2018). The Orexin/Receptor System: Molecular Mechanism and Therapeutic Potential for Neurological Diseases. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *11*, 220. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00220>
- Watanabe, M., Miyai, A., Danjo, S., Nakamura, Y., & Itoh, K. (2013). The threshold of pentylenetetrazole-induced convulsive seizures, but not that of nonconvulsive seizures, is controlled by the nitric oxide levels in murine brains. *Experimental Neurology*, *247*, 645–652. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2013.02.019>
- Wheeler, D. W., White, C. M., Rees, C. L., Komendantov, A. O., Hamilton, D. J., & Ascoli, G. A. (2015). Hippocampome.org: A knowledge base of neuron types in the rodent hippocampus. *eLife*, *4*, e09960. <https://doi.org/10.7554/eLife.09960>
- Whissell, P. D., Lecker, I., Wang, D.-S., Yu, J., & Orser, B. A. (2015). Altered expression of δ GABAA receptors in health and disease. *Neuropharmacology, GABAergic Signaling in Health and Disease*, *88*, 24–35. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.08.003>
- Williams, R. H., Morton, A. J., & Burdakov, D. (2011). Paradoxical function of orexin/hypocretin circuits in a mouse model of Huntington's disease. *Neurobiology of Disease*, *42*(3), 438–445. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.02.006>
- Wu, J., Cai, Y., Wu, X., Ying, Y., Tai, Y., & He, M. (2021). Transcardiac Perfusion of the Mouse for Brain Tissue Dissection and Fixation. *Bio-Protocol*, *11*(5), e3988. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3988>
- Xiao, Z., Deng, P.-Y., Rojanathammanee, L., Yang, C., Grisanti, L., Permpoonputtana, K., Weinshenker, D., Doze, V. A., Porter, J. E., & Lei, S. (2009). Noradrenergic depression of neuronal excitability in the entorhinal cortex via activation of TREK-2 K⁺ channels. *The*

Journal of Biological Chemistry, 284(16), 10980–10991.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M806760200>

Xue, Y., Yang, Y.-T., Liu, H.-Y., Chen, W.-F., Chen, A.-Q., Sheng, Q., Chen, X.-Y., Wang, Y., Chen, H., Liu, H.-X., Pang, Y.-Y., & Chen, L. (2016). Orexin-A increases the activity of globus pallidus neurons in both normal and parkinsonian rats. *The European Journal of Neuroscience*, 44(5), 2247–2257. <https://doi.org/10.1111/ejn.13323>

Yakushev, I. Y., Dupont, E., Buchholz, H.-G., Tillmanns, J., Debus, F., Cumming, P., Heimann, A., Fellgiebel, A., Luhmann, H. J., Landvogt, C., Werhahn, K. J., Schreckenberger, M., Potschka, H., & Bartenstein, P. (2010). In vivo imaging of dopamine receptors in a model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, 51(3), 415–422. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02272.x>

Yalcin, G., & Yalcin, A. (2018). Excitotoxicity as a molecular mechanism in Epilepsy. *Geriatric Medicine and Care*, 2(1). <https://doi.org/10.15761/GMC.1000112>

Yang, L., Zou, B., Xiong, X., Pascual, C., Xie, J., Malik, A., Xie, J., Sakurai, T., & Xie, X. S. (2013). Hypocretin/orexin neurons contribute to hippocampus-dependent social memory and synaptic plasticity in mice. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33(12), 5275–5284. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3200-12.2013>

Zawilska, J. (2015). A new face of orexins action—Neuroprotection. *SpringerPlus*, 4(Suppl 1), L59. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-4-S1-L59>

Zhang, L., Chen, G., Chen, J., He, X., & Hu, X. (2017). [Mechanisms of histamine ameliorating memory impairment induced by pentylentetrazole-kindling epilepsy in rats]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao. Yi Xue Ban = Journal of Zhejiang University. Medical Sciences*, 46(1), 1–6.

Zhang, Y., Liu, Y., Jia, Y., Zhao, Y., Ma, C., Bao, X., Meng, X., Dou, W., Wang, X., & Ge, W. (2020). Proteomic profiling of sclerotic hippocampus revealed dysregulated packaging of vesicular neurotransmitters in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research*, 166, 106412. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2020.106412>

Zhao, X., Zhang, R. xue, Tang, S., Ren, Y. yan, Yang, W. xia, Liu, X. min, & Tang, J. you. (2014a). Orexin-A-induced ERK1/2 activation reverses impaired spatial learning and memory in pentylentetrazol-kindled rats via OX1R-mediated hippocampal neurogenesis. *Peptides*, 54, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.11.019>

Zhao, X., Zhang, R. xue, Tang, S., Ren, Y. yan, Yang, W. xia, Liu, X. min, & Tang, J. you. (2014b). Orexin-A-induced ERK1/2 activation reverses impaired spatial learning and

- memory in pentylenetetrazol-kindled rats via OX1R-mediated hippocampal neurogenesis. *Peptides*, 54, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.11.019>
- Zhao, X., Zhang, R. xue, Tang, S., Ren, Y. yan, Yang, W. xia, Liu, X. min, & Tang, J. you. (2014c). Orexin-A-induced ERK1/2 activation reverses impaired spatial learning and memory in pentylenetetrazol-kindled rats via OX1R-mediated hippocampal neurogenesis. *Peptides*, 54, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.11.019>
- Zhou, Y., & Danbolt, N. C. (2014). Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. *Journal of Neural Transmission*, 121(8), 799. <https://doi.org/10.1007/s00702-014-1180-8>
- Zhu, C., Lin, R., Liu, C., Huang, M., Lin, F., Zhang, G., Zhang, Y., Miao, J., Lin, W., & Huang, H. (2020). The Antagonism of 5-HT6 Receptor Attenuates Current-Induced Spikes and Improves Long-Term Potentiation via the Regulation of M-Currents in a Pilocarpine-Induced Epilepsy Model. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 475. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00475>
- Zhu, X., Dong, J., Han, B., Huang, R., Zhang, A., Xia, Z., Chang, H., Chao, J., & Yao, H. (2017). Neuronal Nitric Oxide Synthase Contributes to PTZ Kindling-Induced Cognitive Impairment and Depressive-Like Behavior. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11, 203. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00203>
- Zubareva, O. E., Kovalenko, A. A., Kalemenev, S. V., Schwarz, A. P., Karyakin, V. B., & Zaitsev, A. V. (2018). Alterations in mRNA expression of glutamate receptor subunits and excitatory amino acid transporters following pilocarpine-induced seizures in rats. *Neuroscience Letters*, 686, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.08.047>

სადისერტაციო ნაშრომის ფარგლებში გამოქვეყნებული ნაშრომების სია

1. Modulation of electrically evoked hippocampal epileptiform activity by exogenous orexins

in the rat CA1 field

Tsira Kapanadze, Mariam Kurasbediani, Gia Kutelia, Butsiko Chkhartishvili, Nanuli Doreulee

Acta Neurobiol Exp 2026, 86 DOI: 10.55782/tyq4vx54

2. Kainic acid status epilepticus - induced changes in the hippocampus and hypothalamus alter the effects of exogenous Orexin-A in the hippocampus

Kapanadze T, Bakuradze E, Kutelia G, Chkhartishvili B, Doreulee N.

IBRO Neurosci Rep. 2025 Oct 15;19:737-748. doi: 10.1016/j.ibneur.2025.10.006. PMID: 41293311; PMCID: PMC12641226.

3. Orexinergic system and pathophysiology of epilepsy

Doreulee N, Alania M, Vashalomidze G, Skhirtladze E, Kapanadze Ts.

Georgian Medical News. 2010 Nov (188):74-79. PMID: 21178208.