თბილისის ივ.ჯავახიშვილის სახელობის
სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

ეკა კვარაცხელია

სიგმა - აქტიური ნაერთების მოქმედება ციტოკინების სეკრეციაზე და მონონუკლეური უჯრედების ტრანსკრიპციულ აქტივობაზე

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატის
სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად
14.00.34 ალერგოლოგია-იმუნოლოგია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:
ბოილ. მეცნ. დოქტორი
პროფესორი დ. მიქელაძე

თბილისი
2006

ს ა რ ჩ ე ვ ი

შესავალი 4
თავი I ლიტერატურის მიმოხილვა 10
1.1 სიგმა-რეცეპტორების კლასიფიკაცია, ლოკალიზაცია და მისი ლიგანდები 10
1.2 სიგმა-რეცეპტორის როლი ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში 13
1.3 სიგმა-რეცეპტორებით განპირობებული ანთების საწინააღმდეგო და იმუნომამოდულირებელი მოქმედება 21
1.4 სიგმა-რეცეპტორების მოქმედების შესაძლო მექანიზმები 28
1.5 ტრანსკრიპციის მარეგულირებელი ფაქტორები - მოკლე მიმოხილვა და მათი როლი ადამიანის მონონუკლეური უჯრედების მიერ ციტოკინების სეკრეციაზე. 35
თავი II ბამოყენებული მასალა და მეთოდები 42
თავი III მიღებული შედეგები და მათი განხილვა .. 46
3.1 სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედება ადამიანის T- ლიმფოციტების Jurkat –ის ხაზის უჯრედების მიერ IL-4-ის, γ-ინტერფერონის და აზოტის ოქსიდის სპონტანურ სეკრეციაზე ... 46
3.2 სიგმა-აქტიური ნაერთის დექსტრორფანის და გლუტამატის რეცეპტორის აგონისტების გავლენა ადამიანის T-ლიმფოციტების Jurkat –ის ხაზის უჯრედების მიერ ციტოკინების (IL6, IL-8, IL-10) და აზოტის ოქსიდის სპონტანურ სეკრეციაზე 53
3.3 სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედება ადამიანის T-ლიმფოციტების მიერ ციტოკინების (IL-8, IL-10) და აზოტის ოქსიდის ანტი-CD3-ით ინდუცირებულ სეკრეციაზე 61

34 სიგმა-აქტიური ნაერთების გავლენა
ტრანსკრიპციის მარეგულირებელი
ფაქტორების აქტივობაზე ადამიანის T ლიმფოციტებში 72
დასკვნები 80
ლიტერატურის სია 82

შესავალი

თემის აქტუალობა სიგმა-ნაერთები და მათი მოლეკულური სამიზნე – სიგმა-რეცეპტორი ეუკარიოტული უჯრედის ერთ-ერთ ამოუცნობ და მეტად საინტერესო სისტემას წარმოადგენს მიუხედავად იმისა, რომ სიგმა-რეცეპტორის შესწავლა საკმაოდ ინტენსიურად მიმდინარეობს, მისი მოქმედების მოლეკულური მექანიზმები დღეისათვის დადგენილი არ არის სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედების სამიზნე - სიგმა-რეცეპტორი პირველად ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში იყო აღმოჩენილი და დახასიათებული, როგორც ოპიატური ბუნების მქონე ფსიქოტომიმეტური ნაერთის N-ალლილნორმეტაზოცინის (SKF 10047) დამაკავშირებელი ცილა (Martin et al , 1976) შემდგომში გაირკვა, რომ სიგმა-რეცეპტორი ფართოდ არის გავრცელებული ადამიანის ორგანიზმში და გვხვდება ღვიძლში, თირკმელებში, გულში, სისხლში, პლაცენტაში და სხვა ორგანოებში (Hanner et al , 1996, Seth et al., 1997)

ენდოგენური სიგმა-ოპიატური ლიგანდი დღეისათვის იდენტიფიცირებული არ არის, მაგრამ სხვადასხვა ტიპის ფარმაკოლოგიურ ნივთიერებებთან მოქმედების მიხედვით სიგმა-რეცეპტორებს ყოფენ ორ ჯგუფად სიგმა-1 და სიგმა-2 რეცეპტორებად როგორც აღვნიშნეთ, ამ რეცეპტორთა უჯრედშიდა ტრანსდუქციული სისტემა დაუდგენელია სავარაუდოდ, სიგმა აქტიური ნაერთები, გადის რა უჯრედის მემბრანაში, უკავშირდება ენდოპლაზმურ რეტიკულუმზე არსებულ რეცეპტორს ამის შემდგომ რეცეპტორი იწყებს ტრანსლოცირებას პლაზმური მემბრანისკენ და მოქმედებს G ცილაზე (Monassier et al , 2002) შედეგად ხდება ფოსფოლიპაზა C-ს გააქტივება, რომელიც აძლიერებს ინოზიტოლ-3-ფოსფატის სეკრეციას და შესაბამისად კალციუმის იონების ქვანტურ გამოთავისუფლებას ენდოპლაზმური რეტიკულუმიდან ამ სისტემის აქტივაცია ტრანზიტორული ხასიათისაა, ვინაიდან სიგმა-რეცეპტორი დესენსიბილიზდება

სიგნალის ტრანსდუქციის პროცესში (Ela et al ,1994, Novakova et al , 1998)

სიგმა-რეცეპტორზე მოქმედი ნაერთების (სიგმა-ლიგანდების) დაყოფა აგონისტებად და ანტაგონისტებად პირობით ხასიათს ატარებს მიჩნეულია, რომ სიგმა-1 რეცეპტორის აგონისტებს წარმოადგენს პენტაზოცინი, დექსტრომეტორფანი, SA4503, ხოლო სიგმა-2 აგონისტს კი - DTG, შერეულ ანუ ორიენ რეცეპტორის აგონისტს მიეკუთვნება SKF 10047 სიგმა-1 ტიპის ანტაგონისტებს მიეკუთვნება ჰალოპერიდოლი, ხოლო შერეულ სიგმა-1/სიგმა-2 ანტაგონისტებს - რიმკაზოლი, NE-100, BMY 14802, BD 1063, პანამეზინი ზოგიერთ შემთხვევებში სიგმა აგონისტების და ანტაგონისტების მოქმედება იდენტურ ხასიათს ატარებს, ამიტომ ამ ფარმაკოლოგიური პრეპარატების კლასიფიკაცია დაზუსტებას მოითხოვს

სიგმა-ლიგანდებს ფარმაკოლოგიური მოქმედების ფართო სპექტრი აქვთ უპირველეს ყოვლისა, უნდა აღინიშნოს, რომ ისინი ეფექტური აღმოჩნდა შიზოფრენიის სამკურნალოდ (Huber et el , 1999) გარდა ამისა, გაირკვა, რომ სიგმა-ლიგანდები ამცირებს სტრესით გამოწვეულ მოტორულ დისფუნქციებს სიგმა-აგონისტები (SKF 10047, SA 4503) ზრდის დიდი ნახევარცფეროების ქერქის ფრონტალურ წილში აცეტილქოლინის რაოდენობას, რის გამოც მათ გააჩნიათ ანტი-ამნეზიური ეფექტი (Matsuno et al , 1993)

სიგმა-ლიგანდები მნიშვნელოვან როლს თამაშობს დეპრესიის დროს (Bunney et al., 1965; Trullas et al , 1990) სიგმა-რეცეპტორის ზოგიერთი აგონისტი, მაგალითად, (+)-პენტაზოცინი და 4-(N–ბენზილპიპერიდინ-4-ილ)-4-იოდობენზამიდი (4-IBP) ანესთეზირებულ ვირთაგვებში აძლიერებს სეროტონინერგულ ტრანსმისიას (Bermack at al , 2001)

დეპრესიის ექსპერიმენტულ მოდელზე ნაჩვენები იქნა ნეირო-აქტიურ სტეროიდებსა და სიგმა-1 რეცეპტორს შორის ურთიერთქმედება DHEA სულფატმა და პრეგნენოლონმა იძულებითი ცურვის ექსპერიმენტებში მნიშვნელოვნად შეამცირეს უმოძრაობის

ხანგრძლივობა ვირთაგვებში ეს ეფექტი იბლოკებოდა სიგმა-1 რეცეპტორის სელექტიური ანტაგონისტით NE-100-ით (Reddy et al, 1998) პროგესტერონი ბლოკავდა სიგმა-1 აგონისტის იგმეზინის (Urani et al, 1999) ან SKF-10047-ის ანტიდეპრესიულ მოქმედებას (Urani et al, 2001) ეს მონაცემები საფუძველს გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ ნეიროაქტიური სტეროიდები და სიგმა-1 რეცეპტორის აგონისტები მიმართულია ერთიდაიგივე სამიზნესკენ და ნეიროაქტიური სტეროიდების ანტიდეპრესიული მოქმედება განპირობებულია სიგმა-1 რეცეპტორთან ურთიერთქმედებით

სიგმა-რეცეპტორების ძლიერი ექსპრესია მიმდინარეობს სიმსივნური ზრდის პროცესში სიგმა-ანტაგონისტები იწვევს სარძევე ჯირკვლის და სწორი ნაწლავის ადენოკარცინომული უჯრედების აპოპტოზს (Brent et al, 1995), რის გამოც მათ დიდი პერსპექტივა აქვთ ონკოლოგიური პათოლოგიების თერაპიაში

სიგმა-რეცეპტორის მიმართ ინტერესი მას შემდეგ გაიზარდა, რაც ცნობილი გახდა, რომ სიგმა-1 აქტიური ნაერთები აინჰიბირებს ლიმფოციტების მიტოგენ-დამოკიდებულ პროლიფერაციას (Casselas et al, 1994)

სიგმა-ლიგანდი SR 31747A იწვევს T-ლიმფოციტების სუპრესიას გარდა ამისა, იგი აძლიერებს LPS-ით და სტაფილოკოკური ენდოტოქსინიB (SEB)-თი გააქტივებული იმუნური სისტემის უჯრედების მიერ ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინის IL10-ის სინთეზს და ამავე დროს მნიშვნელოვნად თრგუნავს ანთებითი ციტოკინის TNFα-ს სეკრეციას (Derocq et al, 1995). როგორც ცნობილია, ეს ორი ციტოკინი და მათი დისბალანსი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ისეთი აუტოიმუნური დაავადებების პათოგენეზში, როგორიცაა გაფანტული სკლეროზი, რევმატოიდული ართრიტი, ფსორიაზი და სხვა ერიფერიულ ლეიკოციტებში და სპლენოციტებში აღმოჩენილია არაჰალოპერიდოლ მგრძნობიარე სიგმა-რეცეპტორი, რომელიც მონაწილეობს იღების იმუნომოდულაციაში (Whitlock et al, 1996) სიგმა-აგონ-

ისტი პენტაზოცინი ამცირებს NK უჯრედების აქტივობას, ხოლო ანტაგონისტი ჰალოპერიდოლი იწვევს სპლენოციტებში ConA-სტიმულირებული γIFN-ის პროდუქციის შემცირებასა და ნეიტროფილების ფაგოციტური აქტივობის დათრგუნვას სიგმა-ლიგანდების მიერ გამოწვეული იმუნოსუპრესია, რომელიც მიმდინარეობს ამ ნივთიერებების ანთების საწინააღმდეგო მოქმედების ფონზე, იდეალურს ხდის მათ გამოყენებას აუტოიმუნური დაავადებების სამკურნალოდ

ამრიგად, ნათელია, რომ სიგმა-აქტიური ნაერთები ფარმაკოლოგიური მოქმედების ფართო სპექტრით ხასიათდება და შესაბამისი რეცეპტორების საშუალებით ჩართულია უჯრედების ძირითადი მეტაბოლური პროცესების რეგულაციაში

ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე, სიგმა-რეცეპტორის მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების შესწავლა ერთ-ერთ აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს ასევე მნიშვნელოვანია დავადგინოთ სიგმა ლიგანდების დექსტრორფანის, პენტაზოცინის, ჰალოპერიდოლის და სხვ, როლი ციტოკინების რეგულაციაში გენების ტრანსკრიპციის დონეზე, რაც შესაძლებელს გახდის ერთის მხრივ, დადგინდეს იმუნურ უჯრედებში ანთების საწინააღმდეგო და ანტებითი გენების ექსპრესიის მექანიზმები, ხოლო მეორე მხრივ, ანტებითი პროცესების ფარმაკოთერაპიის ოპტიმიზაციის მიზნით, დაისახოს სიგმა-აქტიური ნაერთების სამკურნალო პროცესში ინტერვენციის გზები

სამუშაოს მიზანი და ამოცანები. სამუშაოს ძირითადი მიზანი იყო ზოგიერთი სიგმა-აქტიური ნაერთის მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების დადგენა და ამ ნაერთების იმუნომოდულატორული თვისებების შესწავლა ამ მიზნის მისაღწევად ჩვენს წინაშე დასმული იყო შემდეგი ამოცანები

1 სიგმა1-აქტიური ნაერთების მოქმედების შესწავლა ადამიანის ლიმფოიდური Jurkat-ის ხაზის უჯრედების მიერ ციტოკინების (IL-4, γIFN, IL-6, IL8, IL10) სპონტანურ სეკრეციაზე,

2 სიგმა1-აქტიური ნაერთების მოქმედების შესწავლა ანტი-CD3-ით გააქტიებული Jurkat-ის ხაზის უჯრედების და პერიფერიული სისხლიდან მიღებული T-ლიმფოციტების მიერ ციტოკინების (IL-6, IL-8, IL-10) სეკრეციაზე,

3 სიგმა1-აქტიური ნაერთების მოქმედების შესწავლა Jurkat-ის ხაზის უჯრედების მიერ აზოტის ოქსიდის სპონტანურ და ანტი-CD3-ით ინდუცირებულ სინთეზზე

4 სიგმა1-აქტიური პრეპარატების მოქმედების შესწავლა ადამიანის პერიფერიული სისხლიდან მიღებულ ლიმფოციტებში ციტოკინების მაკოდირებელი გენების ტრანსკრიპციულ აქტივობაზე

მიღებული შედეგების მეცნიერული სიახლე. ჩატარებული გამოკვლევების შედეგად პირველად იქნა დადგენილი ზოგიერთი სიგმა-აქტიური ნაერთის, კერძოდ, დექსტრორფანის, ჰენტაზოცინის და ჰალოპერიდოლის იმუნომოდულატორული მოქმედება

განსაზღვრულ იქნა ამ ნაერთების მოქმედება იმუნური უჯრედების მიერ აზოტის ოქსიდის სეკრეციის ინტენსივობაზე პარალელურად განისაზღვრა Jurkat-ის უჯრედების და ადამიანის პერიფერიული სისხლიდან მიღებული ლიმფოციტების დნმ-ის ენჰანსერულ და პრომოტორულ უბნებზე ტრანსკრიპციის ფაქტორების NF-kB, ATF-2 და c-Fos დაკავშირების უნარი მიღებული მონაცემების საფუძველზე გამოვლინდა კორელაცია ანთებითი ციტოკინების სეკრეციას და გარკვეული ტიპის ტრანსკრიპციული ფაქტორის მოქმედებას შორის

ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა

სადისერტაციო ნაშრომში მიღებულ მონაცემებს, სხვადასხვა ფარმაკოლოგიური თვისებების მქონე სიგმა-აქტიური პრეპარატების გენების ექსპრესიის დონეზე მოქმედების შესახებ, თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა აქვს აუტოიმუნური დაავადებების ეტიო-პათოგენეზური საფუძვლების გარკვევაში

მიღებული შედეგები საშუალებას გვაძლევს ავხსნათ სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედების მოლეკულური მექანიზმები, გავერკვეთ ლიმფოციტების გენური აქტივობის რეგულაციის პრინციპებში, დავსახოთ სიგმა-აქტიური პრეპარატების გამოყენების გზები ანთებითი პათოლოგიების სამკურნალოდ

თავი I . ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1 სიგმა - რეცეპტორების კლასიფიკაცია, ლოკალიზაცია და მისი ლიგანდები

სიგმა-რეცეპტორი პირველად აღწერილ იქნა Martin et al მიერ 1976 წელს, როგორც ოპიოიდური რეცეპტორების ქვეტიპი, ვინაიდან მას აქვს უნარი მაღალი აფინურობით, სელექტიურად დაიკავშიროს როგორც ოპიატები, ასევე ფსიქოაქტიური პრეპერატები და სტეროიდები (Martin et al , 1976)

სიგმა-რეცეპტორი პირველად აღმოჩენილი და დახასიათებული იყო ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში, როგორც ოპიატური ბუნების მქონე ფსიქოტომიმეტური ნაერთის N-ალლილნორმეტაზოცინის (SKF 10047) დამაკავშირებელი ცილა (Martin et al , 1976) შემდგომში გაირკვა, რომ სიგმა-რეცეპტორი ფართოდ არის გავრცელებული ადამიანის ორგანიზმში და გვხვდება ღვიძლში, თირკმელებში, გულში, სისხლში, პლაცენტაში და სხვა ორგანოებში (Hanner et al ,1999) ისინი განთავსებულნი არიან, როგორც უჯრედის შიგნით ენდოპლაზმურ რეტიკულუმზე, ასევე პლაზმურ მემბრანაზე (Wilke et al., 1999, Dussossoy at al , 1999)

სიგმა-რეცეპტორების ფარმაკოლოგიურმა იდენტიფიკაციამ აჩვენა, რომ მათ აქვთ უნარი მაღალი აფინურობით დაიკავშირონ სხვადასხვა პრეპარატები, მათ შორის, ფსიქომიმეტიკური ბენზომორფანები (ისეთი, როგორიცაა, პენტაზოცინი, N-ალილნორმეტაზოცინი) და მათი წარმოებულები, კოკაინი და მისი წარმოებულები, ამფეტამინი, ზოგიერთი ნეიროლეპტიკი, ანტიკონვულსანტები, ციტოქრომ P 450-ის ინჰიბიტორები, მონოამინ ოქსიდაზის ინჰიბიტორები, ჰისტამინერგული რეცეპტორების ლიგანდები, ნეიროპეპტიდ Y-ის პეპტიდები (NPY) და აგრეთვე ზოგიერთი სტეროიდები (Maurice et al , 1997, 1999)

სიგმა რეცეპტორების კლასიფიკაცია ეფუძნება მათ სელექტიურობასა და მოლეკულურ მასას ამ რეცეპტორების სულ ცოტა ორი ტიპი იქნა იდენტიფიცირებული სიგმა-1 და სიგმა-2 (Quirion at al , 1992) სიგმა1 რეცეპტორს გააჩნია მაღალი აფინურობა და სტერეოსელექტიურობა SKF-10,047–ის (+)იზომერებთან, პენტაზოცინთან და ციკლაზოცინთან, მაშინ როცა სიგმა-2 უბნები აელენენ ნაკლებ აფინიტს და საწინააღმდეგო სტერეო-სელექტიურობას

სიგმა-1 დამაკავშირებელი უბანი იზოლირებულ იქნა თაგვის და ვირთხის თავის ტვინიდან, ზღვის გოჭის ღვიძლიდან და ადამიანის პლაცენტიდან (Hanner 1996, Seth 1997, Seth 1998, Kekuda 1996)

ადამიანის სიგმა რეცეპტორის გენი განთავსებულია მე-9 ქრომოსომაზე და შედგება ოთხი ექსონისაგან და სამი ინტრონისაგან (Quirion 1992) სიგმა-1 რეცეპტორი არის 26 kDa პროტეინი კლონირების შედეგად გაირკვა, რომ ამ ცილის ამინომჟავურ თანმიმდევრობას არ გააჩნია მსგავსება ძუძუმწოვართა არც ერთ ცნობილ ცილასთან, მაგრამ ნაწილობრივ (დაახლოებით 30%-ით) ჰომოლოგიურია სოკოების იმ ცილებთან, რომლებიც მონაწილეობენ სტერინის (sterol-a) (სოკოვანი სტეროლ იზომერაზა) სინთეზში სიგმა-1 რეცეპტორი შეიცავს 223 ამინომჟავას და ძირითადად განთავსებულია ენდოპლაზმურ რეტიკულუმზე სიგმა-1 რეცეპტორს სავარაუდოდ აქვს ერთი ტრანსმემბრანული დომენი

სიგმა-1 რეცეპტორის ლიგანდებია კოკაინი, (+)-ბენზო-მორფანები, ისეთი როგორიცაა (+)-პენტაზოცინი და (+)-ალილ-ნორმეტაზოცინი (+)SKF-10,047) და ენდოგენური ნეიროსტეროიდები, ისეთი, როგორიცაა პროგესტერონი და პრეგნენოლონის სულფატი.

სიგმა-2 რეცეპტორი არის 18-22 kDa პროტეინი, რომელიც ჯერ არ არის კლონირებული, თუმცა ფარმაკოლოგიური მახასიათებლები და ქსოვილური განლაგება შესწავლილია სპეციალურ მონიშნული რადიოლიგანდების საშუალებით ისეთი ნივთიერებები, როგორიცაა

Lu28-179, BD1008, იფენპროდილი, ელიპროდილი ან იბოგაინი სიგმა-2 რეცეპტორის ლიგანდებია (Kekuda et al , 1996, Prasad et al , 1998)

დღეისათვის არსებული ბიოქიმიური და ფარმაკოლოგიური კვლევის შედეგები მიუთითებს სიგმა რეცეპტორის მრავალი ქვეტიპის არსებობაზე ცნობილი გახდა სიგმა-3 უბნის არსებობა ზღვის გოჭებისა და ვირთაგვების თავის ტვინში, რომელიც შედარებით დაბალი აფინენტობით ხასიათდება ბოლო დროს აღმოჩენილ იქნა ახალი უბანი, რომელიც იკავშირებს ყველა სიგმა ლიგანდს ორი გამონაკლისის გარდა· ჰალოპერიდოლი და 1,3-დი(2-ტოლილ) გუანიდინისა (Bowen et al , 1995, Myers et al , 1994)

სიგმა-რეცეპტორი აღმოჩენილია ორგანიზმის სხვადასხვა ქსოვილში, სხვადასხვა სიმკვრივით ყველაზე დიდი კონცენტრაციით გამოვლენილია ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში და შემდეგ პერიფერიულ ქსოვილებში – გულში, ღვიძლში, ელენთაში, ენდოკრინულ ორგანოებში, კუჭ-ნაწლავის ტრაქტში, ფილტვებში (Whitlock et al., 1996, Wolfe et al , 1989, Roman et al , 1989, Hellewell et al., 1994) უნდა აღინიშნოს, რომ ეს რეცეპტორები დიდი რაოდენობითაა გამოვლენილი სიმსივნურ უჯრედებში აღმოჩენილია სიგმა-2 რეცეპტორის დიდი რაოდენობით ექსპრესია სიმსივნურ უჯრედებში, მათ შორის, სარძევე ჯირკვლის, ნერვული სისტემის სიმსივნეები, ფილტვის სიმსივნეები, წინამდებარე ჯირკვლის სიმსივნეები, მელანომა (Hellewell et al , 1994, Harada et al , 1994). მრავალრიცხოვანი დაკვირვებების საფუძველზე დადგენილია, რომ სხვადასხვა ქიმიური სტრუქტურის და რეცეპტორული სელექტიურობის მრავალი ფარმაკოლოგიური აგენტი ურთიერთქმედებს სიგმა რეცეპტორთან, რაც ართულებს ამ რეცეპტორის ფუნქციის განსაზღვრას მრავალი სიგმა რეცეპტორის ლიგანდი ურთიერთქმედებს აგრეთვე სხვა რეცეპტორთან, რაც ართულებს ამ ლიგანდების ბიოქიმიური, ფიზიოლოგიური და ქცევითი ეფექტების ახსნას

1.2. სიგმა-რეცეპტორის როლი ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში

სიგმა-რეცეპტორები მონაწილეობენ ცენტრალური ნერვული სისტემის მნიშვნელოვან ბიოქიმიურ და ფიზიოლოგიურ პროცესებში სავარაუდოა მათი მონაწილეობა სხვადასხვა ნეიროტრანსმიტერული სისტემის მოდულაციაში, რის გამოც ეს რეცეპტორები ჩართულია ქცევით ეფექტებში

ნეიროსტეროიდები ფუნქციონერებს როგორც ალოსტერული მოდულატორები $GABA_A$, NMDA, ქოლინერგული რეცეპტორებისა, რის შედეგადაც ნეიროსტეროიდები ჩართულნი არიან ისეთ პათოფიზიოლოგიურ პროცესებში, როგორიცაა ნეიროპლასტიურობა, სტრესული პასუხები, დეპრესია, ეპილეფსია, დასწავლის პროცესები და მეხსიერების ფორმირება (Maurice et al , 2001)

სავარაუდოა, რომ ზუსტად ნეიროაქტიური სტეროიდები წარმოადგენენ სიგმა რეცეპტორის ენდოგენურ ლიგანდებს და რომ ამ სტეროიდების მოქმედება განპირობებულია სიგმა-1 რეცეპტორებით თუმცა დღემდე არც ერთი ენდოგენური ლიგანდი არ არის ბოლომდე იდენტიფიცირებული (Su et al, 1990, 1988) Su და თანამშრ აჩვენეს, რომ სხვადასხვა სტეროიდებიდან ყველაზე ძლიერი ინჰიბიტორი სიგმა დაკავშირებისა [3H](+)-SKF-10,047-თან არის პროგესტერონი თავის ტვინში და [3H]-ჰალოპერიდოლი ზღვის გოჭის ელენთაში ტესტოსტერონი, დეზოქსიკორტიკოსტერონი და პრეგნენოლონის სულფატი ასევე აინჰიბირებდნენ in vitro [3H](+)-SKF-10,047 ბმას (Maurice at al, 1996)

გარდა ამისა, ბევრი სიგმა-1 რეცეპტორის ლიგანდი, მათ შორის ჰალოპერიდოლი, კარბეტაპენტანი, DTG, (+)-3-PPP და რიმკაზოლი ძლიერად თრგუნავდა [3H]-პროგესტერონის დაკავშირებას სიგმა რეცეპტორთან ვირთაგვის ღვიძლის მიკროსომალურ მემბრანულ პრეპარატებში (Yamada et al, 1994)

ძალიან მცირე სამუშაოა ნატარებული სიგმა-1 რეცეპტორის ლიგანდების მოქმედებაზე GABA-ერგულ სისტემასთან ამ კვლევების მონაცემებიდან გამომდინარე (+)SKF-10,047 თრგუნავს K+-ინდუცირებულ [3H]GABA-ს გაჟონვას ვირთაგვას substantia nigra–ს ქსოვილებში (Smith et al, 1991), დექსოქსადროლი აძლიერებდა GABA-ინდუცირებულ ინჰიბირებას ანესთეზირებული ვირთაგვების ნეირონებში (Wang , 1989) აქედან გამომდინარე შესაძლებელია სიგმა რეცეპტორების აგონისტები, პრეგნენოლონის და DHEA–ს მსგავსად, მოქმედებენ როგორც GABAa–რეცეპტორის უარყოფითი მოდულატორები, თუმცა ეს ჰიპოთეზა საჭიროებს შემდგომ, უფრო დეტალურ შესწავლას (Maurice et al, 1999)

სიგმა-1 რეცეპტორის ლიგანდები ახდენენ იონოტროპული NMDA (N-მეთილD-ასპარტატი) რეცეპტორებით განპირობებული სხვადასხვა პასუხების მოდულაციას NMDA რეცეპტორი განეკუთვნება გლუტამატის რეცეპტორების ოჯახს გლუტამატი წარმოადგენს ძირითად ექსაიტატორულ ნეიროტრანსმიტერს ძუძუმწოვართა თავის ტვინში, რომელიც მონაწილეობს ცნს-ის პრაქტიკულად ყველა ფუნქციაში, დაწყებული პირველადი აღქმიდან დამთავრებული გვიანი უნარებით NMDA რეცეპტორებს აქვთ გლუტამატური და გლიცინური (D–სერინული) დაკავშირების საიტები, აგრეთვე NMDA რეცეპტორის არაკონკურენტული ანტაგონისტის ფენციკლიდინური დაკავშირების საიტი

იმ მიზნით, რომ გამოეკვლიათ სიგმა რეცეპტორის ლიგანდების მამოდულირებელი მოქმედება NMDA-რეცეპტორებზე, შესწავლილ იქნა in vivo H-N-[1-(2-თიენილ)ციკლოჰექსილ]პიპერიდინის (3H-TCR) დაკავშირება ვირთაგვის კულტივირებულ ნერვულ უჯრედებში 3H-TCR ბმა ინჰიბირდებოდა NMDA-რეცეპტორის სელექტიური ანტაგონისტით D-ამინო-5-ფოსფონოვალერიანის მჟავით და Mg2+-ით MK-801 აღმოჩნდა 3H-TCR ბმის კონკურენტული ინჰიბიტორი, ხოლო ჰალოპერიდოლი კი არაკონკურენტული ინჰიბიტორი

ამ მონაცემების საფუძველზე ვარაუდობენ, რომ სიგმა ლიგანდები ახდენს NMDA-რეცეპტორების მოდულირებას არაპირდაპირი გზით, სიგმა-1 რეცეპტორების საშუალებით (Yamamoto at al, 1995)

ნაჩვენები იქნა, რომ სიგმა-1 რეცეპტორების აგონისტებს შეუძლიათ NMDA–თი განპირობებული სხვადასხვა პასუხების გაძლიერება, სიგმა-1 ანტაგონისტები თავისთავად მოკლებულა ეფექტებს, მაგრამ ბლოკავს აგონისტების გაძლიერებულ მოქმედებას სელექტიური სიგმა-ლიგანდების დაბალი დოზები, სიგმა-1 აგონისტები, მაგალითად, +პენტაზოცინი, იგმეზინი, BD-737, JO-1784, L-687,384 აძლიერებს NMDA-რეცეპტორის გააქტიებით გამოწვეულ პირამიდული ნერვული უჯრედების პასუხებს ვირთაგვის ჰიპოკამპში (Bergeron 1995)

ზოგიერთ ნეიროაქტიურ სტეროიდს შეუძლია NMDA-რეცეპტორებით გამოწვეული პასუხების მოდულირება სიგმა რეცეპტორის საშუალებით. ამას ადასტურებს Monnet et al (Monnet et al, 1995)-ის კვლევის შედეგები, რომლის მიხედვითაც DHEA აძლიერებს, პრეგნენოლონის სულფატი კი ასუსტებს ნორადრენალინის NMDA-ინდუცირებულ გამოთავისუფლებას ჰიპოკამპში და რომ ეს ეფექტი განპირობებულია სიგმა რეცეპტორით მის კვლევებში სიგმა-რეცეპტორის აგონისტები BD-737 და +პენტაზოცინი იწვევდა NMDA-ინდუცირებული ნორადრენალინის დოზადამოკიდებულ გამოთავისუფლებას ვირთაგვის ჰიპოკამპში სიგმა ანტაგონისტები ჰალოპერიდოლი და BD-1063 არ ახდენდა გავლენას NMDA–ინდუცირებულ პასუხზე, მაგრამ დოზადამოკიდებულად თრგუნავდნენ (+)-პენტაზოცინის გაძლიერებულ ეფექტს NMDA – ინდუცირებულ ნორადერენალინის გამოთავისუფლებაზე NE-100-ბლოკავდა (+)-პენტაზოცინის და BD-737 –ის გაძლიერებულ მოქმედებას (Monnet FP. at al, 1996)

ამრიგად, სიგმა რეცეპტორებს შეუძლია NMDA რეცეპტორებით გამოწვეული სასიგნალო ტრანსდუქციის მოდელირება. ამასთან, როგორც ნაჩვენები იყო, მათი ეფექტები შეიძლება

შეიცვალოს დოზადამოკიდებულად მაგალითად, ვირთაგვის პირამიდულ უჯრედებში სიგმა რეცეპტორის სელექტიური ლიგანდი SR31742A დაბალი კონცენტრაციით აძლიერებდა, ხოლო მაღალი კონცენტრაციით თრგუნავდა NMDA-თი გამოწვეულ პასუხებს (Liang et al, 1998)

სგმა-რეცეპტორების ლიგანდები გავლენას ახდენს ქოლინერგულ ნეიროტრანსმისიაზე. სიგმა-ლიგანდები (+)-3-(3-ჰიდროქსიფენილ)-N(1-პროპილ) პიპერიდინი და 1,3-დი(2-ტოლილ) გუანიდინი (DTG) ზრდიდა აცეტილქოლინის უჯრედშიდა კონცენტრაციას ვირთაგვის თაგის ტვინის შუბლის წილში სიგმა- ლიგანდები (+-)პენტაზოცინი და (+)-SKF-10047 და DTG აგრეთვე ზრდიდა აცეტილქოლინის უჯრედგარე დონეს ვირთაგვის ქერქის ფრონტალურ ნაწილში. (+)-SKF - 10047 და DTG - ის ეს ეფექტი მნიშნელოვნად ითრგუნებოდა სიგმა რეცეპტორის ანტაგონისტის ჰალოპერიდოლის ერთდროული შეყვანის შემთხვევაში, მაშინ როცა NMDA რეცეპტორის კონკურენტული ანტაგონისტი (+—)-3-(2-კარბოქსიპიპერაზინ-4-ილ)-პროპილ-1-ფოსფონის მჟავა არ ახდენდა გავლენას (+) SKF-10047–ინდუცირებულ აცეტილქოლინის კონცენტრაციის ზრდაზე (Matsuno et al , 1993)

სიგმა-1 რეცეპტორის ქცევითი ეფექტები ბოლომდე დადგენილი არ არის საკმარისია მათი მონაწილეობა მეხსიერების პროცესებში, სტრესსა და დეპრესიაზე პასუხებში, ნარკოტიკულ ნივთიერებებზე დამოკიდებულების მექანიზმებში და სხვა.

სიგმა-1 რეცეპტორების მოდულატორული მოქმედება გლუტამატერგულ და ქოლინერგულ ტრანსმისიაზე გულისხმობს მათ ჩაბმას მეხსიერების და დასწავლის პროცესებში არსებობს მონაცემები იმისა, რომ NMDA-რეცეპტორები მონაწილეობენ სხვადასხვა ფორმის სინაპსური პლასტიურობის ინდუცირებაში, მათ შორის ხანგრძლივ პოტენციაციაში, რისი წყალობითაც ისინი მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ დასწავლის პროცესებსა და მეხსიერების ფორმირებაში (Collingridge et al, 1987, Izquierdo 1991)

სიგმა-1 რეცეპტორები დადებით გავლენას ახდენს ამნეზიის ზოგიერთ მოდელზე Early et al (Early et al, 1991) მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ სიგმა-1 რეცეპტორის სხვადასხვა ლიგანდები გავლენას ახდენს მუსკარინული ქოლინერგული რეცეპტორების ბლოკატორებით ინდუცირებული ამნეზიის უკუგანვითარებაში DTG, (+)-3-PPP და იგმეზინმა შეაფერხა სკოპოლამინინ-ინდუცირებული ამნეზიის განვითარება ვირთაგვებში, მაშინ, როცა (+)-SKF-10,047 და რიმკაზოლი არაეფექტური აღმოჩნდა სიგმა-1 აგონისტები (+)-SKF-10,047, (+–) პენტაზოცინი, DTG და (+)-3-PPP –ასევე აფერხებდა ქოლინერგული დისფუნქციით გამოწვეულ ამნეზიას (Matsuno et al, 1994)

სავარაუდოა, რომ სიგმა ლიგანდები და ნეიროაქტიური სტეროიდები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ დეპრესიის დროს ორივე ახდენს ნორადრენერგული და გლუტამატერგული ნეიროტრანსმისიის მოდულირებას, რასაც დიდი მნიშვნელობა აქვს დეპრესიის ფორმირებაში (Bunney et al, 1965, Trullas et al, 1990) სიგმა რეცეპტორის ზოგიერთი აგონისტი, მაგალითად, (+)-პენტაზოცინი და 4-(N–ბენზილპიპერიდინ-4-ილ)-4-იოდობენზამიდი (4-IBP) აძლიერებდა სეროტონინერგულ ტრანსმისიას in vivo ანესთეზირებულ ვირთაგვებში (Bermack et al, 2001)

კლინიკურმა გამოკვლევებმა აჩვენა კავშირი ნეიროაქტიური სტეროიდების ენდოგენურ დონესა და დეპრესიის მდგომარეობას შორის დეპრესიის მდგომარეობაში მყოფ პაციენტებს აღენიშნებოდათ ალოპრეგნანოლონისა და პრეგნანოლონის კონცენტრაციის შემცირება ზურგის ტვინის სითხეში (Romeo et al, 1998) ანტიდეპრესანტებით წარმატებული მკურნალობის შემდეგ ეს კონცენტრაციები იზრდებოდა სიგმა-1 რეცეპტორების აგონისტები მოქმედებენ როგორც ანტიდეპრესანტები სხვადასხვა ექსპერიმენტულ მოდელში იგმეზინი, (+)-SKF 10047, SA 4503, (+)- პენტაზოცინი, DTG და OPC14523 ამცირებდნენ უმოძრაობის დროს იძულებითი ცურვის ექსპერიმენტებში (Matsuno et al, 1996, Urani et al, 2001, Tottori et al, 1997)

სიგმა-1 რეცეპტორების აგონისტებით დიდი ხნით მკურნალობას, კლასიკური ანტიდეპრესანტებისაგან განსხვავებით, არ ახლდა გვერდითი მოვლენები, ისეთი როგორიცაა წონაში კლება (Ukai et al, 1998) მიუხედავად იმისა, რომ კლინიკური ექსპერიმენტები ჯერ არაა ჩატარებული, ეს შედეგები საფუძველს გვაძლევს ვიფიქროთ, რომ სიგმა-1 რეცეპტორების აგონისტები შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას როგორც ახალი, ეფექტური ანტიდეპრესანტები

სიგმა-რეცეპტორი მონაწილეობს დოფამინერგული ნეიროტრანსმისიის მოდულირებაში სიგმა-ლიგანდები, ბენზომორფანები SKF 10047 და პენტაზოცინი აინჰიბირებდნენ NMDA-სტიმულირებულ დოფამინის გამოთავისუფლებას ვირთაგვას სტრიატუმში ეს ეფექტი ითრგუნებოდა სელექტიური სიგმა-1 ანტაგონისტებით (Gonzalez-Alvear et al, 1994)

ნეიროპეპტიდი Y(NPY) აძლიერებს NMDA–სტიმულირებულ დოფამინის გამოთავისუფლებას ვირთაგვას nucleus accumbens ქსოვილში, რაც სავარაუდოდ ხდება სიგმა-1 რეცეპტორებთან ურთიერთქმედების შედეგად ეს ეფექტი მთლიანად იბლოკება სიგმა-რეცეპტორის ანტაგონისტებით, მაგალითად, DuP734 – ით (Ault DT. at al, 1998)

პრეკლინიკური და კლინიკური კვლევების მონაცემები მიუთითებს იმაზე, რომ სიგმა რეცეპტორები შესაძლოა მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ფსიქოზის და შიზოფრენიის პათოგენეზში (Tam et al, 1983,). სიგმა-რეცეპტორის ანტაგონისტები BMY-14802 და NE-100 დადებით გავლენას ახდენდა შიზოფრენიის ექსპერიმენტულ მოდელში (Ujike et al, 1992, 1996)

თავის ტვინის იშემიის სხვადასხვა ექსპერიმენტულ მოდელებში ნაჩვენები იქნა, რომ სიგმა-1 რეცეპტორის ლიგანდი PPBP ამცირებს თავის ტვინის ინფარქტის მოცულობას (Takahashi et al, 1995, 1996). სიგმა-1 რეცეპტორის ლიგანდების ამგვარი მოქმედება შესა-

ძლოა განპირობებული იყოს ექსაიტოტოქსიური ამინომჟავების პრესინაფსური გამოთავისუფლების ინჰიბირებით

სიგმა-რეცეპტორი შესაძლოა ახდენდეს სიგნალების ტრანსდუქციის მოდულირებას გლუტამატ-რეცეპტორის NMDA ქვეტიპსა და NO სინთაზას შორის აინჰიბირებს რა უჯრედშიდა Ca-ის NMDA-ინდუცირებულ ზრდას, სიგმა რეცეპტორის ლიგანდები შესაძლოა გავლენას ახდენდნენ ნეირონული Ca-დამოკიდებულ NO-სინთაზას აქტივობაზე ფარმაკოლოგიური გზით ნეირონული NO –სინთაზას დაინჰიბირება ინფარქტის მოცულობას ამცირებს (Samdani et al, 1997)

სიგმა-1 რეცეპტორის აქტივაციამ შესაძლოა ოპიოიდების ანალგეტიკური მოქმედების საწინააღმდეგო მოქმედება გამოიწვიოს სიგმა-1 რეცეპტორის სელექტიური ლიგანდი, ძლიერი სიგმა აგონისტი (+)-პენტაზოცინი, თრგუნავს თაგვებში ფართე სპექტრის ოპიოიდების μ, δ, κ1 და κ3 ოპიოიდების ანალგეტიკურ მოქმედებას, მაშინ, როცა სიგმა-1 ანტაგონისტი, ჰალოპერიდოლი აძლიერებს მას (Chien et al, 1994, 1995, Mei et al, 2002)

სიგმა-რეცეპტორი განაპირობებს ცნს-ში სტიმულატორების მოქმედებას ფსიქომოტორული სტიმულატორები, ისეთები როგორიცაა კოკაინი და ფსიქომიმეტიკური წამლები, მაგალითად, ფენციკლიდინი (PCP) ავლენენ აფინურობას სიგმა-რეცეპტორის მიმართ სიგმა-ანტაგონისტების საშუალებით კოკაინის სიგმა-რეცეპტორზე მოქმედების დაბლოკვა პრეპარატის ტოქსიურ ეფექტს ხსნის (Matsumoto et al, 2003) სიგმა-რეცეპტორის ტრადიციული ანტაგონისტები, ისეთი, როგორიცაა ჰალოპერიდოლი და BMY-14802, მნიშვნელოვნად ამცირებს კოკაინით ინდუცირებულ კრუნჩხვებსა და მოძრაობით ჰიპერაქტივობას ვირთაგვებში (Matsumoto et al, 2001)

სიგმა-რეცეპტორის როლი ხველების მოდულაციაში თერაპიულ ინტერესს წარმოადგენს ახალი ხველების საწინააღმდეგო პრეპარატების შემუშავებაში დღეისათვის გამოყენებული ხველების საწინააღმდეგო პრეპარატები, როგორც წესი, შეიცავს ოპიოიდ

კოდეინს და მორფინის სინთეზურ წარმოებულს, დექსტრომეტორფანს ამ წამლების ეფექტურობა შეზღუდულია და ცენტრალური მექანიზმით მოქმედებს, რაც ხშირად იწვევს არასასურველ გვერდით მოელენებს, მაგალითად, სედატიურ ეფექტს, ცენტრალური სუნთქვის დათრგუნვას დექსტრომეტორფანი არის NMDA-რეცეპტორის ანტაგონისტი და სიგმა რეცეპტორის აგონისტი, ამ აგენტის ხველების საწინააღმდეგო მოქმედება შეიძლება განპირობებული იყოს როოგრც NMDA, ისე სიგმა-რეცეპტორის მოქმედებით ექსტრომეტორფანის ხველების საწინააღმდეგო ეფექტი ვირთაგვებში ითრგუნებოდა სიგმა-რეცეპტორის არასელექტიური ინჰიბიტორებით, კერძოდ, რიმკაზოლით (Kamei 1993) სიგმა-1 აგონისტების SKF 10047, DTG ან პენტაზოცინის გენერალიზებული შეყვანა მნიშვნელოვნად ამცირებდა კაპსაიცინით ინდუცირებულ ხველას ვირთაგვებში რიმკაზოლის წინასწარი შეყვანა მნიშვნელოვნად თრგუნავდა დექტრომეტორფანის ან ნოსკაპინის ხველების საწინააღმდეგო ეფექტს, თუმცა მნიშვნელოვან გავლენას არ ახდენდა მორფინის ხველების საწინააღმდეგო მოქმედებაზე აქედან გამომდინარე ვარაუდობენ, რომ სიგმა-1 რეცეპტორის ლიგანდები შესაძლოა გამოყენებულ იქნას როგორც არანარკოტიკული ხველების საწინააღმდეგო საშუალება (Kamei et al, 1999)

13. სიგმა-რეცეპტორებით განპირობებული ანთების საწინააღმდეგო და იმუნომამოდულირებელი მოქმედება

იმუნური სისტემის უჯრედებში აღმოჩენილია სიგმა-რეცეპტორების მნიშვნელოვანი ექსპრესია სპეციფიკური მონიშნული ლიგანდების საშუალებით გამოელენილ იქნა როგორც სიგმა-1, ისე სიგმა-2 რეცეპტორების ექსპრესია ადამიანის სისხლის პერიფერიულ მონონუკლეურ უჯრედებში (Wolfe et al, 1989), თაგვის ლეიკოციტებში (Carr et al, 1991), ვირთაგვის სპლენოციტებში (Paul et al, 1994) [3H](+)-პენტაზოცინი ავლენს რა მაღალ აფინურობას, სპეციფიკურად უკავშირდება სიგმა რეცეპტორებს T და B ლიმფოციტების მემბრანებზე (Carr et al, 1991) სპლენოციტებში მაღალი სელექტიურობის სიგმა ლიგანდი (+)-აზიდოფენაზოცინი ეფექტურად ბლოკავდა სიგმა ლიგანდების [3H] პალოპერიდოლის და [3H](+)-პენტაზოცინის დაკავშირებას (Garza et al, 1993)

შესწავლილი იქნა ადამიანის Jurkat–ის ხაზის T-ლიმფოციტებში ექსპრესირებული სიგმა-1 რეცეპტორები უჯრედების ეს ხაზი წარმოადგენს CD4-პოზიტიურს და უნარი აქვთ სტიმულირების საპასუხოდ დაასინთეზირონ IL-2 და IFN γ (Ganapathy et al, 1999) ამ გამოკვლევებში ნაჩვენები იქნა, რომ Jurkat –ის ხაზის უჯრედები იკავშირებს პროგესტერონს, რომელიც ამ დროს ავლენს მაღალ აფინურობას ეს ადასტურებს იმ ვარაუდს, რომ პროგესტერონი არის სიგმა რეცეპტორის შესაძლო ენოგენური ლიგანდი, (Siitari et al, 1977) და შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ პროგესტერონის იმუნომამოდულირებელი მოქმედება განპირობებულია სიგმა-რეცეპტორით ეს დაკვირვება განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ფეხმძიმობის შემთხვევაში, რომლის დროსაც პროგესტერონის დონე საკმარისად მაღალია სიგმა რეცეპტორის გასაჯერებლად იმუნურ უჯრედებში შესაძლოა პროგესტერონის იმუნოსუპრესორული მოქმედება უზრუნველყოფს

დედის ორგანიზმის იმუნოტოლერანტობას პლაცენტური ალოგრაფის მიმართ.

დადგენილ იქნა, რომ სიგმა ლიგანდები, ურთიერთქმედებენ რა სიგმა-რეცეპტორთან, რომლებიც ექსპრესირებულნი არიან ლიმფოციტებზე, ავლენენ იმუნორეგულატორულ მოქმედებას და შეუძლიათ გამოავლინონ იმუნოსუპრესორული და ანთების საწინააღმდეგო მოქმედება DTG და ჰალოპერიდოლი მაღალი კონცენტრაციებით თრგუნავენ NK უჯრედების აქტივობას in vitro ვირთაგვას სპლენოციტებში, მაშინ როცა (+)-პენტაზოცინის, (–)-პენტაზოცინის და (+)- PPP –ს ექვიეალენტური კონცენტრაციები არ ახდენდნენ გავლენას DTG –ს დაბალი დოზები, პირიქით, აძლიერებდა NK უჯრედების აქტივობას (Carr et al, 1992) აგრეთვე აღმოჩენილ იქნა, რომ სიგმა-ლიგანდები ახდენენ in vitro იმუნოგლობულინების მიტოგენის სა-პასუხო პროდუქციის მოდულირებას კერძოდ, ჰალოპერიდოლი მაღალი კონცენტრაციებით მნიშვნელოვნად თრგუნავდა IgG და IgM–ის მიტოგენ-სტიმულირებულ პროდუქციას, მაგრამ ზრდიდა LPS (ლიპოპოლისაქარიდი)-ინდუცირებულ IgM-ის პროდუქციას ვირთაგვების სპლენოციტებში ალოპერიდოლის უფრო დაბალი კონცენტრაციები ზრდიდა მიტოგენ-ინდუცირებილ და LPS-ინდუცირებულ IgM–ის და IgG-ის პროდუქციას (+)-პენტაზოცინი მაღალი კონცენტრაციებით თრგუნავდა IgG და IgM –ის LPS-ინდუცირებულ პროდუქციას, მაგრამ ზრდიდა IgM–ის მიტოგენ-ინდუცირებილ პროდუქციას როგორც DTG, ისე (–)-პენტაზოცინი, მნიშვნელოვნად ზრდიდა IgM–ის LPS-ინდუცირებულ პროდუქციას ვირთაგვას სპლენოციტებში სიგმა- რეცეპტორის ლიგანდების გამოყენებით დადგენილ იქნა, რომ არსებობს მაღალი კორელაცია სხვადასხვა წამლის სიგმა რეცეპტორთან დაკავშირების უნარსა და მათ სპლენოციტების პროლიფერაციის მოდულაციის უნარს შორის (Liu et al, 1995)

გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ სიგმა რეცეპტორის ლიგანდებს შეუძლიათ ლიმფოციტების მიერ ციტოკინების გამოთავისუფლების

რეგულირება Paul et al (1994) პირველად აღწერა სიგმა რეცეპტორის ახალი ლიგანდი SR31747A, რომელიც სპეციფიკურად უკავშირდება რა ადამიანისა და ვირთაგვის ლიმფოციტებს, ავლენს მაღალ აფინურობას (Paul et al, 1994) ადამიანში SR31747A, ნანომოლარული აფინურობით უკავშირდება ორ ცილას სიგმა-რეცეპტორს და სტეროლ იზომერაზას (HIS), რომელსაც აგრეთვე ეწოდება ემოპამილ-დამაკავშირებელი ცილები (EBP) (Paul et al, 1998, Jbilo et al, 1997) ზოგიერთი გამოკვლევის შედეგების თანახმად, SR31747A უკავშირდება სიგმა-2 რეცეპტორსაც, თუმცა ეს საკითხი შემდგომ შესწავლას საჭიროებს (Berthois et al, 2003). SR31747A წარმოადგენს სიგმა-ლიგანდების დღემდე ცნობილ ყველაზე ძლიერ კონკურენტს კვლევებმა, რომლებიც ჩატარებულ იქნა სხვადასხვა in vitro და in vivo მოდელებზე, აჩვენა SR31747A –ის უნარი მოახდინოს იმუნური პასუხების მოდულაცია და დათრგუნოს ადამიანისა და თაგვის T- ლიმფოციტების პროლიფერაცია დადგენილ იქნა, რომ SR31747A გავლენას ახდენს T-ლიმფოციტების გააქტივების გვიან სტადიაზე, რაც ხდება უჯრედული ციკლის S/G2/M ფაზაში (Casellas et al, 1994) აქედან გამომდინარე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ სიგმა რეცეპტორებს შესაძლოა მნიშვნელოვანი როლი ჰქონდეთ T- ლიმფოციტების მიტოგენეზში.

აღმოჩენილ იქნა, რომ SR31747A ასტიმულირებს იმუნური სისტემის უჯრედების მიერ LPS–ით და სტაფილოკოკური ენდოტოქსინი B-თი სიმულირებული ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინის IL10-ის გამოთავისუფლებას და ამავდროულად მნიშვნელოვნად თრგუნავს ანთებითი ციტოკინის TNFα–ს სინთეზს (Derocq et al, 1995, Bourrie et al, 1995) დღემდე არც ერთ იმუნომოდულატორს არ შეუძლია მოახდინოს ასეთი ორმაგი მოქმედება მაგალითად ციკლოსპორინი A-ს, სტეროიდებს და თუნდაც დექსამეტაზონს, რომელიც TNFα–ს ძლიერი ინჰიბიტორია არ შეუძლია IL10-ის გამომუშავების სტიმულირება

ცნობილია, რომ ეს ორი ციტოკინი და მათი დისბალანსი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს მრავალი ანთებითი და აუტოიმუნური დაავადებების პათოგენეზში, მაგალითად, ისეთის, როგორიცაა რევმატოიდული ართრიტი (Feldmann et al, 1999), შარკრიანი დიაბეტი და სხვა SR1747A თრგუნავს ტრანსპლანტაციის დროს განვითარებულ მწვავე რეაქციას თაგვებზე ექსპერიმენტულ მოდელში, ბლოკავს რა Th1 CD4+ უჯრედების მიერ γIFN –ის პროდუქციას (Carayon P et al, 1995) ასე რომ, სიგმა-ლიგანდები ერთროულად აინჰიბირებენ რა ანთებითი ციტოკინების სინთეზს და ახდენენ ანტიანთებითი ციტოკინების ექსპრესიის ინდუცირებას ანთების კერაში, შესაძლოა ახალ პერსპექტივებს სახავდეს ამ დაავადებების მკურნალობისას თუმცა SR31747A -ს გამოყენება სამკურნალო მიზნით შეზღუდულია, ვინაიდან ის თითქმის მთლიანად მეტაბოლიზირდება ციტოქრომ P450–ით Bourrie და მისმა თანამშრომლებმა აღმოფხვრეს ეს ნაკლი შეიმუშავეს რა შემცვლელი SR31747A მოლეკულისა, რომელსაც იგივე თვისებები აქვს, მაგრამ არ მეტაბოლიზირდება ციტოქრომ P450–ით ასეთია სიგმა რეცეპტორის ლიგანდი SSR 125329A, რომელიც უფრო მაღალ აფინურობას ავლენს სიგმა-რეცეპტორის მიმართ, ვიდრე SR31747A In vivo SSR 125329A მკვეთრად ზრდის IL-10-ის სინთეზს LPS-ით ინდუცირებული შოკის დროს ვირთაგვებში, რასაც თან ახლდა TNFα–ს სინთეზის მნიშნელოვანი შემცირება (Bourrie et al, 2002) SSR 125329A-მ მნიშვნელოვნად შეამცირა სპლენომეგალია და შეამცირა INFγ-სინთეზი სპლენოციტებში ტრანსპლანტაციის ექსპერიმენტულ მოდელში ამ დროს აღინიშნებოდა მძიმე პათოლოგიის ნიშნების მნიშვნელოვანი შემცირება SSR 125329A დადებით გავლენას ახდენს სპონტანური რევმატოიდული ართრიტის მსგავსი დაავადებისას თაგვებში, ამცირებს რა ხრტილის დაზიანების ხარისხს (Bourrie et al, 2002)

სიმსივნურ უჯრედებში აღმოჩენილია სიგმა-რეცეპტორის ორივე ქვეტიპის დიდი რაოდენობა, რაც მიუთითებს ამ რეცეპ-

ტორების მნიშვნელოვან უჯრედულ ფუნქციაზე სიმსივნის დროს სიგმა-1 და სიგმა-2 რეცეპტორების ძალიან მალალი სიმკვრივე იქნა აღმოჩენილი წინამდებარე ჯირკვლის სიმსივნის (Vilner et al, 1995), სარძევე ჯირკვლის სიმსივნის (John et al, 1995), ნერვული ქსოვილების სიმსივნის (Bem et al, 1991) და მელანომას დროს (John et al, 1993) სიგმა-რეცეპტორის ლიგანდები თრგუნავდა პროლიფერაციას სარძევე ჯირკვლის, მსხვილი ნაწლავის, ნერვული ქსოვილების სიმსივნური უჯრედების კულტურებში (Vilner et al, 1995)

In vitro გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ SR31747A ნანომოლარული კონცენტრაციით ახდენს სარძევე ჯირკვლისა და წინამდებარე ჯირკვლის, როგორც ჰორმონდამოკიდებული, ასევე ჰორმონდამოუკიდებელი სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაციის დათრგუნვას (Jbilo et al, 1997) ზოგიერთი მკვლევარის აზრით, SR31747A–ის ანტიპროლიფერაციული მოქმედება განპირობებულია სიგმა-რეცეპტორით, რაც დადასტურებულ იქნა იმით, რომ მისი მოქმედება იბლოკებოდა კონკურენტული ლიგანდით (+)- პენტაზოცინით (Labit-Le Bouteiller et al, 1998) ზოგიერთი მეცნიერის გამოკვლევები იძლევა იმ ვარაუდის საფუძველს, რომ SR31747A-ს ანტიპროლიფერაციული ეფექტი დამოკიდებულია ქოლესტერინის სინთეზის ინჰიბირებით სტეროლ იზომერაზას დაბლოკვის საშუალებით ცნობილია, რომ უჯრედების ზრდა მჭიდრო კავშირშია ქოლესტერინის ბიოსინთეზთან, რომელიც აუცილებელია ახალი მემბრანის ფორმირებისათვის სარძევე ჯირკვლის, საკვერცხეების და თირკმლის უჯრედების სიმსივნური ხაზის პროლიფერაციის დათრგუნვას SR31747A–ს საშუალებით, თან ახლდა ქოლესტერინის აკუმულაცია (Dussossoy et al, 1999)

ზოგიერთი კვლევის შედეგები ეწინააღმდეგება ზემოთ აღნიშნულს Zhu და სხვ (2003) კვლევებში სიგმა-1 აგონისტი აინ-დუცირებს რა IL10–ის სინთეზს, ხელს უწყობს სიმსივნის ზრდას in vivo სიმსივნის გაძლერებული ზრდა შეჩერებულ იქნა მას შემდეგ, რაც

თაგვებს შეუყვანეს სპეციფიკური ანტიგენი IL10-ის წინააღმდეგ ან სიგმა-1 რეცეპტორის სპეციფიკური ანტაგონისტი (Rohrer et al, 1995) ასე, რომ სიგმა-1 აგონისტები, მათ შორის კოკაინი, შესაძლოა ხელს უწყობდეს სიმსივნის ზრდას IL10 – დამოკიდებული მექანიზმით კოკაინი ეროვება იმუნურ პროცესებში და ახდენს ციტოკინების პროდუქციის მოდულირებას, ცვლის NK უჯრედების აქტივობას და ამცირებს B ლიმფოციტების პასუხს LPS-ზე (Watzl et al, 1990) რსებობს მონაცემები, რომ კოკაინის ბოროტად გამოყენების დროს ხშირია ისეთი ჰისტოპათოლოგიური ანომალიები, როგორიცაა ჰიპერპლაზია და უჯრედების მეტაპლაზია (Mach et al, 1997)

ამრიგად, სიგმა დამაკავშირებელი უბნები შესაძლოა მნიშვნელოვან როლს თამაშობდნენ უჯრედების ზრდაში, დიფერენციაციაში და პროლიფერაციაში უნდა აღინიშნოს, რომ სიგმა-რეცეპტორები დიდი რაოდენობითაა სწრაფად პროლიფერირებად უჯრედებში (Vilner et al, 1997) სიგმა-ლიგანდების ანტი-პროლიფერაციული აქტიურობა დიდ ინტერესს იწვევს ავთვისებიანი სიმსივნის მკურნალობისას

Vilner და თანამშრ-მა დაადგინეს, რომ სიგმა-2 რეცეპტორის აგონისტები ახდენს ადამიანის ნეირობლასტომის უჯრედების სიკვდილის ინდუცირებას აპოპტოზის გზით (Crawford et al, 2002) სიგმა-2 რეცეპტორის აგონისტები იმავე გზით აინდუცირებენ სარძევე ჯირკვლის სიმსივნური უჯრედების სიკვდილს (Vilner et al, 2000). სიგმა-1 რეცეპტორის ლიგანდები არ იწვევდნენ მსგავს ეფექტებს, სიგმა-1 რეცეპტორის სელექტიური ლიგანდი (+)-პენტაზოცინი და დექსტრალორფანი არ მოქმედებდა ან მცირე ეფექტი ჰქონდა სიმსივნურ უჯრედებზე

აპოპტოზის მექანიზმი, რომელიც სიგმა-2 რეცეპტორით არის განპირობებული განსხვავდება იმ აგენტების მოქმედების მექანიზმისაგან, რომელიც იწვევს დნმ-ის დაზიანებას აპოპტოზური სიგნალების უმრავლესობა ახდენს კასპაზების თანამიმდევრულ გააქ

ტიევებას, რაც იწვევს სპეციფიკური ცილების დეგრადირებას და საბოლოოდ უჯრედის სიკვდილს გამოკვლევებში კასპაზების ინჰიბიტორები ამცირებდა დნმ-დამაზიანებელი აგენტების, დოქსრუბიცინის და აქტინომიცინ D-ს ციტოტოქსიურობას (Ryan et al, 1998) მიუხედავად ამისა, კასპაზების ინჰიბიტორებს არ შეეძლო სიგმა-2 აგონისტების ციტოტოქსიურობის დათრგუნვა და სარძევე ჯირკვლის სიმსივნური უჯრედების ზრდის დათრგუნვა (Vilner et al, 2000) ეს მონაცემები ადასტურებს იმას, რომ სიგმა-2 რეცეპტორით განპირობებული აპოპტოზი მიმდინარეობს კასპაზების მონაწილეობის გარეშე

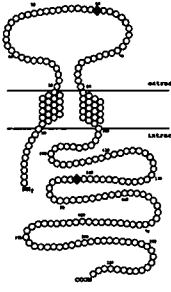
სიმსივნის დამთრგუნველი P53-ის გენის მუტაცია გენეტიკური აბერაციაა, რომელიც სიმსივნეების 50%-ში შეინიშნება მუტან-ტური P53 სიმსივნური უჯრედები ნაკლებად მგრძნობიარენი არიან აპოპტოზის გამომწვევი აგენტების მიმართ და შესაძლოა გამოავლინონ რეზისტენტობა ანტინეოპლასტიკური წამლების მიმართ (Lomax et al, 1998) ამ უკანასკნელისაგან განსხვავებით, სიგმა-2 რცეპტორის აგონისტები ერთნაირი წარმატებით მოქმედებენ როგორც მუტანტურ, ასევე wild-tipe სიმსივნეებზე ამ მონაცემებზე დაყრდნობით სავარაუდოა, რომ სიგმა2 რეცეპტორი განაპირობებს აპოპტოზს p53-დამოუკიდებელი მექანიზმით (Vilner et al, 2000.). ეს დაკვირვება დიდ კლინიკურ ინტერესს იწვევს სიმსივნის მკურნალობისას წამლისმიერი რეზისტენტობის თავიდან ასაცილებლად

ამრიგად, სიგმა-2 რეცეპტორი განაპირობებს აპოპტოზის ახალ, ალტერნატიულ გზას აპოპტოზის ამ ალტერნატიული ფორმის შესწავლა ნათელს მოჰფენს სხვადასხვა აგენტების მოქმედებას, რომლებიც ასევე იწვევენ აპოპტოზს კასპაზების გააქტივების გარეშე (Vilner et al, 2000)

14. სიგმა-რეცეპტორების მოქმედების შესაძლო მექანიზმები

მიუხედავად იმისა, რომ არსებობს საკმაოდ ბევრი მონაცემი სიგმა-რეცეპტორის მონაწილეობის შესახებ სხვადასხვა ტიპის უჯრედის ბიოლოგიაში, მექანიზმები, რომლითაც ხორციელდება ეს ეფექტები, საბოლოოდ შესწავლილი არ არის. სიგმა-რეცეპტორებს მიაწერენ მრავალი ფუნქციის შესრულებას

შემოთავაზებული სიგმა რეცეპტორის მოლეკულური მოდელი (სურ 1) მნიშვნელოვანია სიგმა-1 რეცეპტორის უჯრედული ფუნქციების გაგებისთვის და გააადვილებს სიგმა რეცეპტორების მოლეკულური მექანიზმების დადგენას არსებობს მოსაზრება იმისა, რომ სიგმა-რეცეპტორები არის დამხმარე ქვე-ერთეული იმ სამიზნე ცილებისთვის, რომლებიც ჩართულია უჯრედის სხვადასხვა ფუნქციაში (Aydar et al , 2002)



სურ 1 სიგმა-1 რეცეპტორის სრტუქტურული მოდელი ეს მოდელი (Aydar et al , 2002) შეიცავს ორ ტრანსმემბრანულ სუბერთეულს NH_2 და COOH დაბოლოებები ნაჩვენებია მემბრანის უჯრედშიდა მხარეს

იონური არხების მოდულაცია. გამოკვლევებმა სიგმა რეცეპტორების მიერ იონური არხების მოდულაციის შესახებ, საკმაო წარმატებებს მიაღწიეს (Palmer et al , 2004) მიუხედავად იმისა, რომ ანალოგია სიგმა რეცეპტორსა და G-ცილასთან შეწყვილებულ კლასიკურ რეცეპტორს შორის არ არსებობს, გამოთქმულია მოსაზრება, რომ სიგმა რეცეპტორი იყენებს G-ცილას (Soriani et al., 1998., Soriani et al , 1999) შესა-

ბამისად, სიგმა1 რეცეპტორს შეუძლია ფუნქციური ურთიერთქმედება G-ცილასთან მექანიზმით, რომელიც განსხვავდება G-ცილასთან დაწყვილებული კლასიკური რეცეპტორისაგან (Palmer et al , 2004) მეორე მხრივ, ფიზიოლოგიური ექსპერიმენტების უმრავლესობა ადასტურებს იმ მოსაზრებას, რომ სიგმა-1 რეცეპტორის მიერ სიგნალის გადაცემისას G-ცილის მონაწილეობა არ ხდება მორიომ და სხვ (Morio Y 1994) აჩვენეს, რომ K^+-ის არხების ინჰიბირება სიგმა წამლებით NCB-20 უჯრედებში, არ განიცდიდა რაიმე ცვლილებებს წინასწარ A23187-ით, ფორსკოლინით, ფორბოლ-12, 13-დიბუტირატით, ქოლერის ტოქსინით ან პერტუსინ-ტოქსინით დამუშავებისას ეს შედეგები შეესაბამება იმ მოსაზრებას, რომ უჯრედშიდა მეორადი მესენჯერული სისტემები ვოლტაჟით ჩაკეტილი K^+-ის არხების სიგმა რეცეპტორით მოდულაციისათვის აუცილებელი არ არის

ვირთაგვას სიმპათიკურ და პარასიმპათიკურ ნეირონებში ნაჩვენებია, რომ სიგმა-რეცეპტორები ახდენენ მაღალი ვოლტაჟით აქტივირებული Ca^{2+}-ის არხების მოდულაციას, მათ შორის N-, P/Q- და R ტიპის Ca^{2+}-ის არხების (Zhang et al , 2002) გარდა ამისა, Ca^{2+}-ის დენის ამპლიტუდის შესამცირებლად, სიგმა-რეცეპტორებმა შეცვალეს ამ არხების კინეტიკური თვისებები ეს მონაცემები გვაფიქრებინებს, აგრეთვე, რომ არც დიფუზირებადი ციტოზოლური მეორადი მესენჯერი და არც G-ცილა ამ პროცესში ჩართული არ არის

ცდებმა ვირთაგვის ნეიროჰიპოფიზზე აგრეთვე უარყოფითი შედეგები გამოიღო, მეორადი მესენჯერებისა და G-ცილის მიერ სიგმა-რეცეპტორის სიგნალიზაციის მედიაციის თვალსაზრისით (Lupardus et al , 2000) პენტაზოცინით ან SKF10047-ით K^+-ის არხების მოდულაცია გრძელდებოდა მაშინაც, როდესაც ნერვული ტერმინალები შიგნიდან პერფუზირდებოდა GTP-საგან თავისუფალი ხსნარებით, G-ცილის ინჰიბიტორით GDP↨S, ან G-ცილის აქტივატორით GTP□S-ით. DMS-114 უჯრედებში (სიმსივნური უჯრედების ხაზი, რომელიც გამოყოფილია

ფილტვის წვრილუჯრედოვანი კარცინომიდან), GDPβS-ს პერფუზიით აგრეთვე ვერ მოხერხდა SKF10046-ზე პასუხის შეცვლა (Wilke et al, 1999) ასეთივე უარყოფითი შედეგები იყო მიღებული ტესტებში პროტეინკინაზის მონაწილეობაზე ნერვული ტერმინალების ატფ-ის არაჰიდროლიზებადი ანალოგით - AMPPcP-თი შინაგან პერფუზიას, სიგმა-1 რეცეპტორული წამლით გამოწვეულ K^+ დენის შეკავებაზე არავითარი ეფექტი არ ჰქონდა განსაკუთრებული მნიშვნელობის იყო დაკვირვება, რომელმაც აჩვენა, რომ K^+ არხები, რომლებიც შენარჩუნებულია ამოჭრილ და ამოტრიალებულ ზოლში, მოდულირდებოდნენ SKF10047-ით (Lupardus et al, 2000, Wilke et al., 1999) ეს ეფექტი საერთოდ გამორიცხავს რაიმე ხსნადი ციტოპლაზმური ფაქტორის როლს ამის საპირისპიროდ, K^+ არხები, რომლებიც მოთავსებულია უჯრედთან დაკავშირებულ ზოლში, არ მოდულირდებოდა სიგმა ნივთიერებით, რომელიც ზოლს დაედო გარედან, რაც გვიჩვენებს, რომ შესწავლილი სიგმა-1 რეცეპტორები და K^+ არხები ძალიან ახლოს უნდა იყვნენ ერთმანეთთან, რათა მოახდინონ რაიმე ფუნქციური ზემოქმედება (Lupardus et al, 2000) აიდარმა და სხვ (Aydar et al, 2002) შეისწავლეს ოოციტების Kv 1,4 და Kv 1,5 არხების სიგმა-1 რეცეპტორული მოდულაცია Xenopus-ის ოოციტებში ნანახია იონური არხების მოდულაცია, როგორც სიგმა-1 ნივთიერებების თანაობისას, ისე მათ გარეშე, რაც გვაფიქრებინებს, რომ სიგმა-1 რეცეპტორს შეუძლია შექმნას ფუნქციური კომპლექსი ექსპრესირებულ იონურ არხთან მართლაც, აღნიშნულმა ავტორებმა ნახეს, რომ სიგმა-1 რეცეპტორი აყალიბებს იმუნოპრეციპიტაციურ კომპლექსს იონურ არხებთან, როგორც ვირთაგვის ნეიროჰიპოფიზში, ისე Xenopus-ის ოოციტებში (Aydar et al 2002) არსებობს ვარაუდი, რომ სიგმა-1 რეცეპტორების მიერ K^+-ის არხების მოდულაციის დროს, სიგმა-1 რეცეპტორების მიერ სიგნალის გადაცემის მექანიზმი (ა) შემოფარგლულია მემბრანით (Lupardus et al, 2000, Wilke et al, 1999), (ბ)

დამოუკიდებელია G-ცილასთან შეწყვილებისაგან და ცილის ფოსფორილებისაგან (Zhang et al., 2002, Lupardus et al , 2000, Wilke et al , 1999), (გ) შეიძლება ჩანაცვლებულ იქნას ჰეტეროლოგიურ სისტემაში, (დ) არ საჭიროებს ციტოპლაზმურ ფაქტორებს და (ე) აუცილებლად მოითხოვს, რომ სიგმა-1 რეცეპტორი და K^+-ის არხი მჭიდრო სიახლოვეში იყვნენ (Lupardus et al , 2000), ალბათ, სტაბილური მაკრომოლეკულური კომპლექსის წარმოსაქმნელად (Aydar et al , 2002)

საჭიროა დამატებითი გამოკვლევები, რათა დადგენილი იქნას, სიგმა-1 რეცეპტორით K^+-არხის მოდულაცია პირდაპირ ცილა-ცილის ურთიერთქმედებით ხდება, თუ არსებობს შუამავალი მოლეკულები თუ გავითვალისწინებთ, რომ სიგმა-1 რეცეპტორს მიაწერენ ფუნქციათა ფართო ასორტიმენტს, სიგმა-1 რეცეპტორის მიერ სიგნალიზაცია უნდა ხდებოდეს ერთი ან მეტი შუამავალი სასიგნალო მოლეკულის მონაწილეობით (რომლებიც პლაზმურ მემბრანაში უნდა იყვნენ მოთავსებული) და არა პირდაპირი ურთიერთქმედებით გარდა ამისა, ის ამინომჟავების ნაშთები, რომლებიც არის Kv იონურ არხებში, და რომლებიც მონაწილეობენ (პირდაპირ ან არაპირდაპირ) სიგმა-1 რეცეპტორებთან ურთიერთქმედებაში, ჯერ არ არის ცნობილი ამ საკითხების გამორკვევა მეტ შუქს მოჰფენს სიგმა-1 რეცეპტორის სიგნალიზაციის მექანიზმს

იონური არხები ექსპრესირდება სხვადასხვა ტიპის სიმსივნიდან მი-ღებულ უჯრედთა ხაზებში იონური არხების ზოგიერთი ტიპი ჩართულია პროლიფერაციაში (Wilke et al , 1999) კიბოს უჯრედების მეტასტაზურ აქტივობაში (Woodfork et al , 1995, Yao ety al , 1999) საინტერესოა, რომ სიგმა რეცეპტორის ექსპრესია იზრდება სიმსივნურ უჯრედებში და რომ სიგმა-1 რეცეპტორები მოქმედებენ, როგორც მეორადი სუბერთეულები ზოგიერთი იონური არხისთვის ვინაიდან K^+არხების ამპლიტუდის რეგულირება შემცირებისკენ, დაკავშირებულია ადამიანის პროსტატის და სარძევე ჯირკვლის კიბოს მეტასტაზურ ფენოტიპთან (Fraser et al , 2003), ამგვარი ეფექტი შეიძ-

ლება საფუძვლად ედოს ნავარაუდევ ასოციაციას სიმსივნის პროგრესირებასა და სიგმა რეცეპტორულ ნივთიერებებს შორის გასარკვევი რჩება, Kv-ს გარდა სხვა იონური არხები, მათ შორის ისეთები, რომლებსაც მიაწერენ მეტასტაზურ კასკადში მონაწილეობას, როგორიცაა ვოლტაჟით ჩაკეტილი Na^+-ის არხი (Fraser et al , 2003) თუ მოდულირდებიან სიგმა ნივთიერებებით და, თუ ეს ასეა, შეიძლება თუ არა ამის დაკავშირება სიმსივნურ პროცესთან

ანკირინის მოდულაცია. ჰაიასიმ და სუმ (Hayashi et al , 2001) გამოთქვეს მოსაზრება, რომ სიგმა-1 რეცეპტორები შეიძლება მონაწილეობდნენ ციტოჩონჩხის ცილების ფუნქციონირების კონტროლში იმუნოციტოქიმიური ტექნიკის გმოყენებით, მათ აჩვენეს, რომ სიგმა-1 რეცეპტორი, ანკირინ B და IP3R-სთან ერთად არიან ლოკალიზებულნი პერინუკლეურ უბანში და უჯრედ-უჯრედული კონტაქტის უბანში, და ივარაუდეს, რომ ეს ტრიმერული კომპლექსი შეიძლება არეგულირებდეს Ca^{2+}-ს სიგნალიზაციას (Hayashi et al , 2001). მართალია, ზუსტი მოლეკულური მექანიზმი, რომელიც საფუძვლად უდევს ამ მოსაზრებას, ჯერ არ არის ცნობილი, თუმცა კარგადაა ცნობილი, რომ ადჰეზია და ციტოჩონჩხის ორგანიზაცია მნიშვნელოვან ფაქტორებს წარმოადგენენ კიბოს უჯრედის ბიოლოგიაში (Cairns et al , 2003)

უჯრედშიდა Ca^{2+}-ს მოდულაცია. ვილნერმა და ბოუენმა (Vilner et al , 2000) მოგვაწოდეს იმის მტკიცებულება, რომ სიგმა რეცეპტორები ნეირობლასტომის უჯრედებში, შესაძლოა იყენებენ Ca^{2+}-ს სიგნალებს თუ გამოვიყენებთ სიგმა არააქტიურ ნივთიერებას (მაგრამ სტრუქტურულად მსგავს), სიგმა-2 შერჩევით აგენტს, როგორიცაა CB-64D და სიგმა-1 შერჩევით აგენტს, დავინახავთ, რომ ენდოპლაზმური ბადიდან Ca^{2+}-ის სწრაფი და წარმავალი გამოყოფა გამოწვეული იყო სპეციფიკურად სიგმა-2 რეცეპტორის მოქმედებით. თავის მხრივ Ca^{2+} მო-

დულაციას შეუძლია იმოქმედოს პროტეინკინაზა C-ს აქტივობაზე მართლაც, ეირთაგვის სინაპტოსომებში დოფამინის ტრანსპორტერის აქტივობა მოდულირდებოდა სიგმა-2 ნივთიერებებით, პროტეინკინაზა C-ს გააქტივების გზით (Derbez et al , 2002) ვინაიდან უჯრედშიდა Ca^{2+} სიგნალიზაცია მრავალმხრივ მნიშვნელოვანია მრავალი უჯრედული პროცესისათვის, ეს შეიძლება მნიშვნელოვანი მექანიზმი იყოს, რომლის საშუალებითაც სიგმა-2 ნივთიერებები მოქმედებენ კიბოს უჯრედებზე

სფინგოლიპიდის დონის მოდულაცია. გამოკვლეული იყო სარძევე ჯირკვლის სიმსივნის MCF-7/Adr და T47D უჯრედთა ხაზების სფინგოლიპიდების დონე სიგმა-2 სპეციფიკური აგონისტების აპლიკაციით (Crawford et al , 2002) CB-184 იწვევდა კერამიდების დონის დოზა-დამოკიდებულ ზრდას და სფინგომიელინის თანადროულ შემცირებას სარძევე ჯირკვლის სიმსივნის MCF-7/Adr და T47D უჯრედთა ხაზებში ეს ეფექტები მცირდებოდა N-ფენეთილპიპერიდინის, სიგმა-რეცეპტორის არასპეციფიკური ანტაგონისტის, მიერ ამ შედეგების საფუძველზე შეიძლება ვიეარაუდოთ, რომ სიგმა-2 რეცეპტორებს შეუძლია სფინგოლიპიდების პროდუქტების გამოყენება, რათა გავლენა მოახდინონ Ca^{2+} სიგნალიზაციაზე, უჯრედის პროლიფერაციაზე და გადარჩენაზე (Crawford et al , 2002)

ამრიგად, სიგმა რეცეპტორები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ბევრ უჯრედულ პროცესში სიგმა რეცეპტორების მონაწილეობა კიბოს უჯრედულ პათოლოგიაში აშკარად ჩანს იქიდან, რომ სიმსივნურ უჯრედთა მრავალ ხაზში დადგენილია სიგმა-1 და სიგმა-2 ბმის უბნების მაღალი სიმჭიდროვე სიგმა-2 ნივთიერებების უნარი შეაკავონ სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაცია იმ მექანიზმებით, რომლებშიც შესაძლოა ჩართულია აპოპტოზი, უჯრედშიდა Ca^{2+} და სფინგოლიპიდები, გამოკვლეულია და ასეთ აღმოჩენებს შეიძლება მოჰყვეს სიგმა წამლების შექმნა სიმსივნის საწინააღმდეგო თერაპიისთვის

შესაძლოა, რომ სიგმა რეცეპტორების ექსპრესიის მომატება მნიშვნელოვანი მოვლენაა ნორმალური უჯრედის გადასვლისას ავთვისებიანში, თუმცა, აუცილებელია დამატებითი დეტალური გამოკვლევები, რათა არსებულ მონაცემებს დასაბუთება შეემატოთ მნიშვნელოვანია, რომ მეტასტაზირება მრავალსაფეხურიანი პროცესია, რომელშიც უჯრედის პროლიფერაცია მხოლოდ ერთი მხარეა შემდგომი გამოკვლევებით საინტერესო იქნება დადგინდეს არიან თუ არა სიგმა რეცეპტორები ჩართულნი მეტასტაზირების ისეთ უჯრედულ პროცესებში, როგორიცაა ადჰეზია, სეკრეცია, მოძრაობა და ინვაზია

ამ სფეროში გამოკვლევების ყველაზე დიდი მიზანია შეიქმნას ერთიანი მოდელი, რომელიც აღწერს სიგმა რეცეპტორების მოლეკულურ მექანიზმებს მხოლოდ ამის შემდეგ იქნება შესაძლებელი გაირკვეს სიგმა რეცეპტორების როლი სხვადასხვა ტიპის უჯრედის ბიოლოგიაში და შეიქმნას ახალი სიგმა- რეცეპტორული აგენტები, რომელიც გამოყენებული იქნება, როგორც ეფექტური სადიაგნოზო ან თერაპიული საშუალება მრავალი პათოლოგიის სამკურნალოდ
(Aydar et al., 2004)

1.5 ტრანკრიპციის მარეგულირებელი ფაქტორების მოკლე მიმოხილვა და მათი როლი ადამიანის მონონუკლეური უჯრედების მიერ ციტოკინების სეკრეციის რეგულაციაში

უკანასკნელი ათწლეულის გამოკვლევებით ნათელი გახდა, რომ გენების ექსპრესიის რეგულაცია ტრანსკრიპციის დონეზე ხორციელდება (Dunkan et al, 1998) სწორედ ამიტომ ტრანკრიპციის მარეგულირებლი ფაქტორების შესწავლა სპეციალისტთა განსაკუთრებულ ინტერესს იმსახურებს დღეისათვის მრავალი ტრანსკრიპციის ფაქტორია იდენტიფიცირებული და დახასიათებული. მათი კლასიფიკაცია ეფუძნება დნმ-დამაკავშირებელი დომენის თვისებების ერთობლიობას. ამ თვისებების შესაბამისად ტრანსკრიპციის ფაქტორები დაყოფილია ოთხ ძირითად სუპერკლასად

1 ფაქტორები, რომელთა დნმ-დამაკავშირებელი დომენები მდიდარია დადებითად დამუხტული ამინომჟავური ნაშთებით (basic domain, 284 ფაქტორი)

2 ფაქტორები, რომელთა დნმ-დამაკავშირებელი დომენები ფორმირებულია კოორდინირებული თუთიის იონების მონაწილეობით (zinc-coorinated DNA-bining domain, 148 ფაქტორი)

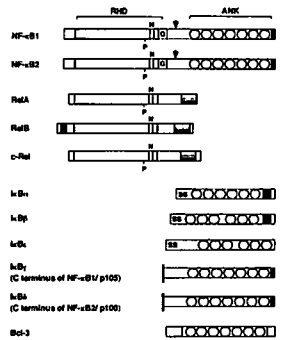
3 ფაქტორები, რომელთაც აქვთ დნმ-დამაკავშირებელი სპირალი-ბრუნი-სპირალის ტიპის მოტივი (helix-turn-heli DNA binding motif, 369 ფაქტორი)

4. ფაქტორები, რომელთა დნმ-თან კონტაქტში მყოფი ზედაპირი წარმოდგენილია რთულად ორგანიზებული ბეტა ძაფების სახით (beta-scaffold factors with minor grooves contacts, 156 ფაქტორი)

არსებობს აგრეთვე ტრანსკრიპციის ფაქტორების დიდი ჯგუფი დნმ-დამაკავშირებელი უბნების დღეისათვის უცნობი ორგანიზაციით, რომლებიც პირობიად განეკუთვნებიან სუპერკლას 0-ს

ეს კლასიფიკაცია საყოველთაოდაა მიღებული ლიტერატურაში და გამოყენებულია მონაცემთა ბაზაში TRANSFAC (Wingender et al, 1996).

იმუნური პასუხების რეგულაციაში მონაწილე ტრანსკრიპციის ფაქტორებიდან მნიშვნელოვანია Rel/ NF-κB ოჯახის ფაქტორები. Rel/ NF-κB ოჯახის ტრანსკრიპციის ფაქტორები შედგება ხუთი წევრისაგან: NF-κB$_1$ (p105/p50), NF-κB$_2$ (p100/p52), RelA (p65), RelB, და c-Rel (სურ 1)

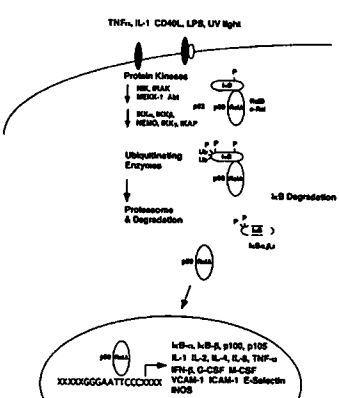


(სურ 1) Rel/ NF-κB და ikB ოჯახის წევრი ცილები. ისრებით მითითებულია ენდოპროტეოლიზური დახლეჩის საიტები P105 და P100 RHD აღნიშნულია Rel ჰომოლოგიური დომენები, ANK- ankirin განმეორებანი, SS-ით სიგნალით ინდუცირებული ფოსფორილიზაციის საიტი.

NF-κB$_1$ და NF-κB$_2$ სინთეზირდებიან როგორც დიდი ზომის პოლიპეპტიდები და პოსტტრანსლაციური დახლეჩის შემდეგ გარდაიქმნებიან დნმ-დამაკავშირებელ სუბერთეულებად შესაბამისად p50 და p52-ად NF-κB ოჯახის წევრებს ახასიათებთ Rel დომენის არსებობა, რომელიც შეიცავს დნმ-დამაკავშირებელ სპეციფიკურ თანმიმ-

დეერობას და ურთიერთქმედებს მაინჰიბირებელ ikB პროტეინთან (Ghosh et al, 1998) NF-«B ოჯახის წევრები ჰომო-ან ჰეტეროდიმერებისგან შედეგება, რომლებიც ასოცირდებიან სპეციფიკურ პასუხებთან სხვადასხვა სტიმულზე და ტრანსკრიპციის განსხვავებულ ეფექტებთან. NF-«B–ს სხვადასხვა ჰომო- და ჰეტეროდიმერებს შორის ბალანსი განსაზღვრავს, თუ რომელი დიმერი დაუკავშირდება kB საიტს სპეციფიკურად და მოახდენს ტრანსკრიპციის აქტივობის რეგულირებას გარდა ამისა, ეს ცილები სპეციფიკურად ექსპრესირდება უჯრედებში და ქსოვილებში და უზრუნველყოფს რეგულაციის დამატებით დონეს. მაგალითად, NF-«B1 და RelA ყველგან ექსპრესირდება და NF-«B /RelA ჰეტეროდიმერი იწვევს საერთო ინდუცებელური NF-kB აქტივობას, მაშინ როცა NF-«B2, RelB და cRel ექსპრესირდება სპეციფიკურად, ლიმფურ უჯრედებში და ქსოვილებში Rel/ NF-«B ოჯახის ტრანსკრიპციის ფაქტორები აქტიურდებიან იმ სიგნალების საპასუხოდ, რომლებიც იწვევენ უჯრედების ზრდას, დიფერენცირებას, აპოპტოზს და სხვადასხვა იმუნურ პასუხებს (სურ.2)

არასტიმულირებულ მგომარეობაში NF-«B დიმერები უჯრედში იმყოფებიან ინაქტივირებულ მდგომარეობაში, რადგანაც დაკავშირებულნი არიან IkB ოჯახის ცილებთან IkB ცილების ოჯახი შედგება I«Bα, I«Bß, I«Bε, Bcl-3 და NF-«B_1 (p105) და NF-«B_2 (p100)-ს კარბოქსილ-ტერმინალური უბნებისაგან მას შემდეგ რაც რომელიმე ლიგანდი მაგალითად, TNFα, IL1 ან LPS დაუკავშირდება თავის რეცეპტორს, ხდება პროტეინკინაზების გააქტივება, რაც თავის მხრივ ააქტივებს IkBკინაზებს (IKKs) IKKs იწვევს IkB–ს ფოსფორილირებას ამ სასიგნალო კომპლექსის სულ ცოტა სამი კომპონენი არსებობს -IKKε, IKKß, და NEMO/IKKγ, რომლებიც ერთად უზრუნველყოფენ რეგულაციის დამატებით დონეს სხვადასხვა გამოკვლევებში



(სურ.2) ნორმალურ მდგომარეობაში Rel/NF-κB ჰომო და ჰეტერო-ი-მერები ასოცირებულია მაინჰიბირებელი პროტეინების ოჯა-ხის წევრებთან, რომელთაც ჰქვია ikB ისეთი აგენტების ზე-მოქმედებით, როგორიცაა TNF α, IL-1, CD-40L, LPS და UV სხივები, ikB-ს მოლეკულები სწრაფად ფოსფორილირდებიან და დეგრადირდებიან, რითაც საშუალებას აძლევენ Rel/NF-κB დიმერებს გადაადგილდნენ ბირთვში და მოახდინონ kB საიტ-თან დაკავშირება და ტრანსკრიპციის რეგულირება

ნაჩვენებია, რომ IKKß, სამიზნე არის პროანთებითი სტიმული, მაშინ როცა IKKα შესაძლოა უფრო მნიშვნელოვანია morphogenic სიგნა-ლების დროს (Delhase et al , 1999)

NF-κB-ს გააქტივება ასოცირდება სხვადასხვა გენების, მათ შო-რის, IL-8-ს, ადჰეზიის მოლეკულების და ციტოკინების (IL-1, IL-2,

TNFα და IL-12) გაზრდილ ექსპრესიასთან ეს იმუნური მედიატორები თანდაყოლილი იმუნური პასუხის მნიშვნელოვანი კომპონენტებია არსებობს ბაქტერიების ძალიან გრძელი სია და ბაქტერიული პროდუქტები, როგორიცაა LPS (Geng et al ,1993) და Shiga ტოქსინი (Li et al ,1999), რომელთაც შეუძლიათ NF-κB –ს გააქტივება მაკროფაგებში და სხვა ტიპის უჯრედებში გარდა ამისა, მრავალ შრომაში NF-κB–ს გააქტივებას უკავშირებენ იმ გენების ექსპრესიას, რომლებიც ჩართულია იმუნიტეტის რეგულაციაში (Elewaut et al ,1999)

IL-12 ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი ციტოკინია, რომელიც მონაწილეობს თანდაყოლილი და ადაპტური იმუნური პასუხების აქტივაციაში უჯრედშიდა ინფექციების დროს (Biron et al ,1995) კავშირი IL-12-სა და ტრანსკრიპციის ფაქტორთა NF-κB –ის ოჯახს შორის ნაჩვენები იყო გამოკვლევებში, რომლებშიც IL-12 p40 პრომოტერს გააჩნდა NF-κB –ს დაკავშირების უბნები (Yoshimoto et al , 1997)

გარდა მრავალი პათოგენისა, რომელსაც შეუძლია NF-κB–ს აქტივაცია, არსებობს სხვა იმუნური მოლეკულებიც, რომელიც ააქტიურებს NF-κB–ს ისეთი სტიმულები, როგორიცაა IL-1, IL-18, TNFα და სიგნალიზაცია CD28-ის გზით იწვევს NF-κB–ს აქტივაციას, და ამ სიგნალებს შეუძლია გაზარდოს NK უჯრედების უნარი აწარმოონ IFNγ (Hunter et al ,1997) NF-κB მიჩნეულია ინფექციებისადმი იმუნური წინააღმდეგობის მრავალი ასპექტის მონაწილედ და ამჟამად საჭიროა იმის გამოკვლევა, თუ რა კონკრეტულ როლს თამაშობს ის ინფექციის სხდასხვა ტიპის დროს

NF-κB -ს ოჯახის უმეტესი წევრების ექსპრესია T-უჯრედებში გვიჩვენებს, რომ ისინი ჩართულია T-უჯრედების ფუნქციონირებაში ზრდასრულ T-ლიმფოციტებში სიგნალიზაცია T-უჯრედის რეცეპტორით (TCR) იწვევს პროტეინ კინაზა C-ს აქტივაციას და შემდეგ NF-κB-ს აქტივობას (Sun et al , 2000), რომელიც შესაძლოა მნიშვნელოვანია TCR-გამოწვეული პროლიფერაციული სიგნალებისთვის.

როგორც ცნობილია, T-უჯრედების პასუხები შეიძლება დაიყოს Th-1 (რომელსაც ახასიათებს IFNγ-ს სინთეზი და ასოცირდება უჯრედულ იმუნიტეტთან) და Th-2 (რომელსაც ახასიათებს IL-4-ს და IL-5-ის წარმოება და ასოცირდება ჰუმორულ იმუნიტეტთან) ფუნქციურ ქვეჯგუფებად NF-κB შესაძლოა მონაწილეობს T-უჯრედების პასუხების განვითარებაში ნაჩვენებია, რომ მიუხედავად Th1- და Th2-უჯრედების მიერ RelA-ს და c-Rel-ის თანაბარი ექსპრესიისა, Th1 უჯრედებს Th2 უჯრედებისაგან განსხვავებით შეუძლია გააააქტიუროს RelA, TCR-ის სტიმულაციის საპასუხოდ (Lederer et al , 1996)

საკმაოდ ბევრი კვლევა ეძღვნება NF-κB -ს კავშირს Th1 ტიპის პასუხების განვითარებასთან, ნაკლებადაა ცნობილი NF-κB-ს როლი Th2 ტიპის პასუხების რეგულაციაში In vitro გამოკვლევებმა ცხადყო, რომ Th2 უჯრედებში აქტიურდება NF-κB (Lederer et al , 1996) და რომ RelA-ს ბმა IL-4-ში არსებულ პრომოტერებთან, დაკავშირებულია NF-AT-ს ინჰიბიციასთან, რაც საჭიროა IL-4-ის წარმოსაქმნელად (Casolaro et al , 1995)

ამრიგად, NF-κB მნიშვნელოვან როლს თამაშობს სხვადასხვა ანტებითი ციტოკინების და ანტიაპოპტოზური ცილების ექსპრესიის რეგულაციაში აქედან გამომდინარე, ფაქტორთა ეს ოჯახი ითვლება ანტებითი და ალერგიული დაავადებების, აგრეთვე, სიმსივნეების განვითარების მონაწილედ და მისი წევრები წარმოადგენენ მნიშვნელოვან სამიზნეებს ახალი სტრატეგიების შემუშავებისათვის ამ მდგომარეობათა სამკურნალოდ მართლაც, არსებობს მონაცემები, რომ NF-κB-ს აქტივობის ინჰიბიცია რევმატიული ართრიტის დროს (Foxwell et al , 1998) ან სწორი ნაწლავის ანთებითი დაავადების დროს (Neurath et al , 1996) წარმოადგენს საიმედო სტრატეგიას ამ დაავადებების სამკურნალოდ უნდა აღინიშნოს, აგრეთვე, რომ ანთების მრავალი ინჰიბიტორი, როგორიცაა IL-10, გლუკოკორტიკოიდები, ასპირინი და FK506, ახდენენ მაინჰიბირებელ გავლენას NF-κB -ს

აქტივობაზე (Venkataraman et al ,1995, Wang et al , 1995, Yin et al , 1998) მიუხედავად ამისა, NF-κB ოჯახის სპეციფიკური წევრების როლი იმუნური პასუხების რეგულაციაში ხშირად ბუნდოვანი რჩება

თავი II

მასალა და მეთოდები

კვლევის ობიექტები:

ექსპერიმენტებში გამოყენებული იყო.

1 ადამიანის ლიმფოიდური Jurkat – ის ხაზის უჯრედები (კლონი E2),

2 ადამიანის პერიფერიული სისხლიდან (მოხალისე დონორებიდან) მიღებული T ლიმფოციტები

მასალები:

1 Anti-CD3 Mab(AnaSpec inc San Jose, CA),

2 PMA (Phorbol 12-Myristate 13-Acetate) (LC- Labs Inc Woburn MA)

3 დექსტრორფანი, ჰალოპერიდოლი, პენტაზოცინი, SKF-10047, ფენციკლიდინი, NMDA, AMPA

4 იმუნოფერმენტული ანალიზის ტესტ-სისტემა (BenderMedSystems),

5. ტრანსკრიპციული ფაქტორების აქტივობის განსაზღვრის ტესტ-სისტემა (CLontech Inc CA)

ლიმფოიდური უჯრედების კულტივირება

ადამიანის ლიმფოიდური Jurkat –ის ხაზის უჯრედების კულტივირება ხდებოდა CO_2 ინკუბატორში 37^{0}C–ზე RPMI 1640 საკვებ არეში, რომელსაც დამატებული ჰქონდა 10% ხბოს ემბრიონული შრატი, 100ერთ/მლ პენიცილინი და 100მკგ/მლ 5%-იანი გენტამიცინი ჯრედებს ($1X10^7$ /მლ) გააქტიურების მიზნით ვრეცხავდით RPMI 1640-ით (დანამატების გარეშე), შემდეგ ვახდენდით რესუსპენზირებას 0.5 მლ ციტი RPMI 1640-ით, ვუმატებდით 2 მკგ/მლ ანტი-CD3-ს (AnaSpec,Inc. San Jose, CA) და ვახდენდით ინკუბაციას 15 წთ 0-4^{0}C–ზე ამის შემდგომ ვახდენდით უჯრედების ინკუბაციას 37^{0}C–ზე RPMI 1640-ით, რომელსაც დამატებული ჰქონდა 10% ხბოს ემბრიონული შრატი. შესაბამის სინჯებში საკვებ არეში ვამატებდით 10მკმოლი/ლ სიგმა-

ლიგანდებს ინკუბაცია ხდებოდა CO_2 ინკუბატორში 24 სთ-ის განმავლობაში

ადამიანის პერიფერიული სისხლიდან T-ლიმფოციტების მიღება

ადამიანის პერიფერიული სისხლიდან ლიმფოციტების მიღება ხდებოდა ფიკოლ-ვეროგრაფინის გრადიენტით სისხლს ვაზავებით 1.2 ფიზიოლოგიური ხსნარით ფიკოლ-ვეროგრაფინს ფრთხილად ვამატებდით განზავებულ სისხლს ვაცენტრიფუგებდით 40წთ 1200ბრ./წთ მიღებულ უჯრედებს ვრეცხავდით ორჯერ 10წთ 1500ბრ./ წთ უჯრედულ სუსპენზიას ვამატებდით საკვებ არეს RPMI-ს, 10% ხბოს შრატს, 0.3% გლუტამინს, 0.5% სტრეპტომიცინ/პენიცილინს ჯრედებს გააქტივების მიზნით ვამატებდით ანტი-CD3-ს (AnaSpec,Inc San Jose, CA) და PMA-ს (LC- Labs Inc) შესაბამის სინჯებში ვამატებდით 10მკმოლი/ლ სიგმა-ლიგანდებს და ვახდენდით ინკუბაციას 24სთ-ის განმავლობაში 37^0C–ზე, CO_2-ით მდიდარ ატმოსფეროში

უჯრედების და ბირთვების ექსტრაქციის მეთოდი

უჯრედების და ბირთვების ექსტრაქციის მიზნით გამოყენებული იქნა Dignam et al –ის მეთოდი (Dignam et al , 1983)

ადამიანის პერიფერიული სისხლიდან მიღებულ T-ლიმფოციტებს ვააქტიურებდით ($1.5X10^6$ /მლ) ანტი-CD3 (3მკგ/მლ) და PMA-თი (5მკგ/მლ) შესაბამის სინჯებში ვამატებდით 10მკმოლ/ლ სიგმა-ლიგანდებს და ვახდენდით ინკუბაციას 2სთ-ის განმავლობაში 37^0C–ზე, CO_2-ით მდიდარ ატმოსფეროში ინკუბაციის შემდგომ უჯრედების სუსპენზიას ვაცენტრიფუგებდით 5წთ. 450Xg-ზე უჯრედებს ვრეცხავდით ორჯერ ცივი PBS-ით 5წთ 450Xg-ზე ნალექს ვამატებდით 5-ჯერ მეტი მოცულობის Lysis Buffer-ს

Lysis Buffer

100mM Hepes (pH 7 9), 15mM $MgCl_2$,

100mM KCl, 0 1M DTT, პროტეაზების ინჰიბიტორები Aprotinin, Pepstatin A, Bestatin

ვახდენდით რესუსპენზირებას და 15წთ. ინკუბაციას 4^0C–ზე ჯრედების სუსპენზიას ვაცენტრიფუგებდით 5წთ 450Xg-ზე ნალექს ვასუსპენზირებდით Lysis Buffer–ში უჯრედების სუსპენზიაში მემბრანებს ვახიანებდით შპრიცით (#27 ნემსით) ამის შემდგომ ვაცენტრიფუგებდით 10000-20000Xg 20წთ ნალექის რესუსპენზირებას, ვახდენდით Extraction Buffer-ით ვამატებდით ნალექის მოცულობის 2/3-ის შესაბამის მოცულობა ბუფერს.

Extraction Buffer

20mM Hepes (pH 7 9), 1 5 mM $MgCl_2$

0 42M NaCl, 0 2mM EDTA, 25%(v/v) glycerol, 0 1M DTT პროტეაზების ინჰიბიტორები Aprotinin, Pepstatin A, Bestatin

შპრიცით ვახდენდით ბირთვების მემრანების დაზიანებას ბირთვების სუსპენზიას ვანჯღრევდით 30წთ 4^0C –ზე ამის შემდეგ ბირთვების სუსპენზიას ვაცენტრიფუგებდით 20000-21000Xg–ზე 5წთ სუპერნატანტში, რომელიც ბირთვების ექსტრაქტია ვზომავდით ცილის რაოდენობას. რეკომენდებული კონცენტრაციაა 5მკგ/მკლ

ტრანსკრიპციული ფაქტორების აქტივობის ანალიზი

ტრანსკრიპციული ფაქტორების აქტივობის განსაზღვრისათვის ადამიანის პერიფერიული სისხლის T-ლიმფოციტებს ($1X10^6$/მლ) ვააქტიურებდით ანტი-CD3–ით და PMA (Phorbol 12-Myristate 13-Acetate) -თი ამის შემგომ შესაბამის სინჯებში, გარდა საკონტროლი სინჯისა, ვამატებით 10 მკმოლი/ლ სიგმა-ლიგანდებს და ვახდენდით ინკუბაციას 2სთ-ის განმავლობაში CO2 ინკუბატორში შემდეგ ვახდენდით ბირთვების ექსტრაქციას და შესაბამის ექსტრაქტში ვსაზღვრავდით ტრანსკრიპციული ფაქტორების (NF-kB, AP1, ATF2) აქტივობას კოლორიმეტრული ტესტ-სისტემის საშუალებით (CLontech ink, CA)

აზოტის ოქსიდის რაოდენობის განსაზღვრა

აზოტის ოქსიდის რაოდენობის განსაზღვრისათვის T-ლიმფოციტებს (1 X 10^7 1 მლ-ში) (Jurkat-ს ან პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტებს) ვააქტიურებდით ანტი-CD3–ით ამის შემგომ შესაბამის სინჯებში, გარდა საკონტროლი სინჯისა, ვამატებით 10 მკმოლი/ლ სიგმა ლიგანდებს და ვახდენდით ინკუბაციას 24 სთ-ის განმავლობაში CO2 ინკუბატორში

NO-ს რაოდენობას ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრული მეთოდით გრისის რეაგენტის დამატებით

იმუნოფერმენტული ანალიზი (ELIZA)

სინთეზირებული ციტოკინების რაოდენობის განსაზღვრისათვის T-ლიმფოციტებს (1 X 10^7/მლ-ში) (Jurkat-ს ან პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტებს) ვააქტიურებდით ანტი-CD3–ით ამის შემგომ შესაბამის სინჯებში, გარდა საკონტროლი სინჯისა, ვამატებით 10 მკმოლი/ლ სიგმა-ლიგანდებს და ვახდენდით ინკუბაციას 24 სთ-ის განმავლობაში CO2 ინკუბატორში ინკუბაციის შემდეგ უჯრედების სუსპენზიას ვაცენტრიფუგებით 10წთ 3000Xg-ზე ციტოკინების რაოდენობას ვსაზრვრავდით სუპერნატანტში სტანდარტული იმუნოფერმენტული ანალიზის ტესტ-სისტემით (BenderMedSystems)

მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება ხდებოდა One way Anova-ს პროგრამით ყოველი ექსპერიმენტიდან მიღებული მონაცემების ანალიზი ხდებოდა ცალ-ცალკე როდესაც ANOVA ანალიზით მიიღებოდა სარწმუნო მაჩვენებელი შედეგების შედარება ხდებოდა t-ტესტით

თავი III

მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

3.1 სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედება ადამიანის T-ლიმფოციტების Jurkat–ის ხაზის უჯრედების მიერ IL-4-ის, γ-ინტერფერონის და აზოტის ოქსიდის სეკრეციაზე

სიგმა-ლიგანდებს ანთებისსაწინააღმდეგო მოქმედება ახასიათებთ, ამცირებენ IL-1-ის, IL-6-ის და γ-ინტერფერონის პროდუქციას და აძლიერებენ IL-10-ის სინთეზს (Bourrie et al , 2002, Derocq et al ,1995) ამიტომ სიგმა-აქტიური ნაერთები შეიძლება წარმატებით იქნეს გამოყენებული რიგი აუტოიმუნური და ანთებითი პათოლოგიების სამკურნალოდ (Ganapathy et al , 1999) აღიშნული და-ავადებების დროს, როგორც ცნობილია სისხლში მომატებულია γ-ინტერფერონის კონცენტრაცია, რაც იწვევს IP-10 ცილის INFγ–ინდუ-ცირებულ ექსპრესიას IP-10 არის ქემოქტრაქტანტების ოჯახის ცილა, რომელიც ასოცირებულია ანთებებთან და პროლიფერაციასთან ის განსაკუთ-რებით დიდი რაოდენობით სინთეზირდება ისეთი დაავადებების დროს როგორიცაა გაფანტული სკლეროზი, რევმატოიდული ართ-რიტი, ფსორიაზი, მიასტენია და სხვა (Sorensen et al ,1999, Patel et al ,2001, Romagnani et al 2002, Gottlieb et al , 1988) აქედან გამომდინარე კვლევის პირველ ეტაპზე ჩვენს მიზანს წარმოადგენდა შეგვესწავლა სიგმა-ლიგანდების მოქმედება T-ლიმფოციტების მიერ γ-ინტერ-ფერონის სპონტანურ სეკრეციაზე T-ლიმფოციტების Jurkat-ის ხაზის უჯრედებს (IX10^7/მლ) ვამატებდით 10მკმოლ/ლ კონცენტრა-ციით სიგ-მა-ლიგანდებს და ვახდენდნით ინკუბაციას 24სთ-ის განმავლობაში CO2 ინკუბატორში

ექსპრიმენტში გამოყენებული სიგმა-ლიგანდები, პენტაზოცინი, ჰალო-პერიდოლი, SKF 10047, ფენციკლიდინი და დექსტრორფანი, სხვადა-

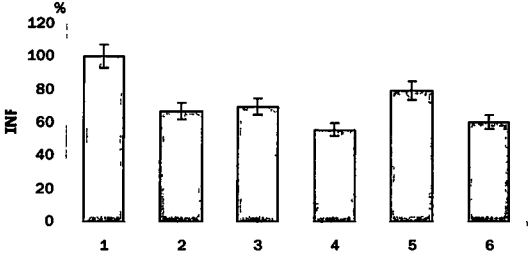
სხვა აფინურობით ხასიათდება სიგმა-1 რეცეპტორის მიმართ დადგენილია ზოგიერთი მათგანის დისოციაციის კონსტანტა (K_d) Jurkat-ის ხაზის უჯრედებში მაგალითად, ჰალოპერიდოლის - 3 9 ± 0 3 nM, (+) პენტაზოცინის - 12 ± 2 nM (Ganapathy et al., 1999).

ექსპრიმენტის შედეგად დადგინდა, რომ სიგმა-ლიგანდები პენტაზოცინი, ჰალოპერიდოლი, SKF 10047, ფენციკლიდინი და დექსტრორფანი სტატისტიკურად სარწმუნოდ ამცირებს γ-ინტერფერონის სპონტანურ სეკრეციას ადამიანის T-ლიმფოციტების Jurkat-ის ხაზის უჯრედებში შესაბამისად 33%, 30%, 44%, 20% და 39%-ით (სურ 1)

შემდგომ ეტაპზე შევისწავლეთ სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედება IL-4-ის სპონტანურ სეკრეციაზე IL-4 არის ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინი, რომელიც სინთეზირდება Th2 იმუნური უჯრედების მიერ და რომელსაც დიდი მნიშვნელობა აქვს იმუნური პასუხების რეგულაციაში (Abbas et al , 1996)

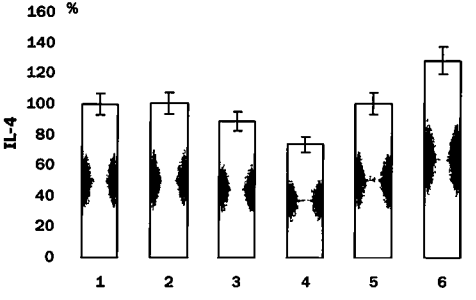
Jurkat-ის ხაზის უჯრედებს შესაბამის სინჯებში ვუმატებით 10მკმოლ/ლ სიგმა-ლიგანდებს IL-4-ის სპონტანურ სეკრეციაზე სხვადასხვა ლიგანდი განსხვავებულად მოქმედებდა პენტაზოცინი, ჰალოპერიდოლი და ფენციკლიდინი IL-4-ის სინთეზზე გავლენას არ ახდენდნენ, მაშინ როცა SKF 10047 აინჰიბირებდა დაახლოებით 26%-ით, ხოლო დექსტრორფანი ასტიმულირებდა 29%-ით ამ ციტოკინის სინთეზსს (სურ 2)

ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა სიგმა-ლიგანდების მოქმედება აზოტის ოქსიდის სპონტანურ სეკრეციაზე სიგმა-აქტიური ნაერთები ცელის აზოტის ოქსიდის სინთეზს პენტაზოცინი და SKF 10047 ამცირებს აზოტის ოქსიდის სეკრეციას შესაბამისად 14% და 24%-ით,



სურ 1. სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედება **Jurkat**-ის ხაზის უჯრედების მიერ γ-ინტერფერონის სპონტანურ სეკრეციაზე

1 – კონტროლი; 2 – პენტაზოცინი; 3 – ჰალოპერიდოლი;
4 – **SKF 10047**; 5 - ფენციკლიდინი; 6 – დექსტრორფანი.



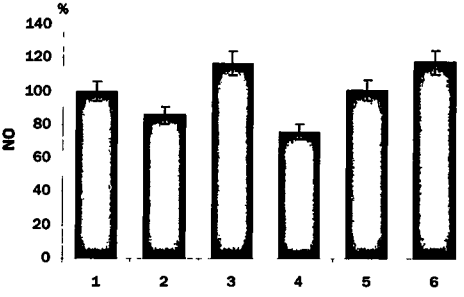
სურ. 2 სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედება Jurkat-ის ხაზის უჯრედების მიერ IL-4-ის სპონტანურ სეკრეციაზე.

1 – კონტროლი; 2 – პენტაზოცინი; 3 – პალოპერიდოლი; 4 – SKF 10047; 5 - ფენციკლიდინი; 6 – დექსტრორფანი.

ფენციკლინი არ ახდენს გავლენას მის სინთეზზე, ხოლო ჰალო-პერიდოლი და დექსტრორფანი აძლიერებს აზოტის ოქსიდის სინთეზსს შესაბამისად 17% და 18%-ით (სურ 3) ამასთანავე, ამ ნაერთის რაოდენობრივი ცვლილება კორელაციაშია IL-4-ის სეკრეციასთან კორელაციის კოეფიციენტი NO-ს დონესა და სეკრეტირებულ IL-4-ს შორის [r (NO/IL-4)] 0.702-ს უდრის, ეს მაჩვენებელი γ-ინტერფერონის შემთხვევაში [r(NO/IFN)] მხოლოდ 0 134–ს უდრის

მიღებული შედეგები იმაზე მიუთითებს, რომ ზოგიერთი სიგმა-აქტიური ნაერთი ცვლის აზოტის ოქსიდის პროუქციას, რაც ერთის მხრივ იწვევს γ-ინტერფერონის სინთეზის შემცირებას, მეორეს მხრივ კი IL-4-ის პროდუქციის გაზრდას

IL-4-ის გენის ექსპრესია რეგულირდება ტრანსკრიპციის ფაქ-ტორით STAT-6-ით, რომლის აქტივობა იზრდება კალციუმის იონებით (Schmidt-Weber et al , 2000) გარდა ამისა ამ პროცესზე მოქმედებს უჯრედის რედოქს-სტატუსი, რამდენადაც კვერცეტინის ტიპის სკავენ-ჯერები ამცირებს IL-4-ის რაოდენობას და ზრდის γ-ინტერფერონის პროდუქციას უჯრედის ოქსიდაციური პოტენციალის გაზრდა NO-ს სინთეზის გაზრდის ხარჯზე ასევე ცვლის Th1/Th2 ციტოკინების ბა-ლანსს, რომელიც აღდგება უჯრედის რედოქს-სტატუსის ნორმა-ლიზების შემდგომ (RoozendaaL et al , 1999) ეს მონაცემები იმაზე მიუ-თითებს, რომ STAT-6-ის გააქტიურება და IL-4-ის გენის შემდგომი ექსპრესია დამოკიდებულია უჯრედშიდა კალციუმის კონცენ-ტრაციაზე და ლიმფოციტების ჟანგვა-აღდგენით პოტენციალზე და-მიანის ლიმფოციტების Jurkat–ის ხაზის უჯრედები შეიცავს სიგმა რეცეპტორების პირველ ტიპს (Ganapathy et al , 1999) საკარაუდოდ, ეს რეცეპტორები ლოკალიზებულია ენდოპლაზმურ რეტიკულუმზე და ლიგანდთან მიერთების შემდგომ ტრანსლოცირდება პლაზმური



სურ. 3. სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედება **Jurkat**-ის ხაზის უჯრედების მიერ NO- ს სპონტანურ სეკრეციაზე.

1 – კონტროლი; 2 – პენტაზოცინი; 3 – ჰალოპერიდოლი;
4 – SKF 10047; 5 - ფენციკლიდინი; 6 – დექსტრორფანი.

მემბრანისკენ და ასტიმულირებს G-ცილას (Monassier et al., 2002) ამ უკანასკნელის გააქტივება იწვევს ფოსფოლიპაზა-C-ს გააქტიურებას, რაც ერთის მხრივ იწვევს ინოზიტოლ-3-ფოსფატის საშუალებით კალციუმის იონების ენდოპლაზმური რეტიკულუმიდან გამოთავისუფლებას და მეორეს მხრივ პროტეინკინაზა-C-ს საშუალებით სიგმა-რეცეპტორების დესენსიბილიზებას (Novakova et al , 1998) სიგმა-ნაერთების ამგვარი მოქმედებები განაპირობებს უჯრედშიდა მეტაბოლიზმის ტრანზიტორულ ძვრებს, რომელიც დაკავშირებულია კალციუმის იონების ქვანტურ გამოთავისუფლებასთან ეს ცვლილებები იწვევენ Ca–დამოკიდებული ფერმენტების დროებით გააქტივებას, მათ შორის - კონსტიტუციური NO სინთაზასი, რომელიც ცვლის რა უჯრედის რედოქს-სტატუსს, აძლიერებს ნიტროზილირებული რეგულატორული ცილების აქტივობას ეს უკანასკნელნი მოქმედებენ ტრანსკრიპციის ფაქტორზე STAT 6-ზე და იზრდება IL-4-ის გენის ექსპრესია მიღებული შედეგები მიუთითებს იმაზე, რომ სიგმა-აქტიური ნაერთები ციტოკინების სინთეზს აღნიშნული მექანიზმებით ცვლიან

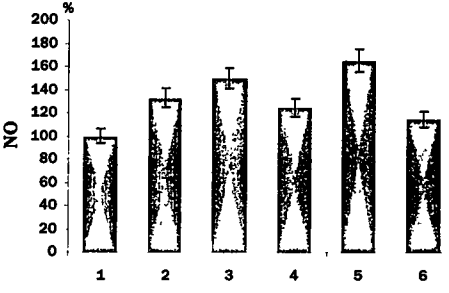
3.2. სიგმა-აქტიური ნაერთის დექსტრორფანის და გლუტამატის რეცეპტორის აგონისტების მოქმედება Jurkat–ის ხაზის უჯრედების მიერ ციტოკინების (IL-6-, IL-8, IL-10) და აზოტის ოქსიდის სპონტანურ სეკრეციაზე

დექსტრორფანი არის დექსტრომეტორფანის ფარმაკოლოგიურად აქტიური მეტაბოლიტი, რომელსაც მსგავსი სტრუქტურა აქვს დექსტრომეტორფანი მედიცინაში გამოიყენება როგორც ხველების საწინააღმდეგო მოქმედების მქონე პრეპარატი როგორც დექსტრორფანი, ასევე დექსტრომეტორფანი არის NMDA რეცეპტორის ანტაგონისტი და სიგმა1 რეცეპტორის აგონისტი ამ აგენტების ხველების საწინააღმდეგო ეფექტი შესაძლოა განპირობებული იყოს როგორც NMDA, ასევე სიგმა რეცეპტორებით (Kamei et al , 1993)

დადგნილია, რომ ადამიანის ნორმალურ T-ლიმფოციტებში და ლიმფოიდურ (მათ შორის Jurkat –ის ხაზის) უჯრედებში ხდება იონოტროპული გლუტამატის, და მათ შორის NMDA-რეცეპტორების მაღალი ექსპრესია (Ganor et al , 2003), რომელთა ფუნქციაც ლიმფოციტებში დაუდგენელია T- ლიმფოციტების ინფილტრაცია ცნს-ში სხვადასხვა პათოლოგიების დროს მიმდინარეობს, რის გამოც საზურგტვინე სითხეში მიმდინარე გლუტამატის ცვლილებები შესაძლებელია აისახოს ლიმფოციტების აუტოაგრესიულობის გაძლიერებაში მაგალითად, გაფანტული სკლეროზის (Hemmer et al , 2002), ვირუსული ინფექციების (Tompkins et al , 2002), სხვადასხვა ეთიოლოგიის ენცეფალომიელიტების დროს ადგილი აქვს ინფილტრირებული ლიმფოციტების Th1-პასუხის გაძლიერებას და დაავადების სიმპტომატიკის დამძიმებას. ამიტომ ნეირონული წარმოშობის ბიოლოგიურად აქტიურ ნაერთებს, და მათ შორის გლუტამატს, რომლებიც შესაძლებელია პასუხისმგებელნი იყვნენ თავის ტვინში T-უჯრედების გააქტივების რეგულაციაზე, დიდი ფიზიოლოგიური და კლინიკური მნიშვნელობა უნდა ჰქონდეთ ნერვული სისტემის ანთებითი პათოლოგიების ეტიოპათოგენეზში (Shrikant et al , 1996). ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე,

განდა მოსაზრება იმისა, რომ დექსტრორფანის იმუნომამოდულირებელი ეფექტი ადამიანის T-ლიმფოციტებში შესაძლოა განპირობებული იყოს მისი როგორც NMDA რეცეპტორებზე, ისე სიგმა-რეცეპტორებზე მოქმედებით (Кварацхелия и др., 2004)

ამ მოსაზრების გამოსარიცხად ან დასადასტურებლად ჩვენს წინაშე დაისახა ამოცანა შეგვესწავლა დექსტრორფანის და გლუტამატის რეცეპტორების აგონისტების მოქმედება Jurkat–ის ხაზის უჯრედების მიერ IL-6-ის, IL-8-ის, IL-10-ის და აზოტის ოქსიდის სპონტანურ სეკრეციაზე ამ მიზნით უჯრედებს ($1X10^7$/მლ-ში) ვამატებდით 10 მკმოლ/ლ დექსტრორფანს და გლუტამატის რეცეპტორის აგონისტებს NMDA-ს და AMPA-ს გარდა ამისა, უჯრედების შესაბამის სინჯებს დავამატეთ დექსტრორფანი და NMDA, დექსტრორფანი და AMPA, რათა შეგვესწავლა მათი კომბინირებული მოქმედება უჯრედების ინკუბაციას ვახდენდით CO2 ინკუბატორში 24 სთ-ის განმავლობაში გაირკვა, რომ როგორც დექსტრორფანი, ასევე NMDA და AMPA, როგორც ცალ-ცალკე, ასევე კომბინირებულად მოქმედებისას აძლიერებს NO-ს სინთეზს (სურ4). როგორც სურათიდან ჩანს Jurkat-ის ხაზის უჯრედებზე დექსტრორფანის დამატებისას NO-ს სინთეზი დაახლოებით 30%-ით იზრდება ხოლო NMDA-ს დამატებისას NO-ს სინთეზი დაახლოებით 50%-ით იზრდება კონტროლთან შედარებით, NMDA+დექსტრორფანის დამატებისას კი - დაახლოებით 70%-ით იმ შემთხვევაში თუ მოხდებოდა დექსტრორფანის კონკურენტული დაკავშირება NMDA-რეცეპტორებთან, ეს რიცხვი უნდა შემცირებულიყო, ვინაიდან დექსტრორფანი არის NMDA-რეცეპტორების ანტაგონისტი, მაგრამ ეს არ დაფიქსირდა აქედან გამომდინარე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ დექსტრორფანი T-ლიმფოციტებზე მოქმედებისას უკავშირდება სიგმა-რეცეპტორებს და არა NMDA-რეცეპტორებს



სურ. 4. დექსტრორფანის და გლუტამატ-რეცეპტორების აგონისტების მოქმედება Jurkat-ის ხაზის უჯრედების მიერ NO-ს სინთეზზე.

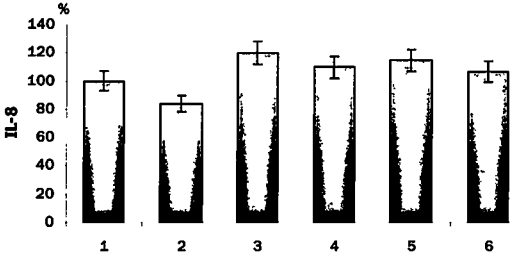
1 - კონტროლი, 2 - დექსტრორფანი, 3 - NMDA,

4 - AMPA, 5 - NMDA+დექსტრორფანი, 6 - AMPA+ დექსტრორფანი.

სიგმა-აქტიური ნაერთის, დექსტრორფანის მოქმედებით ანთებითი ციტოკინის IL-8-ის სეკრეცია დაახლოებით 20%-ით შემცირდა გლუტამატის რეცეპტორის აგონისტების NMDA-ს და AMPA-ს დამატების შემთხვევაში კი პირიქით, IL-8-ის კონცენტრაცია შესაბამისად 20% და 10%-ით გაიზარდა დექსტრორფანის და NMDA-ს ერთდროულად დამატებისას IL-8-ას კონცენტრაცია, კონტროლთან შედარებით, დაახლოებით 15%-ით გაიზარდა, დექსტრორფანის და AMPA-ს ერთდროულად დამატებისას კი - 7%-ით

ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ დექსტრორფანის ეფექტი როგორც აზოტის ოქსიდის, ასევე IL-8-ის სინთეზზე განპირობებულია მისი დაკავშირებით სიგმა-რეცეპტორებთან და არა NMDA- რეცეპტორებთან წინააღმდეგ შემთხვევაში დექსტრორფანის და NMDA–ს კომბინირებული მოქმედებით უნდა მომხდარიყო IL-8-ს კონცენტრაციის მნიშვნელოვანი შემცირება კონტროლთან შედარებით, რამდენადაც დექსტრორფანი არის NMDA-რეცეპტორების ანტაგონისტი და უნდა შეესუსტებინა მისი გააქტიება ამავე ლოგიკით, დექსტრორფანის და AMPA-ს კომბინირებული მოქმედებისას, კონტროლთან შედარებით, უნდა შემცირებულიყო IL-8-ის სინთეზი აქედან შეიძლება გავაკეთოთ დასკვნა, რომ დექსტრორფანი სიგმა-რეცეპტორებთან უფრო მეტ სელექტიურობას ავლენს, ვიდრე გლუტამატ-რეცეპტორებთან

ექსპერიმენტის შედეგად დადგინდა, რომ როგორც დექსტრორფანი, ასევე NMDA და AMPA ამცირებს IL-6-ის და IL-10-ის სინთეზს (სურ 6, 7). IL-6-ის და IL-10-ის სინთეზი არ არის დამოკიდებული უჯრედშიდა NO-ს კონცენტრციაზე, ვინაიდან NO-ს, IL-6-ის და IL-10-ის კონცენტრაციების სიდიდეებს შორის მნიშვნელოვანი კორელაცია არ დაფიქსირდა მიუხედავად ამისა, ამ ორი ციტოკინის გენების ექსპრესია, სავარაუდოდ, იდენტური რეგულატორული ფაქტორებით ხორციელდება, ვინაიდან, IL-6-ის და IL-10-ის კონცენტრაციების

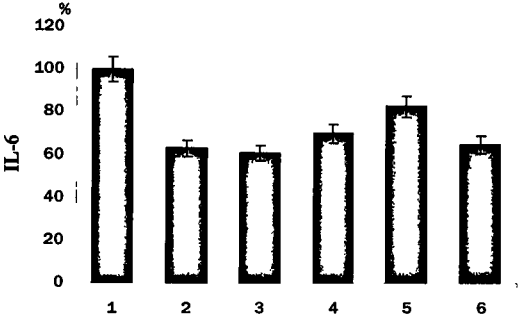


სურ. 5. დექსტრორფანის და გლუტამატ-რეცეპტორების აგონისტების მოქმედება Jurkat-ის ხაზის უჯრედების მიერ IL-8-ს სინთეზზე.

1 - კონტროლი, 2 - დექსტრორფანი, 3 - NMDA,
4 -AMPA, 5 - NMDA+დექსტრორფანი, 6 - AMPA+დექსტრორფანი.

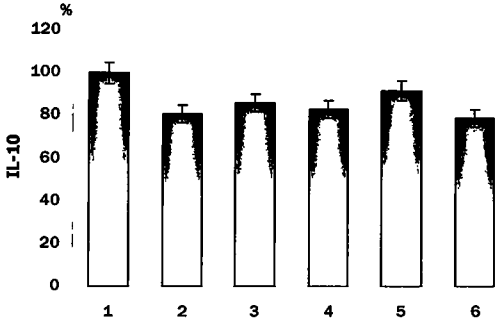
სიდიდეებს შორის მაღალი დადებითი კორელაცია აღინიშნა - r(IL-6/IL-10)=0 69.

ამრიგად, სიგმა-რეცეპტორების აგონისტი დექსტრორფანი, ამცირებს ანთებითი ციტოკინების IL-6-ის და IL-8 ის სინთეზს ეს ცვლილებები მიმდინარეობს NO–ს კონცენტრაციის ზრდის ფონზე, რაც მიუთითებს სიგმა-ლიგანდების ეფექტურობაზე იმუნური პასუხების რეგულაციაში დადგინდა, აგრეთვე, რომ სიგმა-რეცეპტორების აგონისტი და NMDA-რეცეპტორების ანტაგონისტი – დექსტრორფანი T-ლიმფოციტებზე მოქმედებისას მეტ სელექტიურობას ავლენს სიგმა-რეცეპტორის მიმართ და მისი ეფექტი იმუნური პასუხების რეგულაციაში განპირობებულია სიგმა-აქტივობით.



სურ. 6. დექსტრორფანის და გლუტამატ-რეცეპტორების აგონისტების მოქმედება Jurkat-ის ხაზის უჯრედების მიერ IL-6-ის სინთეზზე

1 - კონტროლი, 2 - დექსტრორფანი, 3 - NMDA, 4 - AMPA,
5 - NMDA+დექსტრორფანი, 6 - AMPA+ დექსტრორფანი.



სურ. 7. დექსტრორფანის და გლუტამატ-რეცეპტორის აგონისტების მოქმედება Jurkat-ის ხაზის უჯრედების მიერ IL-10-ის სინთეზზე.

1 - კონტროლი, 2 - დექსტრორფანი, 3 - NMDA,
4 - AMPA, 5 - NMDA+დექსტრორფანი,
6 - AMPA+ დექსტრორფანი.

3.3 სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედება ადამიანის T-ლიმფოციტების მიერ ციტოკინების (IL-8, IL-10) და ანოტის ოქსიდის ანტი-CD3-ით ინდუცირებულ სეკრეციაზე

IL-8 არის ქემოატრაქტანტების ოჯახის წევრი, რომელიც სინთეზირდება მონოციტების, მაკროფაგების, T-უჯრედების, NK და სხვა არალიმფოიდური ტიპის უჯრედების მიერ სხვადასხვა სტიმულზე საპასუხოდ ეს სტიმული შეიძლება იყოს IL-1, TNFα, მიტოგენი, ლექტინი, ანტი- CD3, PMA და ვირუსები (Hoch et al , 1996) IL-8 იწვევს T-ლიმფოციტების, ბაზოფილების და ნეიტროფილების გააქტივებას, ქემოტაქსისს და შეშუპებებს IL-8 აღმოჩენილია ფსორიაზულ ქერქში (Konstantinova et al , 1996), სინოვიალურ სითხეში რევმატოიდული ართრიტით დაავადებულებში (Koch et al , 1991) და მრავალი სხვა ანთებითი პათოლოგიების დროს რევმატოიდული ართრიტის დროს სინოვიოციტები ახდენენ დიდი რაოდენობით IL-6-ის და IL-8-ის სეკრეციას, რომელებიც იწვევენ სახსრის დაზიანებას (Georganas et al , 2000). ამრიგად, IL-8 მნიშვნელოვან პათოფიზიოლოგიურ როლს თამაშობს სხვადასხვა ანთებითი დაზიანებების განვითარებაში

ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინი IL-10 ძირითადად სინთეზირდება Th2 იმუნური უჯრედების მიერ და დიდ როლს თამაშობს ქრონიკული და მწვავე ანთებითი პროცესების შესაზღუდად (Bogdan et al , 1991,1992) აუტოიმუნური დაავადებებისას, როგორც წესი, დარღვეულია Th1/Th2 ციტოკინების სინთეზის ბალანსი Th1 იმუნური პასუხების მხარეს ამიტომ ძალზე მნიშვნელოვანია ისეთი იმუნომამოდულირებელი თვისებების მქონე პრეპარატების შექმნა, რომელიც აღადგენს ამ ბალანსს სწორედ ასეთი თვისება აღმოაჩნდათ სიგმა-აქტიურ ნაერთებს სიგმა-ლიგანდი SR 31747 თრგუნავს ანტი-CD3 ანთებითი ციტოკინების პროდუქციას ენდოტოქსინით გააქტივებულ მაკროფაგებში და ამავე დროს აძლიერებს ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინების სინთეზს (Derocq et al , 1995) შესწავლილია (+)-პენტა-

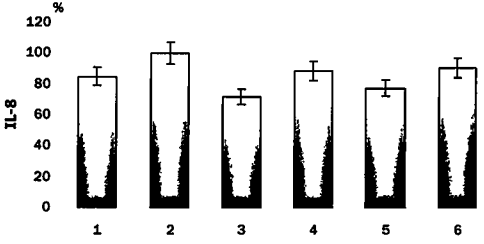
ზოცინის, ფენციკლიდინის, DTG-ს, PPP–ს და პალოპერიდოლის იმუნორეგულატორული თვისებები DTG-ს და პალოპერიდოლის მაღალი კონცენტრაცია NK უჯრედების პროლიფერაციის დათრგუნვას ახდენდა, მაშინ როდესაც (+)-პენტაზოცინს, (–)-პენტაზოცინს და PPP–ს ექვივალენტურ კონცენტრაციებში ეფექტი არ ჰქონდა (Carr et al , 1992)

ამ მონაცემებზე დაყრდნობით ჩვენს წინაშე დაისახა ამოცანა შეგვესწავლა სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედება ადამიანის T-ლიმფოციტების მიერ IL-8, IL-10-ის და აზოტის ოქსიდის ანტი-CD3-ით ინდუცირებულ სეკრეციაზე ამ მიზნით გამოვიყენეთ შემდეგი სიგმა-ლიგანდები დექსტრორფანი, (+)-პენტაზოცინი და სიგმა-რეცეპტორების ანტაგონისტი პალოპერიდოლი ადამიანის პერიფერიული სისხლის T-ლიმფოციტები მიღებულ იქნა ფიკოლ-ვეროგრაფინის გრადიენტით. უჯრედებს გააქტივების მიზნით ვამატებდით ანტიCD3-ს ($1X10^7$/მლ უჯრედებს 3 მკგ/მლ ანტი-CD3-ს) ამის შემდეგ უჯრედებს ვამატებდით 10მკმოლ/ლ დექსტრორფანს, პენტაზოცინს და პალოპერიდოლს დექსტრორფანთან და პენტაზოცინთან კომბინირებულად უჯრედების ინკუბაციას ვახდენდით 24 სთ-ის განმავლობაში CO_2 ინკუბატორში 37^{0}C–ზე ცნობილია, რომ T-ლიმფოციტების ანტი-CD3-ით გააქტივების შედეგად ხდება Src ოჯახის პროტეინ კინაზების (PTK) ფოსფორილირება (Weiss et al ,1994), უჯრედშიდა Ca^{2+}-ის გამოთავისუფლების სტიმულირება, ციტოკინების სინთეზი და IL-2-ზე დამოკიდებული უჯრედების პროლიფერაცია (Meuer et al , 1983).

ჩვენს მიერ ნაჩვენებია, რომ სიგმა-ლიგანდები - როგორც დექსტრორფანი, ასევე პენტაზოცინი ამცირებენ ადამიანის T-ლიმფოციტების მიერ ანთებითი ციტოკინის IL-8-ს ანტი-CD3-ით ინდუცირებულ სეკრეციას შესაბამისად 28% და 22%-ით (სურ 8) ამავე დროს ორივე სიგმა-ნაერთი მნიშვნელოვნად აძლიერებს ანთების-საწინააღმდეგო ციტოკინის IL-10-ის სინთეზს შესაბამისად 65% და 58%-ით (სურ 9) ნაჩვენებია, აგრეთვე, რომ დექსტრორფანი, სიგმა-

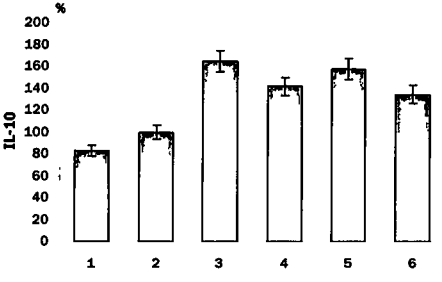
რეცეპტორების ანტაგონისტ ნაერთთან - ჰალოპერიდოლთან კომბინაციაში მოქმედებისას აძლიერებს IL-8-ს სინთეზს და თრგუნავს IL-10-ის სეკრეციას. იგივე ეფექტი გამოირდა პენტაზოცინის და ჰალოპერიდოლის ერთობლივი მოქმედების შედეგად (სურ 8, 9)

სიგმა-აქტიური ნაერთები - დექსტრორფანი და პენტაზოცინი ამცირებენ ლიმფოციტების მიერ აზოტის ოქსიდის ანტი-CD3-ით ინდუცირებულ სინთეზს აზოტის ოქსიდი (NO) არის თავისუფალი რადიკალი, რომელიც კრიტიკულ როლს თამაშობს ფიზიოლოგიური და პათოფიზიოლოგიური პროცესების სასიგნალო სისტემების განვითარებაში (Moncada et al ,1991) კონსტიტუციური NO-სინთაზა (cNOS) ასინთეზირებს NO-ს პიკომოლარული კონცენტრაციით L-არგინინიდან უჯრედშიდა სიგნალებისათვის, მაშინ როცა ინდუცებელური NO-სინთაზას(iNOS) საშუალებით გენერირდება NO-ს მაღალი კონცენტრაცია ხანგრძლივი დროის განმავლობაში იგი ასოცირდება ანტებებთან და შეუძლია სერიოზული ზიანი მიაყენოს უჯრედებს და ქსოვილებს (Chantry et al , 1990) როგორც მიღებული შედეგებიდან ჩანს დექსტრორფანის მოქმედებით NO-ს კონცენტრაცია დაახლოებით 56%-ით შემცირდა, ხოლო პენტაზოცინის მოქმედებით კი-48%-ით როგორც დექსტრორფანი, ასევე პენტაზოცინი ჰალოპერიოლთან კომბინაციაში მოქმედებისას აძლიერებს NO-ს სინთეზს (სურ. 10) ამ შედეგებიდან გამომინარე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ სიგმა-რეცეპტორის ანტაგონისტი – ჰალოპერიდოლი ამცირებს დექსტრორფანის და პენტაზოცინის ეფექტს როგორც აზოტის ოქსიდის, ასევე IL-8 და IL-10-ის შემთხვევაში



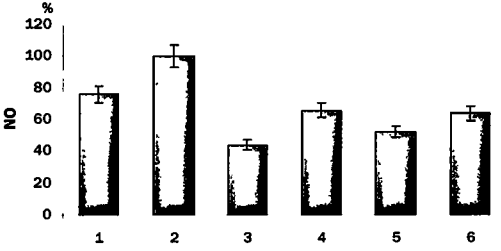
სურ. 8. სიგმა-ლიგანდების მოქმედება T-ლიმფოციტების მიერ IL8-ს ანტი-CD3-ით ინდუცირებული სინთეზზე.

1 - კონტროლი, 2 - კონტროლი+ანტი-CD3, 3 - დექსტრორფანი,
4 - დექსტრორფანი+ჰალოპერიოლი, 5 - პენტაზოცინი,
6 - პენტაზოცინი+ჰალოპერიოლი.



სურ. 9. სიგმა-ლიგანდების მოქმედება T ლიმფოციტების მიერ IL-10-ის ანტი-CD3-ით ინდუცირებულ სინთეზზე.

1 - კონტროლი, 2 - კონტროლი+ანტი-CD3, 3 - დექსტრორფანი,
4 - დექსტრორფანი+ჰალოპერიოლი, 5 - პენტაზოცინი,
6 - პენტაზოცინი+ჰალოპერიოლი



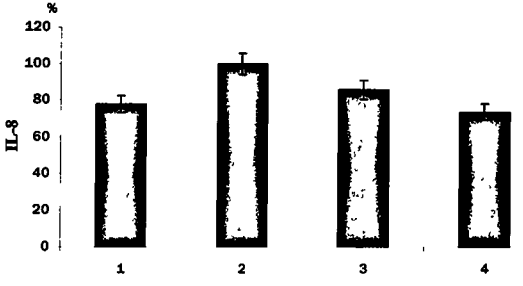
სურ. 10. სიგმა-ლიგანდების მოქმედება T-ლიმფოციტების მიერ აზოტის ოქსიდის ანტი-CD3-ით ინდუცირებულ სინთეზზე.

1 - კონტროლი, 2 - კონტროლი+ანტი-CD3, 3 - დექსტრორფანი,
4 - დექსტრორფანი+ჰალოპერიოლი, 5 - პენტაზოცინი,
6 - პენტაზოცინი+ჰალოპერიოლი.

ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა სიგმა-ლიგანდების, დექსტრორფანის და პენტაზოცინის, მოქმედება ანტი-CD3-ით გააქტივებული ლიმფოიდური Jurkat-ის ხაზის უჯრედების მიერ ციტოკინების, IL-8 და IL-10-ის, სეკრეციაზე ამ მიზნით უჯრედებს (10^6/მლ) ვაინკუბირებდით ანტი-CD3-ით (3მკგ/მლ) და შესაბამის სინჯებში ვამატებდით 10მკმოლ/ლ სიგმა ლიგანდებს როგორც სურ 11-იდან ჩანს სიგმა-აქტიური ნაერთები, როგორც დექსტრორფანი, ასევე პენტაზოცინი, ამცირებს IL-8-ს სინთეზს ამასთან, დექსტრორფანის დამატების შემთხვევაში IL-8-ს სეკრეცია მცირდება 14%-ით, ხოლო პენტაზოცინის დამატების შემთხვევაში კი 26%-ით

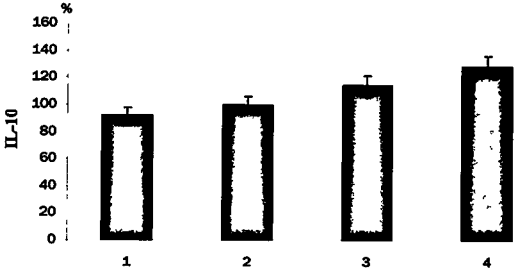
ექსპერიმენტის შედეგად დადგინდა, რომ სიგმა-აქტიური ნაერთები, როგორც დექსტრორფანი, ასევე პეტაზოცინი აძლიერებენ ანტი-CD3-ით გააქტივებული Jurkat-ის ხაზის უჯრედების მიერ ანთებისსაწინააღმდეგო ციტოკინის IL-10-ის სინთეზს (სურ 12) როგორც მიღებული შედეგებიდან ჩანს, დექსტრორფანი დაახლოებით 15%-ით აძლიერებს IL-10-ის სინთეზს, მაშინ როცა პენტაზოცინის შემთხვევაში ეს ციფრი 29%-ია როგორც ჩანს Jurkat-ის ხაზის უჯრედებში პენტაზოცინის მოქმედების ეფექტი უფრო ძლიერია, ვიდრე დექსტრორფანისა ეს ლოგიკურიც არის, ვინაიდან პენტაზოცინი უფრო მეტ სელექტიურობას ავლენს სიგმა რეცეპტორის მიმართ, ვიდრე დექსტრორფანი (Ganapathy et al., 1999). თუმცა ადამიანის პერიფერიული სისხლის უჯრედებში იგივე ნაერთების მოქმედებისას, დექსტრორფანისა და პენტაზოცინის ეფექტებს შორის მნიშვნელოვანი განსხვავება არ აღინიშნება

ამრიგად, სიგმა-აქტიური ნაერთები ამცირებენ ილ-8-ს სინთეზს და ამავე დროს აძლიერებენ IL-10-ის სეკრეციას, როგორც ადამიანის პერიფერიული სისხლის T-ლიმფოციტებში, ასევე Jurkat-ის ხაზის უჯრედებში ეს ცვლილებები მიმდინარეობს აზოტის ოქსიდის კონცენტრაციის შემცირების ფონზე ნათელია, რომ სიგმა-აქტიური



სურ.11. სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედება ანტი-CD3-ით გააქტივებული Jurkat-ის ხაზის უჯრედების მიერ IL-8-ს სინთეზზე

1. კონტროლი, 2. კონტროლი+ანტიCD3, 3. დექსტრორფანი, 4. პენტაზოცინი



სურ.12. სიგმა-აქტიური ნაერთების მოქმედება ანტი-CD3-ით გააქტივებული Jurkat-ის ხაზის უჯრედების მიერ IL-10-ს სინთეზზე

1. კონტროლი, 2. კონტროლი+ანტიCD3, 3. დექსტრორფანი, 4. პენტაზოცინი

ნაერთები შესაბამისი რეცეპტორების საშუალებით ჩართულნი არიან უჯრედების ძირითადი მეტაბოლური პროცესების რეგულაციაში

შესწავლილია ადამიანის T ლიმფოციტების უჯრედშიდა სიგნალების კასკადები უჯრედების გააქტიურების დროს ლიმფოციტების საბოლოოდ გასააქტივებლად აუცილებელია შემდეგი კასკადები. პროტეინკინაზა C-ს გააქტივება, რომელიც იწვევს რიგი ციტოპლაზმური პროტეინების ფოსფორილირებას და საბოლოოდ Fos/Jun ტრანსკრიპციული ფაქტორების საშუალებით სხვადასხვა გენების ტრანსკრიპციას (Flanagan et al, 1991) მეორე კასკადი არის Ca^{2+}-ის იონების გახანგრძლივებული შესვლა უჯრედებში უჯრედშორისი არედან ამ პროცესს მოჰყვება გენების ტრანსკრიპცია NF-AT ტრანსკრიპციული ფაქტორების გააქტივების საშუალებით (Rao, 1997; Crabtree et al, 1999) T-უჯრედების ძირითადი ციტოკინის IL-2-ის სინთეზისათვის აუცილებელია კასკადების ორივე გზა

ადამიანის T-ლიმფოციტებში და Jurkat-ის ხაზის უჯრედებში Ca^{2+}-ის იონების შესვლა ხორციელდება Ca^{2+}-ის არხების (CRAC) საშუალებით (Zweifach et al, 1993) იონების მოძრაობა ღია არხებში ხორციელდება ელექტროქიმიური გრადიენტით T-უჯრედების სტიმულაციისა და CRAC-ის არხების გახსნის შემდეგ, ელექტროქიმიური გრადიენტის თანახმად, ხდება Ca^{2+}-ის იონების დიდი რაოდენობის შესვლა უჯრედებში თუმცა ამას შესაძლოა მოჰყვეს პლაზმური მემბრანის დეპოლარიზაცია და Ca^{2+}-ის იონების ნაკადის შეზღუდვა. იმისათვის, რომ შენარჩუნებული იყოს Ca^{2+}-ის იონების შეესა უჯრედში იმ დროის განმავლობაში, რაც აუცილებელია გენების ტრანსკრიპციისათვის, საჭიროა კათიონების გამოსვლა უჯრედიდან. K^+-ის იონების გასვლა K^+-ის არხებით უზრუნველყოფს მემბრანული პოტენციალის რეგულირებას და Ca^{2+}-ის იონების შეესას უჯრედში (Lewis et al, 1995)

Jurkat-ის უჯრედებში ექსპრესირდება ორი განსხვავებული K^+-ის არხი პირველი არის K_V (voLtage-gated K^+), ხოლო მეორე კი - K_{Ca} (Ca^{2+}

- activated K^+) K_V და K_{Ca}-ის ექსპრესიის დონე ერთნაირია *Jurkat*-ის უჯრედებში და მიტოგენით გააქტივებულ ადამიანის T-უჯრედებში ორივე არხის ბლოკადა ეფექტურად აინჰიბირებს ლიმფოციტების მიტოგენ დამოკიდებულ აქტივაციას სავარაუდოდ, ამის მიზეზია მემბრანის დეპოლარიზაციის ინდუცირება და Ca^{2+}-ის იონების შეულის შეზღუდვა (Lewis et al , 1995) ადამიანის T-უჯრედებში K_{Ca}-არხის ბლოკატორებს შესაძლოა ჰქონდეთ კომპლექსური ეფექტი ციტოკინების გენების ექპრესიაში მართლაც Ca^{2+}-ის იონების შესვლის შეზღუდვა დაფიქსირებულია Th2 უჯრედებში Th1 უჯრედებთან შედარებით (Fanger et al , 2000).

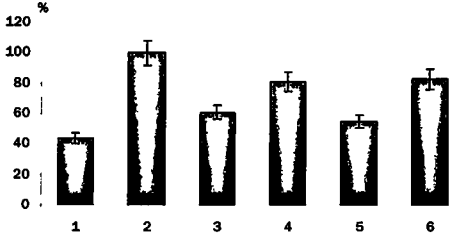
ცნობილია სიგმა-რეცეპტორების როლი K^+-ის არხების, ამასთან როგორც K_V ასევე K_{Ca} რეგულაციაში (Soriani et al , 1998, Aydar et aL , 2002, Zhang et al , 2005) სიგმა-ლიგანდები - პენტაზოცინი, იგმეზინი და DTG აინჰიბირებს K^+-ის არხებს სიმსივნურ უჯრედებში და ზედაპირის უჯრედების პროლიფერაციას ჯერჯერობით უცნობია ის მექანიზმები, რომლითაც ხდება სიგმა-ლიგანდების მიერ კალციუმის არხების დაბლოკვა შესაძლოა ეს ხდებოდეს პირდაპირი პროტეინ-პროტეინის ურთიერთქმედების შედეგად ან დამატებით, შუალედური მოლეკულების საშუალებით (Adrien Renaudo et al., 2004)

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები - სიგმა ლიგანდების მოქმედებით IL-8 და აზოტის ოქსიდის სეკრეციის დათრგუნვა და IL-10-ის სინთეზის გაძლიერება T-ლიმფოციტებში შესაძლოა ზემოთაღწერილი მექანიზმებით მიმდინარეობდეს

3.4 სიგმა-აქტიური ნაერთების გავლენა ტრანსკრიპციის მარეგულირებელი ფაქტორების აქტივობაზე ადამიანის პერიფერიული სისხლის T ლიმფოციტებში

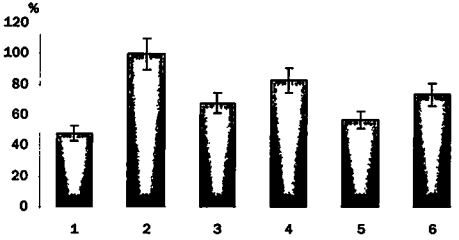
ტრანსკრიპციის ფაქტორები მცირე ზომის ცილებია, რომლებიც მონაწილეობენ გენების ექსპრესიის რეგულაციაში დღეისათვის მეტ-ნაკლებად კარგად არის შესწავლილი NF-κB და AP-1-ის ტრანსკრიპ-ციული ფაქტორების ოჯახის წევრი ცილები ორივე მათგანი მონა-წილეობს იმუნური პასუხების რეგულაციაში NF-κB-ს ინდუ-ციბელური გააქტივება იწვევს ისეთი ქრონიკული ანთებითი პროცე-სების განვითარებას როგორიცაა, ათეროსკლეროზი, გაფანტული სკლეროზი და სხვა (Tak et al , 2001) NF-κB-ს აქტივობის გაძლიერ-ებისას ხდება ანთებითი მედიატორების, IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α, COX-2 და iNOS –ის, გენების ტრანსკრიპციის ინდუცირება. აქედან გამომ-დინარე დიდი მნიშვნელობა აქვს NF-κB-ს მაინჰიბირებელი საკურ-ნალო პრეპარატების შექმნას ასეთი პრეპარატების რიცხვს მიეკუთვნ-ება პირველ რიგში გლუკოკორტიკოიდები (Auphan et al , 1995), არა-სტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო წამლები (ასპირინი, შალი-ცილატები) (Pierce at al , 1996), იმუნოსუპრესორული აგენტები, მაგა-ლითად, Cyklosporin A და FK-506 (Frantz et al ,1996) თითოეული მათგანი სხვადასხვა მექანიზმებით ახდენს NF-κB-ს აქტივობის დათრგუნვას, თუმცა ასეთი პრეპარატებით ხანგრძლივი მკურნალობის შემთხვევაში მაინც რჩება გვერდითი ეფექტების პრობლემა, მაგ, ღვიძლის დის-ფუნქცია, ბაქტერიული და ვირუსული ინფექციები და სხვა (Lavon et al , 2000) სიგმა-აქტიური ნაერთების გავლენით ანთებითი ციტო-კინების სეკრეციის დათრგუნვა და ანთების საწინააღმდეგო ციტო-კინების სეკრეციის გაძლიერება (Derocq et al, 1995, Bourrie et al, 1995) სავარაუდოდ, ტრანსკრიპციის ფაქტორების აქტივობის გაძლიერების ან დათრგუნვის შედეგია სიგმა-ლიგანდების გავლენა ცალკეული ტრანსკრიპციული ფაქტორების აქტივობაზე კარგად არ არის შესწავ-

ლილი ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე ჩვენს წინაშე დაისახა ამოცანა შეგვესწავლა სიგმა-ლიგანდების გავლენა ტრანსკრიპციის ფაქტორების აქტივობაზე ამ მიზნით ადამიანის პერიფერიული სისხლიდან მიღებულ T-ლიმფოციტებს ($1.5X10^6$/მლ) ვააქტიურებდით ანტი-CD3 + PMA (Phorbol 12, Miristate 13, Acetate) ორიენტაგენტი იწვევს პროტეინკინაზა C-ს და საბოლოოდ NF-κB-ს გააქტივებას გააქტიურების შემდგომ უჯრედებს შესაბამის სინჯებში ეუმატებდით 10 მკმოლ/ლ კონცენტრაციით სიგმა ლიგანდებს დექსტრორფანს, პენტაზოცინს, დექსტრორფანი+ჰალოპერიდოლი და პენტაზოცინი+ჰალოპერიდოლი ინკუბაციას ვახდენდით 2სთ-ის განმავლობაში უჯრედების ბირთვულ ექსტრაქტში ეზომავდით ცალკეული ტრანსკრიპციის ფაქტორების აქტიურობას მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ დექსტრორფანი და პენტაზოცინი თრგუნავს NF-κB-ს ოჯახის წევრი ცილის p50 აქტივობას შესაბამისად 39% და 45% (სურ 13), ხოლო p65 –ის აქტივობას შესაბამისად 32% და 43%-ით (სურ 14) სიგმა-რეცეპტორის ანტაგონისტ ჰალოპერიდოლთან კომბინირებული მოქმედებისას ეს ეფექტები მნიშვნელოვნად შემცირდა (სურ 13 14) სიგმა-ლიგანდების დექსტრორფანის და პენტაზოცინის გავლენით შემცირდა AP-1- ტრანსკრიპციის ფაქტორის ოჯახის წევრი ცილის c-fos–ის აქტივობა შესაბამისად 26% და 35%-ით (სურ.15) ჰალოპერიდოლთან კომბინირებული მოქმედებისას ეს ეფექტი არ შეცვლილა ტრანსკრიპციის ფაქტორი AP-1 არის bZIP (basic leucine zipper) კლასის წარმომადგენელი და შედგება fos და jun ოჯახებისაგან ეს ცილები აქტიურდება ERK (extracellular signal- regulated kinase) კინაზებით (Cavigelli et al , 1995)



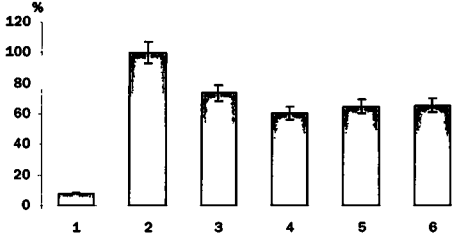
სურ 13. სიგმა-ლიგანდების მოქმედება p50-ის აქტივობაზე

1. კონტროლი 2. კონტროლი+ანტი-CD3+PMA 3. დექსტრორფანი
4. დექსტრორფანი+ჰალოპერიდოლი 5. პენტაზოცინი
6. პენტაზოცინი+ჰალოპერიდოლი



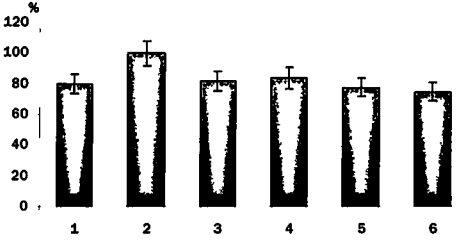
სურ.14. სიგმა-ლიგანდების მოქმედება p65-ის აქტივობაზე

1. კონტროლი 2. კონტროლი+ანტი-CD3+PMA 3. დექსტრორფანი 4. დექსტრორფანი+ჰალოპერიდოლი 5. პენტაზოცინი 6. პენტაზოცინი+ჰალოპერიდოლი



სურ 15. სიგმა-ლიგანდების მოქმედება c-fos-ის აქტივობაზე

1. კონტროლი 2. კონტროლი+ანტი-CD3+PMA 3. დექსტრორფანი
4. დექსტრორფანი+ჰალოპერიდოლი 5. პენტაზოცინი
6. პენტაზოცინი+ჰალოპერიდოლი



სურ. 16. სიგმა-ლიგანდების მოქმედება ATF-2-ის აქტივობაზე

1. კონტროლი 2. კონტროლი+ანტი-CD3+PMA 3. დექსტრორფანი
4. დექსტრორფანი+ჰალოპერიდოლი 5. პენტაზოცინი
6. პენტაზოცინი+ჰალოპერიდოლი

მიუხედავად იმისა, რომ NF-kB და AP-1-ის აქტივობა განსხვავებული მექანიზმებით რეგულირდება, დადგენილია, რომ ამ ორი ფაქტორის წევრები კოორდინირებულად მოქმედებენ (Verma et al., 1995)

კელეის შემდგომ ეტაპზე შევისწავლეთ სიგმა-აქტიური ნეარ-თების, დექსტრორფანის და პენტაზოცინის, მოქმედება ტრანსკრიპ-ციის ფაქტორის ATF-2-ის აქტივობაზე, როგორც ცალ-ცალკე, ასევე ჰალოპერიდოლთან ერთად ATF-2 არის CREB/ATF ოჯახის წარმო-მადგენელი და ის აქტიურდება JNK და p38 MAP კინაზებით (Gupta et al., 1996) ამ ოჯახის წევრი ცილების როლი ბოლომდე შესწავლილი არ არის. ცნობილია, რომ ATF-2 მონაწილეობს c-jun-ის, კოლა-გენაზის, cyclin A-ს და TNFα–ს გენების რეგულაციაში (Tsai et al., 1996) ეს გენები ჩართულია უჯრედების ზრდის, დიფერენციაციის, იმუნური პასუხების და სტრესზე პასუხების განვითარებაში ATF-2 უჯრედში სინთეზირდება კონსტიტუციურად. უჯრედების გააქტივებისას ის მოქმედებს c-jun/ATF-2 ჰეტეროდიმერის სახით (Davis 1999) მიღებული შედეგებიდან ჩანს (სურ 16), რომ დექსტრორფანი და პენტაზოცინი ამცირებს ATF-2-ის აქტივობას შესაბამისად 18% და 22%-ით ჰალო-პერიდოლთან კომბინირებული მოქმედებისას ეს ეფექტები თითქმის არ შეცვლილა.

არსებობს მონაცემები იმისა, რომ სიგმა-ლიგანდი DHEA და მი-სი სულფატი აინჰიბირებს NF-κB-ს აქტივობას ექსპრიმენტული ენცე-ფალომიელიტის დროს. DHEA-ს არ გააჩნია ის არასასურველი გვერ-დითი ეფექტი რაც დამახასიათებელია სტეროიდული ჰორმო-ნებისათვის აქედან გამომდინარე საკარაულოა, რომ ის NF-κB-ს აქტივობას განსხვავებული მექანიზმებით თრგუნავს (Caigan et al, 2001)

ამრიგად, ცხადია, რომ სიგმა ლიგანდების, დექსტრორფანის და პენტაზოცინის იმუნოსუპრესორული ეფექტი ასოცირდება მათ მიერ NF-κB-ს, c-foc–ის და ATF-2-ის აქტივობის ინჰიბირებასთან ჟურ-

ჯეროვნად უცნობია ის მექანიზმები, რომლითაც ხდება ჩვენს მიერ შესწავლილი სიგმა-აქტიური ნაერთების მიერ ანთებით პათოლოგიებში მონაწილე ტრანსკრიპციის ფაქტორების დათრგუნვა ამ მექანიზმების დადგენა შემდგომი კვლევების საგანს წარმოადგენს.

დასკვნები

1. სიგმა-აქტიური ნაერთები ამცირებენ γ-ინტერფეერონის სპონტანურ სეკრეციას და ამავე დროს ზრდიან IL-4-ის სინთეზს ადამიანის T-ლიმფოციტების Jurkat-ის ხაზის უჯრედებში ეს ცვლილებები მიმდინარეობს აზოტის ოქსიდის სინთეზის ზრდის ფონზე აღინიშნება მაღალი დადებითი კორელაციის კოეფიციენტი NO-ს დონესა და სეკრეტირებულ IL-4-ს შორის [r (NO/IL4)] უდრის 0.702
2. სიგმა-აქტიური ნაერთი დექსტრორფანი ამცირებს ანთებითი ციტო-კინების, IL-6-ის და IL-8-ის, სპონტანურ სეკრეციას ადამიანის T-ლიმფოციტების Jurkat-ის ხაზის უჯრედებში, რაც მიუთითებს სიგმა-ლიგანდების ეფექტურობაზე იმუნური პასუხების რეგულაციაში
3. სიგმა-აქტიური ნაერთის დექსტრორფანის იმუნომამოდულირებელი ეფექტი Jurkat-ის ხაზის უჯრედებში განპირობებულია მისი დაკავშირებით სიგმა-რეცეპტორებთან და არა NMDA რეცეპტორებთან ურთიერთქმედებით
4 დექსტრორფანის და გლუტამატ-რეცეპტორების აგონისტების NMDA და AMPA–ს გაელენით მცირდება IL-6-ის და IL-10-ის სპონტანური სეკრეცია Jurkat-ის ხაზის უჯრედებში ამ ციტოკინების გენების ექსპრესია ერთნაირი რეგულატორული ფაქტორებით ხორციელდება, რამდენადაც მათი კონცენტრაციების სიდიდეებს შორის აღინიშნება მაღალი დადებითი კორელაცია [r(IL-6/IL-10)] უდრის 0 69
5 სიგმა-აქტიური ნაერთები დექსტრორფანი და პენტაზოცინი ამცირებს ანთებითი ციტოკინის IL-8-ს და აზოტის ოქსიდის სინთეზს და ამავე დროს ზრდის ანთებისსაწინააღმდეგო ციტო-

კინის IL-10-ის სეკრეციას ადამიანის პერიფერიული სისხლიდან მიღებულ, ანტი-CD3-ით გააქტივებულ T-ლიმფოციტებში სიგმა-ლიგანდების მიერ ანთებითი ციტოკინების სეკრეციის დათრგუნვა ტრანსკრიპციის დონეზე ხორციელდება; კერძოდ, დექსტრორფანი და პენტაზოცინი ამცირებს ანთებით პათოლოგიებში ჩართული ტრანსკრიპციის ფაქტორების NF-kB-ის (p50 და p65), c-fos-ის და ATF-2–ის აქტივობას.

გამოყენებული ლიტერატურა

1 Кварцхелия Е., Дабрундашвили Н, Иобадзе М, Майсурадзе Г, Джанашвили Ц, Бахуташвили В, Микеладзе Д Синтез оксида азота коррелирует с секрецей интерлейкина-4 в клетках линии Jurkat Известия АН Грузии, сер Биол А, 2004 т 30№3 353-357

2 Abbas AK, Murphy KM, and Sher A (1996) Functional diversity of helper T lymphocytes Nature (Lond) 383 787-793

3 Adrien Renaudo, Vanina Watry, Anne-Amandine Chassot, Gilles Ponzio, Jordi Ehrenfeld, and Olivier Soriani Inhibition of Tumor Cell Proliferation by σLigands Is Associated with K^+ Channel Inhibition and $p27^{kipl}$ Accumulation Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics Fast Forward First published on July 26, 2004, DOI 10.1124/jpet 104 072413

4 Ault DT, Radeff JM, Werling LL Modulation of □3H□Dopamine release from rat nucleus accumbens by neuropeptide Y may involve a sigma1-like receptor JPET Vol 284, Issue 2, 553-560, 1998

5 Auphan, N, DiDonato, J A, Rosette, C, Helmberg, A, and Karin, M 1995 Immunosuppression by glucocorticoids inhibition of NF-κB activity through induction of IκB synthesis Science 270 286-290

6 Aydar E, Christopher P Palmer and Mustafa B A Djamgoz, Sigma Receptors and Cancer Possible Involvement of Ion Channels, Cancer Research 64, 5029-5035, August 1, 2004

7 Aydar E, Palmer C, Klachko V, Jackson M Sigma receptor as a ligand-modulated auxiliary potassium channel subunit Neuron, *34* 399-410, 2002

8 Bem W T, Thomas G E, Mamone J Y, Bem W T, W T, Levy S M, Rush M D, Johnson F E, Coscia C J Overexpression of sigma receptors in human brain tumors Life Sci, *51* 6558-6521, 1991

9. Bergeron R, de Montigny C, Debonnel G Biphasic effects of sigma ligans on the neuronal responce to N-methyl-D-aspartate. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1995 Mar;351(3) 252-60

10 Bermack JE, Debonnel G Modulation of serotonergic neurotransmission by short-and long-term treatments with sigma ligands British J Pharmacol 134 691-699, 2001

11 Berthois Y, Bourrie B, Galiegue S, Vidal H, Carayon P, Martin PM, Cesellas P, SR31747A is a sigma receptor ligand exhibiting antitumoural activity both in vitro and in vivo (2003) British Journal of Cancer 88, 438-446

12 Biron, C A , and R T Gazzinelli 1995 Effects of IL-12 on immune responses to microbial infections a key mediator in regulating disease outcome Curr Opin Immunol 7 485-496

13 Bogdan, C , J Paik, Y Vodovotz, and C Nathan 1992 Contrasting mechanisms for suppression of macrophage cytokine release by transforming growth factor-beta and interleukin-10 J Biol Chem 267·23301-23308

14 Bogdan, C , Y Vodovotz, and C Nathan 1991 Macrophage deactivation by interleukin 10 J Exp Med 174 1549-1555

15 Bourrie B, Bouaboula M, Benoit JM, Esclangon M, Le Fur G, Casellas P, Enhancement of endotoxin-induced interleukin-10 production by SR31747A, a sigma ligand Eur J Immunol 25, 2882-2887, 1995

16 Bourrie B, Bribes E, De Nys N, Esclangon M, Garcia L, Galiegue S, Lair P, Paul R, Thomas C, Vernieres JC, Casellas P · SSR125329A, a high affinity σ_ receptor ligand with potent anti-inflammatory properties Eur J Pharmacol 456, 123-131, 2002

17 Bowen WD, Vilner BJ, Williams W, Bertha CM, Kuehne ME, and Jacobson AE Ibogaine and its congeners are sigma 2 receptor-selective ligands with moderate affinity *Eur J Pharmacol* 279 R1-R3, 1995

18 Brent P J , Pang G T Sigma binding site ligands inhibit cell proliferation in mammary and colon carcinoma cell lines and melanoma cells in culture Eur. J Pharmacol , *278* 151-160, 1995

19.Bunney WE, Davis JM Norepinephrine in depressive reactions Arach Gen Psychiatry 13 483-494, 1965

20 Caigan Du, M Wahid Khalil and Subramaniam Sriram Administration of Dehydroepiandrosterone Suppresses Experimental Allergic Encephalomyelitis in SJL/J Mice The Journal of Immunology, 2001, 167. 7094-7101

21 Cairns RA, Khokha R, Hill RP. Molecular mechanisms of tumor invasion and metastasis an integrated view Curr Mol Med, *3* 659-71, 2003

22 Carayon P, Bouaboula M, Loubet JF, Bourrie B, Petitpretre G, LeFur G and Casellas P (1995) The sigma ligand SR-31747 prevents the development of acute graft-versus-host disease in mice by blocking IFN-gamma and GM-CSF messenger RNA expression *Int J Immunopharmacol* **17:** 753-761

23 Carr DJ, De Costa BR, Radesca L, Blalock JE, Functional assessment and partial characterization of □3H□(+)-pentazocine binding sites on cells of the immune system J Neuroimmunol 35, 153-166, 1991

24.Carr DJ, Mayo S, Woolley TW, DeCOsta BR Immunoregulatory properties of (+)-pentazocine and sigma ligands Immunology 1992, 77(4) 527-31

25 Casellas P, Bourrie B, Canat X, Carayon P, Buisson I, Paul R , Breliere JC, Le Fur G . Immunopharmacological profile of SR 31747 in vitro and in vivo studies in humoral and cellular responces J Neuroimmunol 52, 193-203, 1994

26 Casolaro, V , S N Georas, Z Song, I D Zubkoff, S A Abdulkadir, D Thanos, and S J Ono 1995 Inhibition of NF-AT-dependent transcription by NF-κB implications for differential gene expression in T helper cell subsets Proc Natl Acad Sci USA 92 11623-11627

27 Cavigelli, M , F Dolfi, F X Claret, and M Karin 1995 Induction of c-fos expression through JNK-mediated TCF/Elk-1 phosphorylation EMBO J 14:5957-5964

28 Chantry, D , and M Feldman 1990 The role of cytokines in autoimmunity *Biotechnol Ther* 1· 361-409 .

29 Chien C-C and Pasternak GW (1994) Selective antagonism of opioid analgesia by a sigma system *J Pharmacol Exp Ther* **271:** 1583-1590

30 Chien C-C and Pasternak GW (1995b) Sigma antagonists potentiate opioid analgesia in rats *Neurosci Lett* **190:** 137-139

31 Collingridge G Synaptic plasticity. The role of NMDA receptors in learning and memory Nature 330, 604-605 1987

32 Crabtree, G R (1999) *Cell* 96, 611-614 Generic signals and specific outcomes. signaling through Ca2+, calcineurin, and NF-AT

33 Crawford K W Bowen W D Sigma-2 receptor agonists activate a novel apoptotic pathway and potentiate antineoplastic drugs in breast rumor cell lines Cancer Research 62, 313-322, January 1, 2002

34 Crawford KW, Coop A, Bowen WD Sigma (2) Receptors regulate changes in sphingolipid levels in breast tumor cells Eur J Pharmacol, *443* 207-9, 2002

35 Davis,R J (1999) Signal transduction by the c-Jun N-terminal kinase *Biochem Soc Symp*, **64**, 1–12

36 Delhase, M, M Hayakawa, Y Chen, and M Karin. 1999 Positive and negative regulation of IκB kinase activity through IKKß subunit phosphorylation Science 284:309-313

37 Derbez AE, Mody RM, Werling LL Sigma(2)-receptor regulation of dopamine transporter via activation of protein kinase C J Pharmacol Exp Ther, *301* 306-14, 2002

38 Derocq JM, Bourrie B, Segui M, Le Fur G, Casellas P, In vivo inhibition of endotoxin-induced pro-inflammatory cytokines production by a sigma ligand SR31747 J Pharmacol Exp Ther 272, 224-230, 1995

39 Dignam JD, Lebovitz RM, Roeder RG (1983) Accurate transcription initiation by RNA polymerase II in a soluble extract from isolated mammalian nuclei. Nucleic Acids Res 11 1475-1489

40. Dunkan S, Navas A, Dufort D, Rossant J, Stoffel M Regulation of a transcription factor network rqired for differentiation and metabolism// Science, 1998, V 281,pp 692-695

41 Dussossoy D, Carayon P, Belugou S, Feraut D, Bord A, Goubet C, Roque C, Vidal H, Combes T, Loison G, Casellas P Colocalization of sterol

isomerase and sigma1 receptor at endoplasmic reticulum and nuclear envelope level Eur J Biochem 263, 377-386 1999

42 Early B, Burke M, Leonard BE, Gouret CJ, Junien JL, Evidence for an anti-amnesic effect of JO 1784 in the rat· a potent and selective ligand for the sigma receptor Brain Res 546 282-286 1991

43 Ela C, Barg J, Vogel Z, Hasin Y, Eilam Y Sigma receptor ligands modulate contractility, Ca++ influx and beating rate in cultured cardiac myocytes J Pharmacol Exp Ther 269, 1300-1308 1994

44 Elewaut, D , J A DiDonato, J M Kim, F Truong, L Eckmann, and M F Kagnoff 1999 NF-κB is a central regulator of the intestinal epithelial cell innate immune response induced by infection with enteroinvasive bacteria J Immunol 163 1457-1466

45 Fanger, C M , Neben, A L , and Cahalan, M D (2000) J. Immunol 164, 1153-1160 Differential Ca^{2+} Influx, K_{Ca} Channel Activity, and Ca^{2+} Clearance Distinguish Th1 and Th2 Lymphocytes

46 Feldmann M, Maini R N The role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis Rheumatology 38, 3-7, 1999

47 Flanagan, W. M , Corthésy, B , Bram, R J., and Crabtree, G R Nuclear association of a T-cell transcription factor blocked by FK-506 and cyclosporin A. (1991) *Nature* 352, 803-807

48 Frantz, B *et al* 1994 Calcineurin acts in synergy with PMA to inactivate Iκ B/MAD3, an inhibitor of NF-κB EMBO J 13 861-870

49 Fraser SP, Salvador V, Manning EA, et al Contribution of functional voltage-gated Na+ channel expression to cell behaviors involved in the metastatic cascade in rat prostate cancer I Lateral motility J Cell Physiol, *195* 479-87, 2003

50 Ganapathy ME, Prasad PD, Huang W, Seth P, Leibach FH, Ganapathy V Molecular and ligand-binding characterization of the sigma-receptor in the Jurkat human T lymphocyte cell line JPET 289 (1) 251-260, 1999

51 Ganor Yonatan, Michal Besser, Naomie Ben-Zakay, Tamar Unger and Mia Levite' Human T Cells Express a Functional Ionotropic Glutamate Receptor

GluR3, and Glutamate by Itself Triggers Integrin-Mediated Adhesion to Laminin and Fibronectin and Chemotactic Migration The Journal of Immunology, 2003, 170 4362-4372)

52 Garza-HH Jr, Mayo-S; Bowen-WD, DeCosta-BR, Carr-DJCharacterization of a (+)-azidophenazocine-sensitive sigma receptor on splenic lymphocytes J-Immunol 1993, 151(9) 4672-80

53 Geng, Y , B Zhang, and M. Lotz 1993 Protein tyrosine kinase activation is required for lipopolysaccharide induction of cytokines in human blood monocytes J Immunol 151 6692-6700

54 Georganas C, Liu H, Perlman H, Hoffmann A, Thimmapaya B, Pope RM Regulation of IL-6 and IL-8 expression in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts the dominant role for NF-kappaB but not C/EBPss or c-Jun J Immunol 2000,165(12) 7199-206

55 Ghosh, S , M J May, and E B Kopp 1998 NF-«B and Rel proteins evolutionarily conserved mediators of immune responses Annu Rev Immunol 16 225-259

56 Gonzalez-Alvear GM Werling LL Regulation of □3H□dopamine release from rat striatal slices by sigma receptor ligands JPET Vol 271, Iss 1, 212-219, 1994

57 Gottlieb, A B , A. D Luster, D N. Posnett, D M Carter 1988 Detection of a ninterferon-induced protein IP-10 in psoriatic plaques *J Exp Med 168 941*

58 Gupta, S , Barrett, T , Whitmarsh, A J , Cavanagh, J , Sluss, H K , Derijard, B and Davis, R. J 1996 Selective interaction of JNK protein kinase isoforms with transcription factors EMBO J 15 2760

59 Hanner M, Moebius F F, Flandorfer A, Knaus HG, Striessnig J, Kempner E, Glossmann H Purification, molecular cloning, and expression of the mammalian sigma1-binding site Pharmacology Vol 93, Issue 15, 8072-8077, 1996

60 Harada Y, Hara H, Sukamoto T Characterization of specific (+)-[3H]N-allylnormetazocine and [3H]1,3-di(2-tolyl)guanidine binding sites in porcine gastric fundic mucosa J Pharmacol Exp Ther 1994 Jun, 269(3) 905-10

61 Hayashi T, Su TP Regulating ankyrin dynamics roles of sigma-1 receptors Proc Natl Acad Sci USA, *98* 491-6, 2001

62 Hellewell SB, Bruce A, Feinstein G, Orringer J, Williams W, Bowen WD· Rat liver and kidney contain high densities of sigma1 and sigma 2 receptors characterization by ligand binding and photoaffinity labeling Eur J Pharamacol 268, 9-18, 1994

63 Hemmer, B , S Cepok, S Nessler, N Sommer 2002 Pathogenesis of multiple sclerosis an update on immunology Curr Opin Neurol 15 227

64 Hoch RC, Schraufstatter IU, Cochrane CG In vivo, in vitro, and molecular aspects of interleukin-8 and the interleukin-8 receptors J Lab Clin Med 1996;128 134-45.)

65 Huber MT, Gotthardt U, Schreiber W, Krieg JC Efficacy and safety of the sigma receptor ligand EMD 57445 (panamesine) in patients with schizophrenia an open clinical trial *Pharmacopsychiatry* 1999, 32 68-72

66 Hunter, C A , J Timans, P Pisacane, S Menon, G Cai, R Chizzonite, J F Bazan, and R A Kastelein 1997 Comparison of the effects of interleukin-1α (IL-1α), IL-1ß and interferon-γ-inducing factor on the production of interferon-γ by NK cells Eur J Immunol 27 2787-2792

67 Irwin RP, Maragakis NJ, Rogawski MA, Purdy RH, Farb DH, Paul SM, Pregnenolone sulfate augments NMDA receptor mediated increases in intracellular Ca2 in cultured rat hippocampal neurons Neurosci Lett 141, 30-34 1992

68 Izquierdo I· Role of NMDA receptors in memory Trends Pharmacol sci 12, 128-129 1991

69 Jbilo O, Vidal H, Paul R, De Nys N, Bensaid M, Silve S, Carayon P, Davi D, Galiegue S, Bourrie B, Purification and characterization of the human SR 31747A-binding protein A nuclear membrane protein related to yeast

sterol isomerase JBC, CETP activity inhibitor screens, Vol 272, No 43, Issue of October 24, pp 27107-27115, 1997

70 John C S, Bowen W D, Saga T, Kinuya S., Vilner B J, Baumgold J, Paik C H, Reba R. C, Neumann R D, Varma V M, McAfee J. G A malignant melanoma imaging agent. synthesis, characterization, *in vitro* binding and biodistribution of iodine-125-(2-piperidinylaminoethyl) 4-iodobenzamide J Nucl Med, *34* 2169-2175, 1993

71 John C S, Vilner B J, Gulden M E, Efange S M N, Langason R B, Moody T W, Bowen W D Synthesis and pharmacological characterization of 4-[^{125}I]-*N*-(*N*-benzyl piperidin-4-yl)-4-iodobenzamide a high-affinity sigma receptor ligand for potential imaging of breast cancer Cancer Res, *55* 3022-3027, 1995 Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics Fast Forward First published on July 26, 2004, DOI 10 1124/jpet 104 072413

72 Kamei J, Iwamoto Y, Misawa M, Kasuya Y. 1993, Effects of rimcazole, a specific antagonist of sigma sites, on the antitussive effects of non-narcotic antitussive drugs. Eur J Pharmacol 242, 209-11

73 Kamei J Possible role of sigma –receptors in the regulation of cough reflex, gastrointestinal and retinal function Folia Pharmacol. Jpn 114 (1), 35-41, 1999

74 Kekuda R, Prasad PD, Fei YI, Leibach FH, Ganapathy V 1996. Cloning and functional expression of the human type 1 sigma receptor (hSigmaR1) Biochem Biophys Res Commun 229, 553-558

75 Koch A, Kunkel S, Burrows J, et al Synovial tissue macrophages as a source of the chemotactic cytokine IL–8 J Immunol 1991,147 2187-95

76 Konstantinova NV, Duong DM, Remenyik E, et al Interleukin-8 is induced in skin equivalents and is highest in those derived from psoriatic fibroblasts J Invest Dermatol 1996,107 615-21.

77 Labit-Le Bouteiller C, Jamme MF, David M, Silve S, Lanau C, Dhers C, Picard C, Rahier A, Taton M, Loison G, Caput D, Ferrara P, Lupker J, (1998) Antiproliferative effects of SR 31747A in animal cell lines are

mediated by inhibition of cholesterol biosynthesis at the sterol isomerase step Eur J Biochem 256 342-349

78 Lavon, I. *et al* 2000. High susceptibility to bacterial infection, but no liver dysfunction, in mice compromised for hepatocyte NΓ-κB activation Nat Med 6·573-577

79 Lederer, J A , J. S Liou, S Kim, N Rice, and A. H Lichtman 1996 Regulation of NΓ-κB activation in T helper 1 and T helper 2 cells J Immunol 156 56-63

80 Lewis, R S , and Cahalan, M D (1995) Annu Rev Immunol 13, 623-653Potassium and calcium channels in lymphocytes

81 Li, Q , D Van Antwerp, Γ Mercurio, K F Lee, and I M Verma 1999 Severe liver degeneration in mice lacking the IκB kinase 2 gene Science 284 321-325

82 Liang X, Wang RY Biphasic modulatory action of the selective _ receptor ligand SR31742A on N-methyl-D-aspartate-induced neuronal responces in the frontal cortex Brain Res 807, 208-213 1998

83 Liu Y, Whitlock BB, Pultz JA and Wolfe SA, Jr (1995) Sigma-1 receptors modulate functional activity of rat splenocytes *J Neuroimmunol* 59: 143-154

84.Lomax M E , Barnes D. M , Hupp T R , Picksley S M , Camplejohn R S Characterization of p53 oligomerization domain mutations isolated from Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like family members Oncogene, *17* 643-649, 1998

85 Lupardus PJ, Wilke RA, Aydar E, et al Membrane-delimited coupling between sigma receptors and K^+ channels in rat neurohypophysial terminals requires neither G-proteins nor ATP. J Physiol (Lond), *526* 527-39, 2000

86 Mach R H , Smith C R , al-Nabulsi I , Whirrett B R , Childers S R., Wheeler K. T Sigma-2 receptors as potential biomarkers of proliferation in breast cancer. Cancer Res , *57* 156-161, 1997

87 Malliga E Ganapathy, Puttur D Prasad, Wei Huang, Pankaj Seth, Frederick H Leibach and Vadivel Ganapathy Molecular and Ligand-Binding

Characterization of the sigma -Receptor in the Jurkat Human T Lymphocyte Cell Line j pharmacology Vol 289. Issue 1, 251-260, April 1999

88 Martin W R Eades C G Thompson J A Huppler R E Gilbert P E The effects of morphine- and nalorphine-like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog J Pharmacol Exp Ther 197 (1976) 517-532

89.Matsumoto RR, Liu Y, Lerner M, Howard EW, Brackett DJ _ receptors· potential medications development target for anti-cocaine agents. Europ J Pharmacol 469 1-12, 2003

90 Matsumoto RR, McCracken KA, Pouw B, Miller J, Bowen WD, Williams W, de Costa BR, 2001 N-alkyl substituted analogs of the _ receptor ligand BD1008 and traditional _ receptor ligands affect cocaine-induced convulsions and lethality in mice Eur J Pharmacol 411, 261-273

91 Matsuno K, Kobayashi T, Tanaka MK and Mita S (1996) Sigma1 receptor subtype is involved in the relief of behavioral despair in the mouse forced swimming test *Eur J Pharmacol* 312: 267-27

92.Matsuno K, Matsunaga K, Senda T, Mita S Increase in extracellular acetylcholine level by sigma ligands in rat frontal cortex J Pharmacol Exp Ther. 265· 851-859, 1993

93 Matsuno K, Senda T, Matsunaga K, Mita S, Ameliorating effects of sigma receptor ligands on the impairment of passive avoidance tasks in mice involvement in the central acetylcholinergic system Eur J Pharacol 261 43-51 1994

94 Maurice T, Hiramatsu M, Itoh J, Kameyama T, Hasegawa T, Nabeshima T, Behavioral evidence for a modulating role of sigma ligands in memory processes I Attenuation of dizocilpine (MK-801)-induced amnesia Brain Res 647 44-56 1994

95 Maurice T, Junien JL, Privat A Dehydroepiandrosterone sulfate attenuates dizocilpine-induced learning impairment in mice via sigma1 receptors Behav Brain Res 83 159-164 1997

96 Maurice T, Phan V L, Urani A, Kamei H, Noda Y, Naneshima T, Neoroactive steroids as endogenous effectors for the sigma1 (_1) receptor pharmacological evidence and therapeutic opportunities Jpn J Pharmacol 81 (1999) 125-155

97 Maurice T, Privat A SA4503, a novel cognitive enhancer with sigma1 (_1) receptor agonist properties, facilitates NMDA-receptor-dependent learning in mice Eur J Pharmacol 328 9-18 1997

98 Maurice T, Su TP, Parish DW, Nabeshima T, Privat A PRE-084, a sigma selective PCP derivative, attenuates MK-801-induced impairment of learning in mice Pharmacol Biochem Behav 49 859-869 1994

99 Maurice T Lockhart B P, Neuroprotective and anti-amnesic potentials of _ (sigma) receptor ligands, Prog Neuro-Psycho-pharmacol. Biol Psychiatry 21 (1997) 69-1020

100 Maurice T Roman FJ, Privat A Modulation by neurosteroids of the in vivo □3H□(+)-SKF-10,047 binding to σ_1 receptors in the mouse forebrain J Neurosci Res 46, 734-743 1996

101 Maurice T Urani A, Phan VL., Romieu P, The interaction between neuroactive steroides and the σ_1 receptor function behavioral consequences and therapeutic opportunities Brain Research Reviews 37 116-132 2001

102 Mei J, Pasternak GW σ_1 receptor modulation of opioid analgesia in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 300 (3) 1070-1074, 2002

103 Meuer, J C Hodgdon, R E Hussey, J P Protentis, S F Schlossman & E L. Reinherz Antigen-like effects of monoclonal antibodies directed at receptors on human T cell clones *J Exp Med* 158, 988-993 (1983)

104 Monassier, L and P Bousquet (2002) "Sigma receptors from discovery to highlights of their implications in the cardiovascular system " Fundam Clin Pharmacol 16(1) 1-8

105. Moncada, S , R A J. Palmer, and A J Higgs 1991 Nitric oxide physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 34 109-142

106 Monnet FP, de Costa BR, Bowen WD Differentiation of sigma ligand-activated receptor subtypes that modulate NMDA-evoked [3H]-noradrenaline release in rat hippocampal slices British J Pharmacol 119 65-72, 1996

107 Monnet FP, Mahé V, Robel P, Baulieu EE Neurosteroids, via σ receptors, modulate the [^{3}H]norepinephrine release evoked by *N*-methyl-D-aspartate in the rat hippocampus Proc Natl Acad Sci U S A 1995, 92 3774–3778

108. Morio Y, Tanimoto H, Yakushiji T, Morimoto Y Characterization of the currents induced by sigma ligands in NCB20 neuroblastoma cells Brain Res, *637* 190-6, 1994

109 Myers, A. M , Charifson, P S , Owens, C E , Kula, N S , McPhail, A T , Baldessarini, R J , Booth, R G , and Wyrick, S D ********(1994) *J Med Chem* 37, 4109-4117

110. Nakazawa M, Matsuno K, Mita S Activation of sigma1 receptor subtype leads to neuroprotection in the rat primary neuronal cultures Neurochem Int 1998 Apr;32(4) 337-43

111. Neurath, M F , S Pettersson, K -H M zum Buschenfelde, and W Strober 1996 Local administration of antisense phosphorothioate oligonucleotides to the p65 subunit of NF-κB abrogates established experimental colitis in mice Nat. Med 2 998-1004

112 Novakova M, Ela C, Bowen WD, Hasin Y and Eilam Y (1998) Highly selective sigma receptor ligands elevates inositol 1,4,5-trisphosphate production in rat cardiac myocytes *Eur J Pharmacol* 353 315-327

113 Palmer CP, Aydar E, Jackson MB Sigma receptor modulation of ion channels In Matsumoto R, Sigma receptors chemistry, cell biology, and clinical implications New York Kluwer Academic Publishers, In press 2004

114 Patel, D D, J P Zachariah, L P Whichard 2001 CXCR3 and CCR5 ligands in rheumatoid arthritis synovium *Clin Immunol (Oxf) 98.39*

115. Paul R, Lavastre S, Floutard D, Floutard R, Canat X, Casellas P, Le Fur G, Breliere JC, · Allosteric modulation of peripheral sigma binding sites by a new ligand SR 31747 J Neuroimmunol 52, 183-190, 1994

116 Paul R, Silve S, De Nys N, Dupuy PH, Bouteiller CL, Rosenfeld J, Ferrara P, Le Fur G, Casellas P, Loison G, 1998, Both the immunosuppressant SR31747A and the antiestrogen tamoxifen bind to an emopamil-insensitive site of mammalian Delta8-Delta7 sterol isomerase J Pharmacol Exp Ther 285, 1296-1302

117 Pierce, J.W, Read, M A, Ding, H, Luscinskas, F W, and Collins, T 1996. Salicylates inhibit I$_\kappa$B$_\alpha$ phosphorylation, endothelial-leukocyte adhesion molecule expression, and neutrophil transmigration J Immunol. **156** 3961-3969

118 Prasad PD, Li HW, Fei Y-J, Ganapathy ME, Fujita T, Plumley LH, Yang-Feng TL, Leibach FH, Ganapathy V 1998 Exon-intron structure, analysis of promoter region, and chromosomal localization of the human type 1 _ receptor gene J Neurochem 70, 443-451

119 Quirion R, Bowen W D Itzhak Y, Junien JL, Musacchio J M, Rothman RB, Su TP, Tam SW, Taylor DP, A proposal for the classification of sigma binding sites. Trends Pharmacol Sci 13, 85-86, 1992

120 Rao, A, Luo, C, and Hogan, P G Transcription factors of the NFAT family regulation and function (1997) *Annu Rev Immunol.* **15**, 707-47

121 Reddy DS, Kaur G, Kulkarni SK Sigma1 (_1) receptor mediated anti-depressant-like effects of neurosteroids in the Porsolt forced swim test NeuroReport 9 3069-3073 1998

122 Rohrer JW, Coggin JH, 1995 CD8 T cell clones inhibit antitumor T cell function by secreting IL-10 J Immunol 155 5719

123 Romagnani, P., M Rotondi, E Lazzeri, L Lasagni, M Francalanci, A Buonamano, S Milani, P Vitti, L Chiovato, M Tonacchera, et al 2002

Expression of IP-10/CXCL10 and MIG/CXCL9 in the thyroid and increased levels of IP-10/CXCL10 in the serum of patients with recent-onset Graves' disease *Am J Pathol 161 195*

124 Roman F, Pascaud X, Chomette G, Bueno L, Junien J.L Autoradiographic localization of sigma opioid receptors in the gastrointestinal tract of the guinea pig Gastroenterology 97, 76-82, 1989

125. Romeo E, Strohle A, Spalletta G, di Michelle F, Hermann B, Holsboer F, Pasini A, Rupprecht R Effects of antidepressant treatment of nocuroactive steroids in major depression Am J Psychiatry 155, 910-913 1998

126. Roozendaal, R , E Vellenga, D S Postma, J. G De Monchy, and H F Kauffman 1999 Nitric oxide selectively decreases interferon-gamma expression by activated human T lymphocytes via a cGMP-independent mechanism Immunology 98 393–399

127. Ryan K M , Vousden K. H Characterization of structural p53 mutants which show selective defects in apoptosis but not cell cycle arrest Mol Cell Biol , *18* 3692-3698, 1998

128 Samdani AF, Dawson TM, Dawson VL, Nitric oxide synthase in models of focal ishcemia. Stroke 1997, 28 1283-1288

129 Schmidt-Weber, C B , A. Rao, A H Lichtman 2000 Integration of TCR and IL-4 signals through STAT6 and the regulation of IL-4 gene expression *Mol Immunol 37 767* [

130. Seth P, Fei Y-J, Li HW, Huang W, Leibach FH, Ganapathy V 1998 Cloning and functional characterization of a σ_ receptor from rat brain J Neurochem 70, 922-931

131 Seth P, Leibach FH, Ganapathy V, 1997 Cloning and structural analysis of the cDNA and gene encoding the murine type 1 sigma receptor Biochem Biophys Res Commun 241, 535-540

132 Shrikant, P , E N Benveniste. 1996 The central nervous system as an immunocompetent organ role of glial cells in antigen presentation J Immunol 157.1819

133. Siiteri PK, Febres F, Clemens LE, Chang RJ, Gondos B and Stites D (1977) Progesterone and maintenance of pregnancy Is progesterone nature's immunosuppressant? *Ann N Y Acad Sci* **286:** 384-397

134 Smith SS (1991) Progesterone administration attenuates excitatory amino acid responses of cerebellar Purkinje cells *Neuroscience* 42: 309-320

135 Sorensen, T L, M Tani, J Jensen, V Pierce, C Lucchinetti, V A Folcik, S Qin, J Rottman, F Sellebjerg, R M. Strieter, et al 1999 Expression of specific chemokines and chemokine receptors in the central nervous system of multiple sclerosis patients *J Clin Invest 103 807*

136. Soriani A, Le Foll F, Roman F, Monnet FP, Vaudry H, Cazin L A-current down-modulated by σreceptor in frog pituitary melanotrope cells through a G protein-dependent pathway J Pharmacol Exp Ther, *289* 321-8, 1999

137 Soriani O, Vaudry H, Mei YA, Roman F, Cazin L Sigma ligands stimulate the electrical activity of frog pituitary melanotrophs through G-protein dependent inhibition of potassium conductances J Pharmacol Exp Ther, *286* 163-71, 1998

138 Su TP, Shukla K, Gund T Steroid binding at sigma receptors CNS and immunological implications Ciba Found Symp 1990 153 107-13, discussion 113-6

139 Su T-P, London E D, Jaffe J H Steroid binding at sigma receptors suggests a link between endocrine, nervous, and immune systems Science (Wash DC), *240* 219-221, 1988

140 Sun, Z, C W Arendt, W Ellmeier, E M Schaeffer, M J. Sunshine, L Gandhi, J Annes, D Petrzilka, A Kupfer, P L Schwartzberg, and D R Littman 2000 PKC-θ is required for TCR-induced NF-κB activation in mature but not immature T lymphocytes Nature 404 402-407

141 Tak, P P, and Firestein, G S 2001 NF-κB a key role in inflammatory diseases J Clin Invest **107** 7-11

142 Takahashi H, Kirsch JR, Hashimoto K, et al. PPBP □4-phenyl-1-(4-phenylbutyl) piperidine□, a potent sigma-receptor ligand, decreases brain injury after transient focal ischemia in cats Stroke 1995, 26 1676-82

143 Takahashi H, Kirsch JR, Hashimoto K, et al PPBP [4-phenyl-1-(4-phenylbutyl) piperidine] decreases brain injury after transient focal ischemia in rats Stroke 1996, 27 2120-3

144 Tam SW. Naloxone-inaccessible sigma receptor in rat central nervous system *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983, 80 6703-6707

145 Tompkins, S M, K G Fuller, S D Miller 2002 Theiler's virus-mediated autoimmunity local presentation of CNS antigens and epitope spreading Ann NY Acad Sci 958 26

146 Tottori K, Kikuchi T, Uwahodo Y, Yamada S, Oshiro Y, Koga N, Antidepressant effect of OPC-14523 in the forced swimming test, Jpn J Pharmacol 73SI (1997) 59P

147. Trullas R, Skolnick P Functional antagonists at the NMDA receptor complex exhibit antidepressant actions Eur J Pharacol 185 1-10 1990

148 Tsai,E Y., Jain,J, Pesavento,P A, Rao,A and Goldfeld,A E (1996) Tumor necrosis factor alpha gene regulation in activated T cells involves ATF-2/Jun and NFATp *Mol Cell Biol*, 16, 459–467

149 Ujike H, Kanzaki A, Okumura K, Akiyama K, Otsuki S Sigma (Σ) antagonist BMY 14802 prevents methamphetamine-induced sensitization *Life Sci* 1992, 50(16) PL-129-PL-134

150 Ujike H, Kuroda S, Otsuki S σ Receptor antagonists block the development of sensitization to cocaine *Eur J Pharmacol* 1996, 296 123-128

151 Ukai M, Maeda H, Nanya Y, Kameyama T, Matsuno K, Beneficial effects of acute and repeated administrations of _ receptor agonists on behavioral despair in mice exposed to tail suspension Pharmacol Biochem Behav 61.247-252, 1998

152. Urani A, Roman FJ, Phan V-L, Su T-P, Maurice T. The antidepressant-like effect induced by sigma1-receptor agonists and neuroactive steroids in mice submitted to the forced swimming test JPET 298 1269-1279, 200

153. Urani A, Privat A, Maurice T The modulation by neurosteroids of the scopolamine –induced learning impairment in mice involves an interaction with sigma 1 (_1) receptors Brain Res 799 64-77 1998

154 Uzunova V, Sheline Y, Davis JM, Rasmusson A, Uzunov DP, Costa E and Guidotti A (1998) Increase in the cerebrospinal fluid content of neurosteroids in patients with unipolar major depression who are receiving fluoxetine or fluvoxamine *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 3239-3244

155 Venkataraman, L , S J Burakoff, and R Sen 1995 FK506 inhibits antigen receptor-mediated induction of c-rel in B and T lymphoid cells J Exp. Med 181·1091-1099

156 Ventura J-J, Kennedy NJ, Lamb JA, Flavell RA, Davis RJ c-Jun NH2-Terminal kinase is essential for the regulation of AP-1 by tumor necrosis factor. Mol Cell Biol , 8, 2871–2882, 2003.

157 Verma, I M , J K Stevenson, E M Schwarz, D Van Antwerp, and S Miyamoto 1995 Rel/NF-kappa B/I kappa B family intimate tales of association and dissociation Genes Dev 9:2723-2735

158 Vilner B J , Bowen W D, 2000. Modulation of cellular calcium by sigma-2 receptors. release from intracellular stores in human SK-N-SH neuroblastoma cells J Pharmacol Exp Ther 292, 900-911

159 Vilner B J., Bowen W D Sigma-2 receptor agonists induce apoptosis in rat cerebellar granule cells and human SK-N-SH neuroblastoma cells Soc Neurosci Abstr , *23* 2319 1997

160 Vilner B J , de Costa B R , Bowen W D Cytotoxic effects of sigma ligands. sigma receptor-mediated alterations in cellular morphology and viability J Neurosci , *15* 117-134, 1995

161. Vilner BJ, Bowen WD Modulation of cellular calcium by sigma-2 receptors· release from intracellular stores in human SK-N-SH neuroblastoma cells J Pharmacol Exp Ther, *292* 900-11, 2000

162 Vilner BJ, John CS, Bowen WD. Sigma-1 and sigma-2 receptors are expressed in a wide variety of human and rodent tumor cell lines Cancer Res 55, 408-413, 1995

163. Wang Y, Lee HK Facilitation of γ-aminobutyric acid – induced depression by (+)PCMP and dexoxadrol in the cerebellar Purkinje neurons of the rat Neuropharmacology 28, 343-350 1989

164 Wang, P , P Wu, M I. Siegel, R W Egan, and M M Billah 1995 Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor κB (NF-κB) activation in human monocytes J Biol Chem 270 9558-9563

165 Watzl B, Watson RR Immunomodulation by cocaine a neuroendocrine mediated response Life Sci. 46 1319 1990

166. Weiss, A , Littman, D R 1994 Signal transduction by lymphocyte antigen receptors *Cell* 76 263-274

167 Whitlock, B B., Liu, Y , Chang, S , Saini, P., Ha, B K , Barrett, T W., and Wolfe, S A , 1996) *J Neuroimmunol* 67, 83-96

168 Wilke RA, Mehta RP, Lupardus PJ, Chen Y, Ruoho AE, Jackson MB, Sigma receptor photolabeling and sigma receptor-mediated modulation of potassium channels in tumor cells J Biol Chem, Vol 274, Issue 26, 18387-18392, 1999

169. Wingender E , Dietze P , Karas H , Knuppel R Transfac a database on transctiption factors and their DNA binding sites Nucleic Acids Res 1996 Jan1;24(1)·238-41 PMID 8594589

170 Wolfe SA, Culp SG, De Souza EB, Sigma –receptors in endocrine organs. identification, characterization, and autoradiographic localization in rat pituitary, adrenal, testis, and ovary Endocrinology 124 1160-1172 1989

171 Woodfork KA, Wonderlin WF, Peterson VA, Strobl JS Inhibition of ATP-sensitive potassium channels cause reversible cell-cycle arrest of human breast cancer cells in tissue culture J Cell Physiol, *162* 163-71, 1995

172 Yamada M, Nishigami T, Nakasho K, Nishimoto Y, Miyaji H Relationship between _ - like site and progesterone - binding site of adult male rat liver microsomes Hepatology 20, 1271-1280 1994

173 Yamamoto H, Yamamoto T, Sagi N, Klenerova V, Goji K, Kawai N, Baba A, Takamori E, Moroji T Sigma ligands indirectly modulate the

NMDA receptor-ion channel complex on intact neuronal cells via sigma 1 site J Neurosci.Vol 15, 731-736, 1995

174 Yao X, Kwan HY Activity of voltage-gated K+ channels is associated with cell proliferation and Ca2+ influx in carcinoma cells of colon cancer Life Sci, *65* 55-62, 1999

175 Yin, M J , Y Yamamoto, and R B Gaynor 1998 The anti-inflammatory agents aspirin and salicylate inhibit the activity of IκB kinase-ß. Nature 396 77-80

176 Yoshimoto, T , H. Nagase, T Ishida, J Inoue, and H Nariuchi 1997 Induction of interleukin-12 p40 transcript by CD40 ligation via activation of nuclear factor-κB Eur J Immunol 27 3461-3470

177 Zhang H, Cuevas J. J Pharmacol Exp Ther 2005 Jun,313(3).1387-96 sigma Receptor activation blocks potassium channels and depresses neuroexcitability in rat intracardiac neurons

178 Zhang H, Cuevas J Sigma receptors inhibit high-voltage-activated calcium channels in rat sympathetic and parasympathetic neurons J Neurophysiol, 87 2867-79, 2002

179 Zhu LX, Sharma S, Gardner B, Escuadro B, Atianzar K, Tashkin D P, Dubinett SM, IL-10 mediates sigma1 receptor-dependent suppression of antitumor immunity J Immunol 170 3585-3591, 2003

180 Zweifach, A , and Lewis, R S (1993) Proc Natl Acad Sci U S A 90, 6295-6299 Mitogen-Regulated Ca^{2+} Current of T Lymphocytes is Activated by Depletion of Intracellular Ca^{2+} Stores