

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

აფხაზავა დავით

მირისტოილირებული ალანინით მდიდარი C კინაზას სუბსტრატი,
α-ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლ პროპიონატის
რეცეპტორი, სიცხით შოკირებადი ცილა 90 და α-ფოდრინი იმპრიტინგის
პროცესში

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

პროფ. რევაზ სოლომონია,

თბილისი 2010

სარჩევი

გამოყენებული შემოკლებები	7
თავი I. შესავალი	9
თავი II. ლიტერატურის მიმოხილვა	11
2.1. წიწილებში მხედველობითი შთაბეჭდვის (იმპრინტინგის) ფენომენი, როგორც მოდელი მეხსიერების მექანიზმების შესწავლისათვის	11
2.1.1. იმპრინტინგის ზოგადი აღწერა	11
2.1.2. ადრეული ცვლილებები სინაპსურ ტრანსმისიაში	17
2.1.3. გვიანდელი ცვლილებები სინაპსურ გადაცემაში	20
2.1.4. იმპრინტინგი და ტვინის ასიმეტრია	21
2.1.5. ჰიპოკამპური გვპ და იმპრინტინგი	22
2.1.6. ქცევითი ასპექტები	23
2.1.7. გენთა ექსპრესია და მეხსიერება	24
2.1.8. მეხსიერების კვალის ძიება	25
2.2. მირისტოილირებული ალანინით მდიდარი პროტეინ კინაზა C-ს სუბსტრატი (მამპკს)	33
2.2.1. მამპკს ცილის ზოგადი დახასიათება	33
2.2.2. მამპკს ცილის ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები	33
2.2.3. მამპკს ცილის მემბრანასთან ურთიერთქმედება	34
2.2.4. მამპკს ცილის ბიოლოგიური ფუნქცია	36
2.2.5. მამპკს ცილის რეგულაცია	37
2.2.5.1 მამპკს ცილის რეგულაცია პკC-თი და კალციუმ/კალმოდულინით	37
2.2.5.2. მამპკს ცილის რეგულაცია სხვადასხვა ცილების საშუალებით	40
2.2.5.3. მამპკს ცილის მიერ აქტინის დინამიკის რეგულაცია ინტეგრინებით განპირობებულ უჯრედული ადჰეზიის პროცესებში	40
2.2.6. მამპკს-ის მონაწილეობა სინაპსური პლასტიკურობისა და	

მეხსიერების პროცესებში	40
2.2.7. მამპკს ცილის გავლენა დენდრიტულ ქაცვებზე.....	41
2.2.8. ცდები ნოკ-აუტ და ნოკ-ინ თავგებზე	42
2.2.9. მამპკს ცილის როლი მეხსიერების ფორმირებაში	43
2.2.10. მამპკს ცილა მონაწილეობს ნეირონების ზრდის კონუსის რეგულირებაში.....	43
2.2.11. დასკვნა.....	44
2.3. α -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლპროპიონატის რეცეპტორის (ამპარ).....	45
2.3.1. ამპარ-ის ზოგადი დახასიათება	45
2.3.2. ამპარ-ის სუბერთეულების კომპოზიციის მარეგულირებელი ფუნქცია	46
2.3.3. სუბერთეულთა კომპოზიცია არეგულირებს ამპა რეცეპტორის ფუნქციას ფოსფორილირების მეშვეობით	46
2.3.4. სუბერთეულთა ცვლილებები სინაპსური პლასტიკურობის დროს	48
2.3.5. ამპარ-ების ექსპრესია	50
2.3.6. ამპარ-ებთან მორეაგირე ცილები	51
2.3.6.1. PDZ დომენის შემცველი ცილები	51
2.3.6.2. ამპარ-ებთან დამაკავშირებელი ცილა (ამდც) / გლუტამატის რეცეპტორთან მორეაგირე ცილა (გრმც).....	52
2.3.6.3. LIN-10	52
2.3.6.4. C კინაზასთან მორეაგირე ცილა (Cკმც).....	53
2.3.6.5. სინაპსთან ასოცირებული ცილა-97 (საც-97).....	53
2.3.6.6 SemaF ციტოპლაზმურ დომენთან ასოცირებული ცილა-3	53
2.3.6.7. სინთეტიკი	54
2.3.6.8. სტარგაზინი.....	54
2.3.6.9. ნეირონული აქტივობის მარეგულირებელი პენტრაქსინი(ნამპ)...	54
2.3.6.10. N-ეთილმალეიმიდისადმი მგრძნობიარე ფაქტორი(ემფ)	55
2.3.7. ამპარ-ების ტრანსგენული თავგები.....	55
2.3.8. ამპარ-ების რეგულაცია განვითარებად სინაპსებში	55
2.3.9. ცილების მადეგრადირებელი გზები და გლურ-ების კონტროლი	56

2.3.10. ამპარ-ების რეგულაცია უჯრედული ადჰეზიური	
მოლეკულებით (უამ)	56
2.3.10.1. ინტეგრინები	57
2.3.10.2. კადჰერინები	57
2.3.10.3. რეელინი	57
2.3.11 დასკვნა.....	58
2.4. ფოდრინი	59
2.4.1. ფოდრინის ზოგადი დახასიათება.	59
2.4.2. ფოდრინის ბიოლოგიური ფუნქცია	60
2.4.3. ფოდრინის კალპაინით დეგრადაცია	61
2.4.4. ტვინის ფოდრინი.....	62
2.4.5. ფოდრინი და ნერვული სისტემა	63
2.4.6. ფოდრინი და გოლჯის აპარატი	64
2.4.7. დასკვნა.....	65
2.5. სიცხით შოკირებადი ცილა 90	66
2.5.1.სიცხით შოკირებადი ცილა 90-ის ზოგადი დახასიათება	66
2.5.1.1. სმც90-ს გენები და იზოფორმები.....	66
2.5.2. სმც90-ს სტრუქტურა და ფუნქციები	68
2.5.3. სმც90 და ნეიროტრანსმიტერის გამოთავისუფლება.....	68
2.5.4. ნეიროდეგენერაციული დაავადებები და სმც90	69
2.5.6. სმც90 და სიმსივნე	69
2.5.7. დასკვნა.....	70
თავი 3. სამუშაოს მიზანი	71
თავი 4. მეთოდები.....	73
4.1. ქცევითი მეთოდები.....	73
4.1.1. წიწილების იმპრინტირება და ტვინის ნიმუშების მომზადება	
ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ მამკს ცილის და მისი	
ფოსფორილირებული ფორმის რაოდენობრივი ცვლილებების	
შესასწავლად სუბუჯრედულ ფრაქციებში	73
4.1.2. წიწილების იმპრინტირება და ტვინის ნიმუშების მომზადება	

ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ ალფა სპექტრინის და სიცხით შოკირებადი ცილა 90-ის რაოდენობრივი ცვლილებების შესასწავლად.....	75
4.1.3. წიწილების იმპრინტირება და ტვინის ნიმუშების მომზადება ტრენირებიდან 1 საათის შემდეგ ამჟმ რეცეპტორების I სუბერთეულის და მისი 831-ე სერინის ნაშთზე ფოსფორილირებული ფორმის რაოდენობრივი ცვლილებების შესასწავლად	75
4.2. ბიოქიმიური მეთოდები	76
4.2.1 სუბუჯრედული ფრაქციები	76
4.2.2 ცილის რაოდენობის განსაზღვრა, ელექტროფორეზი, იმუნობლოტინგი	77
4.3 სტატისტიკური ანალიზი.....	73
თავი 5. შედეგები	82
5.1. მამკს ცილის სუბუჯრედული ფორმების ცვლილებები დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ.....	82
5.1.1. ქცევა	82
5.1.2. იმუნოშელეზა.....	83
5.1.3. მემბრანასთან დაკავშირებული მამკს (მ-მამკს):მშმნ.....	84
5.1.4.მემბრანასთან დაკავშირებული მამკსი (მ-მამკს): ნჰნ	88
5.1.5. ციტოპლაზმური ფოსფორილირებული მამკს (ცფ-მამკს)	89
5.1.6. ცფ-მამკს-სა და მ-მამკს-ს შორის ფარდობა	94
5.1.7. ანალიზი ნახევარსფეროების მიხედვით.....	96
5.2. α-ფოდრინის და სშც90-ის რაოდენობრივი ცვლილებები დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ.....	99
5.2.1. ქცევა	99
5.2.2. იმუნოშელეზა.....	100
5.2.3. α-ფოდრინი-ს რაოდენობრივი ცვლილებები: მშმნ.....	102
5.2.4 α-ფოდრინი-ს რაოდენობრივი ცვლილებები: ნჰნ.....	103
5.2.5. სშც90-ის რაოდენობრივი ცვლილებები	104

5.3. გლუტამატის რეცეპტორები და მათი ფოსფორილირების ცვლილებები	
ტრენინგიდან 1 საათის შემდეგ.....	105
5.3.1. ქცევა	105
5.3.2 იმუნოშეღებვა.....	106
5.3.3. გლურ1-ის რაოდენობრივი ცვლილებები.....	108
5.3.4. 831-ფ-გლურ1-ის რაოდენობრივი ცვლილებები	109
5.3.5. 831-ფ-გლურ1/გლურ1-ის რაოდენობრივი ცვლილებები: მშმნ	110
5.3.6. 831-ფ-გლურ1/გლურ1-ის რაოდენობრივი ცვლილებები: ნპნ	115
თავი 6. მიღებული შედეგების განხილვა.....	116
6.1. მამკეს ცილა.....	116
6.2. α-ფოდრინი	118
6.3. სშც90.....	121
6.4. აშპა რეცეპტორი	121
6.5. რეგიონული განსხვავებები.....	123
6.6. ლატერალიზაცია	123
თავი 7. დასკვნები	124
RESUME.....	125
თავი 8. გამოყენებული ლიტერატურა	129

გამოყენებული შემოკლებები

ადფ-ადენოზინ დიფოსფატი

აის-არა-საიმპრინტინგო სტიმული

ამდც-ამპარ-ებთან დამაკავშირებელი ცილა

ამპა- α -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლ პროპიონის მჟავა

ამპარ- α -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლ პროპიონატის რეცეპტორი

ატფ-ადენოზინ ტრიფოსფატი

აც2- აქტივაციურ ცილა 2

აწც- ამილოიდის წინამორბედი ცილა

გვპ- გრძელვადიანი პოტენციაცია

გვდ- გრძელვადიანი დეპრესია

გაემ- γ -ამინო ერბოს მჟავა

გლურ- გლუტამატის რეცეპტორი

გრმც- გლუტამატის რეცეპტორთან მორეაგირე ცილა

დფ- დაკბილული ფასცია

ედ- ეფექტორული დომენი

ემფ- N-ეთილმალეიმიდისადმი მგრძნობიარე ფაქტორი

HV- ვენტრალური ჰიპერსტრიატუმი

LH-ლამინური ჰიპერსტრიატიკა

რნმ- რიბო-ნუკლეინის მჟავა

VL- ლატერალური ვენტრიკულუსი

ვკმინ- ვენტრალური ჰიპერსტრიატუმის მედიალური და ინტერმედილური ნაწილი

თხ- თავისუფლების ხარისხი

ის- საიმპრინტინგო სტიმული

კდ-კილო დალტონი

C კმც- C კინაზასთან მორეაგირე ცილა

მ-მამპკსი- მემბრანასთან დაკავშირებული მამპკს

მაგუკ- მემბრანასთან ასოცირებული გუანილატ კინაზები

მამკს-მირისტოილირებული ალანინით მდიდარი პროტეინკინაზა C (პკC)-ს სუბსტრატი

მგპ- მიტოგენ გააქტივებადი პროტეინ კინაზები
 მკგ- მიკროგრამი
 მ-რნმ- მატრიცული რიბო-ნუკლეინის მჟავა
 მშმნ- მეზოპალიუმის შუა და მედიალური ნაწილი
 მვპ- მედიალური ვენტრალური ჰიპერსტრიატუმი
 ნამპ- ნეირონული აქტივობის მარეგულირებელი პენტრაქსინი
 ნდს - ნატრიუმის დოდეცილსულფატი
 ნმდა- N-მეთილ-D-ასპარტატი
 ნმდარ-N-მეთილ-D-ასპარტატის რეცეპტორი
 ნპნ-ნიდოპალიუმის პოსტერიორ ნაწილი
 კამკII- Ca^{2+} / კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II
 პსს- პოსტსინაპსური სიმკვრივე
 პკ C- პროტეინკინაზა-C
 პკ A- პროტეინ კინაზა-A
 პჯრ- პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია
 საც-97- სინაპსთან ასოცირებული ცილა-97
 სემა-3A- სემაფორინ-3A
 სერ-სერინი
 სრდც1- სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის რეცეპტორთან დაკავშირებული ცილა 1
 სსც- საშუალო სტანდარტული ცდომილება
 სშფ1- სიცხით შოკირებადი ფაქტორი 1
 სშგ- სიცხით შოკირებადი ცილა
 უამ- უჯრედული ადჰეზიური მოლეკულები
 უპს- უბიქვიტინ-პროტეასომული სისტემა
 შს- შინაგანი სტანდარტი
 ცფ-მამპკს- ციტოპლაზმური ფოსფორილირებული მამპკს
 ც-გმფ-ციკლური გუანოზინმონოფოსფატი
 ცნს-ცენტრალური ნერვული სისტემა
 ჯ-ჯამური
 Hip-ჰიპოკამპი

თავი 1. შესავალი

მე-20 საუკუნის მეორე ნახევარი შეიძლება ჩაითვალოს ბიოლოგიური და სამედიცინო მეცნიერებების განსაკუთრებული აღმავლობის ხანად.

დღეისათვის ნერვული სისტემის პლასტიურობის ბიოქიმიური საფუძვლების შესწავლა წარმოადგენს არა მხოლოდ ნეირომეცნიერების, არამედ ზოგადად თანამედროვე ბიოლოგიის ერთ-ერთ აქტუალურ ამოცანას. ევოლუციის მანძილზე ნერვული სისტემა შეძენილ ადაპტაციურ თვისებებთან ერთად, ცვლილებებს განიცდის ინდივიდუალური განვითარების საპასუხოდ. აღნიშნული შესაძლებლობები მქდავდება დასწავლისა და მეხსიერების პროცესებში. დასწავლას მიეკუთვნება ის პროცესები, რომელთა საშუალებითაც ხორციელდება ახალი ინფორმაციის მიღება გარემომცველი სამყაროდან, მეხსიერება კი უზრუნველყოფს მიღებული ინფორმაციის შენახვას. მეხსიერების ეს ფორმა კლასიფიცირდება, როგორც ნეიროლოგიური მეხსიერება. გარდა ამისა, ცოცხალ ორგანიზმებში განასხვავებენ გენეტიკურ და იმუნოლოგიურ მეხსიერებას.

მეხსიერების ბიოქიმიური საფუძვლების შესწავლა 60-წლიან ისტორიას ითვლის. მიუხედავად არაერთი წარმატებისა, მეხსიერების მოლეკულური საფუძვლები ჯერ კიდევ უცნობია. უნდა აღინიშნოს, რომ ტვინი საკმაოდ რთული და კომპლექსური ორგანოა და გამოირჩევა ნეირონული და გლიური უჯრედების მაღალსპეციფიკურობით. ნეირონების ფუნქციური კონტაქტის ადგილები-სინაპსები განაპირობებენ ამ უჯრედებს შორის კავშირს, ეს კავშირები და ნეირონული აქტივობა არსებითია ნერვული პლასტიურობისათვის. მეხსიერების კვლევა იმ მხივაც რთულია რომ ამ პროცესში მრავალი მოლეკულა და სასიგნალო გზაა ჩართული, რომელთა მოდულაცია უჯრედების მიერ მკაცრი კონტროლის ქვეშაა და გამუდნებით მიმდინარეობს ახალი ცილების წარმოქმნა და ძველის დეგრადირება, მოთხოვნის და მიხედვით იცვლება გენთა ექსპრესია, ანუ ჩვენ საქმე გვაქვს დინამიურ პროცესებთან. სირთულეს წარმოადგენს ისიც, რომ თითოეულ ცალკეულ შემთხვევაში მეხსიერების კვალის შენახვასა და ახწარმოებაში იქმნება ინდივიდუალური ნეირონული ანსამბლები.

დღეისათვის მრავალი მონაცემია დაგროვილი, რომელიც მიუთითებს ცილების, გლიკოპროტეინების, სხვადასხვა ნეიროტრანსმიტერების და ნეირორეცეპტორული სისტემების მნიშვნელოვან როლზე მეხსიერების პროცესებში, თუმცა უცნობია თუ რა წარმოადგენს წარმმართველს ახალი ნეირონული ანსამბლების შექმნაში და რა მექანიზმები განსაზღვრავს მის ხანგრძლივ შენახვა-ფუნქციონირებას (Solomon et al., 1997; Solomon et al., 1998; Solomon et al., 2000, Horn 2004).

ჩვენი ყურადღება შეჩერებული იქნა მხედველობითი იმპრიტინგის მოდელზე წიწილებში. იმპრიტინგის მრავალწლიანი ნეირობიოლოგიური კვლევის შედეგად წიწილებში ლოკალიზებული იქნა ტვინის უბანი, რომელიც კრიტიკულია იმპრიტინგ-მეხსიერებისათვის, ამის გამო დასწავლისა და მეხსიერების ეს მოდელი განსაკუთრებულ ყურადღებას იქცევს მკვლევარების მხრიდან (მიმოხილვისათვის Horn 2004).

მეხსიერების ამ მოდელის გამოყენებით ჩვენი სამუშაოს მიზანს შეადგენდა სხვა კუთხით შეგვეხედა იმ ცილების იდენტიფიკაციის საკითხზე, რომლებიც მეხსიერების ჩამოყალიბების პროცესებში მონაწილეობენ. გვანტერესებდა, სინაფსური პლასტიურობისათვის მნიშვნელოვანი α -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლპროპიონატის რეცეპტორების, მირისტოილირებული ალანინით მდიდარი პროტეინ კინაზა C-ს სუბსტრატის, ფოდრინის და სიცხით შოკირებადი ცილა 90-ის როლი მეხსიერების პროცესებში, შევისწავლეთ მათი რაოდენობრივი ცვლილებები მეხსიერების ფორმირებისას. ყველა ეს ექსპერიმენტები ლოგიკურად გამომდინარეობდა ჩვენი თუ ლიტერატურაში უკვე არსებული მონაცემებიდან.

თავი 2. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1. წიწილებში მხედველობითი შთაბეჭდვის (იმპრინტინგის) ფენომენი, როგორც მოდელი მეხსიერების მექანიზმების შესწავლისათვის

2.1.1. იმპრინტინგის ზოგადი აღწერა

ქცევა წარმოადგენს გენებსა და გარემოს შორის ურთიერთქმედების შედეგს. უმთავრესი მექანიზმები, რომლის საშუალებითაც გარემო ცვლის ქცევას, არის დასწავლა და მეხსიერება. დასწავლა არის პროცესი, რომლითაც ჩვენ ვიძენთ ცოდნას სამყაროს შესახებ, ხოლო მეხსიერება არის პროცესი, რომლის საშუალებითაც ხდება ამ ცოდნის კოდირება, შენახვა და შემდგომში აღდგენა, გახსენება. დასწავლისა და მეხსიერების შესწავლა უმნიშვნელოვანესია როგორც ნორმული ქცევის, ასევე ქცევითი დარღვევების მექანიზმების გასაგებად.

მიუხედავად იმისა, რომ მეხსიერებისა და დასწავლის ნეირონული საფუძვლების ძიებას ხანგრძლივი ისტორია აქვს, დასწავლის მიერ ხერხემლიანთა ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში დატოვებული ჰიპოთეტური გზის (კვალის) ბუნების ემპირიული მტკიცებულება ჯერ კიდევ ბუნდოვანია. ფართოდ აღიარებულია, რომ ცალკეული სტიმული ან მოვლენა, რომელიც გადადის მეხსიერებაში, აისახება ტვინში, როგორც “ნერვული კვალი”, ან “ენგრამა”. თუმცა 50 წელზე მეტია გასული, რაც ლეშლიმ გამოაქვეყნა თავისი საეტაპო სტატია, სათაურით “ენგრამის ძიებაში” (Lashley, 1950). ამ კვალის ბუნება კვლავ გაურკვეველი რჩება. ამ მიმართულებით წარმატების მიღწევის მთავარ დაბრკოლებას წარმოადგენს ტვინის იმ უბნების იდენტიფიკაცია, რომლებშიც ხდება მეხსიერების კვალის წარმოქმნა. ეს სირთულე უმეტესწილად დაძლეულია ვიზუალური იმპრინტინგის შემთხვევაში (იხ. ქვემოთ). მეხსიერების თეორიების უმეტესობა ვარაუდობს, რომ გამოცდილებას ან მოვლენას მივყავართ ტვინში გარკვეული გზების ჩამოყალიბების ან გაძლიერებისაკენ (Hebb, 1949). აქვე აღსანიშნავია, რომ ქვემოთ მოყვანილი მონაცემები მეხსიერების ერთ-ერთი ფორმის, იმპრინტინგის შესახებ მხოლოდ ნაწილობრივ ადასტურებს ამ თეორიას და ამავე დროს გვაჩვენებს, რომ აღნიშნულ

მოვლენებში ბევრად უფრო რთული და საინტერესო პროცესები მონაწილეობს, ვიდრე ვარაუდობდნენ.

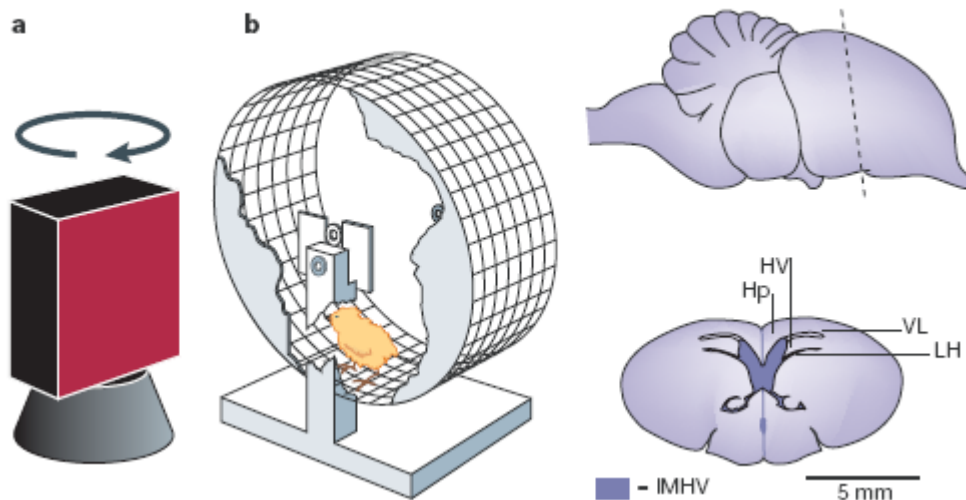
მეხსიერება მრავალი ფორმით გვხვდება, მაგრამ მათ აერთიანებთ საერთო თვისება: წარსული გამოცდილების ცნობა. შეიძლება მოხდეს ამ გამოცდილებების - ინდივიდების, საგნების, ადგილებისა თუ ასოციაციების - ცნობა, როდესაც კვლავ შევხვდებით მათ; ან გახსენება, როგორც ეს ხდება ახალგაზრდა მომღერალი ჩიტის შემთხვევაში, რომელიც იმეორებს თავისი მშობლის ურთულეს გალობას, რომელიც უკანასკნელად რამდენიმე თვის წინ მოისმინა (Stevenson-Hinde, 1972).

დასწავლის ერთ-ერთი ტიპი, იმპრიტინგი, გვთავაზობს უნიკალურ შესაძლებლობას მეხსიერების სავარაუდო რეპრეზენტაციის გასაანალიზებლად, რადგანაც ამ შემთხვევაში დასწავლამდე ტვინში სხვა არანაირ ვიზუალურ გამოცდილებას არ დაუტოვებია კვალი.

იმპრიტინგი, რომლის შესწავლა შესაძლებელია შინაურ წიწილებში (*Gallus gallus domesticus*), წარმოადგენს დასწავლის ზოგადი ფორმის მაგალითს, რომლის დროსაც სუბიექტისათვის ნაცნობი ხდება სტიმული, რომელსაც წარმოუდგენენ (Honey, et al., 1993). ვიზუალური გამოცდილების არმქონე ახალგაზრდა წიწილას შეუძლია მიუახლოვდეს მოძრავ ობიექტს და გარკვეული წინასწარი განწყობის (პრედისპოზიციის) მიხედვით (Johnson, et al., 1985; Bolhuis, et al., 1999) თანდათანობით შეისწავლოს მისი სხვა მახასიათებლებიც. ბუნებრივ პირობებში, წიწილა უახლოვდება თავის დედას (სწორედ დედაა მისთვის მოძრავი ობიექტი, რასაც პირველად დაინახავს) და უპირატესად დაჰყვება მას და არა სხვა ნებისმიერ მოზრდილ ქათამს (Lorenz, 1937). ლაბორატორიაში, წიწილამ შეიძლება დაისწავლოს ხელოვნური ობიექტის დამახასიათებელი დეტალები და შემდგომში არჩიოს ის სხვა ობიექტებს (Bateson, et al., 1966; Bolhuis, et al., 1991) ინფორმაცია, რომელსაც წიწილა ღებულობს ამ გზით, შეიძლება გამოყენებულ იქნას სხვა დასწავლით სიტუაციებშიც. წიწილას შვილობრივი უპირატესობის ჩამოყალიბებაში სულ მცირე ოთხი ფაქტორი მონაწილეობს: უპირობო პასუხი, რაც შეიცავს მოძრავ ობიექტთან მიახლოებას და პრედისპოზიციას (ორივეს აქვს სენსიტიური პერიოდი (Hoffman, et al., 1973; Davies, et al., 1992), შემდგომი პასუხი და დასწავლა. იმპრიტინგში იგულისხმება უპირატესობის ჩამოყალიბების მხოლოდ დასწავლის კომპონენტი (Bolhuis, et al., 1991).

იმ იდეის შესაბამისად, რომ დასწავლა მოიცავს ცვლილებებს ნეირონულ კავშირებში (Hebb, 1949), ადრეულ კვლევებში ნაჩვენებია ცილისა და რნმ-ის სინთეზის ცვლილებები იმპრინტინგის შემდეგ. წიწილებში, რომლებსაც წარუდგინეს სტიმული, $[^3\text{H}]$ ურაცილის ჩართვა რნმ-ში უფრო მაღალი იყო, ვიდრე საკონტროლო წიწილებში, რომლებსაც მხოლოდ სინათლეს აჩვენებდნენ. ეს ეფექტი ნანახი იყო მხოლოდ ტვინის ნახევარსფეროების დორსალურ ნაწილში (“წინატვინის სახურავი”) და მხოლოდ იმ წიწილებში, რომლებიც იწვრთნებოდნენ სტიმულისადმი უპირატესობის ჩამოყალიბებისათვის საკმარისი დროის განმავლობაში (Bateson, et al., 1972). იმის დასამტკიცებლად, რომ ეს ცვლილებები დაკავშირებულია დასწავლასა და მეხსიერებასთან სპეციფიკურად, ჩატარებული იქნა მთელი რიგი ექსპერიმენტები; თუკი “წინატვინის სახურავში” მიღებული ბიოქიმიური ცვლილებები ასახავდა არასპეციფიკურ სხვაობას გაწვრთნილ და საკონტროლო წიწილებს შორის, როგორცაა მოძრაობისა და სტრესთან-დაკავშირებული ჰორმონის დონეები, მაშინ ამ ფაქტორებს უნდა ემოქმედათ ორივე ჰემისფეროზე თანაბრად. ამ შესაძლებლობის გამოსაცდელად, მოხდა ვიზუალური ინფორმაციის მიღების შეზღუდვა ერთი ნახევარსფეროსათვის (Horn, et al., 1973). $[^3\text{H}]$ ურაცილის ჩართვა რნმ-ში უფრო მაღალი იყო წინატვინის სახურავის გაწვრთნილ მხარეს, გაუწვრთნელ მხარესთან შედარებით. ამრიგად, ბიოქიმიური განსხვავება ჰემისფეროებს შორის გამოწვეულია მხოლოდ ვიზუალური ინფორმაციის მიღებაში არსებული სხვაობით. თუმცა აქედან არ გამომდინარეობს, რომ გაწვრთნილ ჰემისფეროში $[^3\text{H}]$ ურაცილის რნმ-ში ჩართვის უფრო მაღალი დონე მეხსიერებისადმი სპეციფიკურ ცვლილებას წარმოადგენს. იმპრინტინგის სტიმულის მიერ ამ ნახევარსფეროში ვიზუალური გზების გააქტივებას შეიძლება მივყავდეთ ამ გზებში ტრანსმიტერების მობილიზაციამდე და, შესაბამისად, ცილისა და რნმ-ის გაძლიერებულ სინთეზამდე. რომ განვასხვავოთ ვიზუალური სტიმულირებით გამოწვეული ასეთი ხანმოკლე ეფექტები იმ ხანგრძლივი ცვლილებებისაგან, რაც საფუძვლად უდევს მეხსიერების პროცესებს, მოხდა წიწილების ორი ჯგუფის გაწვრთნა დროის ერთნაირ მონაკვეთში. თუმცა, წინა დღეს მოხდა ერთი ჯგუფის ზედმეტად გაწვრთნა (“გადაწვრთნა”) და მეორე ჯგუფისთვის - პირიქით, წვრთნის დაკლება. “გადაწვრთნილ” ჯგუფს ცოტა ჰქონდა დასასწავლი სტიმულის შესახებ, მისი ხელახლა ნახვისას მეორე დღეს, როდესაც ხდებოდა $[^3\text{H}]$ ურაცილის ინექცია. ამის საპირისპიროდ, წიწილებს,

რომელთაც დააკლდათ წვრთნა, ბევრი ჰქონდათ დასასწავლი. ვიზუალური სტიმულირების ხანმოკლე ეფექტი რომ იყოს **რნმ**-ის სინთეზის გაზრდის მიზეზი, მისი ზრდის დონე ერთნაირი უნდა ყოფილიყო წიწილების ორივე ჯგუფში. ხოლო, თუ **რნმ**-ის სინთეზის ზრდა გამოწვეულია დასწავლისა და მეხსიერების ხანგრძლივი ეფექტებით, სინთეზის დონე მეორე დღეს უფრო მაღალი უნდა იყოს დასწავლა დაკლებულ წიწილებში; და სწორედ ასეც აღმოჩნდა (Bateson, et al., 1973). წინა ტრენირების ეს ეფექტი შესაძლოა სპეციფიკური იყოს იმპრინტინგისადმი; მაგრამ ის ასევე შეიძლება ასახავდეს ვიზუალური სტიმულაციის რაიმე არასპეციფიკურ ეფექტს. ამ შესაძლებლობის გამოსარიცხად, წიწილებს წარუდგენდნენ იმპრინტინგ-სტიმულს დროის ფიქსირებული მონაკვეთის განმავლობაში. დასწავლის დონე, რომელიც იზომებოდა სტიმულისადმი მათ მიერ გამომჟღავნებული უპირატესობის დონის სიძლიერით, განსხვავებული იყო სხვადასხვა წიწილებში. აღმოჩნდა, რომ იმპრინტ-ობიექტისადმი წიწილების უპირატესობის დონე დადებით კორელაციაშია **რნმ**-ის სინთეზთან (Bateson, et al., 1975). ეს კი იმ იდეას ამტკიცებს, რომ **რნმ**-ის სინთეზის ცვლლება სპეციფიკურადაა დაკავშირებული დასწავლასა და მეხსიერებასთან.



სურ.1 ტრენირების პროცედურა და აპარატი. a. წიწილები იჩეკებიან და ტრენირებამდე იმყოფებიან სიბნელეში. 24-სთ-ის შემდეგ წიწილები ინდივიდუალურად თავსდებიან მბრუნავ ბორბალში და მათ აჩვენებდნენ იმპრინტინგ სტიმულს (მოძრავ წითლად განათებულ ყუთს). ტრენირების დროს წიწილა ცდილობს მიუახლოვდეს იმპრინტინგ სტიმულს. მბრუნავი ბორბლის ბრუნების რაოდენობა განსაზღვრავს იმპრინტინგ სტიმულთან მიახლოების აქტივობას. უპირატესობის ხარისხი

იანგარიშება წიწილის იმპრინტინგ სტიმულთან მიახლოების აქტივობის გაყოფით საერთო მიახლოებით აქტივობაზე (მიახლოებათა ჯამი იანგარიშება იმპრინტინგ სტიმულისა და არა-იმპრინტინგ სტიმულთან მიახლოებათა შეკრებით). თუ წიწილა უახლოვდება მხოლოდ იმპრინტინგ სტიმულს ხარისხი არის 100%, თუ ორ ობიექტს თანაბრად უახლოვდება მაშინ ხარისხი იქნება 50%, ხ. წიწილის ტვინის ასპექტები ზედხედი და გვერდხედი, გვირგვინი განაკვეთი მითითებულია წყვეტილი ხაზით. მუქი ლურჯი ფერით აღნიშნულია მშმნ (IMHV), Hip-ჰიპოკამპი, HV-ვენტრალური ჰიპერსტრიატუმი, LH-ლამინური ჰიპერსტრიატიკა, VL-ლატერალური ვენტრიკულუსი (Horn G. 2004).

შემდგომში მოხდა ბიოქიმიური ცვლილებების ლოკალიზაცია წინატვინის სახურავის განსაზღვრულ უბანში - ვენტრალური ჰიპერსტრიატუმის მედიალური და ინტერმედიალურ ნაწილში (გჰმინ) (წიწილების თავის ტვინის თანამედროვე ანატომიური კლასიფიკაციით ეს უბანი შეესაბამება მეზოპალიუმის შუა და მედიალურ ნაწილს (მშმნ)) (Reiner, et al., (2004)) და ჩვენც შემდგომში ამ შემოკლებას ვიხმართ) (Horn, et al., 1979; Horn, 1981). ამის დამამტკიცებელი საკმაოდ საფუძვლიანი მონაცემები არსებობს: ამ უბნის დაზიანება ტრენირებამდე ხელს უშლიდა იმპრინტინგს (McCabe, et al., 1981), ხოლო გაწვრთნის შემდგომ - აქრობდა უკვე შეძენილ უპირატესობას (McCabe, et al., 1982). ამ კვლევებმა ბიოქიმიურ მონაცემებთან ერთად გამოკვეთა მშმნ-ს როლი, როგორც ვიზუალური იმპრინტინგის შენახვის უბნისა. ეს უბანი შესაძლოა ასევე მონაწილეობდეს პასიური განრიდების, ვიზუალური დისკრიმინაციული დასწავლისა (Daisley, et al, 1998) და სმენით იმპრინტინგში, რამეთუ მშმნ ესაზღვრება (გამოკვეთილი შემოსაზღვრის გარეშე) მედიალური ვენტრალური ჰიპერსტრიატუმის (მგჰ) იმ უბანს, რომელიც ამ ფორმის დასწავლაში მონაწილეობს (Grüss, et al., 1996; Horn, 1991). მშმნ შესაძლოა ასევე მონაწილეობდეს ფრინველთა სიმღერის დასწავლაშიც. ეს რეგიონი ემიჯნება, და შეიძლება გადაფარავს კიდევ, მგჰ-ის კაუდალურ ნაწილს, რომელიც პოსტულირებულია, რომ შეიცავს მასწავლებლის სიმღერის ნეირონულ რეპრეზენტაციას (Bolhuis, et al., 2003).

სხვადასხვა უბნების დაზიანებებითა და ასევე მარცხენა და მარჯვენა მშმნ-ის თანამიმდევრობითი დაზიანების გამოყენებით ჩატარებულმა კვლევებმა, ვიზუალური იმპრინტინგისათვის გამოავლინა ინფორმაციის დამატებითი შენახვის სისტემა, S', რომელიც მშმნ-ს გარეთ მდებარეობს და მის პარალელურად მოქმედებს

(Cipolla-Netto, 1982). მარჯვენა **მშმნ** კორელაცურია **S'**-ის წარმოქმნისათვის, რომელიც ფუნქციონალური ხდება ტრენირებიდან 4-6 სთ-ის შემდეგ და შენარჩუნებულია 26 სთ მაინც (Honey, 1995)

მშმნ უნდა შეესაბამებოდეს ძუძუმწოვართა ასოციაციური ქერქის გარკვეულ ნაწილებს, შესაძლოა პრეფრონტალურ და სარტყლისებრ უბნებს. ის აფერენტულად ინერვირდება წინატვინის პირველადი სენსორული უბნებიდან (Bradley, et al., 1985; Horn, 1985). ანესთეზირებულ წიწილებში **მშმნ**-ის ნეირონები ან საერთოდ ვერ პასუხობენ ვიზუალურ სტიმულს (Wilson, 1980), ან პასუხობენ გაბნეულად ანდა სუსტად (McLennan, et al., 1992). მოქმედ წიწილებში კი პირიქითაა, **მშმნ**-ის მრავალი ნეირონი სწრაფად პასუხობს ვიზუალურ ან სმენით სტიმულს, ან ორივეს ერთად (Nicol, et al., 1995).

იმპრინტინგის გამოცდილება მკვეთრად ზემოქმედებს **მშმნ**-ს ნეირონების ვიზუალურ სტიმულირებისადმი პასუხებზე. იმპრინტირებულ წიწილებში იმ საიტების წილი, რომლებიც პასუხობდნენ იმპრინტ-სტიმულს იყო დაახლოებით სამჯერ მეტი, გაუწვრთნელ წიწილებთან შედარებით. ზოგიერთი პასუხი მკვეთრად სელექციურია იმპრინტ-სტიმულისადმი (ანუ პასუხობენ მხოლოდ მას), ხოლო სხვა ნეირონები კი ახდენენ გენერალიზირებას ფერის ან ფორმის მიხედვით. დასწავლის ამგვარი ეფექტები არ არის ნანახი ჰიპოკამპში, რომელიც პროეცირდება **მშმნ**-ზე (Nicol, et al., 1998). ზოგადად, ტრენირებული წიწილების **მშმნ**-ს ნეირონებს შეუძლიათ ნაცნობი ობიექტის არსებობის შესახებ სიგნალის გადაცემა წიწილისაგან მისი დაშორების მიუხედავად. ნეირონები, რომლებიც ახდენენ გენერალიზებას ფერისა და ფორმის მიხედვით, შესაძლოა ხელს უწყობდეს იმპრინტირებულ წიწილებს, მოახდინონ სტიმულის განზომილებების გენერალიზება (Bolhuis, et al., 1992). **მშმნ**-ის ნეირონებს ასევე შეუძლიათ ობიექტის ზომისა და მისი მდებარეობის შესახებ სიგნალირება. რადგანაც **მშმნ** პროეცირდება მოტორულ უბნებზე (Zeier, et al., 1971), გაწვრთნილი წიწილას **მშმნ**-ის ნეირონული აქტივობის განსაკუთრებულმა სურათებმა შესაძლოა მოახდინონ ნაცნობ ობიექტთან მიახლოების ან უცნობი ობიექტისადმი განრიდების ინიცირება.

მშმნ-ის ზოგიერთი ნეირონის პასუხების თვისებების სელექციური და შენარჩუნებადი მოდიფიკაციები დასწავლის დროს მიუთითებს მათ კავშირებზე გარკვეულ ფუნქციონალურ ცვლილებებზე; და ეს ცვლილებები თვით ამ უბნის

შიგნით უნდა ხორციელდებოდეს. ამ დასკვნებისა და ასევე “მეხსიერების კვალის” ბუნების თეორიული განსაზღვრებების საფუძველზე მოხდა ყურადღების ფოკუსირება **მშმნ**-ში უჯრედულ და სუბუჯრედულ ცვლილებებზე იმპრინტინგის დროს და მის შემდეგ. ამ ცვლილებების შესწავლამ გამოამჟღავნა საკმაოდ მოულოდნელი განსხვავებები დასწავლის ეფექტებში მარცხენა და მარჯვენა **მშმნ**-ს შორის, ასევე დასწავლის სხვადასხვა დროზე-დამოკიდებული ეფექტები ამ უბანში.

2.1.2. ადრეული ცვლილებები სინაპსურ ტრანსმისიაში

საიმპრინტინგო წვრთნა იწვევს პოსტსინაპსური სიმკვრივების (**პსს**) ზომის ზრდას მარცხენა **მშმნ**-ში, მაგრამ პრესინაპსური დაბლოებების ზომა ან სინაპსების რაოდენობა არ იცვლება. ტრენირებას იმპრინტინგ-სტიმულზე 140 წთ-ის განმავლობაში მივყავართ **პსს**-ს საშუალო ზომის 17%-ით გაზრდამდე მხოლოდ 20წთ-იან ტრენირებასა ან საერთოდ ტრენირების არ ჩატარების შემთხვევებთან შედარებით (Bradley et.al., 1981; Horn et.al.,1985). ეს ცვლილებები ნანახი არ იყო მარჯვენა **მშმნ**-ში და განისაზღვრებოდა დენდრიტულ ქაცვებზე განლაგებული მხოლოდ იმ სინაპსებით, რომლებიც, ალბათ, უპირატესად ამაგზნებელია (Hering, et al., 2001) და რომლებიც შეიცავს გლუტამატის რეცეპტორებს (Kim, et al., 1999). ამ დასკვნებისგან განსხვავებულად, აღმოჩნდა, რომ წვრთნის შემდეგ მარცხენა **მშმნ**-ში, მაგრამ არა მარჯვენაში, **ნმდა** (N-მეთილ-D-ასპარტატი) ტიპის გლუტამატის რეცეპტორების საშუალო რიცხვი იზრდება (McCabe, et al., 1991).

ნმდა რეცეპტორების ზრდა დაკავშირებულია დასწავლასთან: რეცეპტორების საშუალო რიცხვი მატულობს წიწილის იმპრინტ-ობიექტისადმი უპირატესობის სიძლიერესთან ერთად. **ნმდა** რეცეპტორების რიცხვის მომატება უნდა ზრდიდეს სინაპსური გადაცემის ეფექტურობას (Salt, 1986). რეცეპტორების რიცხვის ზრდასთან მეხსიერების ჩამოყალიბების კავშირის იდეა ბევრ შემთხვევაში იქნა შემოთავაზებული (Lynch, et al., 1984), სანამ ის ექსპერიმენტულადაც დადასტურდებოდა **ნმდა** რეცეპტორებისათვის იმპრინტინგის შემთხვევაში (McCabe, et al., 1988) და **ამპარ** (α -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლ პროპიონატის)

რეცეპტორებისათვის (Hayashi, et.al., 2000) ჰიპოკამპური გრძელვადიანი პოტენციაციის შემთხვევაში ძუძუმწოვრებში (Bliss, et al., 1993; Malenka, et al., 1999).

პსს-ს ზომის ზრდა ნანახი იქნა ტრენირებიდან -3 სთ-ში, ხოლო **ნმდა** რეცეპტორების რიცხვის ზრდა მხოლოდ -7.5 სთ-ში (მაგრამ არა 6 სთ-ზე ადრე). თუკი დენდრიტულ ქაცვებზე განლაგებული სინაპსების ცვლილება წარმოადგენს იმპრინტ ობიექტისადმი “მეხსიერების კვალის” საფუძველს ტრენირების დასრულებიდან -7.5 სთ-ში და შემდგომ, მაშინ რა შეიძლება იყოს ამ კვალის საფუძველი ამ დრომდე?

პრესინაპსურ დაბოლოებებში სინაპსური ვეზიკულები წარმოდგენილია სამარაგო და ადვილად ხელმისაწვდომი **ავზის** სახით. სამარაგო ვეზიკულები დაკავშირებულია ციტოჩონჩხის აქტინის ფილამენტებთან სინაპსინ I-ის საშუალებით, რომელიც შებოჭილია სინაპსურ დაბოლოებაში და ვეზიკულას მოძრაობასაც აფერხებს (Ceccaldi, 1995). როდესაც მოხდება სინაპსინ I-ის ფოსფორილება Ca^{2+} / კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II -ის (**კამკII**) მიერ, ვეზიკულები დისოცირდება აქტინის ფილამენტებიდან. მირისტოილირებული ალანინით მდიდარი პროტეინკინაზა C (**პკC**)-ს სუბსტრატი (**მამკს**), რომელიც კონცენტრირებულია პრესინაპსურ დაბოლოებებში (Albert et al., 1986) და გადაჯაჭვულია აქტინის ფილამენტებთან, უკავშირდება კალმოდულინს და ამით ახდენს მის იზოლაციას. ფოსფორილებისას **მამკს** გადაინაცვლებს მემბრანიდან ციტოზოლისაკენ (სინაპტოსომებში ეს ტრანსლოკაცია შეიძლება გამოიწვიოს დეპოლარიზაციამ). ფოსფორილებული **მამკს** აღარ არის დაკავშირებული აქტინის ფილამენტებთან (Arbuzova et al., 2002) და ამიტომ კალმოდულინიც თავისუფლდება და Ca^{2+} -ის თანაობისას შეუძლია **კამკII**-ის გააქტივება (Aderem, 1992). ამ მოდელის მიხედვით, **მამკს**-ის ფოსფორილება ახდენს მოვლენათა რიგის ინიცირებას, რასაც მიყვავართ ციტოჩონჩხიდან ვეზიკულების გამოთავისუფლებისაკენ და ასევე ადვილდება მათი გავლა ნაწილობრივ დაშლილი აქტინის ფილამენტების ბადეში, რომ მიაღწიონ ვეზიკულათა ადვილად ხელმისაწვდომ **ავზს**. დასწავლამ შესაძლოა გამოიყენოს ეს სასიგნალო გზა: იმპინტინგის წვრთნამ გამოიწვია **მამკს**-ის ფოსფორილების დასწავლა-დამოკიდებული ზრდა მარცხენა **მშმნ**-ში (მაგრამ არა მარჯვენაში) ერთ საათში (Sheu, et al., 1993). გარდა ამისა, პასიურ განრიდებაზე წიწილების გაწვრთნიდან 30 წთ-ში **მშმნ**-ის სინაპსებში გაზრდილი იყო ვეზიკულების რიცხვი აქტიური გამოყოფის ზონებთან (Stewart, et al., 1995) და ასევე

ზრდა შეიმჩნეოდა **მშმნ**-ის ანათლებში კალიუმ-სტიმულირებული გლუტამატის გამოყოფაში (Daisley, et al., 2002).

იმპრინტინგმა შესაძლოა გამოიყენოს პოსტინაპსური მექანიზმებიც ტრენირების დაწყებიდან მცირე ხანში. **პსს**-ის ზომის ზრდა, რომელიც გაზომილი იქნა წვრთნიდან 3-სთ-ში, შესაძლოა უფრო ადრეც ხდებოდეს. როდესაც **მშმნ**-ის ანათლებში იწვევენ პოსტინაპსური პასუხების **გვპ**-ს (გრძელვადიანი პოტენციაცია) მსგავს გაძლიერებას, **პსს**-ს სიგრძეში ცვლილებები ჩნდება სტიმულაციიდან რამდენიმე წთ-ში (Bradley, et al., 1991).

იმპრინტინგში ასევე მონაწილეობს შემაკავებელი მექანიზმები. მარცხენა **მშმნ**-ის (მაგრამ არა მარჯვენა) ანათლებში, რომლებიც წიწილების ტვინიდან აღებულია ტრენირებიდან 2 სთ-ში, **გაემ**-ის (γ -ამინო ერბოს მჟავა) - შემაკავებელი ტრანსმიტერი ზრდასრულ ძუძუმწოვრების ტვინში - კალიუმით სტიმულირებული გამოყოფა, და ასევე ტაურინისა, კორელაციაში იყო წიწილების უპირატესობის დონეებთან (McCabe, et al., 2001). ფიქრობენ, რომ ტაურინი აპირობებს იმ მოლეკულურ მოვლენებს, რომლებიც მონაწილეობენ ჰიპოკამპული **გვპ**-ს გვიანი ფაზის ინდუქციაში (Del Olmo, 2003). **გაემ**-ის გამოყოფა გაზრდილი იყო ასევე ტრენირებიდან 3.5 სთ-სა და 10 სთ-შიც, მაგრამ არა 24 სთ-ში (Meredith, et al., 2000). ეს დროებითი ცვლილება საინტერესოა იმ კუთხით, რომ ნანახია მყისიერად ადრეული გენის პროდუქტის Fos-ის მიმართ იმუნორეაქციული ნეირონების რიცხვის დასწავლა-დამოკიდებული ზრდა **მშმნ**-ში (McCabe, et al., 1994). მყისიერად ადრეულ გენებს უწოდებენ გენებს, რომლებიც ინდუცირდებიან სწრაფად და მყისიერად და ახალი ცილის სინთეზს არ საჭიროებენ. მრავალი ასეთი გენი, როგორიცაა Fos-იც, აკონტროლებს სხვა გენების ტრანსკრიპციას და ამდენად სპეციფიკური ცილების წარმოქმნის კონტროლის ადრეულ სტადიებს განაპირობებს. ყველა ეს Fos-დადებითი ნეირონი შეიცავს **გაემ**-სა და ტაურინს (Ambalavanar, et al., 1999) და ზემოთ აღნიშნული ზრდა ხდება წვრთნიდან უკვე 15 წთ-ში (Horn, 2004). კალიუმში უნდა იწვევდეს **გაემ**-ისა და ტაურინის გამოყოფას იგივე ნეირონებიდან. თუ ყველა ამ მოსაზრებას ერთად გავანალიზებთ, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ინჰიბიციურ ტრანსმისიაში გარკვეული დროებითი ცვლილებები განპირობებულია პრესინაპსური მექანიზმებით. თუ **მშმნ**-ში **გაემ** ნეირონები შემაკავებელია, რაზეც მიუთითებს მონაცემები (Bradley, et al., 1990), მათ შეუძლიათ ნეირონული აქტივობის

მოდულიზაცია პირდაპირი ინჰიბიციის ან ინჰიბიციის მოხსნის გზებით, რამეთუ ამ უბანში **გაემ** ნეირონებს შორის საკმაოდ ბევრი სინაპსია (Watson, et al., 1991).

ზემოთ აღნიშნული კვლევები მიუთითებს, რომ **მშმნ**-ის შემაკავებელი ნეირონები შესაძლოა სწრაფად და სპეციფიკურად მონაწილეობდნენ მეხსიერების ფორმირებაში. იმპრინტინგი იწვევს **მშმნ**-ში იმ ნეირონების გამოჩენას, რომლებიც თავის პასუხში იმპრინტინგის სტიმულისადმი მკაცრად სელექციურები არიან. მომატებულმა ინჰიბიტორულმა აქტივობამ შეიძლება გამოკვეთოს ეს პასუხები, ისევე როგორც ძუძუმწოვრების ვიზუალურ ქერქში ახდენს ინჰიბიტორული აქტივობა რეცეპტორული ველების გამოკვეთას (Sillitoe, 1975). ეს პროცესი გრძელდება 10 სთ-ის განმავლობაში, რომლის დროსაც კალიუმით სტიმულირებული **გაემ**-ის გამოყოფა დამოკიდებულია დასწავლის სიძლიერესთან. ამ დროისათვის, მაგრამ არა 5 სთ-ში ტრენირების დასრულებიდან, **გაემ** რეცეპტორის $\gamma 4$ -სუბერთეულის **მრნმ** დადმავალ რეგულაციას განიცდის **მშმნ**-ში (Harvey, et al., 1998). ამ ცვლილებამ, რომელიც ასოცირებულია **გაემ**-ის გამოყოფის გვიანდელ დადმავალ რეგულაციასთან, შესაძლოა შეამციროს ინჰიბიტორული აქტივობა **მშმნ**-ში წვრთნის დასრულებიდან რამოდენიმე საათში.

2.1.3. გვიანდელი ცვლილებები სინაპსურ გადაცემაში

ცილა კლატრინები მონაწილეობენ სინაპსური ვეზიკულების მემბრანების რეციკლიზაციაში (Maycox et al., 1992) იმპრინტინგის შემდეგ 7-10 საათში, როდესაც **ნმდა** რეცეპტორები განიცდიან აღმავალ რეგულაციას, კლატრინის მძიმე ჯაჭვის ცილის რაოდენობა არაა მომატებული, მაგრამ ტრენინგიდან 24 სთ-ში ნანახია მისი რაოდენობის ზრდა. ზრდა კორელაციაშია დასწავლის სიძლიერესთან და მარცხენა **მშმნ**-ში უფრო მეტადაა გამოხატული, ვიდრე მარჯვენაში (Solomon et al., 1997). ამ მონაცემების საფუძველზე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ აქსონის დაბოლოებებში სინაპსური ვეზიკულების რიცხვი და მიმოცვლა, ასევე ნეიროტანსმიტერების გამოყოფა **მშმნ**-ში დასწავლის შემდეგ უნდა იზრდებოდეს. მართალია, **მშმნ**-ში იმპრინტინგის შემდეგ სინაპსური ვეზიკულების რიცხვის შესახებ მონაცემები არ არის, მაგრამ წიწილებში პასიური განრიდების დასწავლიდან 24 საათში მატულობს

ვეზიკულების რიცხვი სინაპსზე. ზრდა გამოხატულია როგორც მარცხენა, ისე მარჯვენა **მშმნ**-ში, მაგრამ მარცხენაში უფრო მეტად (Stewart, et al., 1984). ნეიროტრანსმიტერის გამოყოფის მომატების შესახებ ცნობები კი წიწილებში სმენითი იმპრინტინგის კვლევებიდან არსებობს, რომელშიც მონაწილეობს **მვკ**-ის უფრო წინა ნაწილი ამ უბანში In vivo მიკროდიალიზმა აჩვენა მომატებული გლუტამატის პასუხი იმპრინტირებულ ტონზე ტრენირებიდან ორი დღის შემდეგ (Grüss, et al., 1996; Horn, 1991). თუმცა ეს მონაცემები მიუთითებს, რომ იმპრინტინგი იწვევს ტრანსმიტერის მისაწვდომობისა და გამოყოფის გაძლიერებას, ასეთი პრესინაპსური ცვლილებები შეიძლება ავსებს პოსტსინაპსურ ცვლილებებს: **პსს**-ები ტრენირებიდან 24 სთ-ში გადიდებული იყო (Horn et al., 1985).

2.1.4. იმპრინტინგი და ტვინის ასიმეტრია

იმპრინტინგთან ასოცირებული ბიოქიმიური და მორფოლოგიური ცვლილებები ძირითადად მარცხენა **მშმნ**-ში უფრო იყო გამოხატული, ვიდრე მარჯვენაში. ამის საპირისპიროდ, ნეირონული პასუხების ელექტროფიზიოლოგიური გაზომვებით ჯერჯერობით ნახევარსფერული ასიმეტრია არ დასტურდება. ბიოქიმიური კვლევები ხორციელდებოდა **მშმნ**-ის ჰომოგენიზირებულ ქსოვილებზე, რომელიც შეიცავს მასალას უჯრედებიდან, მათ შორის გლიური უჯრედებიდანაც, რომლებიც არ პასუხობენ საიმპრინტინგო სტიმულს (ის). შესაძლოა ამ უჯრედებს შეჰქონდეთ წვლილი ბიოქიმიურ და მორფოლოგიურ ასიმეტრიაში. ასევე შესაძლოა, რომ ასიმეტრია განპირობებული იყოს შედარებით მარტივი პროცესებით. დასწავლამ, შეიძლება, გამოიწვიოს სხვადასხვა სიდიდეების (როგორიცაა **პსს**-ის ზომა) აღმავალი რეგულაცია მარცხენა **მშმნ**-ში. მარჯვენა **მშმნ**-ში კი შესაძლოა, მოხდეს აღმავალი და ასევე დაღმავალი ცვლილებები, როგორც ეს ნანახია **პსს**-ის ზომის შემთხვევაში ჰიპოკამპის კბილოვან ფასციაში გრძელვადიანი პოტენციაციის (**გვპ**) შედეგად, და საბოლოოდ **პსს**-ის ჯამური ზომები არ შეიცვლება **გვპ**-ის გამომწვევი სტიმულაციის შემდეგ. თუმცა, როდესაც მოახდინეს სინაპსების დაყოფა პროფილის მიხედვით, აღმოჩნდა, რომ **პსს**-ს უბნის ზრდა ასოცირებული იყო ჩაზნექილ ხორკლოვან სინაპსებთან, ხოლო შემცირება არაჩაზნექილ ხორკლოვან სინაპსებთან (Desmond, et

al., 1986). მარჯვენა **მშმნ**-ში ორი სავარაუდო პროცესის ეფექტი დამოკიდებული იქნება მათ შედარებით სიმძლავრეზე. თუ ორივე პროცესი (მატებაც და შემცირებაც) თანაბარი დონის იქნება, იმპრინტინგის შედეგად მარჯვენა **მშმნ**-ში ცვლილება არ გამოიყვანდება (როგორც ეს იყო **ნმდა** რეცეპტორების რაოდენობის შემთხვევაში (McCabe, et al., 1991), ხოლო თუკი პროცესების დონე განსხვავებული იქნება, მაშინ იმპრინტინგმა შეიძლება მიგვიყვანოს საზომის (მაგ.: რაიმე ცილის) ჯამურ მატებამდე (ან კლებამდე), თუმცა ეს ეფექტი შესაძლოა არ იყოს ისეთივე მკვეთრი, როგორც მარცხენა **მშმნ**-ში (Solomon et al., 1997; Solomon et al., 1998). მარცხენა და მარჯვენა **მშმნ**-ში იმპრინტინგზე მიღებული ასიმეტრიული პასუხები მიუთითებს, რომ ამ ორ უბანს უნდა ჰქონდეს ურთიეთგადამფარავი, მაგრამ ამავე დროს განსხვავებული ფუნქციები დასწავლის პროცესში. არსებობს, ყოველ შემთხვევაში, ერთი ფუნქციონალური სხვაობა ორ უბანს შორის: მარჯვენა **მშმნ** მონაწილეობს **S'**-ის ჩამოყალიბებაში, ხოლო მარცხენა - არა (Cipolla-Neto, et al., 1982).

2.1.5. ჰიპოკამპური გვპ და იმპრინტინგი

ჰიპოკამპურ გრძელვადიან პოტენციაციას ხშირად მოიხსენიებენ, როგორც დასწავლისა და მეხსიერების მოდელს (Bliss, et al., 1993; Morris et al., 1990), თუმცა ამის დამამტკიცებელი მონაცემები საკმაოდ ბუნდოვანია (Bannerman, et al., 1995). მიუხედავად ამისა, **გვპ**-ს კვლევამ გამოავლინა სინაპსური სტრუქტურისა და ფუნქციების მრავალი ასპექტი, რომლებიც მოდიფიცირდება სინაპსების პოტენციაციის დროს, და რომლებიც ასევე მოდიფიცირდება **მშმნ**-ში იმპრინტინგის შედეგად. **გვპ**-სა და იმპრინტინგის დროს, ორივეგან, იზრდება დენდრიტული ქაცვების **ქსს**-ების ზომები სინაპსების რიცხვის ცვლილების გარეშე (Horn et al., 1985). ტაურინი (იხ. ზემოთ) და ნორადრენალინი (იხ. ქვემოთ) მონაწილეობენ იმპრინტინგშიც და **გვპ**-ის გვიანდელ ფაზაშიც. **გვპ** მოიცავს პრესინაპსურ ცვლილებებს, მათ შორის გლუტამატის გაძლიერებულ გამოყოფას (Choi, et al., 2003), სინაპსური ვეზიკულების მიმოცვლის პოტენციაციას და **მამკს**-ის ფოსფორილირებას (Ramakers et al., 1999). როგორც ზემოთ ვნახეთ, დასწავლაც მოქმედებს სინაპსური ვეზიკულების მობილიზაციასა და მათ მიმოქცევაზე **მშმნ**-ში. არაზრდასრული

ვირთაგვებიდან აღებულ ჰიპოკამპურ ანათლებში გვპოვდებით პოსტსინაპსური ამავე რეცეპტორების რიცხვის გაზრდას (Zhu, et al., 2002), ხოლო ზრდასრულ ვირთაგვებში იზრდება ნმდ რეცეპტორების რაოდენობა (Grosshans, 2001). ნმდ რეცეპტორების რაოდენობა ასევე იზრდება მშმ-ში იმპრინტინგის შემდეგ, თუმცა ეს ზრდა უფრო მოგვიანებით ხდება, ვიდრე ზრდასრული ვირთაგვის ჰიპოკამპში (30 წთ გვპოვდება). გარკვეული განსხვავებების მიუხედავად, ნათელია, რომ გვპოვდება და იმპრინტინგს აქვთ საერთო თვისებები, რომლებიც განაპირობებენ აქსოსპინალურ სინაპსებში ამაგზნებელი ტრანსმისიის ეფექტურობის გაძლიერებას. ჰიპოკამპური გვპოვდება შესაძლოა მონაწილეობდეს, ან არ მონაწილეობდეს, მეხსიერების ფორმირებაში, მაგრამ ის სინაპსური მექანიზმები, რომლებიც გამოაჩვენებენ მისმა კვლევამ, ფაქტურად ნამდვილად გამოიყენება იმპრინტინგში (Horn, 2004).

2.1.6. ქცევითი ასპექტები

დასწავლა და მეხსიერება ყურადღებიანობის გავლენას განიცდიან: თუ არ მოხდა მესიჯის წარდგენა რამდენიმე წამის განმავლობაში, მისი შემდგომ გახსენება საეჭვო ხდება (Broadbent, 1958). ეს და სხვა მონაცემები მიუთითებს, რომ მეხსიერების შენახვაში მონაწილე ნეირონებში ინფორმაციის შესვლა დაჭიმულია სელექციური ყურადღებით (Horn, 1965).

დასწავლა და მეხსიერება ასევე მოტივაციური მდგომარეობის ზეგავლენის ქვეშ იმყოფება, რომელსაც, ალბათ, განაპირობებს ნუშისებრი სხეული (ამიგდალა) და ტვინის ღეროსა და დიენცეფალონის დიფუზიურად პროექტირებადი სისტემები (McGaugh, 2000; Davies, 1992). იმპრინტინგის შემდეგ წიწილის წინატვინში იზრდება ნორადრენალინის, მაგრამ არა დოფამინის, დონე (Davies, et al., 1983). წინატვინის მედიალური ნაწილის ნიშნულში, რომელიც ძირითადად მშმ-საგან შედგება, ნორადრენალინის რაოდენობა დადებით კორელაციაშია დასწავლასთან (Davies, et al., 1983). ეს აღმოჩენები მიუთითებს ნორადრენალინის, მაგრამ არა დოფამინის, როლზე იმპრინტინგში. ჰიპოკამპური გვპოვდება შესწავლამ შეიძლება გაარკვეოს თუ რა უნდა იყოს ეს როლი. β-ადრენერგული რეცეპტორები განაპირობებს ტვინში ნორადრენალინის მრავალ ეფექტს. კბილოვან ფასციაში, β-ადრენერგული

ანტაგონისტები ამცირებენ გვპ-ის წარმოქმნას (Bramham, et al., 1997), ხოლო β - ადრენერგული რეცეპტორის აქტივაცია გადამწყვეტია გვპ-ს კონსოლიდაციისათვის (Swanson-Park, et al., 1999). საპირისპიროდ, დოფამინის D1/D5 რეცეპტორებს არანაირი როლი არა აქვთ გვპ-ის გამოწვევასა თუ შენარჩუნებაში. β -ადრენერგული რეცეპტორის აქტივაცია კბილოვან ფასციაში აპირობებს სინაპსინ I-ის ფოსფორილებას (Parfitt, 1992), რაც უნდა ზრდიდეს სინაპსური ვეზიკულების გამოსაყოფად მზადყოფნას და ამდენად, აძლიერებდეს სინაპსურ გადაცემას. ამგვარად, სინაპსური ცვლილებები, რომლებიც ასოცირებულია იმპრინტინგთან მშმნ-ში (Horn, 1985) და გვპ-ს შენარჩუნებასთან კბილოვან ფასციაში (Abraham, 2003), არ არის უბრალოდ დამოკიდებული სენსორული სიგნალით გამოწვეული იმპულსის აქტივობაზე; ისინი ასევე დამოკიდებული შეიძლება იყოს ჰეტეროსინაპსურ სიგნალებზე იმ სისტემებიდან, რომლებიც განაპირობებს მოტივაციურ და ყურადღებით მდგომარეობებს.

2.1.7. გენთა ექსპრესია და მეხსიერება

იმპრინტინგის დროს და მის შემდეგ მეხსიერების ჩამოყალიბების მოლეკულური მექანიზმების გარკვევის მცდელობაში ყურადღება მიპყრობილი იყო ნეირონული ფუნქციონირებისათვის მნიშვნელოვანი ცილებისაკენ. განსხვავებულ მიდგომას წარმოადგენს გენის ექსპრესიის შესწავლა, რომლის დროსაც ხდება არა ცალკეულ ცილებზე კონცენტრირება, არამედ, მაგალითად, სუბტრაქციული ჰიბრიდიზაციის საშუალებით იდენტიფიცირდება გენები, რომელთა მრნმ-ები განიცდიან აღმავალ ან დაღმავალ რეგულაციას ერთ ნიმუშში სხვასთან შედარებით (Solomon et al., 2003). მეხსიერების ჩამოყალიბებაში შესაძლო მონაწილე გენების გამოსავლენად, ადარებდნენ ორ მშმნ-ს ნიმუშს, ერთი მიღებული წიწილებიდან, რომლებიც წვრთნის შემდეგ უპირატესობას ანიჭებდნენ იმპრინტ-სტიმულს (“კარგი დამსწავლელები”), მეორე კი წიწილებიდან, რომლებიც ამჟღავნებდნენ მცირე ან არავითარ უპირატესობას (“ცუდი დამსწავლელები”). გამოვლინდა 30-ზე მეტი კანდიდატი გენი და მოხდა ორი მათგანის ტრანსლაციის პროდუქტის შემდგომი შესწავლა: ამილოიდის წინამორბედი ცილა (აწც) და მამკს. ორივე ცილის დონე,

ტრენირებიდან 24 საათში, გაიზარდა დასწავლის ხარისხთან ერთად. ეფექტი მარცხენა **მშმნ**-ში უფრო მკვეთრი იყო, ვიდრე მარჯვენაში (Horn, 2004).

აწც მონაწილეობს ალცჰაიმერის დაავადებაში, რომელიც მოიცავს მეხსიერების დაკარგვასა და სინაპსური ორგანიზაციის ცვლილებებს (Selkoe, 2002). **მამკს**, **აწც** და კლატრინი სხვადასხვაგვარად მონაწილეობენ სინაპსური ვეზიკულების ტრეფიკინგში, მობილიზაციაში, გამოყოფასა და უკუშთანთქმაში (Maycox, et al., 1992; Horn, 1998). ამ ცილების დასწავლა-სპეციფიკური ცვლილებები ამყარებს თვალსაზრისს, რომ მეხსიერების ფორმირების დროს სპეციფიკური უჯრედული გზების ცილები კოორდინირებულად რეგულირდებიან. ამასთან ერთად, **აწც** და **მამკსი**, ორივე შესაძლოა მოქმედებდეს გენთა ექსპრესიაზე.

2.1.8. მეხსიერების კვალის ძიება

ითვლება, რომ მეხსიერების ნეირონული კვალი ასახავს დასწავლის სტიმულს და აქტივდება მის მიერ. კვალი უფრო იხვეწება, თუ ტრენინგის პროცესში ამ სტიმულს მრავალჯერადად წარუდგენენ. **მშმნ**-ს ზოგიერთი ნეირონი იმპრინტინგ-სტიმულს (ის) პასუხობს მკაცრად სელექციურად და ამ მხრივ მეხსიერების კვალის პოსტულირებული თვისებების მატარებელია. იმის გამოსარკვევად, თუ როგორ ვითარდება ეს პასუხები წვრთნის მიმდინარეობისას და შემდგომ, ჩატარებულია შემდეგი კვლევა: იწერდნენ ნეირონულ პასუხებს **ის**-ზე და არა-საიმპრინტინგო სტიმულზე (**აის**) ტრენირების წინ (T1) 24-საათიან წიწილებში, რომლებიც იზრდებოდნენ სიბნელეში, და შემდეგ უკვე წვრთნის ორ 1 საათიან სესიას შორის (T2). პასუხები შემდგომ კვლავ იწერებოდა -0.5 (T3), -4.5 (T4) და -22 (T5) საათებზე წვრთნის დამთავრებიდან. გაუწვრთნელ წიწილებს აძლევდნენ იგივე ტესტებს, სხვა შემთხვევაში კი ტოვებდნენ სიბნელეში (Horn, et al., 2001). **აის**-ზე მოპასუხე ნეირონების პროცენტი (**აის** ნეირონები) გაწვრთნილ და გაუწვრთნელ წიწილებში მნიშვნელოვნად არ იცვლებოდა დროის განმავლობაში, მაშინ როცა **ის**-ზე მოპასუხე ნეირონთა (**ის** ნეირონები) პროცენტი იცვლებოდა. ტრენირებამდე **მშმნ**-ის ნეირონთა 7% პასუხობდა **ის**-ს, წვრთნის მიმდინარეობისას პროცენტი ორმაგდებოდა, მაგრამ საკმაოდ მალე (T4-ზე) ეცემოდა საწყის (ტრენირებამდე) დონემდე, მეორე დღეს კი

უფრო მეტად იზრდებოდა - სამმაგდებოდა (T5 21.9%). **მშმნ**-ს 230 ინდივიდუალური ნეირონის პასუხების დეტალურმა კვლევამ გამოამჟღავნა საინტერესო ფაქტი: ნეირონების უმეტესობა, რომლებიც დროის ერთ წერტილზე პასუხობდნენ **ის**-ს, დროის მეორე წერტილში აღარ პასუხობდნენ მას, და პირიქით, ის ნეირონები, რომლებიც მანამდე არ რეაგირებენ **ის**-ზე, სხვა დროს პასუხობდნენ მას. თუმცა, თუ ტრენირება ამყარებს ამ პასუხებს (Hebb, 1949), სწორედ საწინააღმდეგოდ უნდა ყოფილიყო.

ის ნეირონების პროცენტებში ნანახი ფლუქტუაციები, სხვადასხვა მონაცემებზე დაყრდნობით, შეიძლება აიხსნას შემდეგი ჰიპოთეზით: ნეირონების გარკვეული პოპულაცია პასუხობს **ის**-ს, შემდეგ წყვეტს მასზე რეაგირებს და შემდეგ, რამდენიმე საათის გასვლისას, კვლავ პასუხობს მას (Horn, 2004).

იმპრინტ-სტიმულზე მოპასუხე ნეირონების რიცხვის თავდაპირველი ზრდა შესაძლოა განპირობებული იყოს ამ სტიმულით გააქტივებულ ნეირონულ გზებში ამაგზნებელი სინაპსური გადაცემის გაძლიერებით (“ჰომოსინაპსური გაადვილება”). ზოგიერთი უჯრედული მექანიზმი, რომელიც შესაძლოა მონაწილეობდეს ამ გაძლიერებაში, ჩვენ ზემოთ განვიხილეთ. მაგრამ რა განაპირობებს გარკვეული ნეირონების **ის**-ისადმი პასუხის გაქრობას? მონაცემები მიუთითებს, რომ ეს არ უნდა იყოს გამოწვეული პოსტსინაპსური ინჰიბიციით, თუმცა შესაძლებელია გამომდინარეობდეს იმ ნეირონების ინჰიბირებიდან, რომლებიც აფერენტული არიან **მშმნ**-ს მიმართ. ალტერნატიულად, სინაპსებმა, რომლებიც თავდაპირველად ტრენირების შედეგად გაადვილებულ მდგომარეობაში არიან, შეიძლება განიცადონ ჰომოსინაპსური დეპრესია უჯრედული მექანიზმებით, რომლებიც მსგავსია ჰაბიტუაციაში მონაწილე მექანიზმებისა, კერძოდ კი გამოყოფილი ტრანსმიტერის რაოდენობის შემცირების გზით (Horn, et al., 1970).

ჩაქრობის შემდეგ **მშმნ**-ს ნეირონების იმპრინტ-სტიმულზე რეაქციის უნარი კვლავ აღდგება. ამას ხელს უნდა უწყობდეს ტრენირებიდან -7.5 საათში აღნიშნული **ნმდა** რეცეპტორების რიცხვის მატება (McCabe, et al., 1991). ეს მატება მას შემდეგ ხდება, რაც T4-ზე პასუხები შემცირდა. **ნმდა** რეცეპტორების აღმავალმა რეგულაციამ შეიძლება გაზარდოს პოსტსინაპსური ნაკადები, დენდრიტულ ქაცვებში Ca^{2+} -ის დონე და გამოიწვიოს უჯრედშიდა მოვლენათა თანამიმდევრობა, რომელიც წარმოქმნის ან გაზრდის რეტროგრადულ სიგნალს ქაცვიდან მის პრესინაპსულ ბუტონზე

(Horn, 1985) ამ სიგნალმა შესაძლოა გააძლიეროს ტრანსმიტერის მობილიზაცია და გამოყოფა, როგორც ნავარაუდები იყო გვკ-სათვის, და უკუშეაქციოს ჰომოსინაპსური დეპრესია, რომელიც, როგორც აღინიშნა, განაპირობებს ნეირონული პასუხის ჩაქრობას მშმნ-ში. პასუხის უკვე მოგვიანებით აღდგენა შეიძლება მოიცავდეს იმ გენების ექსპრესიას, რომელთა ცილოვანი პროდუქტები მონაწილეობენ ვეზიკულების გადატანაში, მობილიზაციასა და გამოყოფაში (Horn, 2004).

პასუხის აღდგენა შესაძლოა რეგულირდება ძილითაც. ძილი აძლიერებს მონოკულარული დეპრივაციით გამოწვეულ კავშირების ცვლილებებს ვიზუალურ ქერქში (Frank, et al., 2001); ამასთან ერთად, არსებობს მონაცემები, რომ ახლადფორმირებული მეხსიერებები სტაბილიზდება ძილის დროს მრავალ ძუძუმწოვარაში, მათ შორის ადამიანშიც (Maquet, 2001).

არიან თუ არა მშმნ-ს ნეირონები წინასწარ განწყობილი, რომ უპასუხოთ იმპრინტ-სტიმულის დამახასიათებელ ნიშნებს? კვლევები არ ეთანხმება ამ ჰიპოთეზას, არამედ ამყარებს შეხედულებას, რომ ტრენირებამდე, სენსორული სიგნალები შემთხვევითად აღწევს მშმნ-ს გარკვეულ ნეირონებთან (Bateson, et al., 1994).

აღნიშნული კვლევების შედეგად გამოვლენილი ცვლილებები ნეირონულ პასუხებში მკვეთრად არახაზობრივია და ამდენად კითხვის ნიშნის ქვეშ აყენებს მოსაზრებას, რომ დასწავლის დროს სინაპსების სიძლიერე, და აქედან გამომდინარე მეხსიერების სიტემაში ნეირონების პასუხები, მონოტონურად იზრდება სტაბილურ ზღვარამდე (Hebb, 1949).

წიწილები განაგრძობენ იმპრინტ-სტიმულისათვის უპირატესობის მინიჭებას ტრენირებიდან დაახლოებით 4.5 საათში, მიუხედავად იმისა, რომ ამ დროს ის-ზე მოპასუხე ნეირონთა წილი მშმნ-ში დაცემულია ტრენირებისწინა დონემდე. ეს დროებითი დაცემა დროში ემთხვევა პარალელური შენახვის სისტემის, S', წარმოქმნას, რომელიც ყალიბდება მშმნ-ს სანახის შემდეგ და შეუძლია იმპრინტირებული უპირატესობის შენარჩუნება მშმნ-ს არარსებობის დროსაც (Cipolla-Neto et al., 1982; Honey et al., 1995; Horn et al., 1983). მშმნ-ში მრავალი ნეირონის ის-ზე პასუხის დროებითად შეფერხებას შესაძლოა სასარგებლო ფუნქცია ჰქონდეს, განსაკუთრებით, თუ ეს გაქრობა ჰომოსინაპსური დეპრესიის შედეგია, როდესაც ფერხდება ტრანსმისია გარკვეულ სინაპსებში. ასეთი სინაპსები მიუწვდომელი უნდა

გახდეს როგორც ის-ის, ასევე სხვა ნებისმიერი სტიმულის შესახებ სიგნალის გადაცემისათვის. ამ მიუწვდომლობამ შეიძლება დაიცვას ახლად შემენილი, პოტენციურად არასტაბილური კვალი შემდგომი დასწავლის მიერ დარღვევისაგან და, ამდენად, წარმოადგენდეს “კატასტროფული ჩარევის” (როდესაც ტრენირება იწვევს წინა “მეხსიერების კვალის” გახლეჩვას) თავიდან ასაცილებელ მექანიზმს (McCloskey, et al., 1989). თუ ნეირონულ პასუხებში მსგავსი ვარიაციები მეხსიერების სხვა სისტემებშიც არის ნანახი, შესაძლოა ისინიც იყენებდნენ S' -ის მსგავს პარალელურ სანახს, რომელიც იცავს დასწავლილ ინფორმაციას.

ჰები (Hebb, 1949) თვლიდა, რომ დასწავლის შედეგად უჯრედთა ჯგუფები ყალიბდება, რაც “რეპრეზენტაციული პროცესის უმარტივეს მაგალითს წარმოადგენს”. მან ივარაუდა, რომ ამ ჯგუფებში ნეირონები სინაპსურად ურთიერთდაკავშირებულნი არიან და კავშირების სიმძლავრე იზრდება დასწავლის შედეგად. ამრიგად, ნეირონების ანსამბლში, რომლებიც პასუხობენ იმპრინტ-სტიმულს, ერთ ის ნეირონში მოქმედების პოტენციალმა დასწავლის შემდეგ უფრო უნდა ააგზნოს მეორე ის ნეირონი, ვიდრე ამას აკეთებდა დასწავლამდე. ამასთან ერთად, ეს სინაპსური გაძლიერება უნდა მოხდეს იმ ნეირონებს შორის, რომლებიც პასუხობენ ტრენირების სტიმულს (ის-ს) და არა სხვა სტიმულზე (მაგ.: აის) მოპასუხე ნეირონებს შორის. ასეთი ფუნქციური შეწყვილების დამამტკიცებელი მონაცემების პოვნას ცდილობდნენ ნეირონთა წყვილების აქტივობის თანადროული ჩანაწერების ჯვარედინი კორელოგრამების კომპიუტერული დამუშავებით (Nicol et al., 1998). შედეგი მიუთითებს, რომ **მშმნ**-ში ნეირონთა წყვილებს შორის ფუნქციური შეწყვილება არ განიცდის სელექციურ ზემოქმედებას დასწავლის მიერ. თუ გავითვალისწინებთ, რომ **მშმნ** წარმოადგენს მეხსიერების საცავს, მასში ჰების უჯრედული ანსამბლების არსებობა არ დასტურდება.

დასწავლის შედეგად, **მშმნ**-ს ზოგიერთი ნეირონი სელექციურად პასუხობს იმპრინტირებულ სტიმულს. მონაცემები ადასტურებს იდეას, რომ ეს ნეირონები წარმოქმნიან პარალელურ, ძირითადად შეუწყვილებელი ელემენტების კრებულს ამ უბნის შიგნით. ასეთი ელემენტებისაგან შემდგარ სისტემას უნდა გააჩნდეს ინფორმაციის შენახვის უფრო მეტი უნარი, ვიდრე სისტემას, სადაც ელემენტები მჭიდროდაა ერთმანეთთან შეწყვილებული. **მშმნ**-ს ასეთი ნეირონების გამოსავალი

ასახავდა იმპრინტინგის სტიმულის შემადგენელ თვისებებს და შემდგომში შეიცავდა მის ჩანაწერს ან “ნეირონულ კვალს” (Horn, 2004).

ცხოველებს, შესაძლოა, გააჩნიათ წინასწარგანწყობა (პრედისპოზიცია), რომ უპასუხონ და დაისწავლონ გარკვეული საგნები უფრო მეტად, ვიდრე სხვები (Hinde, et al., 1972). თუ ერთი დღის წიწილებს მოვათავსებთ მოძრავ ბორბალში ან უბრალოდ ხელში ავიყვანთ სიბნელეში, ისინი უპირატესობას ანიჭებენ თავისივე სახეობის მოძრავ ფიტულს ხელოვნურ ობიექტთან შედარებით (როგორიცაა მაგ. მბრუნავი წითელი ყუთი), როდესაც მათ ჩაუტარდებათ უპირატესობის ტესტი -24 საათის შემდეგ (თუმცა არა 2 სთ-ის შემდეგ) (Hampton, et al., 1995). წინასწარგანწყობის “სამიზნეებს” წარმოადგენენ თავი და კისერი. თუმცა, წიწილებს, რომლებშიც გამოხატულია წინასწარგანწყობა, მაინც შეუძლიათ სხვა სტიმულის მახასიათებლების დასწავლა (Bolhuis et al., 1989). ეს კვლევები მიუთითებს, რომ წიწილების მიერ გამოხატული უპირატესობები, სულ მცირე, ორი პროცესის გავლენას განიცდის. პირველი არის წინასწარგანწყობის განვითარება თანასახეობების, ან მათი მსგავსი ნიშნების მქონე ობიექტების, მიმართ. **მშმნ** არ არის აუცილებელი ამ პროცესისათვის, რადგანაც ის გამოხატულია **მშმნ**-ს ბილატერალური დაზიანების მქონე წიწილებშიც (Johnson, et al., 1987). მეორე კი არის დასწავლის პროცესი, რომელიც საჭიროებს **მშმნ**-ს. ბუნებრივ პირობებში, წინასწარგანწყობა მიმართავს წიწილას მისივე სახეობის არსებისაკენ, ჩვეულებრივ დედისაკენ, და შემდგომ ხდება მისი ინდივიდუალური მახასიათებლების დასწავლა (Johnson, et al., 1986). არსებობს უტყუარი მონაცემები, რომ ადამიანის ჩვილებშიც არის მსგავსი წინასწარგანწყობა და რომ ეს წინასწარგანწყობა ასევე ურთიერთქმედებს დასწავლასთან (Johnson, et al., 1991).

თუ წიწილების ხელში აყვანა ან სხვა არასპეციფიკური სტიმულაცია არ მოხდა შესაბამის დროს, ისინი ვერ განავითარებენ წინასწარგანწყობას. ასეთ წიწილებში შემდგომი უპირატესობა განსაზღვრულია მხოლოდ დასწავლის პროცესით (Bolhuis, et al., 1989). მოქმედებს თუ არა წინასწარგანწყობის უქონლობა შვილობრივი კავშირების სიძლიერესა და სხვა მასთან დაკავშირებულ ქცევებზე, როგორიცაა წყვილის არჩევა, უცნობია.

წინასწარგანწყობის ნეირონული მექანიზმების მარტივი მოდელი შეიძლება მოიცავდეს ნეირონების ჯგუფს, რომელთაც შერჩევითად შეუძლიათ უპასუხონ

თავისა და კისრის დამახასიათებელ ნიშნებს (მაიმუნის საფეთქლის ქერქის ნეირონების მსგავსად, რომლებიც შერჩევითად პასუხობენ სახეებს (Perrett, 1982)). გამოჩეკვის დროს ამ ჯგუფის ნეირონებზე სინაპსები შესაძლოა, არ იყოს ფუნქციურად ეფექტური. ისინი ეფექტური გახდება, ნეირომოდულატორული სიგნალის (როგორიცაა სეროტონინი) მიღების შემდეგ, რომელიც გამოიყოფა წიწილის გაღვიძების შედეგად. როდესაც წიწილა შემდგომში შეხვდება მისი სახეობის ნიშნების მქონე ობიექტს, ეს ნეირონები გააქტივდება. მაშინ წიწილა უფრო მიუახლოვდება ამ ობიექტს, ვიდრე მსგავსი ნიშნების არმქონე სხვა ობიექტს. წინასწარგანწყობის განუვითარებლობას შესაძლოა საფუძვლად ედოს სინაპსური რეგრესია. ეს კი იმ შემთხვევაში შეიძლება მოხდეს, თუ თავსა და კისერზე მოპასუხე ნეირონთა სინაპსები შესაბამის დროს არ მიიღებენ სიგნალს (Horn, 2004).

უპირატესობის ცხრილი გვაწვდის იმის ზომას, თუ რამდენი ისწავლეს წიწილებმა საიმპრინტინგო სტიმულის შესახებ ტრენირების დროს (Bolhuis et al., 2000). მრავალ ექსპერიმენტში, უპირატესობა ფართოდ ვარირებს: ზოგი წიწილა უფრო მეტს სწავლობს, ვიდრე დანარჩენი. შესაძლოა, ამის მიზეზი იყოს ონტოგენური სელექცია, ანუ, მაგალითად, ის, რომ ასეთი წიწილები იჩეკებიან მეტი პოტენციურად Fos-იმუნოდადებითი ნეირონებით და ამიტომ, ეს წიწილები არიან უკეთესი დამსწავლელები ან სწავლობენ უფრო სწრაფად, ვიდრე ისინი, რომელთაც ნაკლები აქვთ ასეთი ნეირონები. მაგრამ, ექსპერიმენტულად ეს ჰიპოთეზა არ დასტურდება და არსებობს მყარი მტკიცებულებები, რომ Fos-დადებითი ნეირონების (და ასევე სხვა სიდიდეებისაც) რიცხვის ზრდა დასწავლის პირდაპირ შედეგს წარმოადგენს (McCabe, et al., 1994). ამრიგად, დასწავლის უნარში არსებული სხვაობების ნეირონული საფუძველი საკმაოდ გაურკვეველი რჩება.

თუ ყოველივე ზემოთთქმულს შევაჯამებთ, შეიძლება შემდეგი ითქვას: მეხსიერების ფორმების ნაირსახეობის მიუხედავად (Squire, 1987), შესაძლებელია, რომ შენახვის ნეირონალური მექანიზმები განსხვავდებოდეს მხოლოდ ხარისხითა და დონით, რომელზეც მეხსიერების კვალი ნარჩუნდება და ჩართავს მეხსიერების სხვა კვანძებსა და გამავალ მოტორულ სისტემებს. თუ გავითვალისწინებთ ჰაბიტუაციის ნეირონული მექანიზმების ზოგიერთი ასპექტის განზოგადება, შესაძლებელია, რომ ახალგაზრდა წიწილებში იმპრინტინგის რეკოგნიციული მეხსიერების

განმაპირობებელი ნეირონული პროცესებიც ასევე განზოგადდეს სხვა ცხოველებში მეხსიერების სხვა ფორმებზეც.

იმპრინტირების შემთხვევაში, კვალის ჩამოყალიბება არ წარმოადგენს სწორხაზოვან პროცესს: ნეირონული პასუხები ჯერ მატულობს და მერე ქრება, სანამ კვლავ გაიზრდება. პასუხების საწყისი ზრდა შესაძლოა, ასახავდეს ამაგზნებელი სინაპსების სინაპსური ეფექტურობის გაზრდას და იყენებდეს ზოგიერთ იმ სინაპსურ მექანიზმებს, რომლებიც გამოვლენილია გვპ-ს კვლევებში. ნეირონული პასუხების შემდგომი გაქრობა უნდა ასახავდეს ხანმოკლე სინაპსურ დეპრესიას. ამ პერიოდს კი მოჰყვება სინაპსური გადაცემის გაძლიერების პერიოდი. ამგვარად, შესაძლოა, რომ იმპრინტირებაში, სინაპსური დეპრესია და სინაპსური გაადვილება კონსტრუქციულად ურთიერთქმედებდეს, თუმცა გაადვილება აუცილებლად დომინირებს. ინჰიბიტორული პროცესები ასევე მონაწილეობენ და, შესაძლოა, ისინი პასუხებს უსაბამებენ იმპრინტირების სტიმულს.

ორივე ნახევარსფეროს მშენებლობა ემსახურება მეხსიერების შენახვას, თუმცა მათი როლები განსხვავდება. მშენ-ს გარეთ და მის პარალელურად ყალიბდება შემდგომი შენახვის სისტემა, რომელიც იცავს ინფორმაციას, როდესაც მშენ ვეღარ ასრულებს თავის ფუნქციას. ადამიანებსა და სხვა პრიმატებშიც არსებობს რამდენიმე მეხსიერების სისტემა (Weiskrantz, 1982).

მოზრდილებში, წარსული გამოცდილება წარმართავს ქცევას. ძალიან ახალგაზრდა წიწილაში, და სხვა ცხოველებშიც (Johnson, et al., 1997), წინასწარგანწყობა ასრულებს ამ როლს. წიწილებში, შესაძლებელია, რომ გავაცალკევოთ, ქცევით და ნერვულ დონეებზეც (Johnson, et al., 1986), წინასწარგანწყობისა და დასწავლის პროცესები და გამოვიკვლიოთ, როგორ ურთიერთქმედებს ეს ორი პროცესი.

დასწავლისა და მეხსიერების ნეირონული საფუძვლები კვლევაში წარმატებების მიუხედავად, უამრავი კითხვა რჩება. ჩვენ საკმაოდ შორს ვართ, რომ დავინახოთ, მიკროსკოპით ან ტვინის იმიჯინგ ტექნიკის საშუალებით, მეხსიერების ნეირონალური კვალი. ჩვენ არ ვიცით, მონაწილეობენ თუ არა გარკვეული ტიპის ნეირონები სპეციფიკურ შემეცნებით ფუნქციებში. ცოტაა ცნობილი იმის შესახებ, თუ როგორ ურთიერთქმედებენ ნეირონები მეხსიერების სისტემიდან სხვა მეხსიერების სისტემის ნეირონებთან თუ ტვინის სხვა უბნებთან. ცნობილია, რომ ძილის

გარკვეული ფაზები მნიშვნელოვანია დასწავლილი ინფორმაციის წარმატებით შენახვისათვის, მაგრამ არ ვიცით, როგორ მოქმედებს ძილი ნეირონულ დონეზე. არ ვიცით მოლეკულურ მექანიზმთა მთელი სპექტრი, რომლებიც მონაწილეობენ მეხსიერების პროცესებში და გვაქვს მხოლოდ შეზღუდული ცოდნა იმის შესახებ, თუ როგორ გამოიხატებიან ეს მექანიზმები ნეირონული სტრუქტურისა და ფუნქციების, და შესაბამისად ქცევის, ცვლილებებში. ამ კითხვებზე პასუხის პოვნა აუცილებელია დასწავლისა და მეხსიერების ნეირონული საფუძვლების გასაგებად, ნეიროდეგენერაციული ამნეზიების გამომწვევი დაავადებების პროცესებში გასარკვევად და მათი ეფექტური მკურნალობების შემუშავებისათვის.

2.2. მირისტოილირებული ალანინით მდიდარი პროტეინ კინაზა C-ს სუბსტრატი (მამპკს)

2.2.1. მამპკს ცილის ზოგადი დახასიათება

პროტეინკინაზა C-ს (პკC-ს) ერთ-ერთ მთავარ სუბსტრატს წარმოადგენს მირისტოილირებული ალანინით მდიდარი პროტეინკინაზა C-ს სუბსტრატი (მამპკს) (Wu, et al., 1982).

მამპკს ცილა ნაპოვნია ადამიანში, ვირთაგვაში, თაგვში, ძროხაში, წიწილაში, *Torpedo californica*-ში და *Xenopus laevis*-ში. მამპკს-ის მსგავსი ცილა DAKAP200 ნაპოვნია დროზოფილაშიც (Rossi, et al., 1999). ამ ცილის მოლეკულური წონა სახეობების მიხედვით 20 დან 32 ათასის ფარგლებში მერყეობს, მაგრამ ყველა ისინი მიგრირებენ ანომალურად ნატრიუმის დოდეცილსულფატის (ნდს) ელექტროფორეზის დროს (Graff, et al., 1989).

2.2.2. მამპკს ცილის ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები

მამპკს-ის მოლეკულას აქვს ძლიერ მოღუნული ფორმა, რითაც აიხსნება მისი ანომალური მიგრაცია ფორეზის დროს. მამპკს ცილის 4 სერინის ნაშთიდან 3 სერინი განიცდის ფოსფორილირებას პკC-ს მიერ. ფოსფორილირების საიტი მოთავსებულია ცილის უკიდურესად ფუძე მონაკვეთში თვითონ ცილა კი მთლიანობაში მჟავე ბუნებისაა. მამპკს ცილა პკC-ის სუბსტრატია როგორც *in vivo* ისე *in vitro* სისტემებში (Manenti et al., 1992 ; Shen and Meyer 1999).

მამპკს ცილა შეიცავს სამ კონსერვირებულ უბანს: N-ბოლო, სადაც ხდება მირისტოილირება (კო-ტრანსლაციური ლიპიდური მოდიფიკაცია მირისტოილის მჟავას მიერთებით), უცნობი ფუნქციის მქონე MH2 დომენი და ფოსფორილირების საიტის დომენი, რომელიც შეიცავს ყველა იმ სერინის ნაშთს, რომელიც პკC-ს მიერ ფოსფორილირდება. ეს დომენი უაღრესად მნიშვნელოვანია მამპკს ცილის ფუნქციისთვის და მას ეფექტორული დომენი ეწოდება (ედ). ედ, ცილის დანარჩენი ძლიერ მჟავური ნაწილისგან განსხვავებით, ძლიერ ფუძოვანი ბუნებისაა. მამპკს

ურთედება მემბრანას ვინაიდან მისი ფუძოვანი ნაშთები ელექტროსტატიკურად ურთიერთქმედებენ მემბრანის მჟავე ბუნების ლიპიდებთან და მირისტატი ჰიდროფობულად ჩაერთვება მემბრანაში (McLaughlin, et al., 1995).

მამპკს ცილის ფოსფორილირება **პკC**-ს მიერ (რომელიც სერინის ნაშთებზე ამაგრებს უარყოფითად დამუხტულ ფოსფატის ჯგუფებს) შლის **მამპკს**-ის მემბრანასთან ურთიერთქმედებას მრავალ უჯრედულ ტიპში (Rosen, A., 1990). ფოსფოსერინის ნაშთების მიერ ფუძოვანი ნაშთების დადებითი მუხტის ნეიტრალიზაციის შედეგად ისპობა **ედ**-ს ელექტროსტატიკური წვლილი მემბრანასთან მიერთებაში და მხოლოდ მირისტოილირება აღარაა საკმარისი ცილის მემბრანაზე მიმაგრებულ მდგომარეობაში დასარჩენად. მწვანე ფლუორესცენცირებადი ცილით მონიშვნის მეთოდის გამოყენებით ნანახი იქნა, რომ მემბრანაზე მიერთებული **მამპკს** ფოსფორილირდება მემბრანაზე მიერთებული გააქტივებული **პკC**-ს მიერ (Ohmori, et al., 2000). ეს მიუთითებს იმაზე, რომ ფოსფორილირებისთვის მნიშვნელოვანია კინაზის და მისი სუბსტრატის სუბუჯრედული ლოკალიზაცია. (Bhatnagar, et al., (1997); Murray, et al., (1997); Murray, et al.,(2002)). **მამპკს**-ის ფოსფოსერინის ნაშთების თანამიმდევრულ დეფოსფორილირებას პროტეინ ფოსფატაზა 1-ის, პროტეინ ფოსფატაზა 2A-ის და კალცინეირინის მიერ თან სდევს ცილის კვლავ მემბრანასთან მიერთება (Thelen, et al., (1991); Seki, et al., (1995)). ეს მოლეკულური მოდელი ხსნის **მამპკს**-ის პლაზმური მემბრანიდან ციტოზოლში ტრანსლოკაციას. თუმცა **მამპკს**-ის ფოსფორილირებამ შეიძლება გამოიწვიოს მისი ტრანსლოკაცია შიდაუჯრედული მემბრანისკენ (მაგ. ვიბრობლასტების ლიზოსომებში), რაც შეიძლება აიხსნას დღეისათვის უცნობი ცილა-ცილოვანი ურთიერთქმედებით (Allen, et al., 1995).

2.2.3. მამპკს ცილის მემბრანასთან ურთიერთქმედება

არსებობს ჰიპოთეზა, რომლის თანახმადაც **მამპკს** უკავშირდება ლიპიდურ ბიშრეს სინერგისტული ურთიერთქმედებით მირისტოილისა და ფუძე დომენის საშუალებით და ეს კავშირი აადვილებს **მამპკს**-ის ფოსფორილირების ეფექტურობას. **პკC**-ზე დამოკიდებული ფოსფორილირება წარმოშობს სამ უარყოფითად დამუხტულ

ფოსფატურ ჯგუფს ფუძე ეფექტურ დომენში, რაც ამცირებს საერთო მუხტს +13 დან +7 მდე, შესაბამისად მცირდება ურთიერთქმედება მჟავე ფოსფოლიპიდებთან და სტიმულირდება მამპკს-ის ჩამოცილება ნერვული დაბოლოებების პლაზმური მემბრანიდან (Thelen, et al., 1991). ეს პროცესი არის შექცევადი და დეფოსფორილირების შემთხვევაში ხდება მამპკს-ის რეასოციაცია მემბრანაზე. რეგულაციის ასეთი ციკლი მნიშვნელოვანია მამპკს-ის ფუნქციისათვის. პკC-ს ფოსფორილირების საიტის წერტილოვანი მუტაცია იწვევს დეფექტებს შესაბამის უჯრედებში, წარმოიქმნება ქიმერული მამპკს-ის მოლეკულა, რომელიც შეიცავს ორ პალმიტინის მჟავას, მათი ამინო ტერმინალური ბოლო შეცვლილია მხოლოდ ერთი მირისტოლის ნაშთით. ეს მოდიფიკაცია, ხელს უშლის მემბრანიდან ამ ცილის გამოთავისუფლებას ფოსფორილირების გზით, რაც განაპირობებს დეფექტს უჯრედების გამრავლებაში (Suzuki, et al., 1994).

ლიპიდებთან ჰიდროფობული და ელექტროსტატიკული არასპეციფიკური ურთიერთქმედების გარდა, რომელიც ზემოთ იყო აღწერილი, არის მრავალი ექსპერიმენტული მონაცემები მამპკს-ის მემბრანასთან დაკავშირების შესახებ, რომლებიც მოიცავს სპეციფიკურ ცილა-ცილოვან ურთიერთქმედებებს. მაგ., მამპკს-ს აქვს გარკვეული ლოკალიზაცია მაკროფაგებში და ამ სტრუქტურაში შემავალი მამპკს სავარაუდოდ კეტავს კონტაქტს ტრანზიტულ ადჰეზიურ კომპლექსებთან, რომლებიც ფორმირდება ლოკომოციის განმავლობაში (Rosen, et al., 1990). ფაგოციტოზის დროს მამპკს კონცენტრირდება ფორმირებადი ფაგოსომების გარშემო, სადაც ის კოლოკალიზდება პკC-თან, F-აქტინთან და ცილა ტალინთან. ფიბრობლასტებში მამპკს-ის ფოსფორილირება იწვევს ტრანსლოკაციას პლაზმური მემბრანიდან ლიზოსომებში და ეს ხელახალი განაწილება თავს იჩენს ციტოზოლის ინტერმედიალურ ნაწილში. In vivo და In vitro კვლევებით ნაჩვენებია, რომ მამპკს შეიძლება ფოსფორილირდეს პროლინ-მიმართული კინაზების მიერ, როგორიცაა მაგ.: მიტოგენ გააქტივებადი პროტეინ კინაზები (მგპკ) და ციკლინ დამოკიდებული კინაზები (ცდკ). დღეისათვის მთლად გარკვეული არ არის ამ ტიპის კინაზების როლი მამპკს-ის ბიოლოგიაში (Taniguchi, et al., 1994 ; Yamauchi, et al., 1998 ; Manenti, et al., 1999).

2.2.4. მამპკს ცილის ბიოლოგიური ფუნქცია

მამპკს-ის მკვეთრად გამოხატული ფუნქციები არ არის ჯერ-ჯერობით მთლად ნათელი, თუმცა ცნობილია, რომ იგი მონაწილეობს მემბრანულ ტრანსპორტსა და მიტოგენეზში, ტვინის განვითარების რეგულაციაში, პოსტნატალურ გადარჩენაში, უჯრედულ მიგრაციასა და ადჰეზიაში, ნეიროსეკრეციაში, ასევე ენდო-, ეგზო- და ფაგოციტოზში (მიმოხილვისათვის Arbuzova, et al., 2002). მამპკს უხვადაა წარმოდგენილი უჯრედების ზრდის კონუსებში და მისი რაოდენობა განვითარების მიხედვით იცვლება ტვინში, მასთანაა დაკავშირებული ნეირონთა მიგრაცია, კორტიკალური ლამინაცია, ნეირონების განტოტვის პროცესები და სინაფსური მომწიფება; იგი არეგულირებს უჯრედში თავისუფალი კალმოდულინის დონეს და ასევე შესაძლოა იგი ახორციელებს აქტინის სტრუქტურის ჩამოყალიბების რეგულაციას (Higo, et al., 2006; Traniguchi, et al., 1993; Kim, et al., 1994). უფრო მნიშვნელოვანია, რომ ფოსფორილირება იწვევს ასევე ინტაქტური მამპკს-ის გადაადგილებას იმ ფოსფოლიპიდური ვეზიკულებიდან, რომლებიც შეიცავენ მჟავე ლიპიდებს. ნავარაუდებია ასევე, რომ კალციუმ-კალმოდულინი (რომელიც ასევე უკავშირდება ფუძე დომენს) ან იონური ძალის ზრდა (რომელიც ამცირებს ელექტროსტატიკურ ურთიერთქმედებას) იწვევს მამპკს-ის მოცილებას ფოსფოლიპიდური ვეზიკულებიდან, რაც წააგავს ფოსფორილირების ეფექტს (Kim et. al., 1994; Ishida, et al., 1994,1995). ფოსფოლიპიდურ ვეზიკულებზე დაკვირვებისას მიღებული შედეგები მსგავსია ცოცხალ უჯრედებზე მიღებული შედეგებისა. პკC-ს აქტივაცია იწვევს სხვადასხვა ტიპის უჯრედებში მამპკს-ის პლაზმური მემბრანიდან ციტოპლაზმაში ტრანსლოკაციას (McLaughlin, et al.,1995).

მირისტოილირებული ცილის მემბრანასთან დაკავშირებისათვის საჭიროა აცილური ჯაჭვის ჰიდროფობული უბნის ჩართვა ბიშრეში, მაგრამ ეს არ არის საკმარისი. **მამპკს** შეიცავს ასევე ფუძე ნაშთების კლასტერებს, რომლებიც უკავშირდებიან მჟავე ფოსფოლიპიდებს. ჰიდროფობული და ელექტროსტატიკული ურთიერთქმედება ასევე მოქმედებს ცილის მარყუჟსა და მემბრანას შორის კავშირის განსამტკიცებლად. **მამპკს** ცილაში შემავალი სერინის ფოსფორილირება მნიშვნელოვნად ამცირებს მემბრანასთან ცილის ელექტროსტატიკურ ურთიერთქმედებას და იწვევს ცილის ტრანსლოკაციას მემბრანიდან ციტოზოლში მარტივი ელექტროსტატიკური გამორთვის მექანიზმით (McLaughlin, et al., 1995).

ცნობილია დაახლოებით 100 მირისტოილირებული ცილა, მათ გააჩნიათ 14 ცხიმოვანი მჟავისაგან შემდგარი ჯაჭვი, რომელიც კოტრანსლაციურადაა დაკავშირებული ამინო ბოლოს გლიცინის ნაშთთან. ამ ცილების უმრავლესობა უკავშირდება მემბრანას სწორედ მირისტოილის ჯაჭვის საშუალებით. ამინო ბოლოს გლიცინის ნაშთის მუტაციის შემთხვევაში არ ხდება N-მირისტოილ ტრანსფერაზას საშუალებით აცილიზაცია და ასეთი მოლეკულა ვერ უკავშირდება მემბრანას. მემბრანასთან დაკავშირება ხშირად აუცილებელია მირისტოილირებულ ცილათა აქტივობისათვის (Bigay, et al., 1994).

მირისტოილირებულ და გასუფთავებულ ცილებზე ჩატარებულმა ცდებმა აჩვენა, რომ მირისტოილი წარმოქმნის საკმაოდ ჰიდროფობულ ენერგიას, რითაც ხდება ცილის დაკავშირება ფოსფოლიპიდურ ბიშრესთან. დამატებითი ჰიდროფობული ურთიერთქმედება, რისი შედეგიცაა ახლომდებარე ცისტეინის ნაშთების შექცევადი პალმიტოილიზაცია და სპეციფიკური ცილა-ცილოვანი ურთიერთქმედებანი, ზრდის ზოგიერთი მირისტოილირებული ცილის მემბრანასთან დაკავშირების უნარს. სერინის ფუძე ნაშთების ფოსფორილირება ამცირებს მათ ელექტროსტატიკურ ურთიერთქმედებას მჟავე ლიპიდებთან, რის საფუძველზეც ხორციელდება **მამპკს**-ის მემბრანასთან შექცევადი დაკავშირების ელექტროსტატიკური გამორთვის მექანიზმი (Boman, et al., 1995; Zozulya, et al., 1992).

მნიშვნელოვანია, რომ **პკC**-ს და კალმოდულინის **მამპკს**-ის ედ-თან ურთიერთქმედება განსაკუთრებულ ხასიათს ატარებს. **მამპკს**-ის ფოსფორილირება **პკC**-ს მიერ მნიშვნელოვნად ამცირებს მის სწრაფვას კალმოდულინისადმი (Seki, et al., 1995). ასევე კალმოდულინის მიერთება **მამპკს**-ზე სივრცულად ხელს უშლის **პკC**-ს

მიღწევას სუბსტრატთან და მის ფოსფორილირებას. თუ კალმოდულინი და pCa ერთდროულად აქტიურია, მათ შესაძლოა ერთმანეთს კონკურენცია გაუწიონ საერთო სუბსტრატის- მამპკს-თვის. სქემურად ეს გამოსახულია სურათ 2-ზე (სურათი ამოღებულია მიმოხილვითი ხასიათის ნაშრომიდან (Arbuzova et al., 2002)).

2.2.5.2 მამპკს ცილის რეგულაცია სხვადასხვა ცილების საშუალებით

უჯრედში მამპკს-ის კონცენტრაცია რეგულირდება გენური ტრანსკრიფციის დონით. გარდა ამისა მისი პროტეოლიზური გახლეჩვით კატეპსინების და კალპაინების მიერ, რომლებიც ცისტეინის შემცველი პროტეაზებია. ცისტატინ B ლიზოსომური ცისტეინის შემცველი კატეპსინების ენდოგენური ინჰიბიტორია, მაგრამ არა კალპაინების. ცისტატინ B-ს არ შემცველ ნოკაუტ თაგვების ტვინსა და მაკროფაგებში ველურ ტიპთან შედარებით გაზრდილია მამპკს-ის გახლეჩვა, ეს ეფექტი არ ვლინდება ტრანსგენული ცხოველის ღვიძლისა და თირკმლის ექსტრაქტებში (Kopitar-Jerala, et al., 2007).

რესპირატორული, გასტროინტესტინული და რეპროდუქციული ტრაქტის ეპითელიუმი აწარმოებს მუკუსს, რომელიც წარმოქმნის ბარიერს ეპითელიური შრის უჯრედულ კომპონენტსა და გარემოს შორის. მუცინები გლიკოპროტეინებია, რომლებიც მუკუსის შემადგენლობაში შედის. მამპკს გადამწყვეტ როლს თამაშობს სასუნთქი გზების კათხის ტიპის უჯრედების მიერ მუცინის გრანულების გამონთავისუფლებაში. ამ პროცესის სავარაუდო მექანიზმი უნდა მოიცავდეს მამპკს-ის pCa -თი ფოსფორილირებას და ციკლურ გუანოზინმონოფოსფატზე (G-გმფ)-დამოკიდებული პროტეინკინაზების აქტივაციას, რომლებიც ააქტივებენ ციტოზოლურ ფოსფატაზებს, ეს უკანასკნელნი იწვევენ მამპკს-ის დეფოსფორილირებას და ცილა ემაგრება მუცინის გრანულის მემბრანას, სადაც ციტოქონჩხის კომპონენტებთან ურთიერთქმედების შედეგად იგი ახდენს გრანულის დაშლას (Kenneth, et al., 2000).

Schmitz-ის მიერ შესწავლილი იქნა, რომ პოლი-ადგ-რიბოზას (ჰომოპოლიმერი, რომელიც წარმოიქმნება პოლი-ადგ-რიბოზის პოლიმერაზას მიერ) მონაწილეობს უჯრედული სტრესის პასუხში. ნაჩვენები იქნა, რომ პოლი-ადგ-რიბოზა უერთდება

მამპკს-ის ედ-ს, აინჰიბირებს ცილის კალმოდულინთან და მემბრანასთან მიერთებას, პკC-ს მიერ ფოსფორილირებას და მამპკს წარმოებული ცილის ედ-ს მიერ განპირობებულ აქტინის პოლიმერიზაციას (Schmitz, et al., 1998).

2.2.5.3. მამპკს ცილის მიერ აქტინის დინამიკის რეგულაცია ინტეგრინებით განპირობებულ უჯრედული ადჰეზიის პროცესებში

მამპკს ცილა განიცდის ბიმიმართულ ტრანსლოკაციას $\alpha 5 \beta 1$ ინტეგრინის აქტივაციის პასუხად, ანუ ტრანსლოკაცია ხდება თავდაპირველად მემბრანიდან ციტოზოლში და შემდგომ პირიქით მემბრანაში. მუტანტური მამპკს-ის გამოყენებით, რომელშიც შეცვლილია ინტეგრინ განპირობებულ პკC-ზე აქტივაციაზე პასუხი, ნაჩვენები იქნა, რომ მამპკს-ის ტრანსლოკაცია მემბრანიდან ციტოზოლში აუცილებელია უჯრედის მიმაგრების საწყისი ეტაპისათვის, ხოლო მემბრანაში უკუტრანსლოკაცია აუცილებელია ციტოქონჩხის ნორმალური ჩამოყალიბებისათვის, რათა შენარჩუნდეს უჯრედის ნორმული გავრცელება. აქტინის მარეგულირებელი ცილის ამ ტიპის ორმიმართულებიანი ტრანსლოკაცია ნათელს ჰფენს აქტინის დინამიკის კონტროლს დროში ინტეგრინ-განპირობებული უჯრედული ადჰეზიისას და მათი გავრცელებისას (Disatnik et al., 2004).

სპიზმა და ბლექშიარმა უჩვენეს, რომ მამპკს-ის ზეექსპრესია აინჰიბირებს ადამიანის ემბრიონის თირკმლის 293 უჯრედების ადჰეზიას. მათი კვლევებით დადგინდა, რომ მამპკს-ის მირისტოილირება და პლაზმურ მემბრანასთან მისი ლოკალიზება აუცილებელ, მაგრამ არა საკმარის პირობას წარმოადგენს მაინჰიბირებელი ეფექტისათვის (Spizz and Blackshear, 2001).

2.2.6. მამპკს-ის მონაწილეობა სინაპსური პლასტიკურობის და მეხსიერების პროცესებში

ტრანსგენული თაგვები რომლებშიც მამპკს ცილის N-ბოლო მოკლებულია მირისტოილის მიერთების უნარს, ვინაიდან გლიცინი შეცვლილია ალანინით,

ავლენენ ზოგიერთ ანატომიურ დეფექტს, რომელიც მსგავსია მამბკს ცილის დეფიციტის მქონე თაგვებისა. ასეთი ცხოველების უმეტესობა დაბადებამდე, ჩანასახშივე იღუპება, გადარჩენისუნარიანია 25%-ი და ისინი ნორმალურად ვითარდებიან და მრავლდებიან. ამრიგად, მირისტოილირება არაა საჭირო ამ ცილის მრავალი ინ ვივო ფუნქციისთვის (Wu, et al., 1996; Stumpo, et al., 1995).

მამბკს ცილის ფოსფორილირება არეგულირებს აქსონის ზრდის კონუსის ადჰეზიას და მისი მიმართულების პოვნას. **მამბკს** ჭარბადაა ზრდის კონუსში და ჩართულია უჯრედის მიმაგრებასა და მოძრაობაში. უჯრედულ კულტურაში იგი კოლოკალიზებულია ადჰეზიურ კომპლექსებთან.

2.2.7. მამბკს ცილის გავლენა დენდრიტულ ქაცვებზე

ცვლილებები დენდრიტული ქაცვის რაოდენობაში და მორფოლოგიაში დაკავშირებულია ზოგიერთ ნეიროლოგიურ დაავადებებთან და სინაფსური პლასტიკურობის სხვადასხვა ფორმასთან. დიდი ხანია დადგენილია, რომ ქაცვის ზომის და რაოდენობის გაზრდა დაკავშირებულია გრძელვადიან პოტენციაციასთან (**გვპ**) და ქაცვის რაოდენობის ან/და ზომის შემცირებას მოსდევს გრძელვადიანი დეპრესია (**გვდ**). დენდრიტულ ქაცვში ასეთი ცვლილებების ბიოლოგიური საფუძვლები უცნობია, თუმცა კალციუმ/კალმოდულინი და **პკC** ჩართულია სინაფსური პასუხის შედეგად გამოწვეულ ცვლილებებში. ჯერ-ჯერობით დახასიათებული არ არის დენდრიტული ქაცვის სტრუქტურული ცვლილების გამომწვევი ასეთი სიგნალის გადაცემის მოლეკულური სამიზნე. თუმცა ნავარაუდევია, რომ ამ მექანიზმში ჩართული უნდა იყოს **მამბკს**.

როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული **მამბკს** ცილა ექსპრესირდება მრავალ ქსოვილში, მათ შორის ტვინშიც. ნეირონებში იგი ნაპოვნია, როგორ პრესინაპსში, ასევე პოსტინაპსში. იმუნოელექტრონული მიკროსკოპიით ჩატარებულმა კვლევებმა უჩვენა, რომ **მამბკს** არსებობს დენდრიტულ ქაცვებში, მაგრამ სხვადასხვა ხარისხით, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ რეგულატორული მექანიზმები შესაძლოა განსაზღვრავენ მის ლოკალურ კონცენტრაციას. ნეირონულ კულტურებზე ჩატარებულმა კვლევებმა უჩვენა, რომ **მამბკს** ფოსფორილირდება ფორბოლური

ეთერების, დეპოლარიზაციის ან გლუტამატის აგონისტების პასუხად. ეს ფოსფორილირება იწვევს მამპკს ცილის ციტოზოლში ტრანსლოკაციას (Kobayashi, et al., 2007).

2.2.8. ცდები ნოკ-აუტ და ნოკ-ინ თავგებზე

ჰომოზიგოტური თავგები, რომლებსაც ამოღებული აქვთ მამპკს გენი, ავლენენ ტვინის და სხვა ორგანოების მორფოგენეზის ნორმიდან გადახრას. ამ ნოკაუტ თავგების კვლევებმა აჩვენა რომ მამპკს ცილას აქვს მნიშვნელოვანი როლი ცნს-ის ნორმალური განვითარებისათვის. ასევე ჰეტეროზიგოტულ ნოკაუტირებულ ზრდასრულ თავგებში მამპკს-ის ფუნქციის კვლევებმა აჩვენა ამ ცილის გავლენა ჰიპოკამპის მორფოლოგიურ და ანატომიურ ცვლილებებზე (McNamara et al., 2005).

სამი კვირის ასაკის ვირთავის ემბრიონების ჰიპოკამპის კულტურებზე ჩატარებულმა ცდებმა უჩვენა, რომ ენდოგენური მამპკს არეგულირებს დენდრიტული ქაცვის სტაბილურობას. რაც მიუთითებს იმაზე, რომ პკC-ზე დამოკიდებული დენდრიტული ქაცვის პლასტიკურობა სულ მცირე ნაწილობრივ მაინც მამპკს-ით არის განპირობებული. გარდა ამისა ამ ცილის მემბრანასთან მორეაგირე დომენი სხვადასხვა ეფექტს ახდენს დენდრიტული ქაცვის რაოდენობასა და მორფოლოგიაზე. მამპკს-ის ფოსფორილირება იცვლება *postmortem* ტვინის ქსოვილში ალცჰაიმერიან პაციენტებში და თვითმკვლელობის მსხვერპლებში (Calabrese et al., 2005).

მუტანტური მამპკს ცილის ექსპრესია, რომელშიც პკC-ს მიერ ფოსფორილირებადი ოთხი სერინი ასპარაგინით არის ჩანაცვლებული, არ იძლევა პოსტნატალური გადარჩენის საშუალებას. გარდა ამისა გადარჩენილი ცხოველები არ ავლენენ მამპკს ცილისთვის დამახასიათებელ ისეთივე ანატომიურ დეფექტებს, რომლებიც შეინიშნება ნოკაუტირებული თავგების ტვინსა და რეტინაში. ეს მიუთითებს იმაზე, რომ პკC-ს მიერ მამპკს-ის ფოსფორილირება არ არის აუცილებელი ნორმალური ცენტრალური ნერვული სისტემის განვითარებისთვის (Scarlett, et al., 2003).

ზრდასრულ ჰიპოკამპში მამკს ცილა მაღალექსპრესირდება დაკბილულ ფასციაში (დფ) -ხავსოვანი ბოჭკოების CA3 გზაში, მაგრამ დაბალექსპრესირებულია CA3-CA1 შაფერის კოლატერალებში, CA1 გზაში.

მამკს-ის ზერეგულაცია და ქვერეგულაციაც იწვევს დასწავლის დეფიციტს, ჰეტეროზიგოტულ ნოკაუტირებული თაგვები მამკს-ის ექსპრესიის 50%-იანი დანაკლისით და ტრანსგენულ თაგვები, რომლებშიც ეგზოგენური მამკს ზეექსპრესირდება, ავლენენ მნიშვნელოვან დარღვევებს სივრცულ დასწავლაში. ხოლო გვპ შესუსტებულია ხავსოვანი ბოჭკოების CA3 გზაში და გავლენა არა აქვს მოკლევადიან სინაფსური პლასტიკურობასა და ძირითად სინაფსურ ტრანსმისიაზე (Hussain, et al., 2006).

ეს დაკვირვებები გვიჩვენებს მამკს ცილის როლზე დასწავლასა და მეხსიერებაში, მაგრამ მცირეა კვლევები, რომლებიც ახსნიან მისი მოქმედების მექანიზმს უჯრედულ დონეზე.

2.2.9. მამკს ცილის როლი მეხსიერების ფორმირებაში

შინაური ქათმის წიწილებში ვიზუალური იმპრინტინგის, როგორც მეხსიერების მოდელის გამოყენებისას ნაჩვენები იქნა, რომ წიწილის ტვინის მშმნ-ში მამკს ცილის რაოდენობა დასწავლის სპეციფიკურად იზრდება ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ. მშმნ უბანი წარმოადგენს წიწილებში ინფორმაციის შენახვის (მეხსიერების) საცავს და ჩართულია დასწავლის პროცესებთან იმპრინტინგისას. ძირითადად ამ კვლევებმა წარმოშვა კითხვა: მამკს ცილის რომელი ფორმა (ფოსფორილირებული თუ მემბრანაზე მიმაგრებული) მონაწილეობს გვიანდელ სტადიაზე მეხსიერების ფორმირებაში (Solomon, et al., 2003 ;2008).

2.2.10. მამკს ცილა მონაწილეობს ნეირონების ზრდის კონუსის რეგულირებაში

მამკს ცილის ფოსფორილირება არეგულირებს ნეირონების ზრდის კონუსის ადჰეზიას და მისი გზის პოვნას. სემაფორინ-3A-ს (სემა-3A) მიერ განპირობებული

ზრდის კონუსის განშორება და კოლაფსი მოითხოვს ეიკოზანოიდ-განპირობებულ პეC-ს აქტივაციას, ამ უკანასკნელის სუბსტრატი მამპკს, კოლოკალიზდება ავ ინტეგრინთან ზრდის კონუსის პერიფერულ ადჰეზიურ ზონაში. მამპკს-ის ექსპრესია ძირითადად ამცირებს ზრდის კონუსის გავრცელებას, როდესაც მისი ზეექსპრესია აინჰიბირებს პეC-ს. გააქტივების სამიზნე ზრდის კონუსის კოლაფსს. ფოსფორილების დეფიციტის მქონე მუტანტური მამპკს-ის ექსპრესია აფართოვებს ზრდის კონუსის ადჰეზიას, რაც ხასიათდება მამპკს-ის ძლიერი კოლოკალიზაციით ავ ინტეგრინთან და იწვევს სემა-3A-ს მიერ წარმოებული ზრდის კონუსის განზიდვის შეზღუდვას მიზიდვისაკენ. ნაგარაუდევია, რომ მისი არაფოსფორილირებული ფორმა ასტაბილიზირებს ინტეგრინ წარმოებულ ადჰეზიას და მისი ფოსფორილირება იწვევს ადჰეზიისაგან განთავისუფლებას და ლოკალიზებული ზრდის კონუსის მოწყვეტას, რაც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ზრდის კონუსის მოზრუნებასა და კოლაფსში (Gatlin, et al. 2006).

2.2.11. დასკვნა

ამრიგად მამპკს ცილა მონაწილეობს სიცოცხლისთვის ისეთ მნიშვნელოვან პროცესებში, როგორცაა მემბრანული ტრანსპორტი და მიტოგენეზი, ტვინის განვითარების რეგულაცია, პოსტნატალური გადარჩენა, უჯრედული მიგრაცია და ადჰეზია, ნეიროსეკრეცია, ასევე ენდო-, ეგზო- და ფაგოციტოზი. მამპკს ცილას აქვს მნიშვნელოვანი როლი ცნს-ს ნორმალური განვითარებისათვის.

მისი ფუნქციური რეგულაცია წარმოებს ფოსფორილირებით, კალმოდულინის მიერთებით და მემბრანასთან ურთიერთქმედებით.

ეს მნიშვნელოვანი და საინტერესო თემები მიუთითებს, რომ კიდევ ბევრია გასაკეთებელი მამპკს ცილის როლის შესასწავლად სხვადასხვა პროცესებში, ამჟამად მიღებული შედეგები და დადგენილი დასკვნები გვეხმარება გამოვიკვლიოთ და შევიცნოთ მეხსიერებაში და დასწავლაში მონაწილე სხვადასხვა სასიგნალო გზები და მათი კომპონენტები, რომლებშიც მნიშვნელოვან მონაწილეობას ღებულობს მამპკს.

2.3. α --ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლპროპიონატის რეცეპტორი (ამპარ)

2.3.1. ამპარ-ის ზოგადი დახასიათება

α -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლპროპიონატის რეცეპტორებს (ამპარ) ფუნდამენტური მნიშვნელობა გააჩნია ტვინის უჯრედების ფუნქციონებაში. ისინი მონაწილეობენ სინაპსის ფორმირებასა და სტაბილიზაციაში. მათი ფუნქციის რეგულირება საფუძვლად უდევს სინაპსურ პლასტიკურობას. ცვლილებები ამპარ-ის აქტივობაში აღწერილი იქნა რიგი დაავადებების პათოლოგიისას, როგორცაა ალცჰაიმერის დაავადება და ეპილეფსია. ამპარ-თან დაკავშირებული ცვლილებები მკაცრი უჯრედულ რეგულაციის ქვეშ ხორციელდება. მოლეკულური და უჯრედული მექანიზმები რომლებიც აკონტროლებენ მის პოსტსინაპსურ ჩამაგრებას, გადატანას და უჯრედის ზედაპირზე განლაგებული ამპარ-ის სიცოცხლის ხანგრძლივობას დღეს-დღეობით ინტენსიური კვლევის საგანია (ზოგადი მიმოხილვისათვის იხ. Kessels, et al., 2009).

ამპარ-ები გლუტამატის იონოტროპული რეცეპტორებია, რომლებიც ტვინში განაპირობებენ სწრაფი აღგზნებითი გადაცემის უმეტესობას. ისინი ჰეტეროტეტრამერებია და შედგებიან **გლურ1-გლურ4** სუბერთეულებისგან. **გლურ1** სუბერთეული ძირითად როლს ასრულებს ჰიპოკამპურ გრძელვადიან პოტენციალიაში (**გვპ**) (Hayashi, et al., 2000; Hollmann, et al., 1994) და რეგულირდება შიდაუჯრედულ კარბოქსი ბოლოს დომენის სხვადასხვა საიტზე ფოსფორილირებით. ფართოდაა შესწავლილი სერინ 831-ე (**სერ831**) და **სერ845** ამინომჟავების ფოსფორილირების ფუნქციური როლი. **სერ831** უმთავრესად ფოსფორილირდება კალციუმ/კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II-ის მიერ (**კამკII**) მიერ. ხოლო **სერ845** პროტეინ კინაზა A-ს (**პკ A**) მიერ (Barria et al. 1997). ამ საიტების ფოსფორილირება არეგულირებს არხის თვისებებს. გენეტიკურად მოდიფიცირებულ ნოკ-ინ მუტაციების მქონე თაგვი, რომელშიც ბლოკირებულია **გლურ1** სუბერთეულის **სერ831**-ს და **სერ845**-ს ფოსფორილირება ავლენს დარღვევებს სინაპსურ პლასტიკურობასა და დასწავლაში. ამ საიტებს შესაძლოა გააჩნდეთ მოდულატორული როლი მეხსიერების ფორმირებაში (Lee, et al 2003).

2.3.2 ამპარ-ის სუბერთეულების კომპოზიციის მარეგულირებელი ფუნქცია

ზრდასრული ორგანიზმის ჰიპოკამპის აღმზნებ სინაპსებში ამპარ-ები ძირითადად გლურ1/გლურ2 სუბერთეულებისგან შედგებიან, ხოლო ზოგიერთ შემთხვევაში გლურ3/გლურ2 სუბერთეულებისგან. ზრდასრულ ტვინში გლურ2 განიცდის რნმ-ის ედიტინგს, გლუტამინის კოდონი 607 ნაშთისთვის ჩანაცვლებულია არგინინის კოდონით (Kask, et al., 1998). ედიტირებული გლურ2 აკონტროლებს ამპარ-ის სხვადასხვა თვისებებს, მათ შორის კალციუმის ათვისებლობას, არხის გამტარობას, კინეტიკას, რეცეპტორის სწრაფვას (აფინურობას) გლუტამატისადმი და სუბერთეულთა თანაწყობას ფუნქციურ რეცეპტორში (Swanson, et al., 1997).

ენდოგენური შიდაუჯრედული პოლიამინები ძლიერად ურთიერთქმედებენ ამპარ-ის ღია არხთან თუ მას აკლია გლურ2, რასაც შედეგად რეცეპტორის ვოლტაჟ დამოკიდებული დაბლოკვა მოყვება (რექტიფიკაცია) (Bowie, et al., 1998).

რეცეპტორებს რომელთაც გლურ2 სუბერთეული აკლიათ გააჩნიათ მაღალი კალციუმის ათვისებლობა, არხის გამტარობა, გაღების ალბათობა და რექტიფიკაცია. მაშინ როდესაც გლურ2-ის შემცველი რეცეპტორები განიცდიან რექტიფიკაციის დანაკლისს და ავლენენ არხის დაბალ გამტარობას, გაღების ალბათობას და კალციუმის ათვისებლობას (Burnashev, et al., 2005).

აქედან გამომდინარე გლურ2 სუბერთეულის არსებობას ან არ არსებობას ძირეულად შეუძლია შეცვალოს ამპარ-ის თვისებები და შესაბამისად სინაპსური გადაცემა.

2.3.3. სუბერთეულთა კომპოზიცია არეგულირებს ამპა რეცეპტორის ფუნქციას ფოსფორილირების მეშვეობით

გარდა ზემოაღნიშნული თვისებებისა რომელსაც იძენს რეცეპტორი გლურ2 სუბერთეულის თანაობის ან მისი არ შემცველობის შემთხვევაში, სუბერთეულთა კომპოზიცია მნიშვნელოვან ეფექტს ახდენს ამპარ-ის რეგულაციაში ფოსფორილირების მეშვეობით და ეს გავლენას ახდენს მის მემბრანულ გადატანაზე (ტრეფიკინგზე), ამპარ-ის ფოსფორილირების შედეგად ხდება რეცეპტორის

თვისებების მოდულაცია (Derkach, et al., 1999). ნავარაუდევია, რომ ამ პროცესებს მნიშვნელოვანი წვლილი უნდა გააჩნდეთ ფუნქციური სასიგნალო გზებისთვის, რომლებიც დაკავშირებულია სინაპსურ პლასტიკურობასა და დასწავლასთან (Soderling, et al., 2000).

გლურ1 სუბერთელის შიდაუჯრედული C დაბოლოვების სერ 831-ის კამკII-ით ფოსფორილირება (Lee, et al., 2000) მნიშვნელოვნად ზრდის ჰომომერული **გლურ1**-გან აგებული **ამპარ**-ის არხის გამტარობას და გლუტამატის მიერთების ეფექტურობას. ვინაიდან **ამპარ**-ის არხის გამტარობა იზრდება **გვპ**-ს დროს (Lüthi, et al., 2004) და იზრდება ამ დროს ასევე კამკII-ს ექსპრესია CA1 პირამიდულ ნეირონებში, ნაუწყებია რომ ეს კამკII-ით განპირობებული ფოსფორილირება მნიშვნელოვან წვლილს იღებს CA1 ჰიპოკამპურ ადრეული ფაზის **გვპ**-ში. თუმცა ჩვეულებრივ პირობებში, ჰიპოკამპში **გლურ1**-ს გარდა **ამპარ**-ები ასევე **გლურ2**-საც შეიცავენ (Holman et al., 2007).

ჰეტერომერული რეცეპტორები სხვადასხვანაირად რეგულირდებიან ფოსფორილირებით. როდესაც ადგილი არა აქვს ფოსფორილირებას ჰეტერომერული **გლურ1/გლურ2**-ის არხის გამტარობა გაცილებით დაბალია ვიდრე ჰომომერული, **გლურ1**-ს შემცველის და კამკII-ს ჰეტერომერშიც ძალუმს სერ 831-ს ფოსფორილირება მაგრამ ამ შემთხვევაში ცვლილება არხის გამტარობა არ შეინიშნება (Oh, et al., 2005).

ასე რომ, **გლურ2**-ის თანაობა როგორც ჩანს ზღუდავს არხის **გლურ1**-ის გამტარობას და ხელს უშლის სერ 831-ის ფოსფორილირებით გამტარობის გაზრდას, რაც ხდება **გვპ**-ს და დასწავლისას (Barria et al., 1997).

პროტეინ კინაზა A-ს მიერ სერ845-ის ფოსფორილირება ზრდის გაღების ალბათობას ჰომომერულ **გლურ1**-ის შემცველ არხში (Banke, et al., 2000).

სარფიანი იქნებოდა იმის განსაზღვრა თუ ეს ფოსფორილირება ასევე შენიღბულია ჰეტერომერულ **გლურ1/გლურ2**-ს შემცველ **ამპარ**-ებში და თუ არის ჩართული **ამპარ**-ების ზედაპირულ და სინაპსურ ტრეფიკინგში, ასევე სინაპსურ პლასტიკურობასა და დასწავლაში (Esteban, et al., 2003).

2.3.4. სუბერთეულთა ცვლილებები სინაპსური პლასტიკურობის დროს

ზემოთაღნიშნული გამოცანა, რომელიც ეხებოდა **გლურ2**-ის შემცველი **ამპარ**-ის **გლურ1**-ის ფოსფორილირებით ფუნქციურ რეგულაციის დანაკლისს, შესაძლოა ამოიხსნას ბოლო ხანებში გაკეთებული აღმოჩენით, რომ ადრეული **გვპ** ნაწილობრივ განპირობებულია სინაპსში ისეთი **ამპარ**-ების ჩანაცვლებით, რომელთაც აკლიათ **გლურ2** (Plant, et al., 2006).

გარდა ამისა ნაჩვენები იქნა, რომ ჰიპოკამპურ სინაპსებში აქტივობის გაძლიერებისას შეიმჩნევა **გლურ2** ნაკლული **ამპარ**-ების ზრდა (Thiagarajan, et al., 2005). შემდგომში **გლურ2** ნაკლული **ამპარ**-ების გაზრდილი გავრცელება ნაჩვენები იქნა სინაპსური გადაცემისას ნეოკორტიკულ აღგზნებ სინაპსებში (Clem, et al., 2006). როგორც ჩანს საწინააღმდეგო ვარიანტიც მართალია, **გლურ2** ნაკლული **ამპარ**-ების შემცირება ცერებელურ ვარსკვლავისებურ უჯრედებში, იწვევს სინაპსური ძალის, აქტივობაზე დამოკიდებულ დეპრესიას (Liu, et al., 2002).

არსებობს ვარაუდი, რომ **ამპარ**-ების სუბერთეულთა რეკომპოზიციას შესაძლოა ფართოდ იყენებდეს ტვინი სინაპსური პლასტიკურობისთვის. პლაზმურ მემბრანაზე **ამპარ**-ების სიხშირე დინამიურად რეგულირდება ეგზოციტოზისას და ენდოციტოზისას (Ehlers, et al., 2000).

პლასტიკურობის მიერ ინდუცირებული სიგნალის არ არსებობისას **გლურ2/გლურ3** სუბერთეულის შემცველი **ამპარ**-ები განიცდიან მუდმივ ციკლიზაციას (Park, et al., 2004).

სინაპსური სტიმულაციის პასუხად პოსტსინაპსურ N-მეთილ-D-ასპარტატის რეცეპტორების (**ნმდარ**) გავლით უჯრედში კალციუმის შედინება **ამპარ**-ების ციკლის ძირეული მარეგულირებელია (Horton, et al., 2004). ამას შედეგად **ამპარ**-ების ტრეფიკინგის ცვლილება მოყვება, რომელიც **ამპარ**-ების სუბერთეულთა კომპოზიციაზეა დამოკიდებული. **გვპ**-ს დროს **ამპარ**-ების (მემბრანაში) ჩასმა ნაჩვენები იქნა CA3-CA1 სინაპსების მაგალითზე და როგორც ჩანს **გლურ1** სუბერთეული ძირეულადაა ჩართული ამ აქტივობაზე დამოკიდებულ **ამპარ**-ების სინაპსებისთვის მიწოდებაში **გვპ**-ს დროს (Hayashi, et al., 2000).

ამის საწინააღმდეგოდ, როგორც ჩანს **გლურ2** სუბერთეულს მნიშვნელოვანი როლი გააჩნია **ამპარ**-ების ენდოციტოზში **გვპ**-ს დროს CA3-CA1 სინაპსებში. ეს იწვევს

აქტივაციურ ცილა 2 (აგ2) ჰიპოკალცინის კომპლექსთან ურთიერთქმედებას, ეს უკანასკნელი მოქმედებს როგორც კალციუმის სენსორი, რომელიც შეუღლებულია ნმპარ-ებზე დამოკიდებულ აქტივაციასთან, რაც არეგულირებს ამპარ-ების ენდოციტოზს (Palmer, et al., 2005).

თუმცა, ეს აღმოჩენები, რომლებიც ეხება ამპარ-ების მუდმივ რეციკლიზაციაში გლურ2 სუბერთეულის როლს არ დადასტურდა გვდ-ს დროს, გენეტიკური კვლევებით. გლურ2 და გლურ2/გლურ3 ნოკაუტირებულ თაგვებს გააჩნიათ შედარებით ნორმალური ბაზისური ტრანსმისია რომელიც ახდენს სინაპსური ამპარ-ების რეექტიფიკაციას გვდ-ს დროს. რაც იმაზე მიუთითებს, რომ ამპარ-ების მუდმივი რეციკლიზაცია და აქტივობაზე დამოკიდებული ენდოციტოზი ამ სინაპსებში გლურ2-ის და გლურ3-ის დამოუკიდებლად მიმდინარეობს (Sans, et al., 2003).

როგორც ჩანს აქ სხვა კომპენსატორული მექანიზმები მოქმედებს, დღეისათვის მოქმედი ჰიპოთეზის მიხედვით გლურ1-ის შემცველი ამპარ-ები (გლურ1/გლურ2 ჰეტერომერები ან გლურ1 ჰომომერები) სინაპსებს მიეწოდებიან აქტივობაზე დამოკიდებული წესით. გლურ2/გლურ3 ჰეტერომერები და სხვა უცნობი გზები მონაწილეობენ არსებული რეცეპტორების მუდმივ და აქტივობაზე დამოკიდებულ ჩანაცვლებაში (Shi, et al., 2001).

გლურ1-ის აქტივობაზე დამოკიდებულ ტრეფიკინგში მონაწილე ამ განსაკუთრებული როლით შესაძლოა აიხსნას გლურ1 სუბერთეულის არსებითი როლი ჰიპოკამპურ პლასტიკურობაში, დასწავლასა და მეხსიერებაში. ეს აღმოჩენები მიუთითებს იმაზე რომ სუბერთეულთა კომპოზიცია ძირეულად განსაზღვრავს ამპარ-ების ტრეფიკინგს პლასტიკურობაში ასევე მათი ფოსფორილირებით რეგულაციას (Schmitt, et al., 2005).

იმ ფაქტზე დაკვირვება რომ ამპარ-ების სუბერთეულების ტრეფიკინგი სხვადასხვანაირად მიმდინარეობს სხვადასხვა სტიმულირების პირობებში, მიუთითებს იმაზე რომ შესაძლოა სინაპსური აქტივობა ამპარ-ების სუბერთეულთა კომპოზიციის ცვლილებით ცვლის პოსტსინაპსური ამპარ-ების თვისებებს და სინაპსურ ძალას. ამასთან, სინაპსური ამპარ-ების აქტივობაზე დამოკიდებული ცვლილებები სუბერთეულთა შემადგენლობაში ბოლო ხანებში ტვინის რიგ სხვადასხვა უბნებში იქნა ნანახი (Liu et al., 2002).

Wang-მა და მისმა კვლევითმა ჯგუფმა დაადგინეს რომ მიოზინ Vb არის ცილა, რომელიც აპირობებს დენდრიტულ ქაცვში **ამპარ**-ის მემბრანულ ტრეფიკინგს. მათ მიოზინ Vb მონიშნეს ფლუორესცენტული მოლეკულით ამით საშუალება მიეცათ ცილის უჯრედული გადაადგილების ვიზუალიზაციის. მათ აჩვენეს, რომ ეს ცილა ჩვეულებრივ პირობებში უმეტესად ქაცვშია, თუმცა ინდუქციის შემდეგ -ქაცვის თავში. შესაძლოა იგი ჩართული იყოს აქტინის ფილამენტების (ახალი ნაკრების) პოლიმერიზაციაში (Wang et al., 2008).

ჰიპოკამპის CA1 უბნის ანათლებში **ნმდა** და **ამპარ**-ების აქტივაცია იწვევს NO-რადიკალების წარმოქმნას, განსხვავებულია, მხოლოდ წარმოქმნის დრო. NO-ს შესაძლოა ჩართული იყოს **ამპარ**-ებით გამოწვეული მოვლენების განვითარებაში (Frade, et al., 2009).

2.3.5. ამპარ-ების ექსპრესია

In situ hybridization მეთოდის გამოყენებით ნაჩვენები იქნა, რომ **ამპარ**-ები სხვადასხვა რაოდენობით არის გავრცელებული ტვინის სხვადასხვა უბანში. ცენტრალური ნერვული სისტემის ჰიპოკამპი, კორტექსის გარე შრე, ოლფაქტორული უბნები, ლატერალური სეპტუმი, ბაზალური განგლია და ამიგდალა მდიდარია **გლურ1**, **გლურ2**, და **გლურ3** სუბერთეულების შემცველი **ამპარ**-ებით (Keinanen, et al., 1990). **გლურ4** სუბერთეულები ძირითადად რეტიკულურ თალამურ ბირთვში და ცერებელუმშია დიდი რაოდენობით (Spreafico et al., 1994).

ნეირონული და გლიური ექსპრესია. **ამპარ**-ები ასევე ნაპოვნი იქნა გლიის უჯრედებში, სადაც ისინი როგორც ჩანს ექსაიტოტოქსიკურობაში არიან ჩართულნი (აღზნებით ტოქსიკურობაში) და იშემიურ პათოლოგიებში (Meng, et al., 1997). ზოგიერთ გლიურ უჯრედებში ამ რეცეპტორების აქტივაციამ შესაძლოა გამოიწვიოს ატფ-ის და აზოტის ოქსიდის გამონთავისუფლება, რომლებიც იმოქმედებენ როგორც აუტოკრინული და პარაკრინული მესენჯერები და გავლენა მოახდინონ გლიის მორფოლოგიაზე (Ishiuchi, et al., 2001).

2.3.6. ამჰარ-ებთან მორეაგირე ცილები

ამჰარ-ების ზედაპირული ექსპრესიის რეგულაცია რთული პროცესია, რომელიც საჭიროებს მრავალი ცილის ურთიერთქმედებას. მრავალი სხვადასხვა ცილა სელექტიურად ურთიერთქმედებს ამჰარ-ის ინდივიდუალურ სუბერთეულებთან და შესაძლოა მათი დაყოფა PDZ დომენის და PDZ დომენის არ მქონე ცილებად (Henley, 2003).

2.3.6.1. PDZ დომენის შემცველი ცილები

PDZ დომენები ცილების ურთიერთქმედების მოდულატორული უბნებია, რომლებიც თანამიმდევრობის სპეციფიკურად უერთდებიან C დაბოლოვების პეპტიდებს, მაგრამ ასევე შიდა პეპტიდებს, რომლებიც თითისებურად არიან დახვეულნი ან სხვა PDZ დომენს (Hung, et al., 2002). PDZ აკრონიმი წარმოდგება სამი ცილის სახელწოდებისგან, რომლებშიც პირველად იქნა ნანახი ეს უბანი PSD-95/SAP90, დროზოფილაში Dig-A სიმსივნის სუპრესორი გენი და ეპითელიური მჭიდრო ნაპრალოვანი ცილა ZO-1 (Itoh, et al., 1993) PDZ დომენის შემცველი ცილები ჩართულნი არიან სუპრამოლეკულური სტრუქტურის აწყობაში, რასაც შეუძლია უჯრედის სხვადასხვა ადგილში სიგნალის მიღება, (მაგ.: უჯრედის ზედაპირზე რეცეპტორის სუბერთეულთა კომპლექსის სუბუჯრედული სამიზნე), სხვადასხვა ცილაში ნაპოვნია როგორც ერთი ასევე განმეორებითი PDZ უბანი (Itoh, et al., 1993).

ტვინიდან მიღებული ნეიროტროპული ფაქტორით დამუშავება იწვევს PDZ-ს შემცველი ამჰარ-ებთან მორეაგირე ცილების SAP97, GRIP1, და PICK1 ექსპრესიას (Jourdi, et al., 2003). ამჰარ პირდაპირ არ ურთიერთქმედებს PSD-95-თან ამ PDZ-ის შემცველ ცილას შეუძლია გლურ1-ის შემცველი ამჰარ-ები სინაპსებში აამოძრავოს და ჩართულია გვპ-ში (DeSouza, et al., 2002). გლურ2-ს მოლეკულიდან ბოლო 10 ამინომჟავას მოკვეთა იწვევს PDZ ლიგანდის მოცილებას და ამცირებს რეცეპტორის სინაპსში ჩართვას (Osten, et al., 2000).

2.3.6.2. ამჰარ-ებთან დამაკავშირებელი ცილა (ამდც) /გლუტამატის რეცეპტორთან მორეაგირე ცილა (გრმც)

ამდც არის გრმც-ს მონათესავე ცილა და ორივე ცილოვანი მოლეკულა PDZ დომენით უერთდება გლურ2/3 სუბერთეულს C ბოლოზე. ამდც-ს და გრმც-ს გააჩნიათ რამდენიმე PDZ დომენი და პოსტინაპსური სიმკვრივის მთავარი ღუზისებრი ცილებია. მათ ძალუმთ ჰომო და ჰეტეროდიმერების წარმოქმნა PDZ დომენების მეშვეობით (Dong et al., 1997 ; Fu et al., 2003).

ნეირონების კულტურებში ამდც-ის და გრმც-ის გლურ2 სუბერთეულთან ურთიერთქმედების დაბლოკვა გავლენას არ ახდენს რეცეპტორის რეციკლიზაციაზე, მაგრამ ხელს უშლის რეცეპტორის ზედაპირულ აკუმულაციას დროში და ამცირებს ამჰარ-ების ათვისებლობას მათი სტიმულაციის შემდეგ. ამდც მხოლოდ შიდაუჯრედულ მემბრანაში გვხვდება და შეუძლია მიიერთოს და შეინარჩუნოს გლურ2, რაც ხელს უშლის ამ უკანასკნელის სერინ 880-ე ნაშთის ფოსფორილირებას (Braithwaite, et al., 2002). ცილა სახელად KIAA1719 ამდც-ს ადამიანის ჰომოლოგი უნდა იყოს. მაკაკის ტვინში მისი ექსპრესიის კვლევებმა უჩვენა, რომ ხდება გლურ2/3-ის შემცველი ამჰარ-ების და KIAA1719-ის გავრცელების დამთხვევა და ეს დამთხვევა შემოისაზღვრება წინატვინით და ცერებელუმით. მაგ. ჰიპოკამპის CA3 კელში და დაკბილულ ფასციაში. გრმც უპირატესად გაემ-ერგულ ნეირონებში ექსპრესირდება, სადაც ამდც-ს ექსპრესია დაბალია (Beneyto, et al., 2004).

2.3.6.3. LIN-10

LIN-10 არის *Caenorhabditis elegans* –ნემატოდის მემბრანასთან ასოცირებული გუანილატ კინაზების (მაგუკ) ოჯახის წარმომადგენელი ცილა. ადამიანში მისი ჰომოლოგი mLIN-10 ანუ X11L პირდაპირ უერთდება გლურ1-ის PDZ დომენის მეშვეობით და ახდენს ამ სუბერთეულის შემცველი რეცეპტორების პირდაპირ ტრეფიკინგს (Stricker, et al., 2003). საინტერესოა, რომ mLIN-10-ს ანუ X11L-ს ძალუმს მიუერთდეს და მოდულაცია გაუკეთოს NF-κB ტრანსკრიფციის ფაქტორის აქტივობას და გააჩნია როლი ალცჰაიმერის დაავადებაში (Tomita, et al., 2004).

2.3.6.4. C კინაზასთან მორეაგირე ცილა (Cკმც)

Cკმც სინაპსებში PDZ დომენით უერთდება გლურ2 სუბერთეულის C ბოლოს და იწვევს ასევე პკC-ს გააქტივებას. შესაძლოა Cკმც-ს ამჟამ-ებზე მიერთების როლი მდგომარეობს ამ გააქტივებული პკC-ს რეცეპტორისკენ მიმართვაში (Perez et al., 2001). PDZ ლიგანდის ფოსფორილირება სერინ 880 ნაშთზე პკC-ს მიერ იწვევს Cკმც-ის სინაპსებში გადატანას და გლურ2-ის შემცველი რეცეპტორების გრმც-სგან მაგრამ არა Cკმც-ისგან ჩამოცილებას (Chung et al., 2000).

2.3.6.5. სინაპსთან ასოცირებული ცილა-97 (საც-97)

საც ცილების ოჯახი მიეკუთვნება მაგუკ ოჯახის ცილებს, რომლებიც შეიცავენ მრავალ ცილოვანი ურთიერთქმედების დომენს. საც-97-ის ექსპრესია არ შემოიფარგლება მხოლოდ ცნს-ით მაგ. მრავალი მკვლევარის ინტერესს წარმოადგენს ამ ცილის როლის შესწავლა გულსა და ეპითელიუმში გლურ1-ის C ბოლო უერთდება საც-97-ის PDZ დომენს. ეს ურთიერთქმედება გლურ1-ის შემცველ ამჟამ-ებს საშუალებას აძლევს დაუკავშირდეს სხვა მრავალ ცილას მათ შორის პროტეინ კინაზა A-ს, პკC-ს, კალცინეირინს, კალმოდულინს, ნმდარ-ს, KAR-ებს, სტარგაზინს, გუანილატ კინაზის გამაქტივებელ ცილას (Firestein, et al., 2001).

2.3.6.6. SemaF ციტოპლაზმურ დომენთან ასოცირებული ცილა-3

SemaF ციტოპლაზმურ დომენთან ასოცირებული ცილა-3 ურთიერთქმედებს გლურ2-ის C ბოლოსთან, ეს ურთიერთქმედება საფუარის ორ-ჰიბრიდული სისტემის მეშვეობით იქნა ნანახი, მაგრამ მისი ფუნქციური მხარეები ნაკლებადაა გამოკვლეული (Mayer et al., 2004).

2.3.6.7. სინთეტინი

სინთეტინი არის ცილა რომელიც **ამპარ**-თან in vitro ურთიერთქმედებს მაგრამ არა საფაუარის ორ-ჰიბრიდულ სისტემაში. **ამპარ**-თან სინთეტინის ურთიერთქმედების ეფექტი ჯერ ჯეროვით არ არის ნათელი, მაგრამ საგულისხმოა ის ფაქტი, რომ სინთეტინს ძალუძს პლაზმური მემბრანის კომპონენტ ფოსფატიდილინოზიტოლ ბისფოსფატთან და სინდეკანებთან პირდაპირი ურთიერთქმედება დაამყაროს, და ჩართოს ისინი უჯრედული ადჰეზიის და სინაპტოგენეზის მექანიზმებში (Zimmermann, et al., 2001).

2.3.6.8. სტარგაზინი

პირველი ტრანსმემბრანული ცილა, რომლისთვისაც ნაჩვენები იქნა **ამპარ**-ებთან ურთიერთქმედება იყო სტარგაზინი და ეს ურთიერთქმედება დემონსტრირებული იყო ცერებელურ ექსტრაქტში. მუტანტურ თავგებს რომლებსაც ამოღებული აქვთ ცილა სტარგაზინის მაკოდირებელი გენი გააჩნიათ ე.წ. სტარგაზური ფენოტიპი (*სტარ გეიზერ* ინგლისურიდან თარგმანში ნიშნავს ვარსკვლავების მოცქირალს, ეს სახელი ეწოდათ იმიტომ, რომ თავს გამუდმებით მაღლა სწევენ თითქოს ცას უყურებენო), გააჩნიათ კრუნჩხვები და ცერებელური ატაქსია, ცერებელურ გრანულარულ უჯრედებში ფუნქციური **ამპარ**-ების დანაკლისის გამო (Tomita, et al., 2004).

2.3.6.9. ნეირონული აქტივობის მარეგულირებელი პენტრაქსინი (ნამპ)

ნამპ არის მცისიერი გენის პროდუქტი, რომელიც განიცდის სინაპსური აქტივობის მიხედვით სეკრეციას. **ნამპ**-ით გამდიდრებულია ჰიპოკამპის სინაპსები, მაგრამ განსხვავებით სხვა ცილებისგან, რომლებიც **ამპარ**-ებთან ურთიერთქმედებენ **ნამპ** ექსტრაუჯრედულია და არსებობს ვარაუდი რომ იგი **ამპარ**-ების N ბოლოსთან ურთიერთქმედებს და შეუძლია ასევე ჰომომულტიმერების წარმოქმნა. ცილა

უპირატესად პრესინაპსებშია. ნამპ ხელს უწყობს ამპარ-ების აგრეგაციას პირდაპირი ურთიერთქმედებით (Reti, et al., 2000).

2.3.6.10. N-ეთილმალეიმიდისადმი მგრძნობიარე ფაქტორი (ემფ)

ემფ-ის ურთიერთქმედების შესახებ გლურ2-ის ბოლოსთან (და სუსტ ურთიერთქმედებაზე გლურ3-სა და გლურ4-თან) პირველად 1998 წელს იქნა ნაუწყები. ნავარაუდევია, რომ ეს ურთიერთქმედება გარკვეულ როლს ასრულებს გვდ-სას გლურ2-ის შემცველი ამპარ-ების სინაპსებისთვის მიწოდებაში ან მათგან ამოღებაში (Lee, et al., 2004).

2.3.7. ამპარ-ების ტრანსგენული თავგები

მეხსიერებასა და დასწავლაში ამპარ-ების გლურ1 სუბერთეულის ფოსფორილირების როლის შესასწავლად Crombag - ის და მისი კოლეგების მიერ მიღებული იქნა knock-in თავგები, რომლებშიც გლურ1 სუბერთეულში კამკII-ის და კკC-ის სამიზნე სერინის 831 და/ან პროტეინ კინაზა A-ს სერინის 845 ნაშთი შეცვლილი იყო ალანინით. თავგები რომელთაც გლურ1 სუბერთეულში აკლიათ ორი მნიშვნელოვანი რეგულაციული ფოსფორილირების საიტი სერინ 831 და სერინ (სერ) 845 ავლენენ გრძელვადიანი პოტენციაციის (გვპ) და გრძელ ვადიანი დეპრესიის (გვდ) დეფიციტს, ისევე როგორც მეხსიერების დეფიციტს სივრცული დასწავლის მოდელში (Crombag, et al., 2008).

2.3.8. ამპარ-ების რეგულაცია განვითარებად სინაპსებში

ტვინის ნორმალური განვითარება ემყარება ნეირონებს შორის ქიმიურ კომუნიკაციას სპეციალიზირებულ სინაპსურ საიტებზე. გვიანი ემბრიოგენეზიდან დაწყებული და ადრეული პოსტნატალური ცხოვრებით გაგრძელებული, ტვინში

წარმოიქმნება ასტრონომიული რაოდენობის სინაპსური კავშირები. ამ სინაპსების უმეტესობა მოქმედებს გლუტამატ-განპირობებული ნეიროტრანსმისიის მეშვეობით. ამ კონტაქტების ადგილზე სინაპსურ ნაპრალში გლუტამატის გამონთავისუფლება წარმოშობს იონთა პოსტსინაპსურ შედინებას, უპირატესად **ამპარ**-ების და **ნმდარ**-ების გააქტივების მეშვეობით. ამ სინაპსების ფორმაცია და მომწიფება მოითხოვს მრავალი პროცესის ურთიერთშეთანხმებულ განხორციელებას, მათ შორის: პრე- და პოსტსინაპსური ცილების სინთეზის და წრებრუნვის ისევე როგორც კონტაქტური ადგილების სტაბილიზაციას, შესუსტებას და არასასურველი ქონტაქტების ამოღებას. გლუტამატერგული სინაპსის მომწიფების მახასიათებელი თვისება არის **ამპარ**-ების და **ნმდარ**-ების თანაფარდობის გაზრდა (Ye, et al., 2005).

2.3.9. ცილების მადეგრადირებელი გზები და გლურ-ების კონტროლი

უბიქვინ-პროტეასომული სისტემა (**უპს**) არეგულირებს უჯრედული ცილების დეგრადაციას, მათ შორის PDZ დომენის შემცველი ცილების, რომლებიც სინაპსის არქიტექტურას განსაზღვრავენ (Ehlers, et al., 2003) საინტერესოა ის ფაქტი, რომ ნეირონულმა აქტივობამ შეუძლია **უპს**-ის მოდულაცია. **ნმდარ**-ების სტიმულირება იწვევს პოსტსინაპსური სიმკვრივის პლატფორმული ცილის PSD-95 - ის უბიქვინირებას და ახდენს ამ ცილის სინაპსური საიტიდან ამოღებას, შედეგად იზრდება **ამპარ**-ების ამოღება. **უპს** გავლენას ახდენს **გრმც**-ზეც ამ უკანასკნელის დეგრადაცია კორელირებს ნეირონების ზედაპირზე **გლურ2**-ის დონის დაწევასთან. **უპს** მნიშვნელოვან როლს ასრულებს **ამპარ**-ების ზედაპირული დონის რეგულაციაში (Patrick et al., 2003).

2.3.10. ამპარ-ების რეგულაცია უჯრედული ადჰეზიური მოლეკულებით (უამ)

სინაპსური **უამ**-ები ცნობილია, რომ ძირითად როლს ასრულებენ დენდრიტული ქაცვის სტრუქტურის და ფუნქციის სხვადასხვა ასპექტებში, მათ შორის ადრეულ დიფერენციაციაში და პლასტიკურობაში. მეორეს მხრივ **ამპარ**-ების გავრცელება

მჭიდრო კორელაციაშია ქაცვის გეომეტრიასთან და ბოლო ხანებში აღმოჩენილი მოვლენები მიუთითებს, რომ უამ-ებს შეუძლიათ ამჰარ-ების რეგულაცია (Matsuzaki, et al., 2004).

2.3.10.1. ინტეგრინები

ინტეგრინები ტრანსმემბრანული ჰეტეროდიმერებია, რომლებიც α და β სუბერთეულებისგან შედგებიან. ბოლო ხანებში გარკვეული იქნა, რომ მათ პირდაპირი როლი აკისრიათ ჰიპოკამპურ გვპ-ში (Kopitar-Jerala, et al., 2006).

β -1 ინტეგრინ knockout თაგვების ჰიპოკამპში შესუსტებულია ალგზნებითი სინაპსური გადაცემა, რომელსაც ამჰარ-ები განაპირობებენ (Huang et al., 2006).

2.3.10.2. კადჰერინები

კადჰერინები ასევე ასრულებენ როლს ამჰარ-ების რეგულაციაში, ცილების ეს ოჯახი ადჰეზიურ მოლეკულებს წარმოადგენს, შეიცავენ ხუთ უჯრედგარე სუბდომენს და მემბრანის გამჭოლ სეგმენტს. ბოლო ხანებში ნაჩვენები იქნა, რომ N-კადჰერინი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სინაპსურ პლასტიკურობაში, იგი უკავშირდება და კოლოკალიზდება ამჰარ-ებთან ნეირონებში და ეს შეკავშირება რეგულირდება უჯრედგარე კალციუმის კონცენტრაციით. N-კადჰერინთან ურთიერთქმედება არეგულირებს ამჰარ-ების ტრეფიკინგს და ზრდის მათ ზედაპირულ ექსპრესიას სხვადასხვა უჯრედებსა და ნეირონებში (Nuriya, et al., 2006).

2.3.10.3. რეელინი

რეელინი უჯრედგარე მატრიქსის დიდი მოლეკულაა, რომელიც ხერხემლიან სახეობებში არეგულირებს ნეირონების განლაგებას ადრეულ კორტიკალურ განვითარებისას. ზრდასრული თაგვის ჰიპოკამპის ანათოლეზე მისი დამატება იწვევს

ამჰარ-ებით და ნმდარ-ებით განპირობებულ გლუტამატურგული ტრანსმისიის გაზრდას, ნავარაუდევია, რომ რეელინის სასიგნალო გზა გადის ფოსფატიდილინოზიტოლ-3-კინაზას აქტივაციაზე (Beffert, et al., 2002)

2.3.11 დასკვნა

ამჰარ-ები გლუტამატის იონოტროპული რეცეპტორებია, რომლებიც ცნს-ის უმნიშვნელოვანესი ცილებია და ძირეულ როლს ასრულებენ სინაპსურ გადაცემასა და მეხსიერების ჩამოყალიბებაში. ისინი წარმოადგენენ იონურ არხებს, რომლებიც მრავალი სასიგნალო გზის მოდულაციას ახორციელებენ, რომელთა მეშვეობით ხდება ნეირონში რიგი პროცესების აღძვრა, რომლებიც ხელს უწყობენ მათ ფუნქციაში ისეთი ცვლილებების განვითარებას რომლებიც იწვევს მეხსიერების ჩამოყალიბებას. მათი როლის სირთულე სხვადასხვა პროცესებში გამოიხატება მორეაგირე ცილების სიმრავლით, გააჩნიათ რეგულაციის ფართო საშუალება, სუბერთეულთა შედგენილობით, ფოსფორილირებით და ა.შ.

2.4. ფოდრინი

2.4.1. ფოდრინის ზოგადი დახასიათება

ფოდრინი (რომელიც ლიტერატურაში მოიხსენიება სპექტრინის სახელითაც) არის ტეტრამერული მოლეკულა, რომელიც შედგება α და β სუბერთეულისგან. იგი ე.წ. “პლატფორმული” ცილაა, მონაწილეობას ღებულობს აქტინის გადაჯაჭვაში, მრავალი ტეტრამერი უერთდება აქტინის ფილამენტებს და დასაბამს აძლევს მაღალგანტოტვილ ქსელს რომელიც მიმაგრებულია მემბრანაზე და იმავდროულად დაკავშირებულია სხვადასხვა ინტეგრალურ მემბრანულ ცილებთან. ფოდრინი შეგდება ერთნაირი α და β ჯაჭვისგან, სადაც მათთვის α ჯაჭვი ერთნაირია, ხოლო β ჯაჭვი კი განსხვავებული. ერითროციტებში ფოდრინზე დაფუძნებული მემბრანული ციტოჩონჩხი მონაწილეობს ისეთ ფუნქციებში, როგორიცაა: უჯრედული ზედაპირის შენარჩუნება, ინტეგრალური მემბრანული ცილების ლატერალური მოძრაობის კონტროლი და მემბრანის სტრუქტურული ერთიანობის ხელშეწყობა. ერითროიდული და არაერითროიდული ფოდრინის პოლიპეპტიდები სხვადასხვა გენების პროდუქტებია. ძუძუმწოვრების ტვინში ფოდრინი არის გლიის უჯრედებში და ნეირონებში, აქსონებსა და დენდრიტებში. მისი რაოდენობა იზრდება ტვინის განვითარებისას, რაც იმაზე მეტყველებს, რომ ნეირონებში მას უნდა გააჩნდეს რთული ფუნქცია ვიდრე ეს ერთი შეხედვით ჩანს. ფოდრინ-აქტინის ურთიერთქმედება აუცილებელია ნერვული უჯრედის პოლარობის ჩამოყალიბებისათვის ფოდრინი წარმოადგენს ტეტრამერს, რომელიც შედგება ორი 2α და 2β ჯაჭვისგან. ფოდრინის ყოველ პოლიპეპტიდში (დაახლოვებით 100ნმ სიგრძის) α და β -ჯაჭვები ანტიპარალელურადაა განლაგებული და ქმნიან დიმერს, დიმერები თავი-თავთან უკავშირდებიან ერთმანეთს და ქმნიან ტეტრამერს. ერითროციტებში უფრო მაღალი ოლიგომერული ფორმებიც არის დაფიქსირებული (ჰექსამერი, ოქტამერი და ა.შ.) (Thomas, et al., 2001).

2.4.2 ფოდრინის ბიოლოგიური ფუნქცია

ფოდრინის მრავალი ფიზიოლოგიური ფუნქცია კავშირშია მის უჯრედულ ლოკალიზაციასთან და მასთან მორეაგირე ცილების ბუნებასთან. მიღებულია, რომ ფოდრინით განპირობებული ციტოჩონჩხის წარმოქმნა მნიშვნელოვანია ეპითელიური უჯრედების, ნეირონული და კუნთოვანი უჯრედების პლაზმური მემბრანის სპეციალიზირებული დომენების ფორმაციისა და შენარჩუნებისთვის. ისინი ხელს უწყობენ მემბრანის გამჭოლი ცილების სტაბილიზაციას, ამცირებენ რამათი ენდოციტოზის ხარისხს. უახლესი კვლევების მიხედვით ფოდრინს ასევე უნდა გააჩნდეს როლი მემბრანული ცილების დახარისხებაში (sorting) ვეზიკულების ტრეფიკინგში, ენდოციტოზსა და ნეირიტების ზრდაში. ფოდრინის მუტაცია თაგვებში იწვევს აუდიტორულ და მოტორულ ნეიროპათიებს. ეს ადასტურებს მის მნიშვნელოვან ფუნქციას სპეციალიზირებული სუბუჯრედული დომენების შენარჩუნებაში (Nicolas et al., 2002).

ფოდრინების ჩართვა მრავალ სხვადასხვა ფიზიოლოგიურ პროცესში შეიძლება აიხსნას მათი მოდულარული სტრუქტურით, რომელიც მოიცავს რიგ ცილებთან საურთიერთმოქმედო დომენებს (იზოფორმების და მიხედვით). ფოდრინის ფუნქციებზე დასაკვირვებლად ერთ-ერთი მიდგომა არის მის დომენებთან მორეაგირე ცილების განსაზღვრა სპეციფიკურ უჯრედის ტიპებში. ფოდრინის ფოსფორილირების შესახებ ძალზე მცირე ინფორმაცია მოიპოვება, რადიოაქტიური ფოსფორით მონიშნულ ფოდრინზე *in vivo* ჩატარებულმა ცდებმა გამოავლინა, რომ ხდება β -ფოდრინის ფოსფორილირება ძირითადად სერინის, მაგრამ ასევე ტრეონინის ნაშთებზე. β I-ფოდრინი შეიცავს 6 ფოსფორილირების საიტს. იმ კინაზების და ფოსფატაზების შესახებ, რომლებიც ამ პროცესში არიან ჩართულნი ჯერ ჯერობით ძალზე მცირეა ცნობილი, ეს ფოსფორილირება იწვევს სისხლის წითელი უჯრედების მექანიკური სტაბილურობის შემცირებას. *Torpedo* -ს α -ფოდრინი ფოსფორილირებას განიცდის თიროზინის ნაშთზე. იმუნობლოტინგის და ანტი ფოსფოთიროზინ სპეციფიკური ანტისხეულის გამოყენებით დადგენილი იქნა, რომ ძუძუმწოვრების ენდოგენური α II-ფოდრინი თიროზინის ნაშთზე ფოსფორილირდება *in vivo* პირობებში. ეს ფოსფორილირება დიდადაა დამოკიდებული კინაზა/ფოსფატაზა თანაფარდობაზე. *In vitro* ექსპერიმენტებმა უჩვენა, რომ თიროზინის Y1176 ნაშთი

არის არარეცეპტორული თიროზინ კინაზების სუბსტრატი როგორცაა LcK და Src. ამასთან Src უფრო აქტიურია Y1176-ს მიმართ ვიდრე LcK. Y1176-ის ფოსფორილირების შემდეგ იცვლება α II-ფოდრინის მდგრადობას კალციუმ დამოკიდებული პროტეაზის-კალპაინის მიმართ. პროტეოლიზისადმი მგრძნობიარობის ფოსფორილირების შედეგად შეცვლის არაერთი მაგალითი არსებობს: მაგ გლუტამატის იონოტროპული ამპარ-ების შემთხვევაში, ისინი კალპაინის მიმართ უფრო რეზისტენტულნი ხდებიან ფოსფორილირების შემდგომ. საწინააღმდეგოდ ამისა კორტაქტინის თიროზინის ნაშთის ფოსფორილირება ზრდის მის სენსიტიურობას კალპაინის მიმართ. კორტაქტინი წარმოადგენს კორტიკალურ აქტინ მიერთებად ცილას, რომელიც აქტინის ციტოჩონჩხის გადაადგილებაში მონაწილეობს, იგი მონომერული სახით ციტოპლაზმაში იმყოფება და აქტიურდება თიროზინ კინაზებითა და სერინ/ტრეონინ კინაზებით ფოსფორილირების შედეგად. (Nicolas et al., 2002).

2.4.3. ფოდრინის კალპაინით დეგრადაცია

α II-ფოდრინის კალპაინით დეგრადაცია კარგად შესწავლილი პროცესია და მას ადგილი აქვს რიგ ქსოვილებში უჯრედული დაზიანების შედეგად. იგი კორელირებს ტრომბოციტების აქტივაციასთან, ნეიტროფილების დეგრანულაციასთან, ნეირონულ გრძელ ვადიან პოტენციაციასთან, ნმდარ-ის აქტივაციასთან, ადრენალური ქრომაფინური უჯრედების ეგზოციტოზის სტიმულაციასთან და ენდოციტოზთან. კალპაინის მოქმედება ფოდრინზე დიდ ყურადღებას იპყრობს ვინაიდან ძირეულ ეფექტს ახდენს ფოდრინით განპირობებულ ციტოჩონჩხის წარმოქმნაზე. კალპაინით ფოდრინის გახლეჩვას მივყავართ ფოდრინის უნარის დაკარგვამდე გადაჯაჭვოს აქტინის ფილამენტები და მიუერთდეს მემბრანას. ასე რომ ფოდრინის პროტეოლიზის ფოსფორილირებით მოდულაცია მნიშვნელოვანი უნდა იყოს ფოდრინ დამოკიდებული ციტოჩონჩხის სტაბილურობისა და რეორგანიზებისთვის (Nicolas et al., 2002).

ცნობილია რომ ფოდრინის კალპაინით განპირობებული პროტეოლიზი არის მოვლენა, რომელიც კავშირშია, მრავალ პათოლოგიურ მდგომარეობასთან,

როგორიცაა: იშემია, ექსაიტოტოქსიკურობა, დენერვაცია და ა.შ. გარდა ამისა დადგენილია, რომ ფოდრინის სტაბილური ფრაგმენტები, რომლებიც კალპაინის აქტივაციის შედეგად წარმოიქმნება არის ადრეული პათოგენური მარკერები, რომლებიც ზემოთხსენებული მდგომარეობების დაწყებით სტადიებზე აკუმულირდება უჯრედული ატროფიის და დეგენერაციისას. პათოგენეზის იმავე მარკერების ექსპრესიას ადგილი აქვს ჰიპოკამპის ანათლებზე სხვადასხვა ექსაიტოტოქსინების ორწუთიანი ზემოქმედების შედეგადაც. გარდა ამისა ფოდრინის ფრაგმენტების პერიოდული აკუმულაცია წარმოიქმნება ნმდარ-ს 5 წუთიანი დამატებისას, მაშინ როდესაც 15 წუთიანი ზეგავლენა იწვევს პროტეოლიზური პროდუქტების ზრდას და შეუქცევად პათოგენურ პროცესებს (Bahr, 1995).

2.4.4. ტვინის ფოდრინი

ნმდარ და ტვინის ფოდრინი პოსტინაპსური სიმკვრივის ძირითადი ცილებია. პს სირთულეებით ხასიათდება და ცნობილია, რომ მოიცავს ცილების შედარებით ფართო რიგს, როგორიცაა ფოდრინის და **ნმდარ**-ების გარდა: კამკII, PSD-95, SAP102, chapsin-110, fyn კინაზა, პროტეინ კინაზა A, პროტეინ კინაზა C, α -აქტინინი, აქტინი, ტუბულინი და ნეიროფილამენტ NF-L-ს სუბერთეული. **ნმდარ**-ის არხის აქტივობა დამოკიდებულია აქტინის წყობაზე და იწვევს კალპაინით განპირობებულ ფოდრინის გახლეჩვას. ფოდრინი in vitro პირობებში სელექტიურად ურთიერთქმედებს **ნმდარ**-ის NR1A, NR2A და NR2B სუბერთეულების ციტოპლაზმური დაბოლოებების C დაბოლოებებთან, მაგრამ არა **ამპარ**-ის **გლურ1** სუბერთეულთან. ფოდრინის ურთიერთქმედება NR2B-თან განსხვავებულ ხასიათს ატარებს, ვიდრე α -აქტინინ-2-თან და PSD95/SAP90 ოჯახის სხვა წევრებთან. ფოდრინის ურთიერთქმედებას NR2B-თან ანტაგონიზირებას უწევს კალციუმის იონები და fyn განპირობებული NR2B-ის ფოსფორილირება, მაგრამ არა კალციუმ/კალმოდულინი (კკმ) ან კამკII-ით განპირობებული NR2B-ის ფოსფორილირება. ფოდრინის ურთიერთქმედება NR1 სუბერთეულთან ინჰიბირდება კკმ-ით, მაგრამ მასზე გავლენას არ ახდენს კალციუმის იონები, ან NR1 სუბერთეულის პროტეინ კინაზა A-ს და -C-ს მიერ განპირობებული ფოსფორილირება. საბოლოოდ

ვირთაგვის სინაპტოსომებში, კალციუმის ფიზიოლოგიური კონცენტრაციით დამატება იწვევს ფოდრინის და NR2B-ს მემბრანიდან ჩამოცილებას. **ნმდარ**-ს და α - ფოდრინს შორის მკაცრად რეგულირებადი კავშირი, შესაძლოა საფუძვლად ედოს იმ მორფოლოგიურ ცვლილებებს, რომლებიც წარმოიშვება ნეირონულ დენდრიტებში სინაპსურ აქტივობის და პლასტიკურობის თანადროულად (Wechsler, et al., 1998).

საინტერესოა რომ, როდესაც NR1-ის პროტეინ კინაზა C-თი და პროტეინ კინაზა A-თი ფოსფორილირება იწვევს პოტენციაციას **ნმდარ**-ების არხის პასუხად, ეგზოგენური fyn კინაზის დამატება ზრდის NR1/NR2A-ის შემცველი არხის აქტივობას, მაშინ როდესაც NR1/NR2B-ს შემცველი არხის აქტივობაზე არანაირი ეფექტს არ აქვს ადგილი. თუმცა დასწავლის ტესტისას წარმოქმნილ გვპ-თან ერთად ადგილი აქვს NR2B სუბერთეულის თიროზინის ფოსფორილირების მატებას. მუტანტურ თაგვებში, რომელთაც აკლიათ fyn ცილის გენი შეინიშნება შესუსტებული გვპ და სივრცული დასწავლა. შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ ფოსფორილირებული NR1 სუბერთეულიდან ფოდრინის დისოციაციას გარკვეული წვლილი გააჩნია **ნმდარ**-ების პასუხად განვითარებულ პოტენციაციაში, მაშინ როდესაც მისი დისოციაცია თიროზინ-ფოსფორილირებული NR2B სუბერთეულისგან არის გვპ-თი განპირობებული სინაპსური ცვლილებების ნაწილი (Wechsler, et al., 1998).

2.4.5. ფოდრინი და ნერვული სისტემა

ფოდრინის გარდა კასპაზების და კალპაინების სუბსტრატია აქტინი, მათი ურთიერთქმედება ძირეულ როლს ასრულებს განვითარებადი ნეირონების ზრდის კონუსის ქცევასა და სინაპსურ სტრუქტურაში (მაგ.: დენდრიტული ქაცვის ფორმირებისას). ციტოქონჩხის ამ კომპონენტების კასპაზების მიერ დახლეჩვა იწვევს ისეთ ცვლილებებს უჯრედულ მორფოლოგიაში, რომლებიც აპოპტოზისას ვლინდება (მემბრანის ასიმეტრიულობის დაკარგვა და გაჯირჯება). კასპაზები და კალპაინები შესაძლოა ასევე გარკვეულ როლს ასრულებდნენ განვითარებისას ციტოქონჩხის გადაწყობაში (ზრდის კონუსის ქცევაში) და ზრდასრულ ნერვულ სისტემის სინაპსის სტრუქტურულ პლასტიკურობაში (Chan, et al., 1999).

ჰიპოკამპის ანატომიის კულტურების ზოგიერთი მაგრამ არა ყველა ამჟამ-ების მოდულატორებით დამუშავება კავშირშია კალპაინის შედარებით სწრაფ აქტივაციასთან, რაც იწვევს ფოდრინის გახლეჩვის პროდუქტების აკუმულირებას. კალპაინის ინჰიბიტორის დამატება ხელს უშლის ფოდრინის გახლეჩვის პროდუქტების აკუმულირებას. კალპაინის აქტივაცია და ფოდრინის დეგრადაცია კავშირშია გვპ-ს წარმოქმნასთან. ანუ ამჟამ-ების აქტივაცია უდნა იწვევდეს სინაპსურ რეორგანიზაციას რომელშიც ჩართულია ფოდრინი და მსგავსია იმ მოვლენებისა, რომელთაც ადგილი აქვთ სინაპსური პლასტიკურობისას (Jourdi, et al., 2005).

მწვავე ნეირონული დაზიანების შემდეგ კალციუმის ნაკადი იწვევს ციტოტოქსიურ კასკადს, ხდება რიგი პროტეაზების გააქტივება, მათ შორის კალპაინის, ფოსფოლიპაზების, კინაზების, რომლებიც ჩართულნი არიან უჯრედის ნეკროზულ და აპოპტოზურ კვდომაში. α -II ფოდრინი (280კდ) არის კალპაინის და კასპაზა 3-ის სუბსტრატი და თავდაპირველად იხლიჩება მათ მიერ 150კდ წონის მქონე მოლეკულად, ამ პროდუქტის მატება შეინიშნება დაზიანებულ კორტექსში და გამოიყენება იშემიის მოდელის მარკერად. ტვინის იშემიის მოდელში ნეიროპროტექციული ეფექტის გამოსავლენად გამოიყენება კალპაინის ინჰიბიტორები (Saatman, et al., 1996).

ფოდრინის დანაკლისმა შეიძლება გამოიწვიოს მოტორული აქსონების წყვეტა და ნეიროდეგენერაცია, რაც ნაჩვენებია იქნა C.elegans-ის მოდელში, რომელსაც ფოდრინის დანაკლისი გააჩნდათ, ასეთი ნემატოდებში ადგილი აქვს მოტორული აქსონების წყვეტას ორგანიზმის მოძრაობისას. ეს ეფექტი არ შეიმჩნება დროზოფილაში, რომელსაც ნეირონული ფოდრინი აკლია (Massaro et al., 2010).

2.4.6. ფოდრინი და გოლჯის აპარატი

ვინაიდან ფოდრინი პლაზმური მემბრანის ციტოჩონჩხის მნიშვნელოვანი სტრუქტურული კომპონენტია და გავლენას ახდენს პლაზმური მემბრანის სტაბილურობაზე ლოგიკურია, რომ ჩართულია ორგანელების ტრანსპორტში. β III ფოდრინის ფოსფორილირება იწვევს მის დისოციაციას გოლჯის მემბრანიდან, რასაც

გოლჯის აპარატის ფრაგმენტაციამდე მივყავართ. გოლჯის აპარატის ფრაგმენტაცია მიტოზისას ნორმალური პროცესია, მაგრამ შესაძლოა შეუქცევადი გახდეს აპოპტოზის დროს, რაც ვლინდება ზოგიერთი ნეიროდეგენერაციული დაავადების დროს მაგ. ალცჰაიმერის დაავადებისას (Bauer, et al., 2006).

არც თუ ისე დიდი ხნის წინ აღმოჩენილი იქნა ფოდრინის ოჯახის ახალი წევრი Syne-1, რომელიც შეიცავს ფოდრინის განმეორებად დომენებს, ამინო დაბოლოებაზე აქტინის მიერთების საიტს. იგი გოლჯის კომპლექსზეა ლოკალიზებული და გარკვეულ როლს ასრულებს მის სტრუქტურულ ორგანიზებაში. Syne-1 მნიშვნელოვანი ცილაა ვინაიდან ურთიერთქმედებს მიკროტუბულარულ მოტორულ ცილა კინეზინ II-თან და აჩქარებს მიტოზურ თითისტარაზე ვეზიკულურ ტრეფიკინგს უჯრედის გაყოფისას (Beck, et al., 2005).

2.4.7. დასკვნა

ფოდრინი მონაწილეობს მრავალ მნიშვნელოვან უჯრედულ ფუნქციაში, იგი ჩართულია ციტოჩონჩხის ჩანმოყალიბება-რეარანჟირებასა და სინაპსური სტრუქტურის ცვლილებაში, რაც ძირითადად მეხსიერების ჩამოყალიბებისთვის. ფოდრინი ჩართულია მეხსიერების ფორმირებისთვის ძალზე მნიშვნელოვანი ცილების რეგულაციაში, როგორიცაა მაგ. **ნმდარ**-ები. ფოდრინის კალპაინით განპირობებული პროტეოლიზის დარღვევა კავშირშია, მრავალ პათოლოგიურ მდგომარეობასთან, როგორიცაა: იშემია, ექსაიტოტოქსიკურობა, დენერვაცია და ა.შ.

2.5. სიცხით შოკირებადი ცილა 90

2.5.1. სიცხით შოკირებადი ცილა 90-ის ზოგადი დახასიათება

სიცხით შოკირებადი ცილა 90 (სშც90) არის ატფ-ზე დამოკიდებული მოლეკულური ჩაპერონი, რომელიც საჭიროა მთელ რიგ უჯრედებში მნიშვნელოვანი ფუნქციის მქონე ცილების ფუნქციონირების, დახვევის, სტაბილურობისა და აქტივირებისთვის, ასევე სასიგნალო ცილებისთვის, რომლებიც ჩართულია ისეთ პროცესებში, როგორიცაა უჯრედის გადარჩენა, უჯრედული ციკლის კონტროლი და ტრანსკრიფციული რეგულაცია. სშც90 ფუნქციურად ურთიერთქმედებს რიგ კო-ჩაპერონებთან, რომელთა რიცხვი აგრძელებს ზრდას, მაგრამ მათი ბიოქიმიური როლი სშც90-გან დამოკიდებულ ცილოვან აქტივაციაში დიდი ხნის განვავლობაში დარჩება გასარკვევი (Pratt, 1998).

2.5.1.1. სშც90-ს გენები და იზოფორმები

არსებობს სშც90-ის ორი ძირითადი ციტოპლაზმური იზოფორმა სშც90 α (ჭარბი ფორმა) და სშც90 β (მცირე ფორმა). ძუძუმწოვრების ეს ორი იზოფორმა წარმოიქმნა გენთა დუპლიკაციის შედეგად მიახლოებით 500 მილიონი წლის წინათ.

ბოლო ხანებში აღმოჩენილი იქნა სშც90N ფორმა, რომელიც კავშირშია უჯრედულ ტრანსფორმაციასთან. სშც90-ის ანალოგებს მიეკუთვნება ენდოპლაზმატური ბადის Grp94 და მიტოქონდრიული მატრიქსის სიცხით შოკირებად ცილა 75 (სშც75/სრდც1) (სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის რეცეპტორთან დაკავშირებული ცილა 1). სშც90 α -ს შესაბამისი Cდნმ ადამიანის გენომში სეკვენცირებული იქნა 1,3,4,11 და 14 ქრომოსომებში, სშც90 β -ს შესაბამისი Cდნმ კი 4,6,10,13,14 და 15 ქრომოსომებში (Sreedhar et al., 2004).

ძუძუმწოვრების სშც90-ის გენი, განსხვავებით უმეტესი ეუკარიოტული სშც გენებისგან, შედგება რამდენიმე ინტრონისგან და ეკზონისგან. დადგენილია სშც90 α -ის რეგულაციული როლი ზეპრისებრი თევზის კუნთის დიფერენციაში. საწინააღმდეგოდ ამისა სშც90 α -ის ზეექსპრესია აინჰიბირებს უჯრედულ

დიფერენციაციას ემბრიონულ სიმსივნურ უჯრედებში. **სმც90β** ძირითად როლს ასრულებს ტროპობლასტების დიფერენციაციაში და **სმც90β**-ის დეფიციტის მქონე ჰომოზიგოტური ნოკაუტ თაგვები, რომლებშიც **სმც90α** ნორმული რაოდენობით ექსპრესირდება, მოკლებულნი არიან პლაცენტური ლაბერინთების დიფერენციაციის უნარს (Sreedhar, et al., 2004).

სმც90β-ის ზეექსპრესია შეინიშნება განვითარების ადრეული ეტაპიდან მომწიფებულ ოოციტამდე და სპერმატოციტამდე. სხვადასხვა მოდელზე ჩატარებულმა შემდგომმა კვლევებმა უჩვენა, რომ **სმც90β** აუცილებელია ადრეული ემბრიონული განვითარებისთვის. **სმც90** გარდა სხვა სიციხით შოკირებადი ცილებისა პირდაპირ უერთდება აქტინს და ტუბულინს. ეს უკანასკნელნი კი როგორც ცნობილია ეუკარიოტული ციტოჩონჩხის ძირითადი კომპონენტებია. იზოფორმების შედარებისას გამოვლინდა, რომ **სმც90α**-თან შედარებით, ძირითადად **სმც90β** ურთიერთქმედებს ციტოჩონჩხთან (Sreedhar, et al., 2004).

სმც90 ჩართულია უჯრედის გადარჩენაში და სხვადასხვა სასიგნალო გზაში, რომლებსაც მივყავართ უჯრედის კვდომამდე, აპოპტოზამდე და ნეკროზამდე. ნიკოტინით განპირობებულ აპოპტოზში მხოლოდ **სმც90α** არის ჩართული, რაც უჩვენა დნმ-ს ფრაგმენტაციამ და კასპაზა-3-ს აქტივაციამ (Sreedhar, et al., 2004).

უმეტეს უჯრედებში **სმც90α**-ს ექსპრესია მცირეა ვიდრე **სმც90β**-სი. **სმც90α**-ის უჩვეულოდ მაღალი ექსპრესია კავშირშია სიმსივნის პროგრესიასთან, უჯრედული ციკლის გაძლიერებულ რეგულაციასთან და თიროზინ კინაზებით განპირობებულ სიგნალებთან რომლებიც ზრდის ფაქტორებითაა განპირობებული. **სმც90β**-ის ექსპრესია შედარებით მუდმივია და ასევე შეიძლება იქნას ინდუცირებული, სავარაუდოდ **სმც90β** ჩართულია უჯრედის გრძელვადიან ადაპტაციაში. **სმც90β**-ის ექსპრესია ჩართულია წამლისადმი რეზისტენტულობის განვითარებაში. უჯრედის ნორმალურ ფუნქციებში, როგორიცაა: ციტოარქიტექტურა, დიფერენციაცია, ციტოპროტექცია. (Sreedhar, et al., 2004).

2.5.2. სმც90-ს სტრუქტურა და ფუნქციები

სმც90 არის დიდი ჰომოდიმერული ცილა, რომელიც შედგება მაღალკონსერვირებული 25კდ-იანი N-დაბოლოვების მქონე დომენისგან, რომელიც დამუხტული ლინკერით დაკავშირებულია მაღალი კონსერვაციის მქონე 55კდ-იანი C-დაბოლოვების უბანთან. დამუხტული ლინკერის შემადგენლობა ცვალებადია სახეობის და ცილის იზოფორმის მიხედვით და არაა მნიშვნელოვანი სმც90-ის ფუნქციისთვის.

სხვადასხვა სამეცნიერო ჯგუფების მიერ ჩატარებულმა სტრუქტურულმა, ბიოქიმიურმა და გენეტიკურმა კვლევებმა აჩვენა, რომ სმც90 წარმოადგენს ატფ-ზე დამოკიდებულ სისტემას, მაგრამ ცილის აქტივობაში ატფ-ის ზუსტი როლი ჯერ კიდევ არ არის დადგენილი. ატფ-თან ურთიერთქმედების შემდეგ სმც90 განიცდის კონფორმაციულ ცვლილებებს.

სმც90 უერთდება F-აქტინს ეს პროცესი რეგულირდება კალციუმ დამოკიდებული წესით. სმც90 ჯერ უერთდება კალციუმის მიერ გააქტივებულ კალმოდულინს და შემდგომ ამისა გააჩნია F-აქტინის მიერთების უნარი. უჯრედში ამ ურთიერთქმედებას მაშინ ააქვს ადგილი, როდესაც ეს სამი ცილა სმც90, F-აქტინი და კალმოდულინი ჭარბი რაოდენობითაა. არსებობს ჩინური ზაზუნის საკვერცხიდან გამოყოფილი უჯრედული ხაზი, რომელიც სპეციფიკურად მრავალჯერადად აექსპრესირებს სმც90-ს და ავლენს შეცვლილ თვისებებს მორფოლოგიასა და უჯრედულ ადჰეზიაში. შესაძლებელია ამ უჯრედებში მომხდარი ცვლილებები ციტოჩონჩხის არქიტექტურაში სმც90-ის და აქტინის შორის გაძლიერებული ურთიერთქმედებით იყოს გამოწვეული (Nishida, et al., 1986).

2.5.3. სმც90 და ნეიროტრანსმიტერის გამოთავისუფლება

სმც90 ზრდასრული ძუძუმწოვრების ტვინში განვითარებიდან გვიანდელ ასაკამდე ექსპრესირდება, იგი განსაკუთრებით უხვადაა ლიმბურ სისტემასთან დაკავშირებულ სტრუქტურებში, როგორიცაა ჰიპოკამპი. ჯერ კიდევ ათწლეულების წინ ნავარაუდევო იყო, რომ სმც90 მედიატორის როლს უდნა ასრულებდეს ცილების

ტრეფიკინგისას. ელექტროფიზიოლოგიური ტექნიკის მეშვეობით ნაჩვენები იქნა, რომ **სშც90** მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სინაპსურ გადაცემაში, როგორც პრესინაპსურ, ასევე პოსტინაპსურ უბნებში, მისი მოქმედების მექანიზმი პრესინაპსისთვის და პოსტინაპსისთვის ურთიერთდამოუკიდებელია. **სშც90** აუცილებელია პრესინაპსურ დაბოლოებაში ნეიროტრანსმიტერის ეფექტური გამონთავისუფლებისათვის. იგი ასევე იმ მოლეკულური მანქანის მნიშვნელოვანი კომპონენტია, რომელიც აუცილებელია პოსტინაპსურ მემბრანაზე ამჟარ-ების წრებრუნვისთვის (Gerges, et al., 2004).

2.5.4. ნეიროდეგენერაციული დაავადებები და **სშც90**

ნეიროდეგენერაციული დაავადებები დაკავშირებულია ცილების აგრეგაციასთან, რის შედეგადაც გარკვეულ პათოლოგიების განვითარებას აქვს ადგილი. **სშც90**-ის ინჰიბიცია აქტივებს სიცხით შოკირებად ფაქტორ 1-ს (**სშფ1**), რაც იწვევს სიცხით შოკირებადი ცილა 70-ის (**სშც70**) და სიცხით შოკირებადი ცილა 40-ის (**სშც40**) გააქტივებას. ეს უკანასკნელნი ხელს უწყობენ ცილების დისაგრეგაციას და დეგრადაციას. არასტრესულ მდგომარეობაში **სშც90** უერთდება **სშფ1**-ს, რაც იწვევს ამ ტრანსკრიფციის ფაქტორის მონომერულ მდგომარეობაში შენარჩუნებას. **სშც90**-ის ინჰიბირება იწვევს **სშფ1**-ის გამონთავისუფლებას **სშც90**-ის კომპლექსისგან მის ტეტრამერიზაციას, აქტივაციას და ბირთვში ტრანსლოკაციას, სადაც იგი ანხორციელებს სიცხით შოკირებაზე პასუხს (Luo, et al., 2008).

2.5.6. **სშც90** და სიმსივნე

ნორმალურ მდგომარეობაში მყოფი უჯრედისთვის **სშც90** აუცილებელია ბირთვული ჰორმონების რეცეპტორების, ტრანსკრიფციის ფაქტორების და პროტეინ კინაზების სტაბილიზაცია/მომწიფებისთვის. ამ ცილების რეგულაციის დარღვევა იწვევს სიმსივნის განვითარებას. **სშც90** ასევე ხელს უშლის ნორმიდან გადახრილად ექსპრესირებადი ცილების აგრეგაციას, რომელთა აკუმულაცია უჯრედში წარმოშობს

ტოქსიკურ სტრესს, რასაც საბოლოოდ უჯრედის დაპროგრამირებულ კვდომამდე მიყვავართ. **სშც90** ჩაპერონირებას უკეთებს მრავალ ისეთ ცილას, რომლებიც ჩართულია ზრდის ჰორმონების სასიგნალო გზებში, აქედან გამომდინარე ლოგიკურია რომ მისმა ფუნქციის დარღვევამ შესაძლოა უჯრედი განუყვეტელი პროლიფერაციის მდგომარეობაში გადაიყვანოს. **სშც90**-ს ასევე ძალუძს ნეოპლასტიკური კლონების ხელშეწყობა ვინაიდან ფუნქცია დარღვეული **სშც90** უკვე სტაბილიზაციას უკეთებს იმ მუტირებულ ცილებს, რომლებიც ხშირად სიმსივნურ დაზიანებებთან არიან კავშირში, როგორიცაა მაგ.: p53, Bcr-Abl, და v-Src. **სშც90**-ის რეგულაციის დარღვევით სიმსივნის წარმოქმნა ხდება დნმ-ის რეპარაციის გზების ინაქტივაციის შედეგად. **სშც90** არის მრავალი ანტისიმსივნური პრეპარატის სამიზნე, და ეს წამლები ბლოკირებას უკეთებენ **სშც90**-ზე დამოკიდებულ Raf-1, Cdk4, Src-ოჯახის კინაზების აქტივობას, თუმცა ასევე სხვა მრავალი ონკოგენური სამიზნეც გააჩნიათ, რომელთა მექანიზმი კვლავ **სშც90**-ის ინჰიბირებას მოიცავს (Brown et al., 2007).

2.5.7. დასკვნა

სშც90 ჩართულია უჯრედისთვის მრავალ მნიშვნელოვან ფუნქციაში, დაწყებული სტრესის პასუხიდან დამთავრებული ნეიროტრანსმიტერის გამონთავისუფლებამდე. მისი ფუნქციის მოშლა იწვევს სიმსივნის და სხვადასხვა ნეიროდეგენერაციული დაავადებების განვითარებას. ვინაიდან ნეიროტრანსმიტერის გამონთავისუფლება და სინაპსებში **ამპარ**-ების რეციკლიზაცია ძალზე მნიშვნელოვანია ნერვული პლასტიკურობისათვის, სავარაუდოთ **სშც90** ჩართული უდნა იყოს მეხსიერების ფორმაციაში, თუმცა ეს საკითხი ძალზე მცირედ არის შესწავლილი.

თავი 3. სამუშაოს მიზანი

ლიტერატურის მიმოხილვის თავში ჩვენ განვიხილეთ ის ბიოქიმიური მონაცემები, რაც მიღებული იყო ჩვენს ჯგუფში წიწილებში მხედველობითი იმპრინტინგის მოლეკულური მექანიზმების შესწავლისას. კონკრეტულად ამ მონაცემებისა და ამ სფეროში არსებული სხვა მონაცემების საფუძველზე ჩვენ განვსაზღვრეთ ნაშრომის კონკრეტული ამოცანები, რომლებიც შემდეგია:

1. **მამკვს ცილის რომელი სუბუჯრედული ფორმა მემბრანული არაფოსფორილირებული თუ ციტოპლაზმური ფოსფორილირებული ან ორივე ერთდროულად განიცდის მეხსიერებისათვის სპეციფიკურ ცვლილებებს დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ? მამკვს ცილის მაკოდირებელი გენის ექსპრესია იზრდება დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ. ამ ცილოვანი მოლეკულის დონე მშმნ-ის ჰომოგენატში იზრდება დასწავლისათვის სპეციფიკურად (Solomonina, et al., 2003). ჰომოგენატის ფრაქცია მოიცავს მამკვს ცილის როგორც მემბრანულ ასევე ციტოპლაზმურ ფოსფორილირებულ ფორმებს და ერთერთი მათგანი თუ ორივე განიცდის დასწავლისათვის სპეციფიკურ ცვლილებებს უცნობი რჩებოდა. ამ საკითხის გარკვევა მნიშვნელოვანია იმ მოლეკულური მექანიზმების შეცნობისათვის, რომლებიც მონაწილეობენ გრძელ-ვადიანი მეხსიერების ჩამოყალიბებაში.**
2. **ადგილი აქვს თუ არა დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ ალფა-ფოდრინის და სშც90-ის დასწავლისათვის სპეციფიკურ რაოდენობრივ ცვლილებებს? ამ ცილების მაკოდირებელი გენები მეხსიერებაში მონაწილე ე.წ. კანდიდატ გენტა რიცხვს განეკუთვნებიან (Solomonina, et al., 2003). კარგად დამსწავლელი წიწილების მშმნ-ში ცუდად დამსწავლელ წიწილებთან შედარებით α -ფოდრინის მაკოდირებელი მ-რნმ-ის დონე იკლებს, ხოლო სშც90-ის შესაბამისი მ-რნმ-ის დონე მატულობს**
3. **ადგილი აქვს თუ არა დასწავლისათვის სპეციფიკურ ცვლილებებს ამჟა გლუტამატის რეცეპტორების გლურI სუბერთეულის 831-ე სერინის ნაშთზე დასწავლიდან 1 საათის შემდეგ? დროის ამ წერტილზე დასწავლისათვის სპეციფიკურად იზრდება ავტოფოსფორილირებული კამკII-ის რაოდენობა**

წიწილების მშენ-ში (Solomon, et al., 2005). ეს ფერმენტი გააქტივებულ მდგომარეობაში უნდა ახორციელებდეს გლუტ1-ის ფოსფორილირებას 831-ე სერინის ნაშთზე. აქვს თუ არა ადგილი ამ რეაქციისას ასევე დასწავლისათვის სპეციფიკურ ცვლილებებს?

თავი 4. მეთოდები

4.1. ქცევითი მეთოდები:

4.1.1. წიწილების იმპრინტირება და ტვინის ნიმუშების მომზადება ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ მამკს ცილის და მისი ფოსფორილირებული ფორმის რაოდენობრივი ცვლილებების შესასწავლად სუბუჯრედულ ფრაქციებში

ექსპერიმენტების ეს სერია ჩატარებული იქნა 7 გამოჩეკვის წიწილებზე. წიწილები იჩეკებოდა და ინახებოდა სიბნელეში ტრეინინგამდე. გამოჩეკვიდან 22-28 საათის შემდეგ წიწილები იწვრთნებოდა 1 საათის განმავლობაში მბრუნავ ბორბალში იმპრინტ-სტიმულის ექსპოზიციით (შიგნიდან განათებული მბრუნავი წითელი ყუთი). როდესაც წიწილა ცდილობდა ტრენირების სტიმულისკენ მიახლოებას, გადაადგილების მცდელობა იწვევდა მბრუნავი ბორბლის მოძრაობაში მოყვანას. მიახლოების აქტივობის განსასაზღვრავად ითვლებოდა მბრუნავი ბორბლის გადატრიალების რაოდენობა.

ის წიწილები, რომლებიც საწვრთნელი ობიექტის მახასიათებლებს სწავლობდნენ, ამჯობინებდნენ მას ალტერნატიულ სტიმულს. ტრენირებიდან 10 წუთის შემდეგ ყოველი წიწილის უპირატესობის მაჩვენებელი იზომებოდა წითელი ყუთის და ალტერნატიული სტიმულის (ლურჯი ცილინდრის) ექსპოზიციით 5 წუთიანი ინტერვალებით (წითელი ყუთი, ლურჯი ცილინდრი, კვლავ ლურჯი ცილინდრი და ბოლოს წითელი ყუთი). გამოიანგარიშებოდა უპირატესობის მაჩვენებელი, რომელიც დასწავლის სიძლიერის მაჩვენებელიცაა (Bolhuis et al., 2000). უპირატესობის მაჩვენებელი ეს არის პროცენტულად გამოსახული მიახლოების აქტივობა წითელ ყუთზე ჯამური მიახლოების აქტივობიდან (როგორც წითელ ყუთზე ასევე ლურჯ ცილინდრზე). თუ მიახლოების აქტივობა იყო თანაბარი ორივე სტიმულზე, მაშინ უპირატესობის მაჩვენებელი 50-ია (არავითარი არჩევანი და არავითარი დასწავლა); თუ წიწილა უახლოვდება მხოლოდ საწვრთნელ ობიექტს უპირატესობის მაჩვენებელი 100-ია (ძლიერი არჩევანი და ძლიერი დასწავლა). ერთი

ჯგუფი წიწილებისა ყოველ გამოჩეკვაში გამოიყენებოდა არატრენირებულ კონტროლად (ატრკ).

წიწილების დეკაპიტაცია ხორციელდებოდა ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ. თავის ტვინიდან ხდებოდა ოთხი უბნის ამოკვეთა: მარცხენა და მარჯვენა ნახევარსფეროს მეზოპალიუმის შუა და მედიალური ნაწილის (მშმნ) და მარცხენა და მარჯვენა ნახევარსფეროს ნიდოპალიუმის პოსტერიორ ნაწილის (ნპნ) (Horn 1991; Solomon et al. 1998). ტვინიდან ამოკვეთის შემდეგ ქსოვილის ყოველი ნაწილი დაუყოვნებლივ თავსდება მშრალ ყინულზე.

სუბუჯრედული ფრაქციების საკმარისი რაოდენობის მისაღებად ხდებოდა სამ-სამი ნიმუშის ერთ ნიმუშში გაერთიანება (მაგ. კარგად დამსწავლელების მარცხენა მშმნ) თითოეული გამოჩეკვიდან. მაგალითისათვის: ყოველ ექსპერიმენტში ერთი მარცხენა მშმნ ნიმუში მიიღებოდა სამი არატრენირებული წიწილისაგან. დამატებით მიიღებოდა ტრენირებული წიწილების მარცხენა მშმნ-ს სამი ნიმუში. თითოეული ნიმუში მიიღებოდა მსგავსი უპირატესობის ხარისხის მქონე წიწილიდან. იმისათვის, რომ ყოველ ექსპერიმენტში ეს ნიმუშები ფარავდნენ უპირატესობის ხარისხს ფართო სპექტრს 50-100-მდე ერთი ნიმუში იღებოდა საშუალო უპირატესობის ხარისხით $> 40 \leq 60$ -ზე; მეორე ნიმუში იღებოდა საშუალო უპირატესობის ხარისხით $> 60 \leq 80$ -ზე; და მესამე ნიმუში საშუალო უპირატესობის ხარისხით > 80 . ასე რომ ყოველ ექსპერიმენტში მაგალითად მარცხენა მშმნ-ს ნიმუშები მზადდებოდა ერთი არატრენირებული და სამი ტრენირებული წიწილიდან (ცხადია ეს ნიმუშები არ ერეოდა ერთმანეთს). ვინაიდან იღებოდა ტვინის 4 უბანი, ყოველი ექსპერიმენტი მოიცავდა 16 ნიმუშს. ყოველი ექსპერიმენტი შვიდჯერ განმეორდა (112 ნიმუში ჯამში).

შეგროვების შემდეგ ნიმუშებს ეძლეოდათ კოდური დასახელება და მათი შემდგომი დამუშავება ხდებოდა ბრმათ. ნიმუშები მიიღებულ იქნა 60 ტრენირებული და 21 არატრენირებული წიწილიდან. ცხოველთა რაოდენობა შეესაბამებოდა შესაბამისი სტატისტიკური ანალიზის მინიმალურ მოთხოვნებს.

4.1.2. წიწილების იმპრინტირება და ტვინის ნიმუშების მომზადება ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ ალფა სპექტრინის და სიცხით შოკირებადი ცილა 90-ის რაოდენობრივი ცვლილებების შესასწავლად

ექსპერიმენტების ეს სერია ჩატარებული იქნა 8 გამოჩეკვის წიწილებზე. წიწილების გამოჩეკვა, შენახვა და ტრენინგი და დეკაპიტაციის დრო (24 საათი ტრენირების დამთავრებიდან) ანალოგიური იყო ზემოთ აღწერილი პირობებისა. ამ შემთხვევაშიც ისევენაირად ხდებოდა წიწილების შერჩევა უპირატესობის ტესტის სხვადასხვა მაჩვენებლის მიხედვით, მაგრამ ერთი ნიმუში მხოლოდ ერთი წიწილისაგან მიიღებოდა. ეს განპირობებული იყო იმით, რომ ტვინის ნიმუშიდან მხოლოდ ერთი სუბუჯრედული ფრაქციის მიღება ხორციელდებოდა.

თითოეული ცხოველიდან იღებოდა ტვინის 4 უბანი და უმრავლესობა გამოჩეკვაში შესაძლებელი გახდა 3 ტრენირებული წიწილის შერჩევა უპირატესობის ტესტის სამი განსხვავებული მაჩვენებლის მიხედვით. ყოველი ექსპერიმენტი მოიცავდა 12-16 ნიმუშს (ტრენირებული წიწილების რაოდენობის მიხედვით). ექსპერიმენტი რვაჯერ განმეორდა. საბოლოო ჯამში ნიმუშები მიღებული იქნა 22 ტრენირებული და 8 არატრენირებული წიწილიდან –სულ 120 ნიმუში. ორი ნიმუში დაკარგული იქნა ექსპერიმენტის მსვლელობისას.

შეგროვების შემდეგ ნიმუშებს ეძლეოდათ კოდური დასახელება და მათი შემდგომი დამუშავება ხდებოდა ბრმათ. ცხოველთა რაოდენობა შეესაბამებოდა შესაბამისი სტატისტიკური ანალიზის მინიმალურ მოთხოვნებს.

4.1.3. წიწილების იმპრინტირება და ტვინის ნიმუშების მომზადება ტრენირებიდან 1 საათის შემდეგ ამჰმ რეცეპტორების I სუბერთეულის და მისი 831-ე სერინის ნაშთზე ფოსფორილირებული ფორმის რაოდენობრივი ცვლილებების შესასწავლად

ექსპერიმენტების ეს სერია ჩატარებული იქნა 12 გამოჩეკვის წიწილებზე. წიწილების გამოჩეკვა, შენახვა და ტრენინგი ანალოგიური იყო ზემოთ აღწერილი პირობებისა. განსხვავებული იყო დეკაპიტაციის დრო ტრენირების დამთავრებიდან;

დეკაპიტაცია ხორციელდებოდა ტრენირების დამთავრებიდან 1 საათის შემდეგ. ამ შემთხვევაშიც ისევენაირად ხდებოდა წიწილების შერჩევა უპირატესობის ტესტის სხვადასხვა მაჩვენებლის მიხედვით, მაგრამ ერთი ნიმუში მხოლოდ ერთი წიწილისაგან მიიღებოდა (როგორც ალფა სპეტრინის და სმც90-ის შემთხვევაში). ეს განპირობებული იყო იმით, რომ ტვინის ნიმუშიდან მხოლოდ ერთი სუბუჯრედული ფრაქციის მიღება ხორციელდებოდა.

თვითოეული ცხოველიდან იღებოდა ტვინის 4 უბანი და უმრავლესობა გამოჩეკვაში შესაძლებელი გახდა 3 ტრენირებული წიწილის შერჩევა უპირატესობის ტესტის სამი განსხვავებული მაჩვენებლის მიხედვით. ყოველი ექსპერიმენტი მოიცავდა 12-16 ნიმუშს (ტრენირებული წიწილების რაოდენობის მიხედვით). ექსპერიმენტი 12 ჯერ განმეორდა. საბოლოო ჯამში ნიმუშები მიღებული იქნა 34 ტრენირებული და 12 არატრენირებული წიწილიდან –სულ 232 ნიმუში. ოთხი ნიმუში დაკარგული იქნა ექსპერიმენტის მსვლელობისას.

შეგროვების შემდეგ ნიმუშებს ეძლეოდათ კოდური დასახელება და მათი შემდგომი დამუშავება ხდებოდა ბრმათ. ცხოველთა რაოდენობა შეესაბამებოდა შესაბამისი სტატისტიკური ანალიზის მინიმალურ მოთხოვნებს.

4.2. ბიოქიმიური მეთოდები:

4.2.1 სუბუჯრედული ფრაქციები

მამკვს ცილის და მისი ციტოპლაზმური ფოსფორილირებული ფორმის რაოდენობრივი ცვლილებები. წიწილების თავის ტვინის ქსოვილოვანი ნიმუშები ჰომოგენიზირდებოდა (ბუფერის შემადგენლობა; 0.32 მოლი საქაროზა, 20 მმოლი HCl [pH 7.4], 1 მმოლი ეთილენდიამინ-ტეტრამარმჟავა, 1 მმოლი ნატრიუმის ორთოვანადატი, 0.5 მმოლი ეთილენ გლიკოლ (2-ამინოეთილეთერ)- N,N,N',N'-ტეტრამარმჟავა და პროტეაზების და ფოსფატაზების ინჰიბიტორების ნარევი [Sigma]), ცენტრიფუგირდებოდა 1000გ-ზე 10 წთ-ის განმავლობაში დაუშლელი უჯრედებისა და ბირთვების დასალექად. მიღებული სუპერნატანტი ცენტრიფუგირდებოდა 15000გ-ზე 20 წთ-ის განმავლობაში. ამ ცენტრიფუგირებით მიღებული სუპერნატანტი წარმოადგენდა ციტოპლაზმურ ფრაქციას. ნალექი კიდევ

ერთხელ ირეცებოდა და მიღებული ნალექი წარმოადგენდა P2 მემბრანულ ფრაქციას. P2 მემბრანულ ფრაქცია იხსნებოდა 5%-იან ნატრიუმის დოდეცილ სულფატის (ნდს)-ის ხსნარში. ნატრიუმის დოდეცილსულფატის (ნდს) კონცენტრირებული ხსნარი ემატებოდა ციტოპლაზმურ ფრაქციას იმ რაოდენობით, რომ ნდს-ის საბოლოო კონცენტრაცია 5% ყოფილიყო.

ალფა სპექტრინის და სიცხით შოკირებადი ცილა 90-ის რაოდენობრივი ცვლილებები. ამ ცდებისათვის გამოიყენებოდა სუბუჯრედული ფრაქცია, რომელსაც მოცილებული ჰქონდა ბირთვები და დაუშლელი უჯრედები, ანუ ზემოთ აღწერილი ანალოგიური ჰომოგენიზაციის შემდეგ ხორციელდებოდა ცენტრიფუგირება 1000გ–ზე 10 წთ-ის განმავლობაში და შემდგომ ცდებში გამოიყენებოდა მიღებული სუპერნატანტი. მას ემატებოდა ნდს-ის კონცენტრირებული ხსნარი იმ რაოდენობით, რომ ნდს-ის საბოლოო კონცენტრაცია 5% ყოფილიყო

ამჰმ რეცეპტორების I სუბერთეულის და მისი 831-ე სერინის ნაშთზე ფოსფორილირებული ფორმის რაოდენობრივი ცვლილებები. ამ ცდებისათვის გამოიყენებოდა სუბუჯრედული ფრაქცია, რომელიც მიიღებოდა ზუსტად იგივე გზით, რომელიც აღწერილია ზემოთ ალფა სპექტრინისა და სმც90-ის შემთხვევისათვის

4.2.2.. ცილის რაოდენობის განსაზღვრა, ელექტროფორეზი, იმუნობლოტინგი

ყველა ცდისათვის ცილის კონცენტრაცია ისაზღვრებოდა 4 პარალელურ ნიმუშში მიკრობიქინონის მჟავას ცილის განმსაზღვრელი ტესტ-სისტემით (Pierce).

ნიმუშები, რომლებიც შეიცავდა ზუსტად 30 მიკროგრამ ცილას და ტოლ მოცულობებში იყოფოდნენ ნდს გელ-ელექტროფორეზული მეთოდით (Solomon et al., 1997; 1998; 2003). ნდს-ელექტროფორეზისა და ვესტერნ ბლოტინგის შემდეგ დატანის თანაბრობა გელზე და გადატანის ეფექტურობა ნიტროცელულოზის ფილტრებზე მოწმდებოდა Ponceau S ხსნარით. ფილტრი შემდეგ ირეცებოდა კალიუმ-ფოსფატური ბუფერით, რომელიც 0.05% ტვინ-20-ს შეიცავდა. ყველა

შემთხვევაში ფილტრის დაუკავშირებელი საიტების ბლოკირებას ვახორციელებდით 5%-იანი ხარის შრატის ალბუმინის ხსნარში ინკუბაციით ღამის განმავლობაში.

ფირები მუშავდებოდა სტანდარტული იმუნოქიმიური პროცედურებით, რომელიც მოიცავდა ფილტრის დამუშავებას პირველადი ანტისხეულებით, რეცხვას, დამუშავებას შესაბამისი პეროქსიდაზით მონიშნული მეორადი ანტისხეულებით და გამჟღავნებას SuperSignal West Pico ქემინოლუმინესცენციური სუბსტრატით (Pierce). ფილტრები თავსდებოდა საინტენსიფიკაციო ეკრანზე სპეციალურ ფირებთან ერთად, რომლებიც წინასწარ განიცდიდნენ მოკლევადიან დასხივებას პასუხის ხაზობრივობის მისაღწევად (Amersham).

გამოყენებული ანტისხეულები. P2 მემბრანული ფრაქციის ცილების შემცველი ფილტრები იღებებოდა ანტისხეულით წიწილის მამკეს ცილის წინააღმდეგ, რომელიც ამოიცნობდა მის როგორც არაფოსფორილირებულ, ასევე ფოსფორილირებულ ფორმას (საჩუქარი P. J. Blackshear and D. J. Stumpo, National Institute of Environmental Health Sciences, Duke University, USA) და მას აღვნიშნავთ როგორც მემბრანულ მამკეს (მ- მამკეს). ციტოპლაზმური ფრაქციის ცილების შემცველი ფილტრები იღებებოდა ანტი-ფოსფომამკეს ანტისხეულით, რომელიც ამოიცნობდა მამკეს-ის მხოლოდ ფოსფორილირებულ ფორმას (Calbiochem) და აღვნიშნავთ როგორც ციტოპლაზმური ფოსფორილირებული მამკეს (ცფ- მამკეს)

ალფა-სპეტრინის აღმოსაჩენად გამოიყენებოდა კურდღლის პოლიკლონალური ანტისხეულები კომპანია Biomol International –იდან. სმც90-ის იდენტიფიკაციისათვის ვხმარობდით მონოკლონურ ანტისხეულებს კომპანია Sigma -დან.

ამჟმ რეცეპტორის I სუბერთეულის და მისი 831-ე ნაშთზე ფოსფორილირებული ფორმის იდენტიფიკაციისათვის გამოიყენებოდა შესაბამისი პოლიკლონური ანტისხეულები კომპანია Millipore -დან.

რაოდენობრივი ანალიზი. ვახორციელებდით ფირებზე ასახული ყოველი საკვლევი ცილის შესაბამისი ლაქების დიგიტალიზაციასა და შესაბამისი ოპტიკური სიმკვრივები იზომებოდა LabWorks 4.0 (UVP) პროგრამის გამოყენებით.

ყოველი გელი შეიცავდა წიწილების არატრენირებული ჯგუფის მშმნ-ს ჰომოგენატის ფრაქციიდან აღებულ ოთხ სტანდარტს, სადაც ცილის ჯამური რაოდენობა იზრდებოდა 15-დან 60 მკგ-მდე.

ამ სტანდარტების იმუნოშეღებვის ხაზების ოპტიკური სიმკვრივეები ხაზობრივ დამოკიდებულებაში იყო საკვლევი ცილის რაოდენობის მიმართ. ყველა ამ სტანდარტში უმცირეს კვადრატთა რეგრესიული ანალიზი აჩვენებდა სარწმუნო ხაზობრივ კორელაციას.

ყოველ სურათზე სადაც ცილის რაოდენობრივი ცვლილებებია ასახული, ნაჩვენებია მონაცემების მისაღებად ყოველი ექსპერიმენტული ნიმუშის ლაქის ოპტიკური სიმკვრივე იყოფოდა იმავე ფირის დაკალიბრების სტანდარტის 30 მკგ-ის შესაბამისი ლაქის ოპტიკური სიმკვრივეზე (Solomon et al. 2003). ამ გზით მიღებული მონაცემები განიხილება როგორც საკვლევი ცილის (მაგალითად, მ-მამპკს-ის და ცპ-მამპკს-ის, სმც90-ის და სხვათა) “ფარდობითი რაოდენობა”

4.3 სტატისტიკური ანალიზი

მამპკს და ცფ-მამპკს. მშმნ-ს და ნჰნ-ს შორის ფუნქციური განსხვავების გამო (იხ. შესავალი) ამ ორი უბნის მონაცემები განცალკევებულად ანალიზდებოდა. მონაცემები ანალიზდებოდა ტრენირებული წიწილების ნიმუშების გაყოფით ორ ჯგუფად იმისდა მიხედვით თუ ნიმუშის უპირატესობის ხარისხი იყო მეტი ან ნაკლები უპირატესობის ხარისხის მედიანაზე. ცალკე ჯგუფად გამოყოფილი იყო არატრენირებული წიწილების ჯგუფი.

მ-მამპკს-ის და ცფ-მამპკს-ის ფარდობით რაოდენობების მონაცემები მუშავდებოდნენ ცვლადთა დაჩეხილი-მრუდის ცვლადთა ფაქტორიალური ანალიზით (split-Plot ANOVA), შემდეგი ფაქტორების მიხედვით: ექსპერიმენტული ჯგუფი (უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი > მედიანაზე, უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი < მედიანაზე, არატრენირებული) და გამოჩეკვის პარტია. არატრენირებულ წიწილებში მარჯვენა და მარცხენა მშმნ-ს ნიმუშების მ-მამპკს-ის და ცპ-მამპკს-ის საშუალო მონაცემები მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდნენ ერთმანეთისაგან, გარდა ამისა ტრენირებულ წიწილებისთვის მარჯვენა და მარცხენა მ-მამპკს-ის და ცპ-მამპკს-ის კორელაციის მრუდები უპირატესობის ხარისხის მიმართ მარცხენა მშმნ-სთვის მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა მარჯვენისგან. ამ მიზეზის გამო, ძირითადი ანალიზისათვის მარჯვენა და მარცხენა მხარეების მონაცემები

გაერთიანებული იქნა. როგორც შედეგებში იქნება ნაჩვენები ჩვენ განვახორციელეთ შემდეგ აგრეთვე დამატებითი სტატისტიკური ანალიზი ნახევარსფეროების მიხედვით.

ექსპერიმენტულ ჯგუფების ნაშთი ცვლადები შედარებული იქნა ბარლეტის ტესტით (იხ. M Snedecor and Cochran 1989). ასევე გამოყენებული იქნა კორელაციული ანალიზი მ-მამკს-ის და ცფ-მამკს-ის რაოდენობებისთვის, რათა დაგვედგინა მამკს-ის ამ ორი ფორმის ფარდობით რაოდენობებს შორის კორეკაცია. კორელაციურ მრუდში მ-მამკს-ის და ცფ-მამკს-ის ფარდობითი რაოდენობის მნიშვნელობები (სურ. 14) მოცემულია გამოჩეკვის ყოველი ნიმუშის შესაბამისი საშუალოს გამოკლების და შემდეგ მასზე ყველა გამოჩეკვის საშუალო მაჩვენებლის დამატების შემდეგ.

ეს პროცედურა სპობს გამოჩეკვებს შორის ვარიაციას, და სტატისტიკის ტესტის სარწმუნოება დგინდებოდა შეცდომათა თავისუფლების ხარისხის შესაბამისი შემცირების მიხედვით (Snedecor and Cochran 1989).

მ-მამკს-ის და ცფ-მამკს-ის ფარდობით რაოდენობების ურთიერთკავშირები დასწავლის სიძლიერესთან ცალ-ცალკე ექვემდებარებოდა კორელაციულ ანალიზს.

ალფა-სპექტრინი და სმც90. ამ შემთხვევაშიც და იგივე მიზეზების გამო მშმნ-ის და ნჰნ-ის მონაცემები განცალკევებულად ანალიზდებოდა. მონაცემები ანალიზდებოდა ტრენირებული წიწილების ნიმუშების გაყოფით ორ ჯგუფად იმისდა მიხედვით თუ ნიმუშის უპირატესობის ხარისხი იყო მეტი ან ნაკლების უპირატესობის ხარისხის მედიანაზე. ცალკე ჯგუფად გამოყოფილი იყო არატრენირებული წიწილების ჯგუფი.

მ-მამკს-ის და ცფ-მამკს-ის ფარდობით რაოდენობების მონაცემები მუშავდებოდა ცვლადთა დაჩეხილი-მრუდის ცვლადთა ფაქტორიალური ანალიზით (split-Plot ANOVA), შემდეგი ფაქტორების მიხედვით: ექსპერიმენტული ჯგუფი (უპირატესობის ტესტის მაჩვენებლი > მედიანაზე, უპირატესობის ტესტის მაჩვენებლი < მედიანაზე, არატრენირებული) და გამოჩეკვის პარტია. კორელაციური, ცვლადთა ნაშთების და სხვა ანალიზი ანალოგიური იყო ზემოთ დეტალურად გადმოცემული ანალიზისა.

გლურ-1 და ფ-831-გლურ-1 და მათი ფარდობა. ამ შემთხვევაშიც ანალიზი ანალოგიური იყო ზემოთ აღწერილი გადმოცემისა.

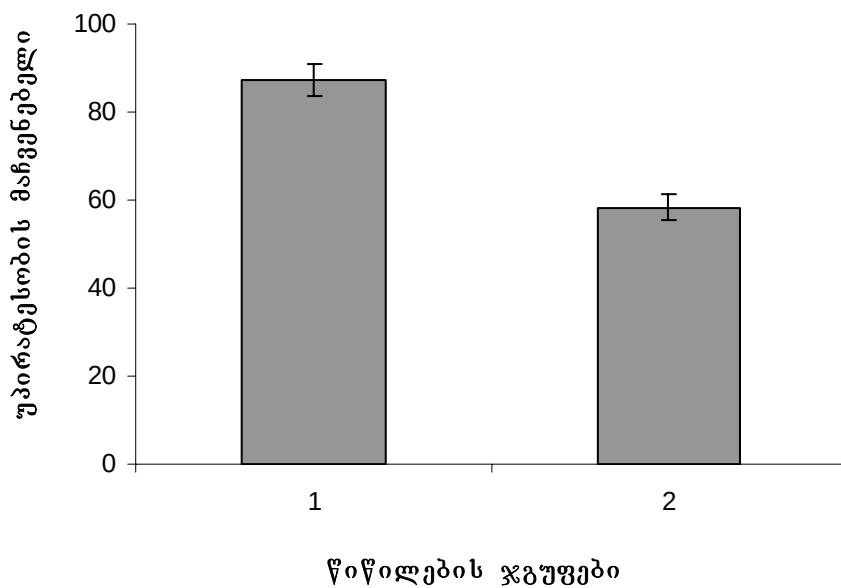
არსებობს ინდივიდუალური სხვაობა წიწილების უპირატესობის ხარისხებს შორის, რომელიც მიიღწევა მათი ტრენირებიდან ფიქსირებული პერიოდის შემდეგ. ეს ცვალებადობა გამოყენებული იქნა საკვლევი ცილების დონესა და დასწავლის სიმძლიერის შორის შესაბამისობის დასადგებად (Solomon et al. 2003).

თავი 5. შედეგები

5.1. მამბკს ცილის სუბუჯრედული ფორმების ცვლილებები დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ

5.1.1. ქცევა

ტრენირებული წიწილების საშუალო უპირატესობის ხარისხი (72.8 ± 4.0 სსც (საშუალო სტანდარტული ცდომილება), $n=20$ მაჩვენებლით, ყოველი მაჩვენებელი წარმოადგენს 3 წიწილის საშუალოს) მნიშვნელოვნად მეტი იყო არანაირი უპირატესობის დონეზე 50 ($t = 5.70$, 19 თხ (თავისუფლების ხარისხი), $P < 0.001$). ეს საშუალო უპირატესობის ხარისხები დაყოფილი იქნა ორ ნაწილად მედიანაზე მეტ და მედიანაზე ნაკლებ მაჩვენებლიან ჯგუფებად. ამ ორი ჯგუფის საშუალოები მნიშვნელოვნად აღემატებოდა უპირატესობის ხარისხის შემთხვევას 50 მაჩვენებლით. საშუალო უპირატესობის ხარისხი იმ ჯგუფისა, რომლის ეს მაჩვენებელი მედიანაზე მეტი იყო 87.3 ± 3.5 ($t = 10.66$, 9 თხ, $P < 0.001$), ხოლო საშუალო უპირატესობის ხარისხი იმ ჯგუფისა, რომლის ეს მაჩვენებელი მედიანაზე ნაკლები იყო 58.4 ± 2.8 ($t = 3.00$, 9 თხ, $P < 0.015$). ეს ორი ჯგუფი ასევე სარწმუნოდ განსხვავდებოდა ერთმანეთისაგან (სურ.3). მიუხედავად ტრენირებული წიწილების უპირატესობის ხარისხების საშუალო მაჩვენებლების სარწმუნო სხვაობისა ამ ორ ჯგუფში, არც მიახლოებების აქტივობა ტრენირებისას და არც მიახლოებების აქტივობა ტესტის ჩატარებისას არ იყო მნიშვნელოვნად განსხვავებული ამ ორი ჯგუფისთვის ($F_{1,18} = 0.05$, $P = 0.82$ და $F_{1,18} = 0.26$, $P = 0.61$ შესაბამისად). ტრენირებისა და ტესტის ჩატარებისას არ შეინიშნებოდა მიახლოების აქტივობის მნიშვნელოვანი კორელაცია უპირატესობის ხარისხთან ($r = 0.21$, 18 თხ, $P = 0.37$ და $r = 0.085$, 18 თხ, $P = 0.72$ შესაბამისად).



სურ.3. უპირატესობის ტესტის საშუალო მაჩვენებელი წიწილების ორ ჯგუფში, ტრენირების შემდეგ.

1- წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი > მედიანაზე; 2- წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი < მედიანაზე. სხვაობა სარწმუნოა $P < 0.001$

5.1.2. იმუნოშეღებვა

წიწილის მამაკის-ის ანტისხეულები რეაგირებს მემბრანული ფრაქციის 63 კდ-ის ცილოვან ხაზთან (სურ.4). ანტისხეულები ფოსფო-მამაკის-ის წინააღმდეგ ურთიერთქმედებს 63კდ-იან ხაზთან მხოლოდ ციტოპლაზმურ ფრაქციაში და არ ღებავენ მემბრანულ ფრაქციას (სურ. 9). შეღებვის ეს ფორმა შეესაბამება მამაკის ცილის ცნობილ თვისებას, კერძოდ იგი არაფოსფორილირებულ მდგომარეობაში მემბრანაზეა მიმაგრებული და ფოსფორილირების შემდეგ ციტოპლაზმაში ტრანსლოცირდება. (Arbuzova, et al. 2002).



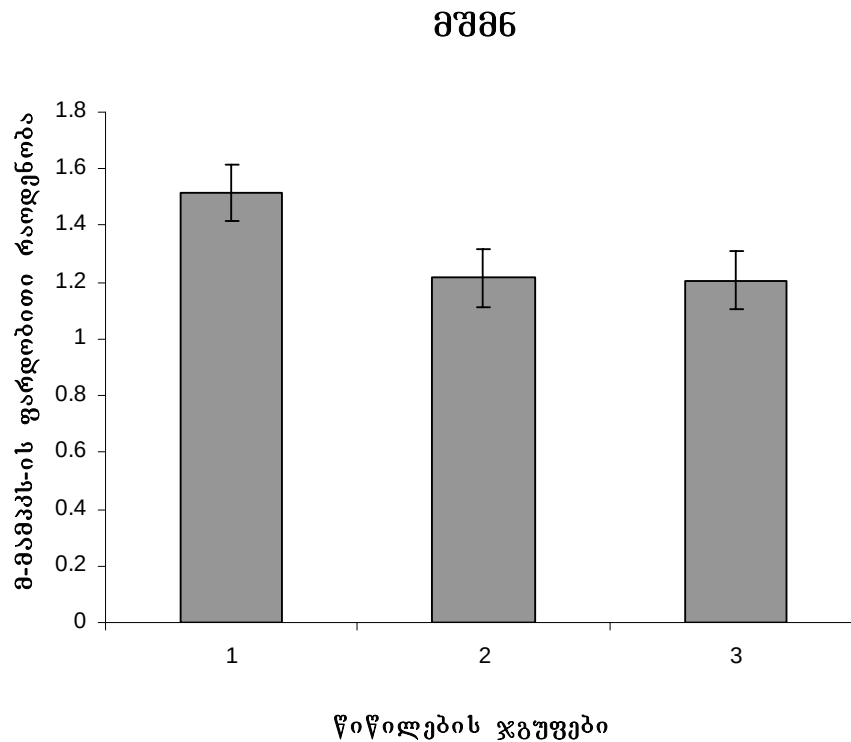
სურ. 4. მ-მამპკს-ის ანტისხეულებით შეღებვის აუტორადიოგრამის ტიპური სურათი. ხაზების ოპტიკური სიმკვრივე ხაზობრივ დამოკიდებულებაშია ცილის რაოდენობასთან ნიმუშში. თითოეული ხაზი ერთ ნიმუშს წარმოადგენს. ხაზები 1-4 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი >80-ზე; ხაზები 5-8 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი <80 და <60-ზე; ხაზები 9-12 წარმოადგენს იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი <60-ზე, ხოლო ხაზები 13-16 წარმოადგენს არატრენირებული წიწილების ნიმუშებს. ხაზები 17-20 წარმოადგენს საკალიბრო ნიმუშებს. უპირატესობის ტესტის თითოეულ ფარგალში და არატრენირებული წიწილების ჯგუფში ნიმუშები წარმოდგენილია შემდეგი თანამიმდევრობით: მარცხენა **მმმნ**, მარჯვენა **მმმნ**, მარცხენა ნიდოპალიუმის პოსტერიორ ნაწილი (**ნპნ**) და მარჯვენა **ნპნ**.

5.1.3. მემბრანასთან დაკავშირებული მამპკს (მ-მამპკს): მმმნ

ტრენირებული წიწილების ორი ჯგუფის და არატრენირებული წიწილების ტრენინგის ფაქტორის მიხედვით ცვლადთა ანალიზი მნიშვნელოვან სარწმუნო ცვლილებებზე მიუთითებს ($F_{2,15} = 4.41$, $P = 0.031$).

მ-მამპკს-ის ფარდობითი მნიშვნელობების საშუალო რაოდენობა ტრენირებული წიწილების **მმმნ**-ის ნიმუშებში უპირატესობის ხარისხის მედიანაზე მეტი მაჩვენებლით სარწმუნოდ უფრო მეტია ვიდრე იგივე მაჩვენებელი მედიანაზე

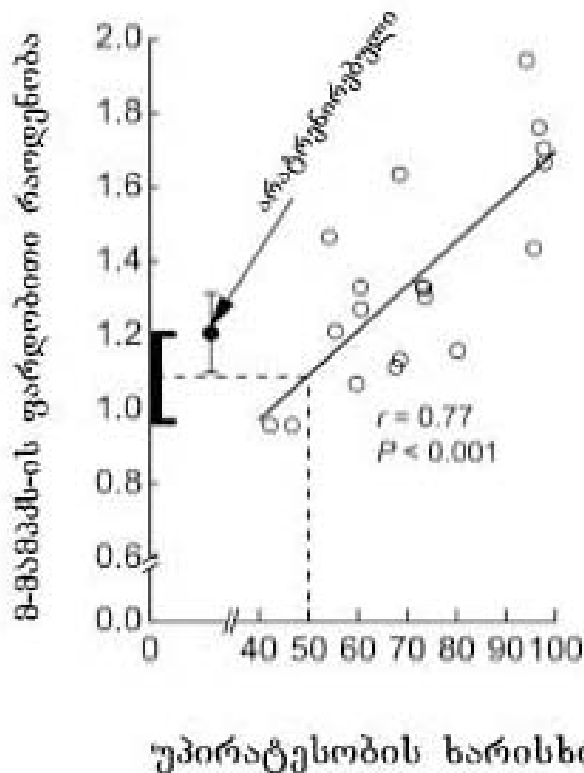
ნაკლები უპირატესობის ტესტის მქონე ტრენირებულ წიწილებში ($t=2,67$, 15 თხ, $P=0.017$) და ასევე არატრენირებულ წიწილებში იხ. სურ. 5.



სურ.5. მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების სამ ჯგუფის მშმნ-ში. 1 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი $>$ მედიანაზე; 2 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი $<$ მედიანაზე და 3 - არატრენირებული წიწილები

მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობა მშმნ-ში სარწმუნო და დადებით კორელაციაშია უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელთან ($r = 0.77$, 10 თხ, $P<0.001$; სურ. 6).

მშმნ, მემბრანული ფრაქცია



სურ.6. მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობების დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მშმნ-ში. ნაჩვენებია უმცირეს კვადრატთა რეგრესიის ხაზი. ღია წრეები - მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობები (ორდინატა) გრაფიკულად დატანილია უპირატესობის ხარისხის მიმართ (აბსცისა). შავი წრე არატრენირებული წიწილების იგივე რეგიონში მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობის საშუალო სიდიდე $\pm$ სსც. ვერტიკალური დაშტრიხული ხაზი მიუთითებს არანაირი უპირატესობა ხარისხს 50-ს და ჰორიზონტალური დაშტრიხული ხაზი მიუთითებს ტრენირებულ წიწილებში უპირატესობის ამ ხარისხის შესაბამის მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობას. ეს საშუალო მნიშვნელობა მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება არატრენირებული წიწილების მაჩვენებლისაგან ($t = 0.35$, 15 თხ, $P = 0.73$). ნანახი იქნა მნიშვნელოვანი კორელაცია მ-მამპკს-ის ფარდობით რაოდენობასა და უპირატესობის ხარისხს შორის: ($r = 0.77$, 10 თხ $P < 0.001$);

სურ.6-ის მონაცემებში მოცემული უმცირეს კვადრატთა რეგრესიის ხაზი გამოიყენებოდა მ-მამპკს-ის იმ ფარდობითი რაოდენობის დასადგენად, რომელიც შეესაბამება უპირატესობის ხარისხს 50 (ე.ი. არანაირი უპირატესობა და შესაბამისად არანაირი დასწავლა). ეს ფარდობითი რაოდენობა მნიშვნელოვნად არ

განსხვავდებოდა არატრენირებული წიწილების საშუალო მაჩვენებლებისგან (სურ.4 შავი წრე). ასე რომ ტრენირების სტიმულის 1 სთ-იანი ექსპოზიცია მარტო არ იყო საკმარისი იმისთვის რომ გაზრდილიყო მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობა მშმნ-ში: ამ ეფექტისათვის აუცილებელია დასწავლის პროცესიც.

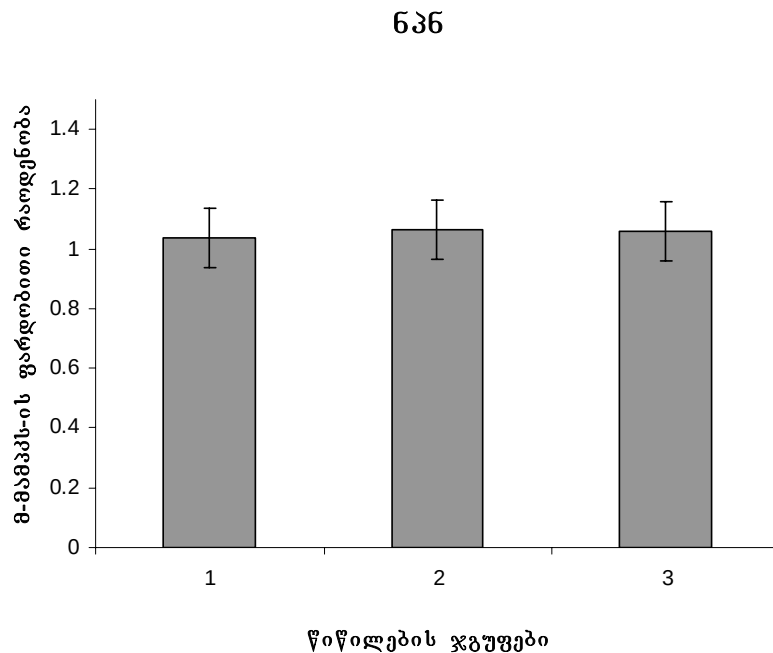
შესაძლოა რომ წიწილებს, რომელთაც გამოჩეკვისას ჰქონდათ მ-მამპკს-ის დიდი რაოდენობა მშმნ-ში გააჩნდათ უფრო მაღალი დასწავლის პოტენციალი, ვიდრე წიწილებს მ-მამპკს-ის მცირე რაოდენობით ამ უბანში. თუ ეს ასეა მ-მამპკს-ის რაოდენობების ვარიაცია მაღალი უპირატესობის ხარისხის მქონე წიწილებში უფრო ნაკლები უნდა ყოფილიყო ვიდრე არატრენირებულ წიწილებში. ამ შედეგის ნაწინასწარმეტყველება დაფუძნებულია იმ მოსაზრებაზე, რომ ამ შემთხვევაში წიწილებში მ-მამპკს-ის მაღალი მაჩვენებლით და შესაბამისად მაღალი უპირატესობის ხარისხით უნდა იყოს არატრენირებული წიწილების ერთი ქვესიმრავლე. ასევე დაბალი უპირატესობის ხარისხის მქონე წიწილებიც უნდა წარმოადგენდეს არატრენირებული წიწილების ერთ ქვეჯგუფს (ონტოგენური სელექციის ჰიპოთეზა (Horn, 2004). ამ ჰიპოთეზის შესამოწმებლად შედარებული იქნა მ-მამპკს-ის მაჩვენებელთა ცვლადთა ნაშთები ტრენირებულ წიწილებში მაღალი უპირატესობის ხარისხით ($>$ მედიანზე), წიწილების ცვლადებთან დაბალი უპირატესობის ხარისხით ($<$ მედიანზე) და არატრენირებული წიწილების იგივე მაჩვენებელთან. ამ სამ ცვლადთა ნაშთებს შორის არ იქნა შემჩნეული სარწმუნო სხვაობა (ბარლეტის ტესტი, ($\chi^2 = 0.34$, 2 თხ, $P=0.85$). ეს შედეგები არ შეესაბამება ონტოგენური სელექციის ჰიპოთეზას და მიუთითებს იმაზე, რომ ცილის მომატებული რაოდენობა დასწავლის შედეგს უნდა წარმოადგენდეს.

არ დაფიქსირებულა მნიშვნელოვანი კორელაცია მ-მამპკს-ის ფარდობით რაოდენობასა და მიახლოვების აქტივობას შორის ტრენირებისას ($r=0.21$, 10 თხ, $P=0.40$) და არც ტესტის ჩატარებისას ($r=0.13$, 10 თხ, $P=0.60$). ამ შედეგების ერთობლიობა მიუთითებს იმაზე, რომ ტრენირებისას და ტესტის ჩატარებისას არც ლოკომოტორული აქტივობა და არც ტრენირების სტიმულის მარტივად ჩვენება არ ახდენს მ-მამპკს-ის რაოდენობაზე გავლენას; ამ უკანასკნელის გაზრდა ხდება მაშინ როდესაც წიწილა სწავლობს.

5.1.4. მემბრანასთან დაკავშირებული მამპკს (მ-მამპკს): ნჰნ

ტრენირებული წიწილების ორი ჯგუფის და არატრენირებული წიწილების ტრენინგის ფაქტორის მიხედვით ცვლადთა ანალიზი მნიშვნელოვან სარწმუნო ცვლილებებზე არ მიუთითებს ($P=0.936$).

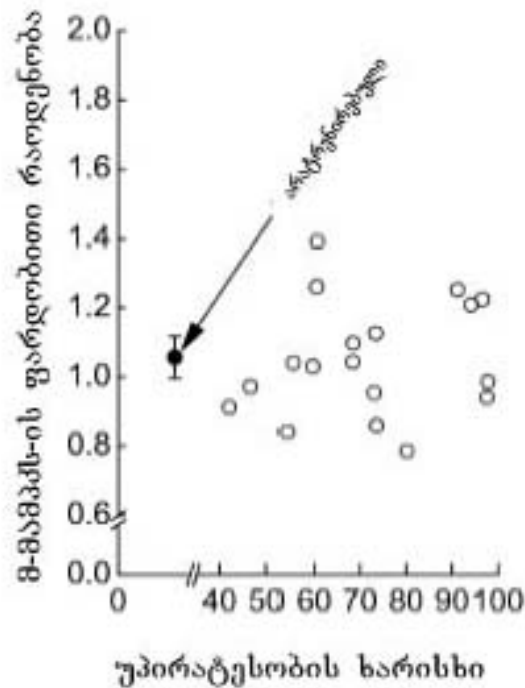
მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებელი ტრენირებული წიწილების ნჰნ-ის ნიმუშებში უპირატესობის ხარისხის მედიანაზე მეტი მაჩვენებლით პრაქტიკულად არ გასხვავდება მედიანაზე ნაკლები უპირატესობის ტესტის მქონე ტრენირებული წიწილების და არატრენირებული წიწილების საშუალო მაჩვენებლებისაგან (სურ.7).



სურ.7. მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების სამ ჯგუფის ნჰნ-ში. 1 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი $>$ მედიანაზე; 2 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი $<$ მედიანაზე და 3 - არატრენირებული წიწილები. სარწმუნო განსხვავებები არ შეიმჩნევა

ნჰნ-ში არ იქნა ნანახი მნიშვნელოვანი კორელაცია მ-მამპკს-ის ფარდობით რაოდენობასა და უპირატესობის ხარისხს შორის (სურ. 8)

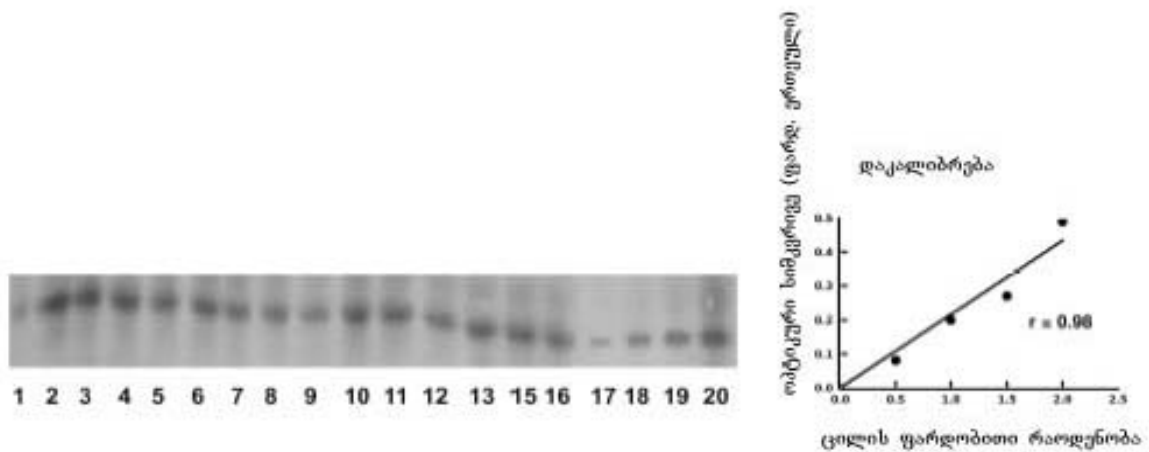
ნპნ, მემბრანული ფრაქცია



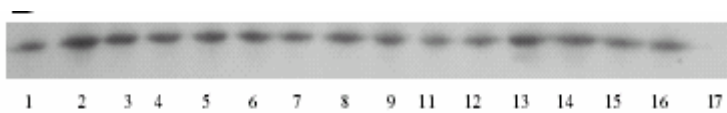
სურ.8. მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობების დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე ნპნ-ში. ღია წრეები- მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობები (ორდინატა) გრაფიკულად დატანილია უპირატესობის ხარისხის მიმართ (აბსცისა). შავი წრე არატრენირებული წიწილების იგივე უბნებში მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობის საშუალო სიდიდე $\pm$ სსც. არ აღინიშნებოდა სარწმუნო კორელაცია მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობებს და დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელს შორის ($r=0.17$, 9 თხ, $P = 0.51$)

5.1.5. ციტოპლაზმური ფოსფორილირებული მამპკს (ცფ-მამპკს)

ციტოპლაზმური ფოსფორილირებული ცფ-მამპკს-ის იმუნოშეღებვის ტიპური სურათი მოცემულია მე-9 ა. და ბ. სურათებზე.

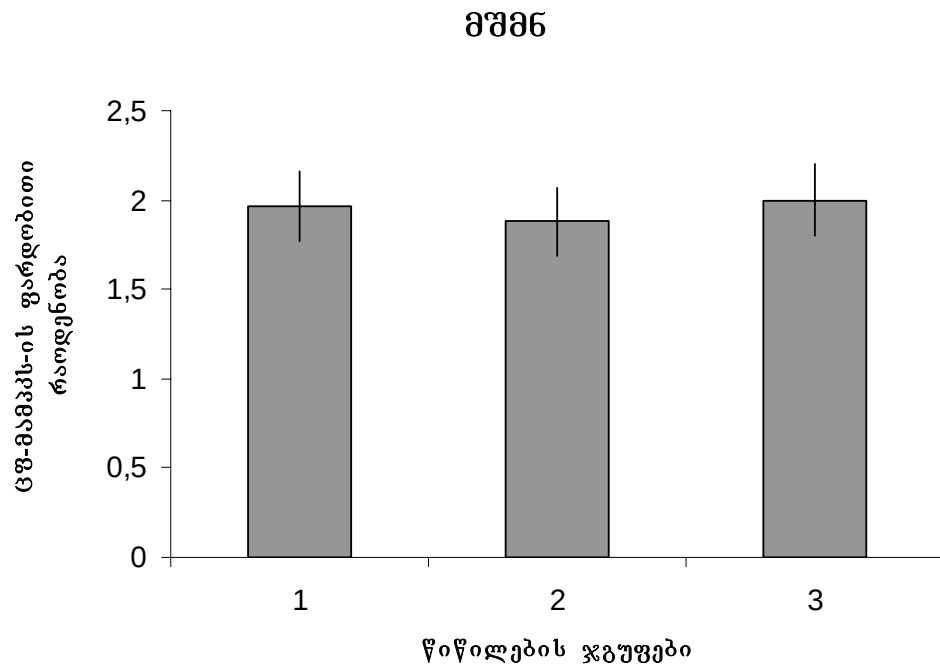


b.



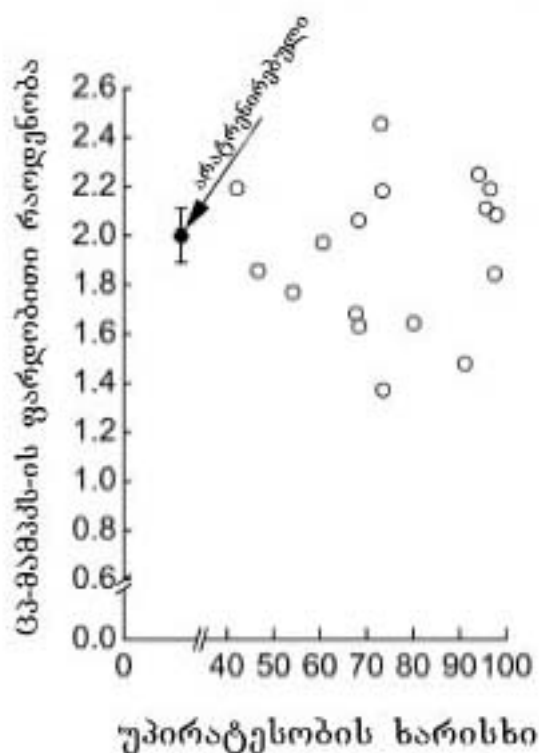
სურ. 9. ცფ-მამპკსი-ის ანტისხეულებით შეღებვის აუტორადიოგრამის ტიპური სურათი. ხაზების ოპტიკური სიმკვრივე ხაზობრივ დამოკიდებულებაშია ცილის რაოდენობასთან ნიმუშში. თითოეული ხაზი ერთ ნიმუშს წარმოადგენს. ხაზები 1-4 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი >80-ზე; ხაზები 5-8 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი <80 და <60-ზე; ხაზები 9-12 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი <60-ზე, ხოლო ხაზები 13-16 წარმოადგენენ არატრენირებული წიწილების ნიმუშებს. ხაზები 17-20 წარმოადგენენ საკალიბრო ნიმუშებს. უპირატესობის ტესტის თვითოეულ ფარგალში და არატრენირებული წიწილების ჯუფში ნიმუშები წარმოდგენილა შემდეგი თანამიმდევრობით: მარცხენა **მშმნ**, მარჯვენა **მშმნ**, მარცხენა **ნპნ** და მარჯვენა **ნპნ**. სურ.7ბ-ზე მე-17 ხაზი შეესაბამება მემბრანული ფრაქციის ნიმუშს. არანაირი შეღებვის არსებობა მიუთითებს იმაზე, რომ ეს ანტისხეულები ცილის მხოლოდ ფოსფორილირებულ ფორმას ღებავს.

მშმნ-ში წიწილების სამი ჯგუფი არ განსხვავდება ერთმანეთისაგან ცფ-მამპკს-საშუალო რაოდენობების მიხედვით (სურ. 10). მშმნ-ში ასევე არ იქნა ნანახი მნიშვნელოვანი კორელაცია უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელსა და ამ ცილის რაოდენობას შორის (სურ.11)



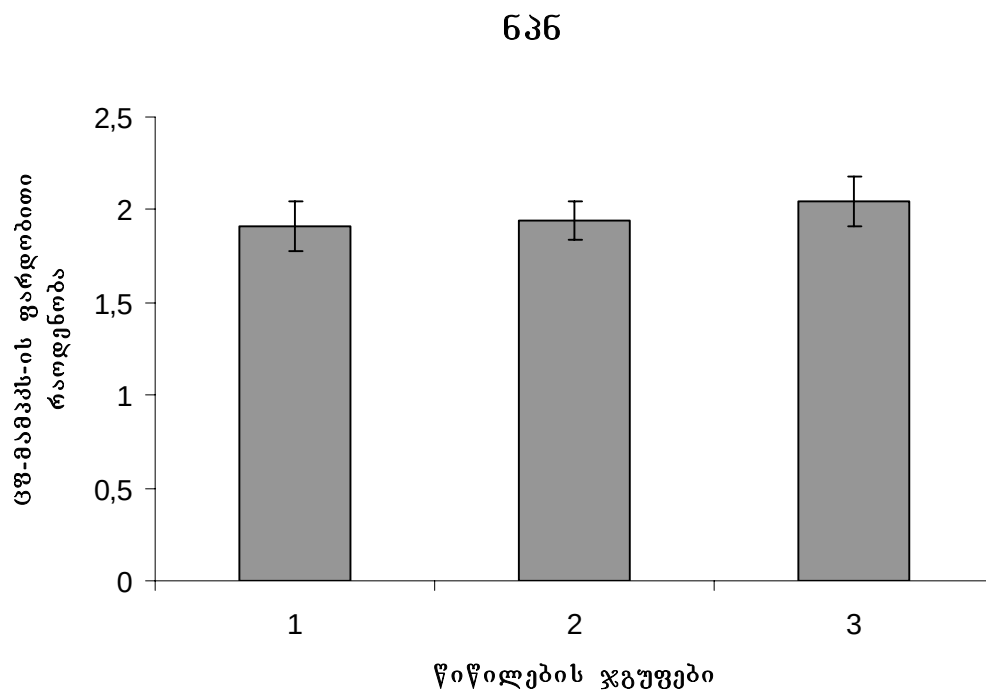
სურ.10. ცფ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების სამ ჯგუფის ნშნ-ში. 1 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი >მედიანაზე; 2 -წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი < მედიანაზე და 3 -არატრენირებული წიწილები. სარწმუნო განსხვავებები არ შეიმჩნევა

მშმნ, ციტოპლაზმური ფრაქცია

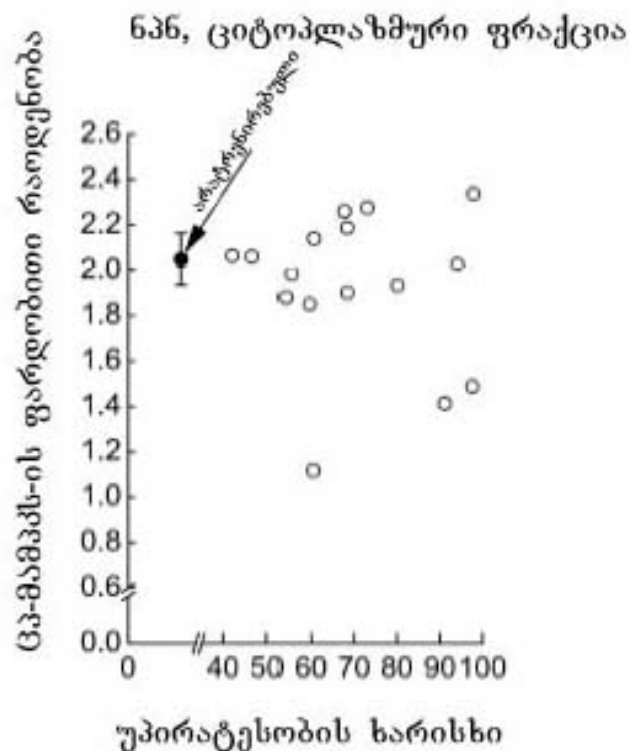


სურ.11. ცე-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობების დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მშმნ-ში. ღია წრეები - ცე-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობები (ორდინატა) გრაფიკულად დატანილია უპირატესობის ხარისხის მიმართ (აბსცისა). შავი წრე არატრენირებული წიწილების იგივე რეგიონში ცე-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობის საშუალო სიდიდე $\pm$ სსც. არ აღინიშნებოდა სარწმუნო კორელაცია მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობებს და დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელს შორის ($r=0.08$, 8 თხ, $P=0.77$)

ნპნ-ში წიწილების სამი ჯგუფი არ განსხვავდება ერთმანეთისაგან ცფ-მამპკს-საშუალო რაოდენობების მიხედვით (სურ.12), ასევე არ იქნა ნანახი მნიშვნელოვანი კორელაცია უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელსა და ამ ცილის რაოდენობას შორის (სურ. 13).



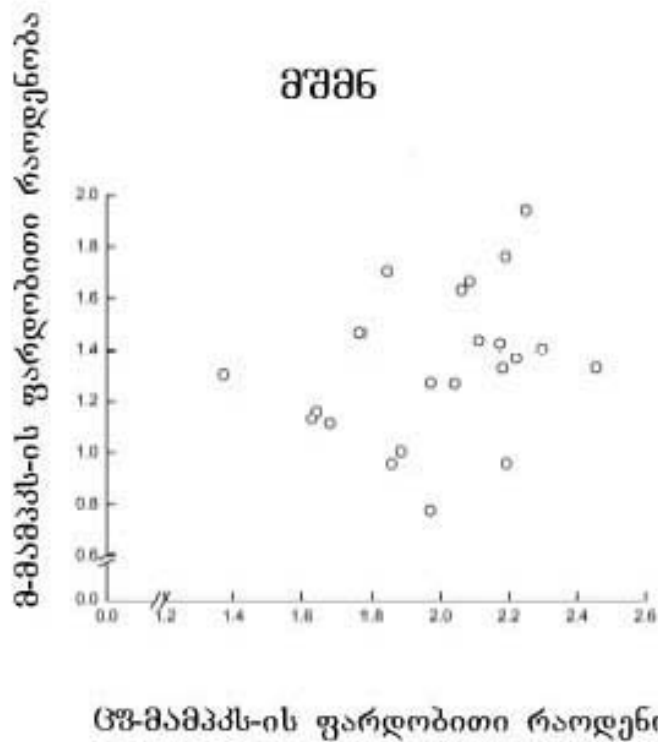
სურ.12. ცფ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების სამ ჯგუფის ნპნ-ში. 1 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი >მედიანაზე; 2 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი < მედიანაზე და 3 - არატრენირებული წიწილები. სარწმუნო განსხვავებები არ შეიმჩნევა



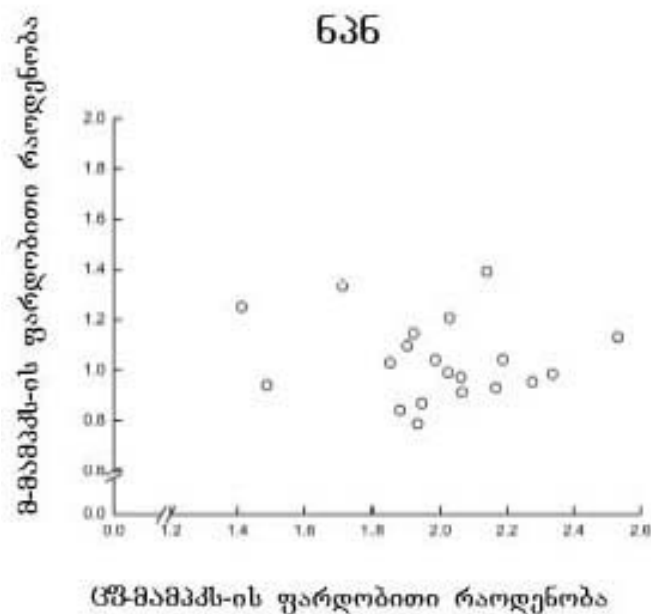
სურ.13. ცე-მამაკის ფარდობითი რაოდენობების დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მშმნ-ში. ღია წრეები-ცე-მამაკის ფარდობითი რაოდენობები (ორდინატა) გრაფიკულად დატანილია უპირატესობის ხარისხის მიმართ (აბსცისა). შავი წრე არატრენირებული წიწილების იგივე რეგიონში ცე-მამაკის ფარდობითი რაოდენობის საშუალო სიდიდე $\pm$ სსც. არ აღინიშნებოდა სარწმუნო კორელაცია მ-მამაკის ფარდობითი რაოდენობებს და დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელს შორის ($r = -0.11$, 7 თხ, $P = 0.69$)

5.1.6. ცე-მამაკის-სა და მ-მამაკის-ს შორის ფარდობა

არ იქნა ნანახი მნიშვნელოვანი კორელაცია მ-მამაკის ფარდობით რაოდენობასა და ცე-მამაკის ფარდობით რაოდენობას შორის, არც მშმნ-სა (სურ.14) და არც ნპნ-ში (სურ. 15).



სურ. 14. მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობის (ორდინატა) დამოკიდებულება ცმ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობაზე (აბსცისა) მშმ6-ში. კორელაცია სარწმუნო არ არის: ($r = 0.32$, 13 თხ, $P=0.16$)



სურ. 15. მ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობის (ორდინატა) დამოკიდებულება ცმ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობაზე (აბსცისა) ნპნ-ში. კორელაცია სარწმუნო არ არის: ($r = -0.26$ 12 თხ, $P=0.27$)

5.1.7. ანალიზი ნახევარსფეროების მიხედვით

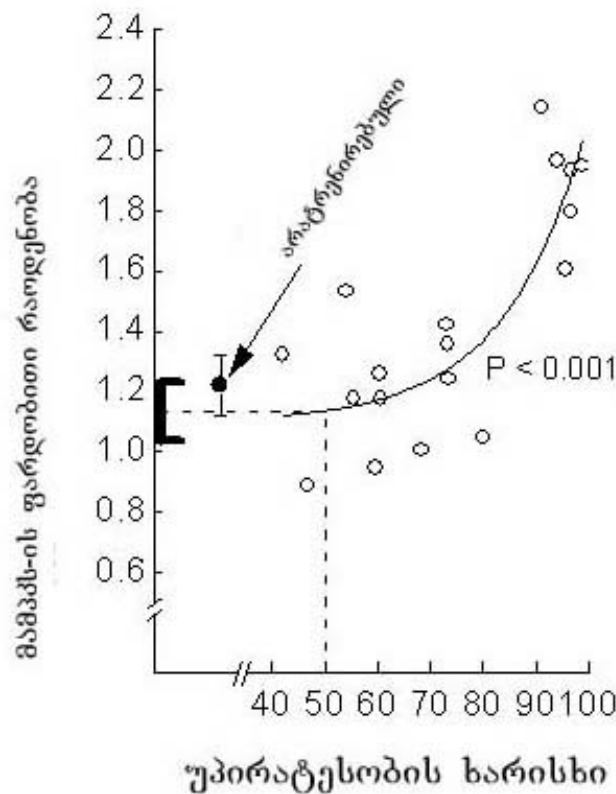
იმპრინტინგთან დაკავშირებული ბევრი ცვლილებები ლატერალიზებულია (იხ. McCabe, et al., 1988; Sheu, et al., 1993; Solomonina, et al., 1997; Solomonina, et al., 1998; Solomonina, et al., 2000; Solomonina, et al., 2003). ამ მონაცემების საფუძველზე ჩვენ გადავწყვიტეთ ცალკ-ცალკე ჩაგვეტარებინა კორელაციური ანალიზი ნახევარსფეროებისათვის და გაგვერკვია დასწავლისათვის სპეციფიკური ეფექტი დამახასიათებელია მხოლოდ ერთი ნახევარსფეროსათვის, ორივესათვის ცალკ-ცალკე თუ არცერთისათვის და ასევე გაგვერკვია დასწავლისათვის სპეციფიკური ეფექტი მიიღწევა მხოლოდ მათი მონაცემთა კომბინაციით თუ არა. ამ მიდგომით მიღებული შედეგები შეჯამებულია ცხრილ-1-ში. როგორც ცხრილიდან ჩანს ტრენინგის სარწმუნო ეფექტი და დადებითი სარწმუნო კორელაცია ცილის რაოდენობასა და უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელს შორის შეიმჩნევა მხოლოდ მ-მამპკს-ისათვის მშმნ-ს მარცხენა ნახევარსფეროში.

		მარცხენა		მარჯვენა	
		მშმნ	ნპნ	მშმნ	ნპნ
მ-მამპკს	<i>F</i>	20.17	0.05	1.43	2.22
	<i>P</i>	< 0.001	0.985	0.274	0.121
	<i>r</i>	0.75	0.15	0.44	0.04
	<i>P</i>	0.003	0.64	0.15	0.9
ცფ-მამპკს	<i>F</i>	1.84	0.46	0.7	1.76
	<i>P</i>	0.173	0.173	0.565	0.198
	<i>r</i>	0.37	0.15	0.025	-0.19
	<i>P</i>	0.21	0.65	0.94	0.58

ცხრილი-1. მ-მამპკს-ის და ცფ-მამპკს-ის ფარდობითი რაოდენობების ცვლილებების და მათი კორელაციის ანალიზი უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე ANOVA-ს ანალიზის შემავსებელი ცხრილი. *F* -ცვლადთა ფარდობა ANOVA- ს ანალიზისაგან; *r* - კორელაციის კოეფიციენტი; *P*- ალბათობა

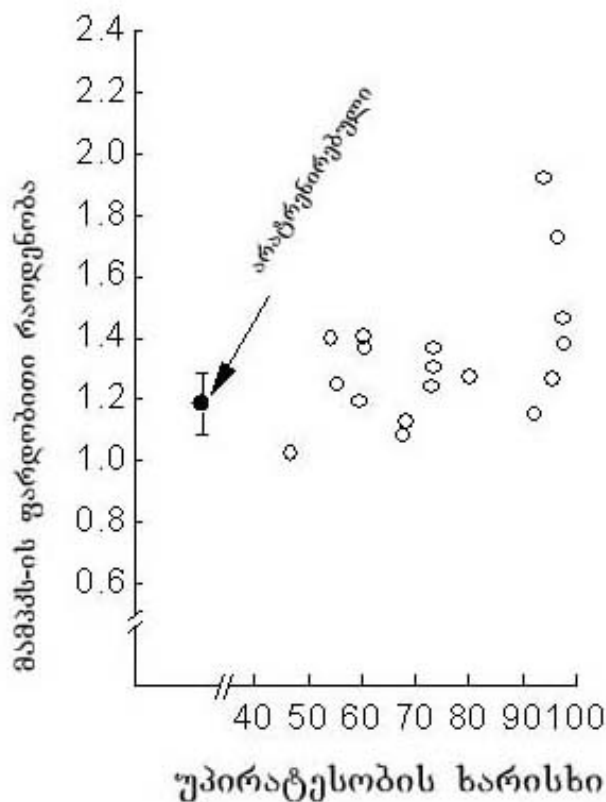
სურათებზე 16 და 17 ნაჩვენებია მ-მამკს-ის კორელაცია უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მშმნ-ს როგორც მარცხენა ასევე მარჯვენა ნახევარსფეროებისთვის. მარცხენა ნახევარსფეროსათვის ექსპონენციალური ფუნქცია უფრო მაღალ ეფექტურია ვიდრე ხაზობრივი დამოკიდებულება.

მარცხენა მშმნ, მემბრანული ფრაქცია



სურ.16. მ-მამკს-ის ფარდობითი რაოდენობების დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მარცხენა მშმნ-ში. ღია წრეები - მ-მამკს-ის ფარდობითი რაოდენობები (ორდინატა) გრაფიკულად დატანილია უპირატესობის ხარისხის მიმართ (აბსცისა). შავი წრე არატრენირებული წიწილების იგივე რეგიონში მ-მამკს-ის ფარდობითი რაოდენობის საშუალო სიდიდე $\pm$ სსც. ვერტიკალური დაშტრიხული ხაზი მიუთითებს არანაირი უპირატესობა ხარისხს 50-ს და ჰორიზონტალური დაშტრიხული ხაზი მიუთითებს ტრენირებულ წიწილებში უპირატესობის ამ ხარისხის შესაბამის მ-მამკს-ის ფარდობითი რაოდენობას. ეს საშუალო მნიშვნელობა მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება არატრენირებული წიწილების მაჩვენებლისაგან. ნანახი იქნა მნიშვნელოვანი კორელაცია მ-მამკს-ის ფარდობით რაოდენობასა და უპირატესობის ხარისხს შორის ($r = 0.75$ 11თხ $P=0.003$). ეს მონაცემები უფრო სარწმუნოდ ($F_{2,10} = 19.04$, $P < 0.001$) გამოიხატებოდა ექსპონენციალური ფუნქციით ($y = 1.10 + 0.0015e^{0.065x}$), რომლის მრუდიც გატარებულია სურათზე.

მარჯვენა მშმნ, მემბრანული ფრაქცია



სურ.17. მ-მამკს-ის ფარდობითი რაოდენობების დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მარჯვენა მშმნ-ში. ღია წრეები - მ-მამკს-ის ფარდობითი რაოდენობები (ორდინატა) გრაფიკულად დატანილია უპირატესობის ხარისხის მიმართ (აბსცისა). შავი წრე არატრენირებული წიწილების იგივე რეგიონში მ-მამკს-ის ფარდობითი რაოდენობის საშუალო სიდიდე $\pm$ სსც. არ აქვს ადგილი მნიშვნელოვან კორელაციას მ-მამკს-ის ფარდობით რაოდენობასა და უპირატესობის ხარისხს შორის ($r=0.44$ 11 თხ $P=0.11$). სარწმუნო შედეგს ადგილი არ ჰქონდა აგრეთვე მონაცემების ექსპონენციალური ფუნქციით დამუშავებისას.

ამრიგად, ნახევასფეროების განცალკავებულად ანალიზის მონაცემები მიუთითებს, რომ დასწავლისათვის სპეციფიკური ცვლილებები განპირობებული უნდა იყოს უმთავრესად მარცხენა ნახევარსფეროში მიმდინარე პროცესებით.

5.2. α -ფოდრინის და სშც90-ის რაოდენობრივი ცვლილებები დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ

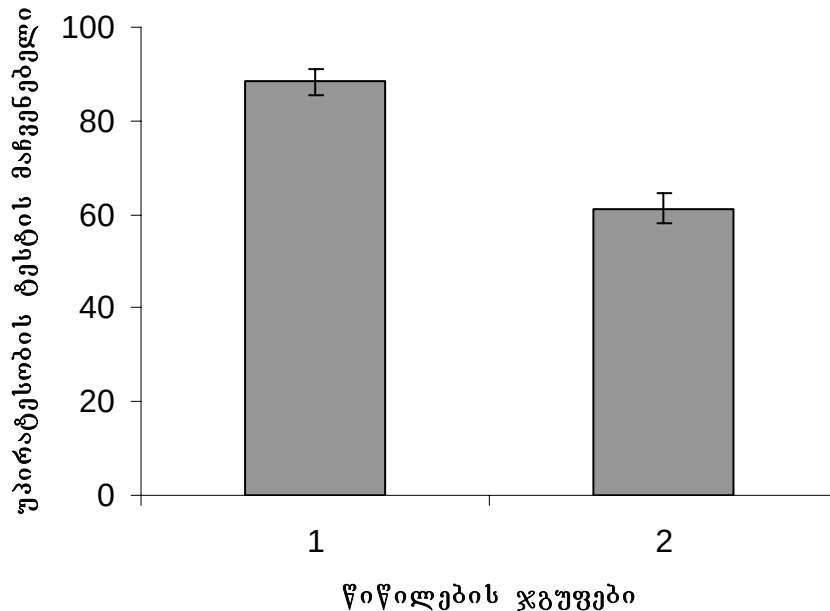
პჯრ-ის შედეგების მიხედვით (Solomonias, et al., 2003) მამპკს-ის გარდა იდენტიფიცირებულ კანდიდატ გენთა რიცხვს განეკუთვნებოდა აგრეთვე α -ფოდრინის და სიციხით შოკირებული ცილა 90-ის (სშც90) მაკოდირებელი გენები. ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ პირველი მათგანის მ-რნმ-ის ექსპრესიის დაკლებას ჰქონდა ადგილი, ხოლო მეორე მათგანის მომატებას. ექსპერიმენტების შემდეგ სერიაში ამ გენების ცილოვანი პროდუქტების რაოდენობრივი ცვლილებები იქნა შესწავლილი.

5.2.1. ქცევა

რადგან α -ფოდრინის და სშც90-ის მოლეკულური წონები მკვეთრად განსხვავებულია შესაძლებელი გახდა ორივე ცილისათვის რაოდენობრივი ცვლილებების შესწავლის ექსპერიმენტები ერთიდაიმავე გამოჩეკვის წიწილებზე ყოფილიყო ჩატარებული.

ტრენირებული წიწილების საშუალო უპირატესობის ხარისხი (74.78 ± 3.7 სსც $n=20$ მაჩვენებლით, ყოველი მაჩვენებელი წარმოადგენს 1 წიწილის მაჩვენებელს) მნიშვნელოვნად მეტი იყო არანაირი უპირატესობის დონეზე 50 ($t=6.62$, $P<0.0001$). ეს საშუალო უპირატესობის ხარისხები დაყოფილი იქნა ორ ნაწილად: მედიანაზე მეტი და მედიანაზე ნაკლები მაჩვენებელ ჯგუფებად. ამ ორი ჯგუფის საშუალოები მნიშვნელოვნად აღემატებოდა უპირატესობის ხარისხის შემთხვევას 50 მაჩვენებლით. საშუალო უპირატესობის ხარისხი იმ ჯგუფისა, რომლის ეს მაჩვენებელი მედიანაზე მეტია იყო 88.31 ± 2.9 ($t=13.13$, $P<0.0001$), ხოლო საშუალო უპირატესობის ხარისხი იმ ჯგუფისა, რომლის ეს მაჩვენებელი მედიანაზე ნაკლებია იყო 61.3 ± 3.2 ($t=3.49$, $P=0.007$). ეს ორი ჯგუფი ასევე სარწმუნოდ განსხვავდებოდა ერთმანეთისაგან ($t=6.27$, $th=17$, $P=0.0001$) (სურ. 18). მიუხედავად ტრენირებული წიწილების უპირატესობის ხარისხის საშუალო მაჩვენებლების სარწმუნო სხვაობისა ამ ორ ჯგუფში, არც მიახლოებების აქტივობა ტრენირებისას და არც მიახლოებების

აქტივობა ტესტის ჩატარებისას არ იყო მნიშვნელოვნად განსხვავებული ამ ორი ჯგუფისთვის.

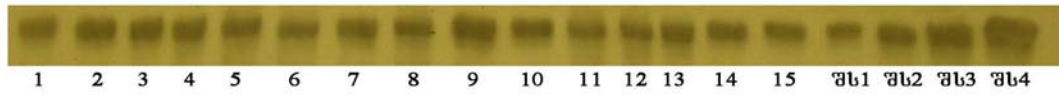


სურ.18. უპირატესობის ტესტის საშუალო მაჩვენებელი წიწილების ორ ჯგუფში, ტრენირების შემდეგ. 1- წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი > მედიანაზე; 2- წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი < მედიანაზე. სხვაობა სარწმუნოა $P = 0.0001$.

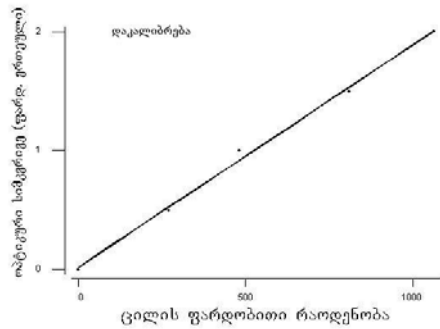
5.2.2. იმუნოშეღებვა

ანტისხეულები α -ფოდრინის წინააღმდეგ რეაგირებს მემბრანული ფრაქციის 240-250 კდ-იან ცილოვან ხაზთან (სურ.19ა), ხოლო ანტისხეულები სშც90-ის წინააღმდეგ - 90 კდ-იან ცილოვან ხაზთან (სურ 19გ). ორივე შემთხვევაში ოპტიკური სიმკვრივე პირდაპირპროპორციულ დამოკიდებულებაშია დატანილი ცილის რაოდენობასთან

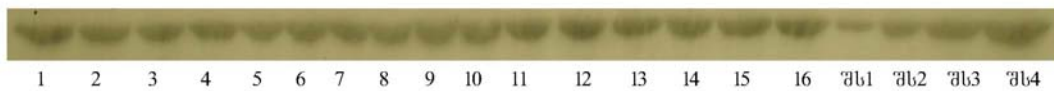
ა



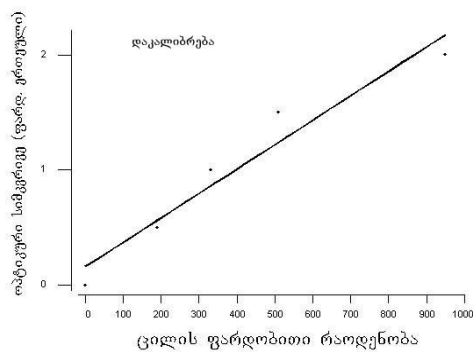
ბ.



ბ



ბ

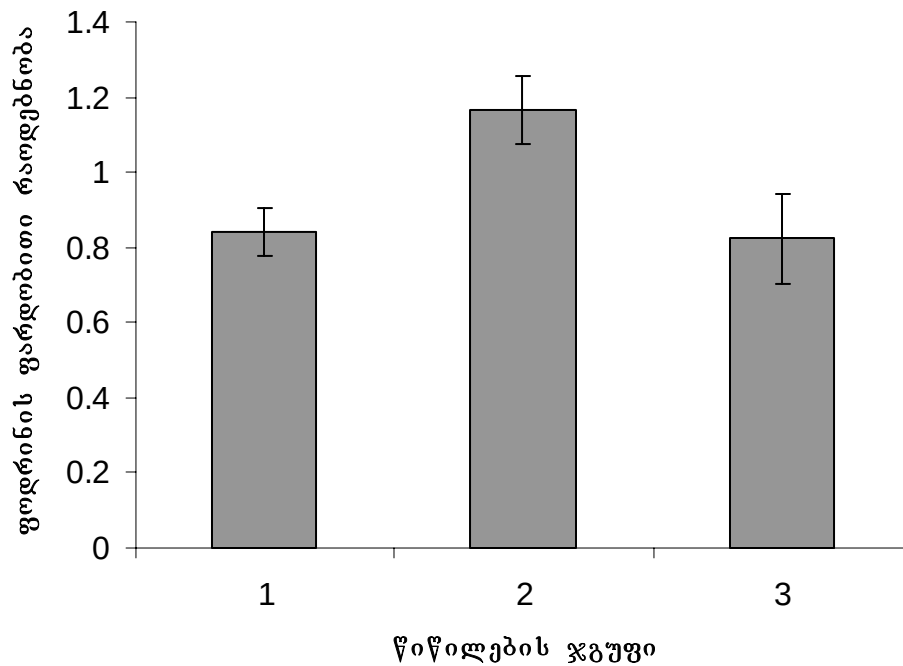


სურ. 19. ა-ფოდრინი-ის (ა) და სშც90-ის (ბ) ანტისხეულებით შეღებვის აუტორადიოგრამის ტიპური სურათი. ხაზების ოპტიკური სიმკვრივე ხაზობრივ დამოკიდებულებაშია ცილის რაოდენობასთან ნიმუშში (ბ და დ). თვითოეული ხაზი ერთ ნიმუშს წარმოადგენს. ხაზები 1-4 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი >80-ზე; ხაზები 5-8 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი <80 და <60-ზე; ხაზები 9-12 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი <60-ზე, ხოლო ხაზები 13-16 წარმოადგენენ არატრენირებული წიწილების ნიმუშებს.

უპირატესობის ტესტის თითოეულ ფარგალში და არატრენირებული წიწილების ჯგუფში ნიმუშები წარმოდგენილა შემდეგი თანამიმდევრობით: მარცხენა **მშმნ**, მარჯვენა **მშმნ**, მარცხენა **ნპნ** და მარჯვენა **ნპნ**. **შს** -შინაგანი სტანდარტი **შს-1** -შინაგანი სტანდარტი 20 მკგ; **შს-2** -შინაგანი სტანდარტი 40 მკგ; **შს-3** -შინაგანი სტანდარტი 80 მკგ;

5.2.3. α -ფოდრინი-ს რაოდენობრივი ცვლილებები: **მშმნ**

მშმნ-ში ტრენინგის ფაქტორით, ცვლადთა ანალიზის მიხედვით სარწმუნო ცვლილებებს ჰქონდა ადგილი: ($F_{2,53}=4.79$, $P=0.012$). ნახევარსფეროების მიხედვით განცალკავებული ანალიზის შემთხვევაში არ აღინიშნებოდა სარწმუნო ცვლილებები. დაგეგმილი შედარებების ანალიზმა აჩვენა, რომ სარწმუნო განსხვავებები მხოლოდ მარცხენა **მშმნ**-ში შეიმჩნევა (სურ. 20): α -ფოდრინის საშუალო მაჩვენებელი ტრენირებული წიწილების იმ ჯგუფში, რომლის უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი მეტია მედიანაზე სარწმუნოდ უფრო ნაკლებია, ვიდრე ჯგუფში უპირატესობის ტესტის მედიანაზე მეტი მაჩვენებელთ ($t=2.84$, 16 თხ, $P=0.012$) და არ განსხვავდება არატრენირებული წიწილების საშუალო მაჩვენებელისაგან ($t=0.14$, $P=0.895$). არატრენირებული წიწილების მაჩვენებელი სარწმუნოდ ნაკლებია ვიდრე წიწილების იმ ჯგუფის, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი ნაკლებია მედიანაზე ($t=2.30$, $P=0.04$)

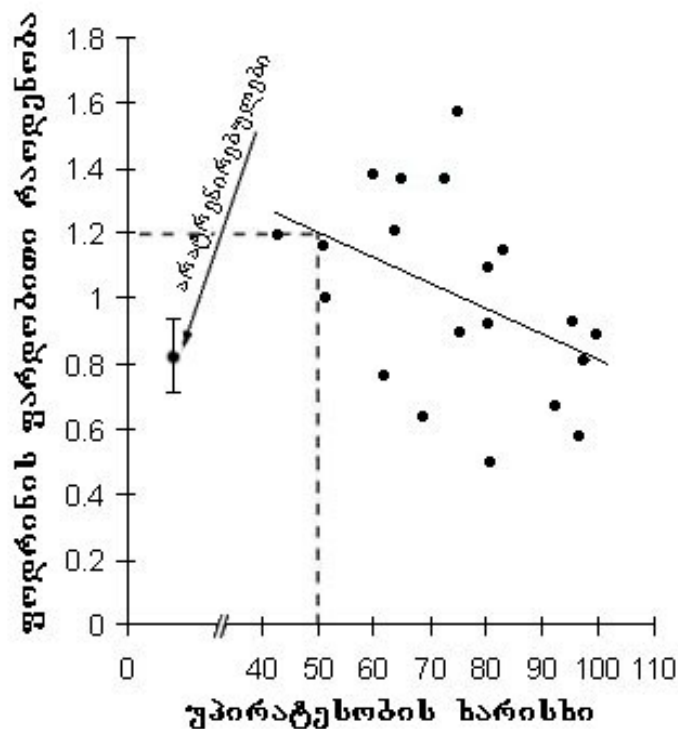


სურ.20. α-ფოდრინის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების სამ ჯგუფის მარცხენა მშმნ-ში. 1- წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი >მედიანაზე; 2 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი <მედიანაზე და 3 - არატრენირებული წიწილები

უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელსა და α-ფოდრინის რაოდენობებს შორის კორელაციურმა ანალიზმა აჩვენა, რომ შეიმჩნევა სარწმუნო უარყოფითი კორელაცია ამ ორ პარამეტრს შორის მარცხენა მშმნ-სათვის ($F_{1,19}=4.52$, $P=0.047$, $r=-0.21$) სურ. 21. მარჯვენა მშმნ-სათვის ეს კორელაცია სარწმუნო არ არის ($P=0.875$)

5.2.4. α-ფოდრინი-ს რაოდენობრივი ცვლილებები: ნჰნ

ნჰნ-ში ტრენინგის მიხედვით სარწმუნო ცვლილებებს ადგილი არ ჰქონდა: ($F_{2,52}=1.12$, $P=0.336$.) არც სხვა რამე ფაქტორების მიხედვით და არც დაგეგმილი შედარებებისას შეიმჩნეოდა სარწმუნო სხვაობები.



სურ. 21. α -ფოდრინის ფარდობითი რაოდენობების დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მარცხენა მშმნ-ში. ნაჩვენებია უმცირეს კვადრატთა რეგრესიის ხაზი. ისრით მითითებულია არატრენირებული წიწილების საშუალო მაჩვენებელი $\pm$ სსც. ვერტიკალური დაშტრიხული ხაზი მიუთითებს არანაირი უპირატესობა ხარისხს 50-ს და ჰორიზონტალური დაშტრიხული ხაზი მიუთითებს ტრენირებულ წიწილებში უპირატესობის ამ ხარისხის შესაბამის α - ფოდრინის ფარდობითი რაოდენობას.

5.2.5. სმც90-ის რაოდენობრივი ცვლილებები

არც მშმნ-ში და არც ნჰნ-ში ტრენინგის ფაქტორის მიხედვით სარწმუნო ცვლილებებს ადგილი არ ჰქონდა, შესაბამისად: ($F_{2,59}=0.04$, $P=0.957$, $F_{2,52}=0.55$, $P=0.582$). არც სხვა რამე ფაქტორის მიხედვით და არც დაგეგმილი შედარებებისას არ შეიმჩნეოდა სარწმუნო სხვაობები.

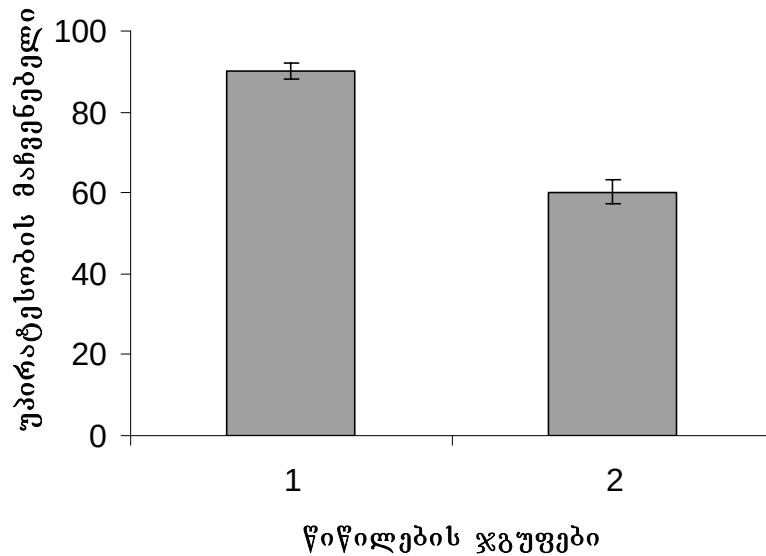
5.3. გლუტამატის რეცეპტორები და მათი ფოსფორილირების ცვლილებები ტრენინგიდან 1 საათის შემდეგ

როგორც უკვე აღნიშნული იყო ლიტერატურულ მიმოხილვაში ტრენინგიდან 1 საათის შემდეგ ადგილი აქვს კალციუმ-კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II-ის (კამკII) ავტოფოსფორილირების დასწავლისათვის სპეციფიკურ ზრდას. გააქტივებული კამკII-ის ერთ-ერთ სუბსტრატს α -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლ პროპიონატის ტიპის გლუტამატის რეცეპტორის პირველი სუბერთეული (გლურ1) წარმოადგენს, რომელიც 831-ე ტრეონინის ნაშთზე ფოსფორილირდება ამ ფერმენტის მიერ (უფრო დაწვრილებით იხილეთ დისერტაციის ლიტერატურის მიმოხილვა). შესაბამისად ჩვენს მიერ შესწავლილი იყო ტრენინგიდან 1 საათის შემდეგ გლურ1-ის, 831-ე ნაშთზე ფოსფორილირებული გლურ1-ის (831-ფ-გლურ1) და მათი ფარდობის ცვლილებები.

5.3.1. ქცევა

ტრენირებული წიწილების საშუალო უპირატესობის ხარისხი ($(75.54 \pm 3.14$ სსც $n=33$ მაჩვენებლით), ყოველი მაჩვენებელი წარმოადგენს 1 წიწილის მაჩვენებელს) მნიშვნელოვნად მეტი იყო არანაირი უპირატესობის დონეზე 50 ($t=8.14$, 32 თხ (თავისუფლების ხარისხიჯ, $P<0.001$)). ეს საშუალო უპირატესობის ხარისხები დაყოფილი იქნა ორ ნაწილად: მედიანაზე მეტი და მედიანაზე ნაკლებ მაჩვენებელ ჯგუფებად. ამ ორი ჯგუფის საშუალოები მნიშვნელოვნად აღემატებოდა უპირატესობის ხარისხის შემთხვევას 50 მაჩვენებლით. საშუალო უპირატესობის ხარისხი იმ ჯგუფისა, რომლის ეს მაჩვენებელი მედიანაზე მეტია იყო 89.97 ± 2.0 ($t=20.14$, 16 თხ, $P<0.0001$), ხოლო საშუალო უპირატესობის ხარისხი იმ ჯგუფისა, რომლის ეს მაჩვენებელი მედიანაზე ნაკლებია იყო 60.2 ± 2.9 ($t=3.52$, 15 თხ, $P=0.003$). ეს ორი ჯგუფი ასევე სარწმუნოდ განსხვავდებოდა ერთმანეთისაგან (სურ.22). მიუხედავად ტრენირებული წიწილების უპირატესობის ხარისხების საშუალო მაჩვენებლების სარწმუნო სხვაობისა ამ ორ ჯგუფში, არც მიახლოებების აქტივობა

ტრენირებისას და არც მიახლოების აქტივობა ტესტის ჩატარებისას არ იყო მნიშვნელოვნად განსხვავებული.

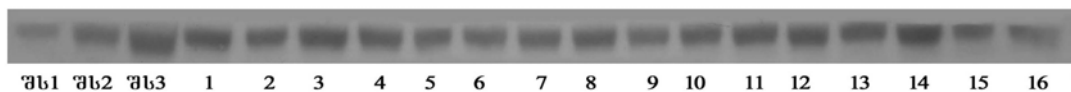


სურ. 22. უპირატესობის ტესტის საშუალო მაჩვენებელი წიწილების ორ ჯგუფში, ტრენირების შემდეგ. 1- წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი > მედიანაზე; 2- წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი < მედიანაზე. სხვაობა სარწმუნოა $P < 0.0001$.

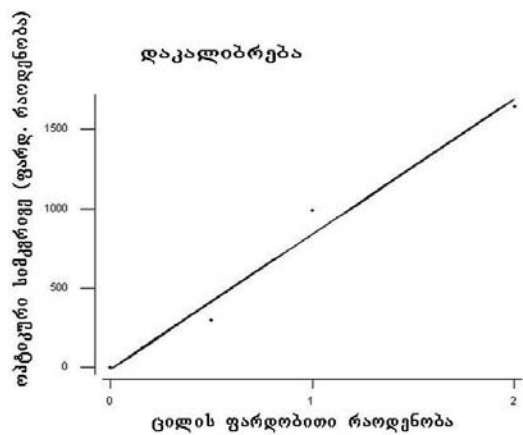
5.3.2. იმუნოშეღებვა

წიწილის გლურ1-ის ანტისხეულები რეაგირებენ მემბრანული ფრაქციის 103 კდ-ს ცილოვან ხაზთან (სურ. 23.). ასევე ანტისხეულები ფოსფო-831-გლურ1-ის წინააღმდეგ ურთიერთქმედებს 103 კდ-იან ხაზთან (სურ. 23).

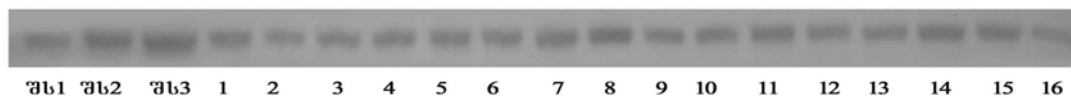
ა.



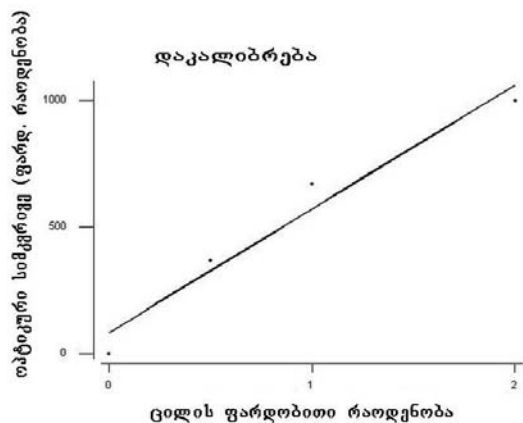
ბ.



ბ



დ

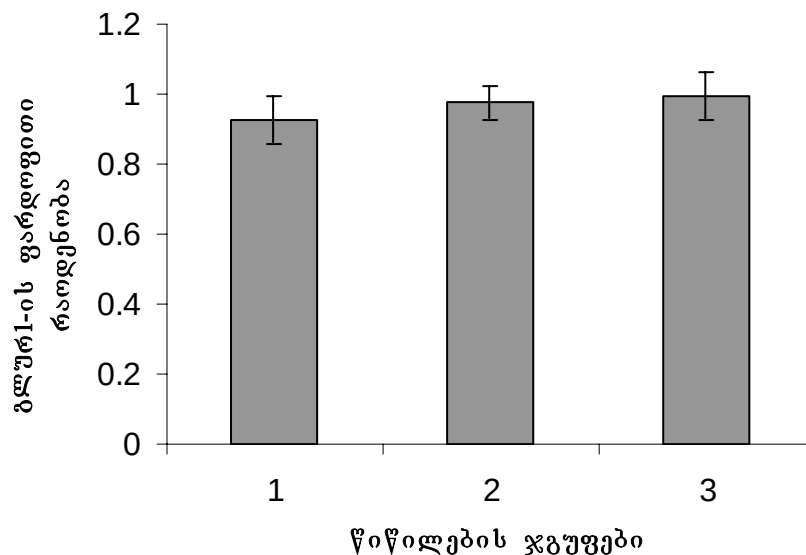


სურ.23. გლურ1-ის (ა) და ფ-831-გლურ1-ის (ბ) ანტისხეულებით შეღებვის აუტორადიოგრამის ტიპური სურათი. ხაზების ოპტიკური სიმკვრივე ხაზობრივ დამოკიდებულებაშია ცილის რაოდენობასთან ნიმუშში (ბ და დ). თითოეული ხაზი ერთ ნიმუშს წარმოადგენს. ხაზები 1-4 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი >80-ზე; ხაზები 5-8 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი <80 და <60-ზე; ხაზები 9-12 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი <60-ზე, ხოლო ხაზები 13-16 წარმოადგენენ არატრენირებული წიწილების ნიმუშებს. უპირატესობის ტესტის თითოეულ ფარგალში და არატრენირებული წიწილების ჯუფში ნიმუშები წარმოდგენილი არიან შემდეგი თანამიმდევრობით: მარცხენა მშმნ, მარჯვენა მშმნ, მარცხენა ნჰნ და მარჯვენა ნჰნ. შს-1 -შინაგანი სტანდარტი 20 მკგ; შს-2 -შინაგანი სტანდარტი 40 მკგ; შს-3 - შინაგანი სტანდარტი 80 მკგ;

5.3.3. გლურ1-ის რაოდენობრივი ცვლილებები

მშმნ-ში ტრენინგის ფაქტორით, ცვლადთა ანალიზის მიხედვით სარწმუნო ცვლილებებს ადგილი არ ჰქონდა: ($F_{2,44}=0.51$, $P=0.602$). ნახევარსფეროების მიხედვით განცალკავებული ანალიზის შემთხვევაშიც არ აღინიშნებოდა სარწმუნო ცვლილებები (ტრენინგის ფაქტორი $F_{2,89}=0.88$, $P=0.419$; ჰემისფერო $F_{1,89}=0.91$, $P=0.343$). გლურ1-ის საშუალო მაჩვენებლები წიწილების ჯგუფების მიხედვით მარცხენა მშმნ-ში მოყვანილია სურ. 24-ზე.

მარცხენა მშმნ



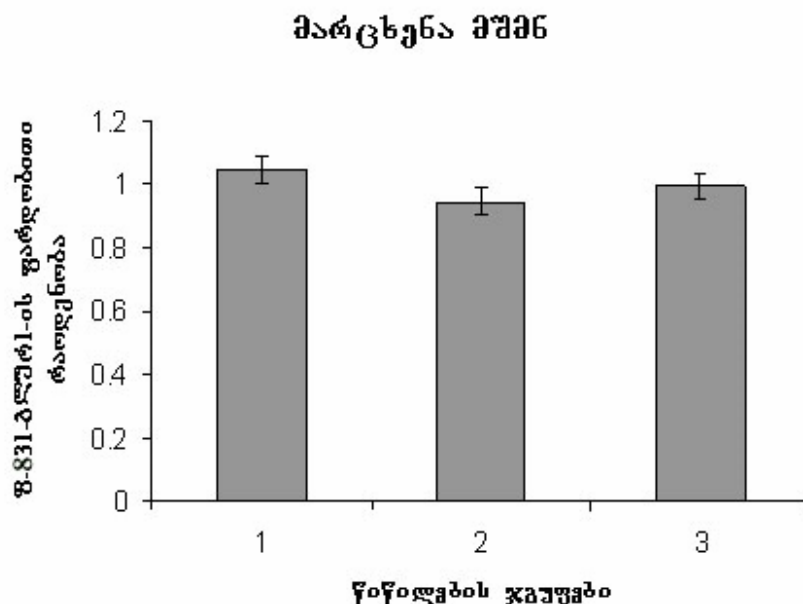
სურ.24. გლურ1-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების სამ ჯგუფის მარცხენა მშმნ-ში. 1- წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი >მედიანაზე; 2 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი <მედიანაზე და 3 - არატრენირებული წიწილები

სარწმუნო ცვლილებები არ აღინიშნებოდა არც ნპნ-ში. ორივე ნახევარსფეროს ერთად ანალიზის მიხედვით ტრენინგის ფაქტორის მოქმედება არასარწმუნო იყო: ($F_{2,42}=0.58$, $P=0.564$). ნახევარსფეროების განცალკავებულად ანალიზის მიხედვითაც სარწმუნო ცვლილებებს ადგილი არ ჰქონდათ არც ტრენინგის ფაქტორის ($F_{2,87}=0.88$, $P=0.420$) და არც ჰემისფეროების მიხედვით ($F_{1,87}=1.77$, $P=0.187$).

5.3.4. 831-ფ-გლურ1-ის რაოდენობრივი ცვლილებები

მშმნ-ში ტრენინგის ფაქტორით, ცვლადთა ანალიზის მიხედვით სარწმუნო ცვლილებებს ადგილი არ ჰქონდა: ($F_{2,43}=1,28$ $P=0.288$). ტრენინგის ფაქტორის მიხედვით არც ნახევარსფეროების განცალკავებულად ანალიზის შემთხვევაში ჰქონდა სარწმუნო ცვლილებებს ადგილი ($F_{2,89}=1.59$, $P=0.209$). თუმცა ჰემისფეროს ეფექტის სარწმუნოება მარგინალური იყო ($F_{1,89}=3,55$, $P=0.063$). ფ-831-გლურ1-ის საშუალო მაჩვენებლები წიწილების ჯგუფების მიხედვით მარცხენა მშმნ-ში მოყვანილია სურ. 25-ზე.

ანალოგიურ მდგომარეობას ჰქონდა ადგილი ნჰნ-შიც. ნახევარსფეროების ერთად ანალიზის შემთხვევაში ტრენინგის ფაქტორის ეფექტი იყო არასარწმუნო ($F_{2,42}=0.58$, $P=0.564$). ნახევარსფეროების განცალკავებულად ანალიზისასაც ტრენინგის ფაქტორის ზეგავლენა არ იყო სარწმუნო; ($F_{2,87}=0.88$, $P=0.420$) და ჰემისფეროების ეფექტიც ასევე სარწმუნო ფარგალში არ ხვდება: ($F_{1,87}=1.77$, $P=0.187$).

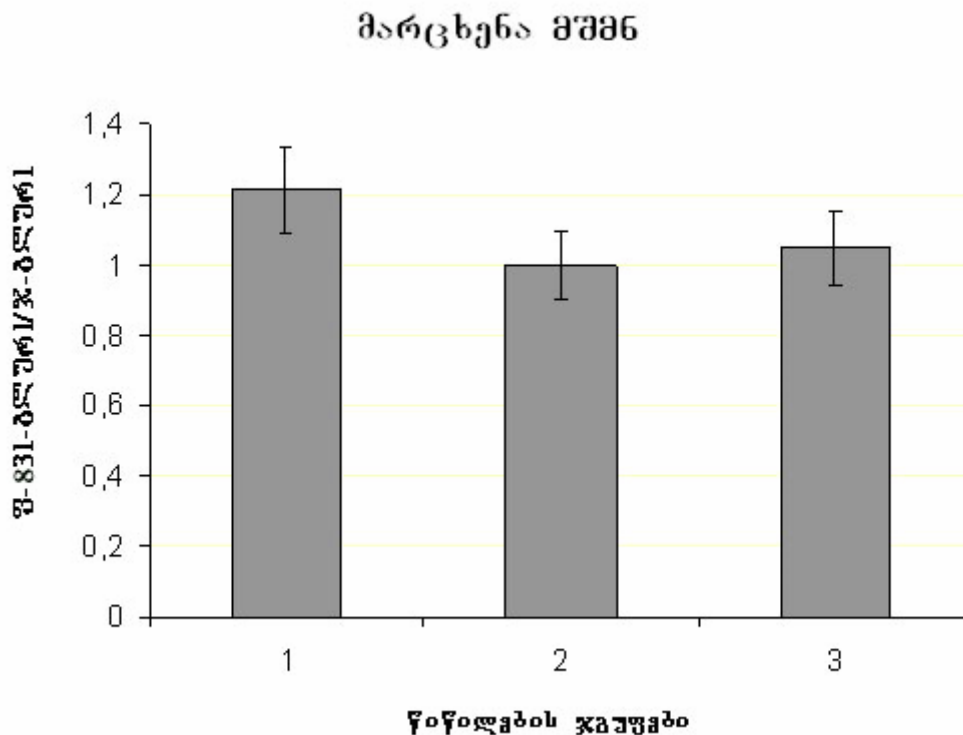


სურ.25. ფ-831-გლურ1-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების სამ ჯგუფის მარცხენა მშმნ-ში. 1- წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი >მედიანაზე; 2 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი <მედიანაზე და 3 - არატრენირებული წიწილები

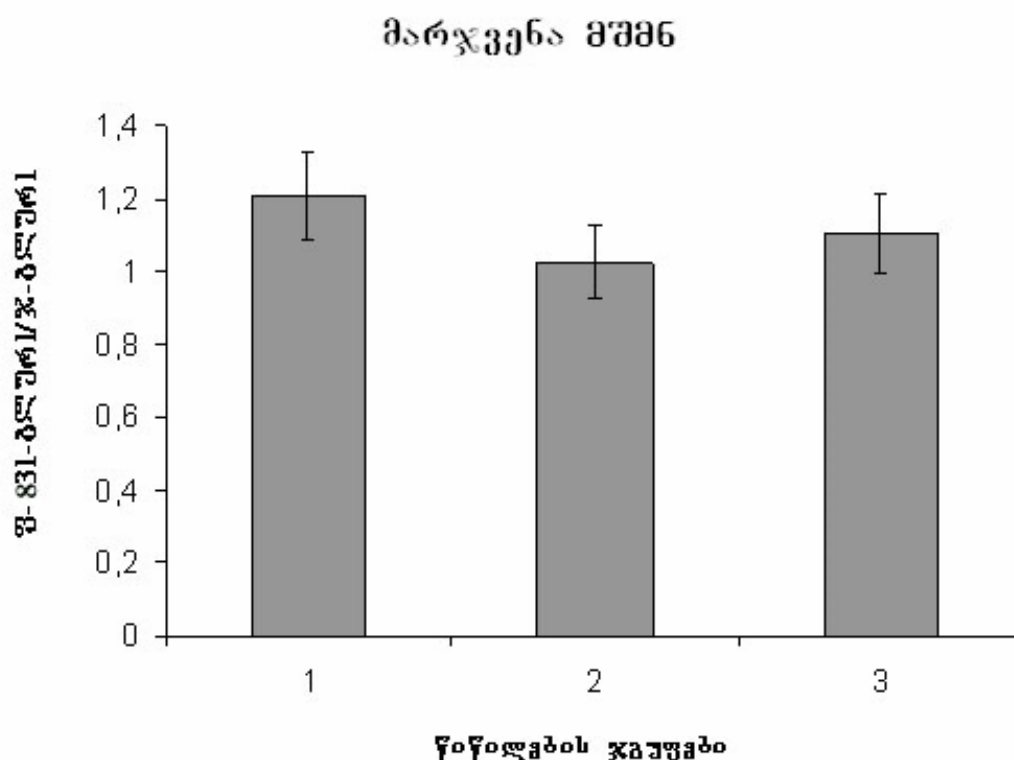
5.3.5. 831-ფ-გლურ1/გლურ1-ის რაოდენობრივი ცვლილებები: მშმნ

ნახევარსფეროების განცალკავებულად ანალიზისასაც ტრენინგის ფაქტორის ზეგავლენა 831-ფ-გლურ1/გლურ1-ის რაოდენობრივი ცვლილებებზე იყო სარწმუნო; ($F_{2,88}=3.84$, $P=0.025$), ხოლო ჰემისფეროების ეფექტი სარწმუნო ფარგალში არ ხვდება: ($F_{1,88}=0.12$, $P=0.730$).

დაგეგმილი შედარებების ანალიზმა აჩვენა, რომ ორ-მხრივი t-ტესტის მიხედვით არცერთ ჯგუფებს შორის სარწმუნო სხვაობა არ შეიმჩნევა. თუმცა ერთ-მხრივი t-ტესტის მიხედვით აღირიცხება სარწმუნო განსხვავებები: >მედიანაზე ჯგუფის წიწილებში ეს ფარდობა უფრო მეტია ვიდრე <მედიანაზე ჯგუფის წიწილებისათვის (მარცხენა ნახევარსფეროსათვის: ($t=1.98$ 25 თხ, $P=0.059$); მარჯვენა ნახევარსფეროსათვის ($t=1.78$ 29 თხ, $P=0.086$)), სურ. 26 და სურ.27.

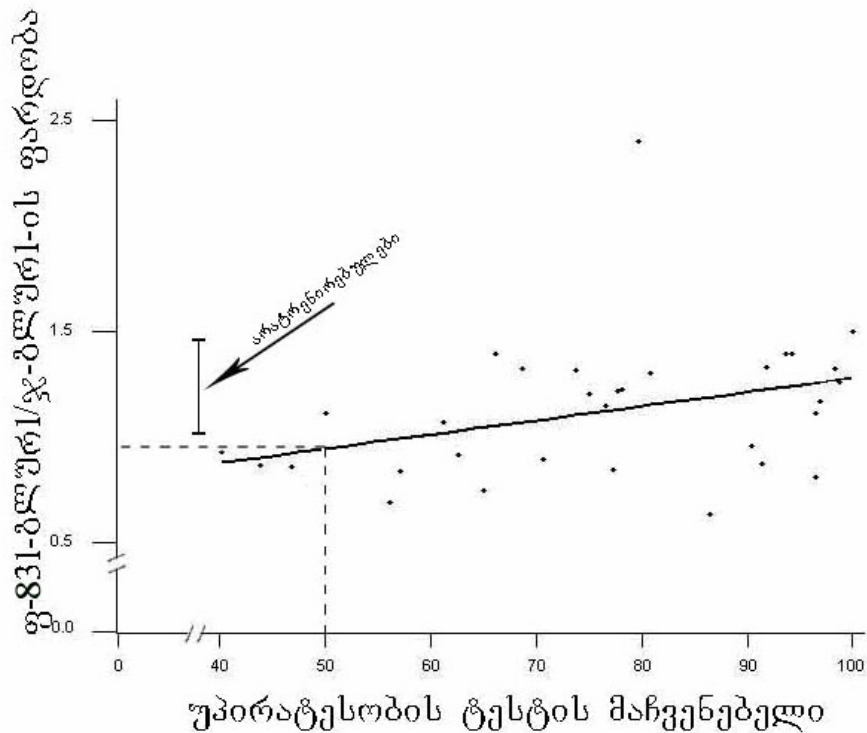


სურ.26. ცვ-831-გლურ1/α-გლურ1 რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების სამ ჯგუფის მშმნ-ში. 1 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი >მედიანაზე; 2 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი < მედიანაზე და 3 - არატრენირებული წიწილები



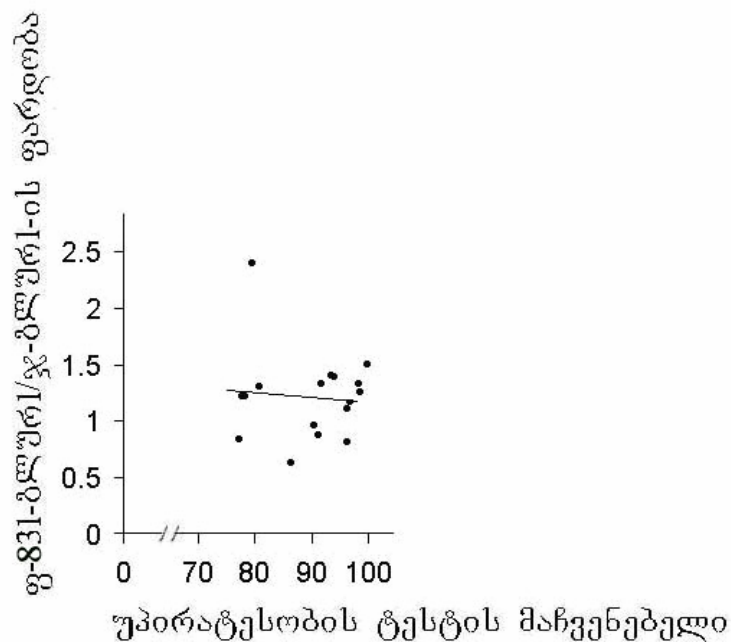
სურ.27. ფ-831-გლურ1/ჯ-გლურ1 რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების სამ ჯგუფის მშმნ-ში. 1 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი >მედიანაზე; 2 - წიწილები, რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი < მედიანაზე და 3 - არატრენირებული წიწილები

უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელსა და ფ-831-გლურ1/ჯ-გლურ1 რაოდენობებს შორის კორელაციურმა ანალიზმა აჩვენა, რომ შეიმჩნევა სარწმუნო კორელაცია ამ ორ პარამეტრს შორის მარცხენა მშმნ-სათვის ($F_{1,32}=4.66$, $P=0.039$, $r=0.37$), სურ.28. მარჯვენა მშმნ-ისათვის კორელაცია სარწმუნო არ არის ($F_{1,32}=2.82$, $P=0.103$, $r=0.28$). ამავე დროს მარცხენა და მარჯვენა ნახევარსფეროს ეს რეგრესიული მრუდები ერთმანეთისაგან სარწმუნოდ არ განსხვავდება.



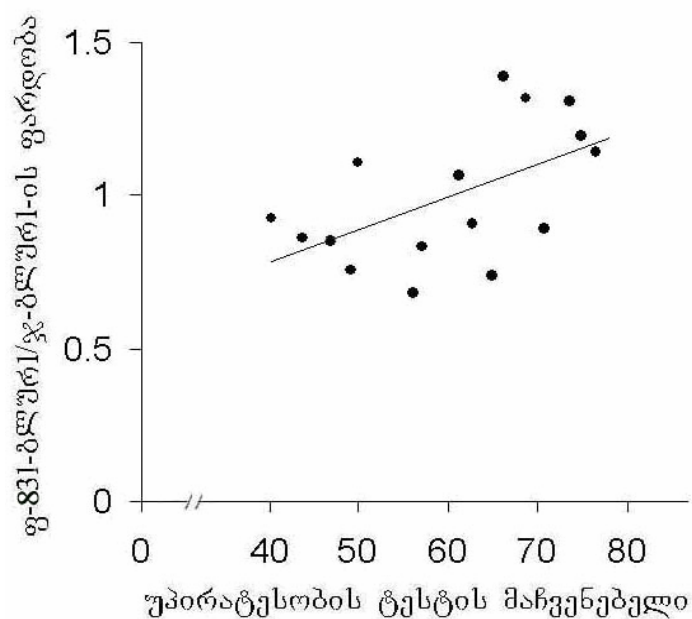
სურ.28. ცფ-831-გლურ1/ჯ-გლურ1-ის ფარდობითი რაოდენობების დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მარცხენა მშმნ-ში. ნაჩვენებია უმცირეს კვადრატთა რეგრესიის ხაზი. ისრით მითითებულია არატრენირებული წიწილების საშუალო მაჩვენებელი $\pm$ სსც. ვერტიკალური დაშტრიხული ხაზი მიუთითებს არანაირი უპირატესობა ხარისხს 50-ს და ჰორიზონტალური დაშტრიხული ხაზი მიუთითებს ტრენირებულ წიწილებში უპირატესობის ამ ხარისხის შესაბამის ცფ-831გლურ1/ჯ-გლურ1-ის ფარდობითი რაოდენობას.

საინტერესო შედეგი მიიღწევა თუ ჩვენ კორელაციურ მრუდს ორ ნაწილად გავანალიზებთ. >მედიანაზე უპირატესობის ტესტის მაჩვენებლის მიხედვით ანალიზისას პრაქტიკულად სწორხაზოვანი ხაზი მიიღება და კორელაცია შორს არის სარწმუნოებისაგან ($F_{1,16}=0.13$, $P=0.721$, $r=-0.09$), სურ.29



სურ.29. ცფ-831-გლურ1/ჯ-გლურ1-ის ფარდობითი რაოდენობების დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე (ფარგალში >მედიანაზე) მარცხენა მშმნ-ში. ნაჩვენებია უმცირეს კვადრატთა რეგრესიის ხაზი.

<მედიანაზე უპირატესობის ტესტის მაჩვენებლის მიხედვით ანალიზისას კორელაცია დადებითია და სარწმუნოა (სურ. 30. $F_{1,15}=5.83$, $P=0.03$, $r=0.54$). ამრიგად, ეს ანალიზი მიუთითებს, რომ დასწავლის ხარისხის მატებასთან ერთად გარკვეულ მაჩვენებლამდე ადგილი აქვს ცფ-831-გლურ1/ჯ-გლურ1-ის რაოდენობის მატებას. უპირატესობის ხარისხის დაახლოებით 75%-მდე მაჩვენებლის შემდეგ ამ ფარდობის მაჩვენებლის მატებას ადგილი აღარ აქვს შეიმჩნევა გარკვეული გაჯერების ეფექტი.



სურ.30. ცფ-831-გლურ1/ჯ-გლურ1-ის ფარდობითი რაოდენობების დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე (ფარგალში <მედიანაზე) მარცხენა მშმნ-ში. ნაჩვენებია უმცირეს კვადრატთა რეგრესიის ხაზი.

5.3.6. 831-ფ-გლურ1/გლურ1-ის რაოდენობრივი ცვლილებები: ნპნ

ნახევარსფეროების განცალკავებულად ანალიზისასაც არც ტრენინგის ფაქტორის ზეგავლენა 831-ფ-გლურ1/გლურ1-ის რაოდენობრივი ცვლილებებზე იყო სარწმუნო; ($F_{2,86}=1.01$, $P=0.370$) და არც ჰემისფეროების ეფექტი არ იყო სარწმუნო: ($F_{1,86}=0.01$, $P=0.926$).

თავი 6. მიღებული შედეგების განხილვა

6.1 მამკს ცილა

წინამდებარე შრომის შედეგები უჩვენებს, რომ იმპრინტინგის სტიმულით ტრენირებისას ხდება მ-მამკს-ის მაგრამ არა ცფ-მამკს-ის დასწავლის სპეციფიკური ზრდა მარცხენა მშმნ უბანში. დასწავლის სპეციფიკური არანაირი ცვლილება არ მომხდარა მარჯვენა მშმნ-ს და ნპნ-ს არც ერთ ნიმუშში.

იმის შესახებ, რომ მშმნ-ში მ-მამკს-ის რაოდენობა დასწავლის ფუნქციას მიუთითებს შემდეგი მონაცემები: 1) გამოვლინდა სარწმუნოდ დადებითი კორელაცია მ-მამკს-ის რაოდენობასა და უპირატესობის ხარისხს შორის. 2) მ-მამკს-ის საშუალო რაოდენობა მედიანაზე მაღალი უპირატესობის ხარისხის მქონე წიწილებში მნიშვნელოვნად მაღალი იყო, ვიდრე მ-მამკს-ის საშუალო რაოდენობა მედიანზე დაბალი უპირატესობის ხარისხის მქონე წიწილებში. 3) მ-მამკს-ის საშუალო რაოდენობა არატრენირებულ კონტროლში მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა იმ გამოთვლილი რაოდენობისაგან, რომელიც მიიღება რეგრესიული მრუდის ინტერპოლაციით იმ წიწილებისათვის, რომელთაც გააჩნდათ არანაირი არჩევა ანუ 50%-ის შესაბამისი უპირატესობის ხარისხი. ეს შედეგები შეჯამებული სახით, მიუთითებს იმაზე, რომ სენსორული სტიმულაცია, მოძრაობა, აღზნება, მოტივაციული მდგომარეობა და არასპეციფიკური ფაქტორები გავლენას არ ახდენს მ-მამკს-ის რაოდენობაზე მშმნ-ში. 4) ტრენირებისას და ტესტის ჩატარებისას არ გამოვლენილა კორელაცია მ-მამკს-ის რაოდენობასა და მიახლოების აქტივობას შორის. 5) მ-მამკს-ის რაოდენობის ზრდა ხდება მშმნ-ში, (ადრე იქნა ნაჩვენები რომ ეს უბანი წარმოადგენს ინფორმაციის მარაგის შენახვის ადგილს) და არა საკონტროლო ნპნ უბანში. 6) ცვლადთა ანალიზის შედეგები მ-მამკს-ის ფარდობითი რაოდენობისთვის მშმნ-ში არ შეესაბამება ონტოგენურ ჰიპოთეზას- რომ მაღალი უპირატესობის ხარისხის მქონე წიწილები გამოჩეკვისთანავე ფლობდნენ მ-მამკს-ის მაღალ დონეს.

მამკს ცილის მონაწილეობაზე დასწავლასა და მეხსიერებაში მიუთითებს სხვა ექსპერიმენტებიც, რომლებიც ჩატარებული იყო ჰეტეროზიგოტურ მუტანტურ

თავგებზე, რომლებშიც მამბკს-ის ექსპრესია ძალზედ შემცირებული იყო და ტრანსგენული თავგებზე, რომლებშიც გაზრდილი იყო მამბკს-ის ექსპრესია. ასეთ თავგებში შესუსტებულია სივრცული დასწავლა. ცდების სერიაში სადაც გამოყენებული იქნა ტრანსგენული თავგები ჰიპოკამპში მამბკს-ის მომატებული ექსპრესიით, ნაჩვენები იქნა რომ ჰიპოკამპის CA1 უბანში გრძელვადიანი პოტენციაცია (გვპ) კავშირშია მამბკს-ის ფოსფორილირების პერიოდულ მატებასთან: მამბკს-ის *in situ* ფოსფორილირება იზრდებოდა გვპ-ს ინდუქციიდან 10 წთ-ის, მაგრამ არა 60-წთ-ის შემდეგ. ამ შედეგების შეჯამება მიუთითებს იმაზე, რომ მამბკს მონაწილეობს სინაპსური პლასტიკურობის მოვლენებში და ჩართულია მეხსიერებასა და დასწავლაში. ზემოთხსენებულ პროცესებში ამ ცილის მონაწილეობის ხარისხი დამოკიდებულია ამოცანაზე, დროზე და მოლეკულურ სტატუსზე (McNamara, et al. 2005).

მამბკს-ის რაოდენობა მემბრანულ ფრაქციასა და ციტოპლაზმურ ფოსფორილირებულ ფორმაში ერთმანეთთან კორელაციაში არ არის (იხ. სურ.14, სურ.15). ცფ-მამბკს-ის რაოდენობა ციტოპლაზმაში მუდმივი რჩებოდა, მაშინ როდესაც არაფოსფორილირებული მემბრანასთან მიერთებული მამბკს-ის დონე დასწავლის სპეციფიკურად იზრდებოდა. ეს ზრდა შესაძლოა გამოწვეული იყოს კალციუმ/კალმოდულინის სასიგნალო გზის კალციუმის მიერ მოდულირებით (რომელიც ასევე გავლენას ახდენს მამბკს-ის მემბრანაზე მიერთებაზე (Arbuzova, et al., 2002) და/ან გამოიყენება მამბკს-ის გაზრდილი *de novo* სინთეზისთვის (Solomonina, et al., 2003)).

ნეირონებში მამბკს ცილა დიდი რაოდენობითაა დენდრიტულ ქაცვსა და აქსონურ დაბოლოებებში, დაკავშირებულია სინაპსურ ვეზიკულებთან და კოლოკალიზირებულია სინაფტოფიზინთან. ნავარაუდევია, რომ არაფოსფორილირებული მამბკს-ის ზეექსპრესია შაფერის კოლატერალებში (ჩვეულებრივ მათში მამბკს ზრდასრულ ტვინში მცირე რაოდენობითაა) ზრდის F-აქტინის პლაზმურ მემბრანაზე გადაჯაჭვას და ასე ამცირებს F-აქტინის ციტოჩონჩხურ პლასტიკურობას, რაც აუცილებელია ჰიპოკამპური გვპ-ს შენარჩუნებისათვის. პვპ-ს მიერ ფოსფორილირებული მამბკს-ის და მისი რნმ-ის დასწავლის სპეციფიკური მატება ნაჩვენები იქნა იმპრინტირებული წიწილების მშენ-ში ტრენირებიდან 1სთ-ს შემდეგ (Sheu et al., 1993). მამბკს-ის ფოსფორილირების ეს ადრეული ზრდა როგორც

ჩანს გავლენას ახდენს აქტინის ფილამენტების უჯრედის პლაზმურ მემბრანაზე მიერთებაზე (Aderem et al., 1992). თუ ეს ცვლილებები ხდება დენდრიტურ ქაცვში სადაც უხვადაა აქტინის ფილამენტები მაშინ შესაძლოა ის ხელს უწყობს დენდრიტული ქაცვის მორფოლოგიის იმ ადრეულ მოდიფიკაციას, რომელიც იმპრინტინგიდან მოკლე დროში ვლინდება (Bradley, et al., 1981; Horn, et al., 1985). ტრენირებიდან 24სთ-ს შემდეგ არაფოსფორილირებული მემბრანასთან მიერთებული მამპკს-ის შემდგომი ზრდა, რომელიც ჩვენს კვლევებშია დემონსტრირებული შესაძლოა ამ ცვლილებების სტაბილიზაციას ემსახურება დენდრიტული ქაცვის მემბრანაზე აქტინის მიერთების გაძლიერებით.

6.2.α-ფოდრინი

წინამდებარე შრომის შედეგები უჩვენებს, რომ შინაური ქათმის წიწილების იმპრინტინგის სტიმულით ტრენირებისას 24სთ-ს შემდეგ ხდება α-ფოდრინის დასწავლისთვის სპეციფიკური კლება მარცხენა მშმნ უბანში. დასწავლისთვის სპეციფიკურ არანაირ ცვლილებას ადგილი არ ჰქონდა მარჯვენა მშმნ უბანსა და ნპნ-ში.

მარცხენა მშმნ-ში α-ფოდრინის დონე, რომელიც უპირატესობის ტესტის 50%-იან მაჩვენებლს შეესაბამებოდა სარწმუნოდ აღემატებოდა არტრენირებული წიწილების საშუალო მაჩვენებელს. ამრიგად, ტრენირება დასწავლის გარეშე ზრდის ამ ცილის რაოდენობას მარცხენა მშმნ-ში. როდესაც წიწილები სწავლობენ ტრენირებით გამოწვეული მომატება უკუპროცესს განიცდის და ცილის დონე კლებულობს. ალტერნატიულად, ერთმანეთის პარალელურად ორ პროცესს შეიძლება ჰქონდეს ადგილი: ტრენირებით გამოწვეულ α-ფოდრინის მატებას და დასწავლით გამოწვეულ დაკლებას ერთიდაიმავე ან განსხვავებულ უჯრედებში. ამჟამად შეუძლებელია ამ ორ ალტერნატივას შორის ერთის დარწმუნებით არჩევა. რადგანაც α-ფოდრინის კლებას მარცხენა მშმნ-ში აქვს ადგილი და ის სარწმუნო დამოკიდებულებებშია უპირატესობის ტესტის მაჩვენებლთან. ჩვენ ვვარაუდობთ, რომ ის უნდა მონაწილეობდეს მეხსიერების პროცესში.

ფოდრინი ნერვული ქსოვილის ძირითადი ცილაა და უზვადაა პოსტსინაპსურ სიმკვრივეში. ანატომიურმა კვლევებმა უჩვენა, რომ გვპ-ს თან სდევს ცვლილებები დენდრიტული ქაცვის მორფოლოგიაში, ამ უკანასკნელში კი ჩართული უნდა იყოს ციტოჩონჩხის ცვლილებები. α -ფოდრინი წარმოადგენს აქტინის გადამჯაჭველ ცილას და ქაცვის თავში მისი პოლიმერიზაციის ჩამრთველს (Lynch, et al. 2007).

ნმდარ-ის სტიმულაცია აპირობებს ქაცვში კალციუმ მგრძნობიარე ცისტეინ პროტეაზას- კალპაინის გააქტიურებას, რომელიც ახდენს ფოდრინის ჰიდროლიზს და სავარაუდოთ მისი ჰომოლოგიური სხვა ცილებისას, როგორიცაა: აქტინინი, Arc და სხვ. რომლებიც აქტინის გადაჯაჭვაში და მისი ფილამენტების სტაბილიზაციაში მონაწილეობს. ფოდრინის გახლეჩვა სავარაუდოა რომ იწვევდეს ქაცვის ციტოჩონჩხის დარღვევას, ისევე როგორც პოსტსინაპსური სიმკვრივის ჩამოყალიბებას (Dosemeci, et al., 1995). კალპაინით განპირობებულ ფოდრინის დეგრადაციას ასევე ხელს უწყობს **ამპარ**-ის სტიმულაცია, რაც იქნა ნანახი კულტივირებული ჰიპოკამპის ანათლებზე ჩატარებულ ცდებში, როდესაც ახდენდნენ ამ უკანასკნელების ხანგრძლივი დროის განმავლობაში ამპაკინებით (**ამპარ**-ების პოზიტიური მოდულატორებით, რომლებიც ზრდიან სინაპსურ -გამოხმაურებას და აჩქარებენ გვპ-ს) დამუშავებას. (Jourdi, et al. 2005). კალპაინით გახლეჩილი ფოდრინის პროდუქტების დიდი რაოდენობა იქნა ნანახი ალცჰეიმერის და პიკ-ის (Pick-ის) დაავადების მქონე პაციენტების ცერებროსპინალურ სითხეში. საინტერესოა, რომ კალპაინის ფარმაკოლოგიური ინჰიბიცია იწვევს გვპ-ს განვითარების დაბლოკვას (Vanderklisch et al., 1995, 2000).

ნავარუდევია, რომ α -ფოდრინის პროტეოლიზი დენდრიტულ ქაცვებში იწვევს ციტოჩონჩხის რეორგანიზაციას და ამის შედეგად მონაწილეობს სინაფსურ პლასტიურობაში (Lynch et al., 2007). ჩვენი სამუშაოს პირველი ნაწილის შედეგები მიუთითებენ მემბრანული **მამპკს** ცილის დასწავლის სპეციფიკურ მატებაზე და ამრიგად დასწავლაზე დამოკიდებულ ცვლილებებზე აქტინის ორგანიზაციაში მარცხენა **მშმნ**-ში. ამავე დროს ადგილი აქვს α -ფოდრინის (ასევე აქტინის გადამჯაჭველი ცილის) კლებას დროის იმავე წერტილზე და იმავე უბანში. ამჟამად შეუძლებელია ვთქვათ, რომ ამ α -ფოდრინის და **მამპკს** ცილის ამ კოვარიაციებს ადგილი აქვს ერთიდაიგივე სუბუჯრედულ კომპარტმენტებში (მაგალითად სინაფსურ ბუტონებსა ან დენდრიტულ ქაცვებში), სინაფსებში ან უჯრედებში. თუმცა მაინც ალბათ განსაკუთრებული აღნიშვნის ღირსი უნდა იყოს ორი აქტინ-

დამაკავშირებელი ცილის დასწავლისათვის სპეციფიკური, საპირისპირო ხასიათის ცვლილებები.

ვირთაგვებში α -ფოდრინი მ-რნმ ხარისხობრივად მატულობს საწყის პოსტნატალურ დღეებში, მატება ჩერდება მეორე-მესამე კვირისას, იმის გამო რომ ტვინში მისი დონე იკლებს. ეს დროებითი ექსპრესია იმაზე მიუთითებს, რომ α -ფოდრინი მნიშვნელოვანია ცნს-ის განვითარებისას, მისი ნორმალურად ფუნქციონირებისთვის. კალციუმის მიერ გააქტივებული პროტეოლიზით გამოწვეული ფოდრინის დახლეჩვის პროდუქტები, ჩვეულებრივ გამოიყენება, როგორც აპოპტოზის მარკერები. კასპაზების გააქტივებით α -ფოდრინის დახლეჩვის გამოწვევა, ასევე შეუძლია β -ამილოიდს, რაც ნაჩვენები იქნა ვირთაგვის კულტივირებულ კორტიკალურ ნეირონებში. დახლეჩვა იზრდება ასაკთან ერთად, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ ასაკთან ერთად კლებულობს α -ფოდრინის, როგორც სიბერის ფუნქცია. აპოპტოზისას მისი პროტეოლიტური მექანიზმი მოიცავს α -ფოდრინის ოქსიდაციურ მოდიფიკაციას და დეგრადაციას. ეს მიუთითებს იმაზე, რომ ოქსიდაციით ან დეგრადაციით α -ფოდრინის დაკარგვამ ტვინში, უნდა გამოიწვიოს ციტოჩონჩხის და უჯრედის სტრუქტურის დაშლა, შედეგად ხდება გავლენა შიდაუჯრედულ კომუნიკაციებზე და დასწავლის და მეხსიერების დეფიციტის გამოწვევა (Poon, et al., 2004).

6.3. სშც90

ჩვენი კვლევის შედეგების მიხედვით, იმპრინტინგის სტიმულით ტრენირებისას შინაური ქათმის წიწილებში ტრენირებიდან 24-სთს შემდეგ სიცხით შოკირებადი ცილა 90-ის (სშც90) შემთხვევაში დასწავლისათვის არანაირი სპეციფიკური ცვლილება არ შეინიშნება არც მშმნ-ში, და არც ნჰნ-ში.

თავში, ლიტერატურის მიმოხილვა, საუბარი იყო სშც90-ის მრავალ მნიშვნელოვან ნეირონულ ფუნქციაზე. მიუხედავად ამისა ჩვენ ვერ ვნახეთ ამ ცილოვანი მოლეკულის რაიმე სარწმუნო ცვლილებები დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ. ჩვენი ყურადღება სშც90-ის მიმართ განპირობებული იყო იმ ფაქტით, რომ მისი მაკოდირებელი მ-რნმ-ის დონე მომატებული იყო კარგად დამსწავლელ წიწილებში ცუდად დამსწავლელებთან შედარებით (Solomon et al., 2003). არანაირი ცვლილება ცილოვანი მოლეკულის დონეზე შეიძლება აიხსნას პჯრ-სელექტისათვის არსებული ე.წ. "ცრუ დადებითი" კლონების არსებობით (მართალია მცირე რაოდენობით, მაგრამ მაინც) ან იმ ფაქტით, რომ ძალიან ბევრი ცილოვანი მოლეკულისათვის არ არსებობს პირდაპირი კორელაცია მ-რნმ-ის დონესა და მის ტრანსლიაციას შორის.

6.4. აშპა რეცეპტორი

წინამდებარე შრომის შედეგები უჩვენებს, რომ შინაური ქათმის წიწილებში იმპრინტინგის სტიმულით ტრენირებისას, 1სთ-ს შემდეგ გლურ1-ის და არც ფ-831-გლურ1-ის რაოდენობაში დასწავლის სპეციფიკური სარწმუნო ცვლილებები არ აღინიშნება მარცხენა და მარჯვენა მშმნ უბანში და არც ნჰნ-ში. ამ ორი ფარდობის მაჩვენებლის შესწავლამ აჩვენა რომ მარცხენა მშმნ-ში (და არა სხვა შესწავლილ უბნებში) ადგილი აქვს სარწმუნო და დადებით კორელაციას უპირატესობს ტესტის მაჩვენებელთან რაც მიუთითებს იმაზე, რომ დასწავლასთან ერთად იზრდება 831-ე სერინის ნაშთზე ფოსფორილირებული გლურ1 სუბერთეულის პროცენტული რაოდენობა. საინტერესო შედეგები იქნა მიღებული კორელაციური მრუდის ორ ნაწილად დაყოფისას: ნანახი იქნა, რომ დასწავლის ხარისხის მატებასთან ერთად

გარკვეულ მაჩვენებელამდე ადგილი აქვს **ფ-831-გლურ1/ჯ-გლურ1**-ის რაოდენობის მკვეთრ მატებას, ხოლო უპირატესობის ხარისხის დაახლოებით 75%-მდე მაჩვენებლის შემდეგ ამ ფარდობის მაჩვენებლის მატებას ადგილი აღარ აქვს შეიმჩნევა გარკვეული გაჯერების ეფექტი. ეს რა თქმა უნდა თავისთავად საინტერესო ფაქტია, მაგრამ თხოულობს განსჯას არსებულ მონაცემებთან **კამკII**-ის აქტივობის შესახებ (იხ. Solomon et al., 2005).

კამკII-ის რაოდენობის, მისი 286-ე სერინის ნაშთზე ავტოფოსფორილირებული ფორმის და მათი ფარდობის რაოდენობრივმა შესწავლამ იმპრინტინგის დროს აჩვენა, რომ ავტოფოსფორილირებული და ავტოფოსფორილირებული/ჯამური ფერმენტის ფარდობის რაოდენობა სარწმუნო და დადებით კორელაციაშია უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელთან დასწავლიდან 1 საათის შემდეგ და არა 24 საათის შემდეგ (იხ. Solomon et al 2005). ამ შემთხვევაშიც კორელაციური მრუდის ანალიზმა აჩვენა საინტერესო, ოღონდ საპირისპირო შედეგი: კორელაციის მკვეთრ მატებას ადგილი აქვს 75% უპირატესობის ტესტის მაჩვენებლის შემდეგ, თუმცა ავტოფოსფორილირება გარკვეულწილად მომატებულია ამ მაჩვენებელამდეც (იხ Solomon et al 2005).

მიღებულია, რომ ფერმენტის **კამკII**-ის ავტოფოსფორილირება შეუძლებელი უნდა იყოს მისი აუტონომიური აქტივობის ზრდასთან. სხვა ავტოფოსფორილირებულ მდგომარეობაში საკმაოდ დიდი ხნით ყოფნას თან სდევს აუტონომიური აქტივობის მხოლოდ მცირე ხნიანი (დაახლოებით 3-5 წუთი) მომატება ანუ ადგილი აქვს დისოციაციას ავტოფოსფორილირებასა და აუტონომიურ აქტივობებს შორის. მიზეზი აღნიშნული დისოციაციისა შეიძლება იყოს გარკვეული უკუკავშირული მექანიზმები, რომლებიც აინჰიბირებენ ავტოფოსფორილირებული **კამკII**-ის აქტივობას (იხ. Irvine and Giese 2005). ეს მონაცემები მიუთითებს, რომ აუცილებელი არ არის რომ 831-ე ნაშთზე **გლურ1**-ის რაოდენობა ზუსტ კორელაციაში იყოს ავტოფოსფორილირებული **კამკII**-ის ცვლილებებთან.

რა შედეგი შეიძლება ახლდეს თან 831-ე სერინის ნაშთზე ფოსფორილირებული **გლურ1**-ის დასწავლისათვის სპეციფიკურ მატებას? ამ საკითხზე ჩვენ საუბარი ლიტერატურის მიმოხილვისას გვქონდა და ახლა უბრალოდ მოკლედ აღვნიშნავთ, რომ ეს ცვლილება ხელს უნდა უწყობდეს **ამპარ**-ების სინაფსების ზედაპირზე ექსპრესიას და კალციუმის იონების გამტარობის ზრდას. ყოველივე ეს სინაფსების

გარკვეული ანსამბლის უფრო ეფექტურ და სპეციფიკურ აქტივობას უნდა განაპირობებდეს.

6.5. რეგიონული განსხვავებები

როგორც ყველა წინა აღწერილ შემთხვევებში (იხ. Solomon et al., 1997; 1998; 2000; 2003; 2005, მიმოხილვისათვის Horn 2005) დასწავლისათვის სპეციფიკურ ცვლილებებს (ასეთის არსებობის შემთხვევაში) ადგილი ჰქონდა მხოლოდ მშმნ-ში. არცერთი ჩვენს მიერ შესწავლილი ცილისათვის არ ჰქონდა ადგილი სარწმუნო კორელაციას ნჰნ-ში. ამ ფაქტზე დაყრდნობით ჩვენ დარწმუნებით შეიძლება განვაცხადოთ, რომ ნჰნ-ში თუნდაც არსებული ცვლილებები ტრენინგის გვერდითი ეფექტებით უნდა იყოს გამოწვეული.

6.6. ლატერალიზაცია

ჩვენს მიერ ყველა დასწავლისათვის სპეციფიკური ცვლილება სარწმუნოდ აღირიცხება მხოლოდ მარცხენა ნახევარსფეროს მშმნ-ში. ამავე დროს რეგრესიული მრუდები მარცხენა და მარჯვენა ნახევარსფეროს შორის სარწმუნოდ არ განსხვავდება ერთმანეთისაგან. ასეთ მოვლენას ადგილი ჰქონდა ნეირონული ადჰეზიის მოლეკულებისათვის, კლატრინის მძიმე ჯაჭვებისათვის, ჰომოგენატში მამკკ ცილის ჯამური რაოდენობისა და ამილოიდის წინამორბედი ცილისათვის (იხ. Solomon et al., 1997; 1998; 2003).

უბნის დაზიანებით გამოწვეული და ნეიროფიზიოლოგიური კვლევები ცხადყოფს, რომ როგორც მარცხენა ასევე მარჯვენა მშმნ ინახავს მიღებულ ინფორმაციას (მიმოხილვისათვის Horn 2005). ამავე დროს, მარჯვენა მშმნ-ს აქვს დამატებითი ფუნქცია, რომელიც არ გააჩნია მარცხენა მშმნ-ს: იგი უზრუნველყოფს დამატებითი მეხსიერების საცავი სისტემის ფორმირებას, რომლის ჩამოყალიბება ხდება ტრენირების დამთავრებიდან რამდენიმე საათის შემდეგ. შესაძლებელია, რომ ეს ფუნქცია არ განაპირობებს გარკვეულწილად ფარავდეს ისეთ მკვეთრ ცვლილებებს, რომელიც აღინიშნება მარცხენა მშმნ-ში (Horn 1998; 2004) და ჩვენს ნაშრომში მიღებული შედეგებიც ამ მოვლენით შეიძლება აიხსნას.

თავი 7. დასკვნები

1. შინაური ქათმის წიწილებში იმპრინტინგის სტიმულით ტრენირებიდან 24სთ-ს შემდეგ ხდება მ-მამკს-ის, მაგრამ არა ცფ-მამკს-ის დასწავლის სპეციფიკური ზრდა მარცხენა მშმნ უბანში და არა სხვა შესწავლილ უბნებში.
2. შინაური ქათმის წიწილებში იმპრინტინგის სტიმულით ტრენირებიდან 24სთ-ს შემდეგ ხდება α-ფოდრინის დასწავლის სპეციფიკური კლება მარცხენა მშმნ-ს უბანში. სხვა უბნებში სარწმუნო ცვლილებებს ადგილი არ აქვს
3. იმპრინტინგის სტიმულით ტრენირებისას შინაური ქათმის წიწილებში ტრენირებიდან 24-სთს შემდეგ მშმნ-ში, ისევე როგორც ნპნ-ში დასწავლის სპეციფიკური სშც90-ის არანაირი რაოდენობრივი ცვლილება არ შეინიშნება.
4. შინაური ქათმის წიწილებში იმპრინტინგის სტიმულით ტრენირებიდან 1სთ-ს შემდეგ მშმნ-სა და ნპნ-ში ადგილი არა აქვს გლურ1-ის და ფ-831-გლურ1-ის რაოდენობრივ სარწმუნო ცვლილებებს.
5. შინაური ქათმის წიწილებში იმპრინტინგის სტიმულით ტრენირებიდან 1სთ-ს შემდეგ მარცხენა მშმნ-ში ადგილი აქვს აქვს ფ-831-გლურ1/ჯ-გლურ1-ის ფარდობის რაოდენობის დასწავლისათვის სპეციფიკურ მატებას უპირატესობის ტესტის გარკვეულ მაჩვენებლამდე, რის შემდეგაც გარკვეული გაჯერების ეფექტს აქვს ადგილი

ILIA STATE UNIVERSITY

D.APHKHAZAVA

The role of myristoylated, alanine-rich C-kinase substrate, α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor, HSP90 and α -fodrin in imprinting

PhD Thesis

RESUME

Memory is central to many aspects of behavior. However, experimentally-based evidence of the neural basis of memory has been elusive in spite of a long interest in the subject. There is a pressing need to understand the neural mechanisms of learning and memory. Not only is research on these topics an important scientific endeavor in its own right, but rational treatment of mental illness requires a deep understanding of how the brain stores and retrieves information.

A major difficulty in analyzing the neural mechanisms of memory has been to identify a brain region in which information is stored. This difficulty has been overcome in the case of the learning process of visual imprinting in the domestic chick, making this form of learning invaluable for investigating these mechanisms. There is strong evidence, converging from a variety of experiments that a restricted part of the chick forebrain, the intermediate and medial part of the mesopallium (IMM) is a site of the underlying recognition memory for visual imprinting (Horn G 2004).

A range of molecular time-dependent changes occur in the IMM. These changes, which are closely related to the strength of learning, include increases in the expression of a number of proteins, including: neuronal cell adhesion molecules, clathrin heavy chain and auto-phosphorylated calcium/calmodulin dependent protein kinase [reviewed in 1]. In order to understand deeper and critically the molecular events underlying the formation of recognition memory in chicks the following aims were defined for our present research:

1. Which subcellular form of myristoylated, alanine-rich C-kinase substrate (MARCKS): membrane bound non-phosphorylated, cytoplasmic phosphorylated or both forms undergo learning-specific changes in 24h after training? In the resting, non-phosphorylated state the protein is membrane-bound, and binds and crosslinks actin

filaments or sequesters phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. On phosphorylation by PKC it translocates to the cytosol and functions in a totally different way. Previous results have shown that in the left IMM of the chick 24 h after training there is a learning-specific increase in the amount of MARCKS protein. This increase was observed in a homogenate fraction (Solomonina, et al., 2003) that contains both subcellular forms of MARCKS. Our present experiments inquired whether the learning-specific increase in the amount of MARCKS that was observed in the IMM 24 h after training is restricted to the PKC-phosphorylated form, to the membrane-bound form, or whether both of these forms of the protein increase with learning.

2. Are there learning-related changes in the amounts of heat-shock protein 90 (HSP90) and α -fodrin 24h after training? Study of gene expression changes 24h after imprinting in the IMM has revealed more than 35 up- or down-regulated genes (candidate genes, (Solomonina, et al., 2003). However, these changes do not necessarily reflect changes related to learning; they may simply reflect random variation between the samples. In addition change in gene expression on the mRNA level does not necessarily produce a change in the amount of protein that it encodes (final product of gene expression). Therefore for the identified differentially expressed genes it is necessary to determine whether or not their expression on protein levels are correlated with an independent measure of learning

In the present study we have further explored the results obtained from gene expression experiments and 24 h after training have studied quantitative changes of the protein products of the following candidate genes: α -fodrin and heat-shock protein 90 (HSP90). The mRNA level of HSP90 was up-regulated in the left IMM of chicks that showed a strong preference for the imprinted object, whereas the mRNA level for α -fodrin was down-regulated. These gene products were selected for the following reasons: (i) α -fodrin, or brain spectrin, is a membrane-cytoskeletal linker protein present in abundance in the postsynaptic density. Fodrin binds to NCAM180, a neural cell adhesion molecule that is up-regulated after imprinting (Solomonina et al., 2005). (ii) HSP90 is necessary for the efficient release of neurotransmitter from presynaptic terminals and is a critical component of the cellular machinery that delivers AMPA glutamate receptors into the postsynaptic membrane. For none of these proteins have correlative studies been undertaken to relate changes in their

amounts to the strength of learning in a region of vertebrate brain known to be a memory store.

3. *Whether there are learning-specific changes in GLUR1 subunit of AMPA glutamate receptor phosphorylated at serine-831 in chicks brain 1h after training?* In the previous study (Solomon et al., 1998) it was shown that for the IMM at 1h after training apCaMKII (Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II autophosphorylated at thr-286) amount and apCaMKII/totalCaMKII increased as chicks learned. This learning specific activation of CaMKII raises questions concerning the down-stream signaling pathways activated by CaMKII in the chick brain during memory formation. At present it is known that CaMKII beside other substrates phosphorylates and promotes the delivery of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA) receptors into the postsynaptic membrane. This biochemical process is known to be critically involved in the events of synaptic plasticity. Therefore we were in a strong position to determine whether activation of CaMKII 1 h after the end training leads to the learning specific changes in phosphorylation of GLU-R1 subunit at Ser831 (P831-GLUR1).

Methods. Chicks were hatched, reared and trained as described previously. After training a preference score was calculated to provide a measure of each chick's preference and hence of the strength of learning. Chicks were killed 24 h or 1 h after the end of training. Four pieces of tissue were removed from each brain, from the left and right IMM and from the posterior pole of the right and left nidopallium (PPN, a control forebrain region not implicated in learning.). Protein samples were subjected to electrophoresis and quantitative Western immunoblotting with panel of specific antibodies. Quantization of studied proteins was done as described earlier (Solomon et al., 1998, 2003, 2005)

We have shown:

1. 24h after training with imprinting stimulus, in the left IMM of chicks, there is a learning-specific increase in membrane-bound, but not cytoplasmic-phosphorylated MARCKS; No any changes are observed in any other brain regions studied

2. 24h after training with imprinting stimulus, in the left IMM of chicks, there is a learning-specific decrease of α -fodrin; no significant changes are observed in other brain regions
3. 24h after training with imprinting stimulus for the amount of HSP90 neither in the IMM nor in the PPN of chicks any significant changes are observed;
4. 1h after training with imprinting stimulus, in the IMM as well as in PPN of chicks, there are no significant quantitative changes in the amounts of GLUR1 or P831-GLUR1. However in the left IMM of chicks, there is significant positive correlation of P831-GLUR1/GLUR1 ratio with preference score. This increase is more strongly expressed till 75% preference score value.

Obtained results provides new and important data about biochemical processes of recognition memory formation in chicks and sheds a new light on changes in synaptic structure and functions. Present work paves the way for deeper understanding on molecular level how brain stores the information.

Paper Published:

Solomonian R.O., Apkhazava D., Nozadze M., Jackson A. P., McCabe B. J. G. Horn (2008) Different forms of MARCKS protein are involved in memory formation in the learning process of imprinting. *Exp Brain Res* **188**:323–330.

თავი 8. გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Abraham, W. C. (2003) How long will long-term potentiation last? *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **358**, 735–744.
2. Aderem, A. (1992) The MARCKS brothers: a family of protein kinase C substrates. *Cell* **71**, 713–716.
3. Albert, R. A., Walaas, S. I., Wang, K.-T. & Greengard, P. (1986) Widespread occurrence of '87kDa', a major specific substrate for protein kinase C. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **83**, 2822–2826.
4. Allen, L. A. and Aderem, A. (1995) Protein kinase C regulates MARCKS cycling between the plasma membrane and lysosomes in fibroblasts. *EMBO J.* **14**, 1109–1121.
5. Ambalavanar R., McCabe, B. J., Potter, K. N. & Horn, G. (1999) Learning-related Fos-like immunoreactivity in the chick brain: time course and co-localisation with GABA and parvalbumin. *Neuroscience* **93**, 1515–1524.
6. Arbuzova, A., Schultz, A. A. P. & Vergeres, G. (2002) Cross-talk unfolded: MARCKS proteins. *Biochem. J.* **362**, 1–12.
7. Bahr B.A. (1995) Long-Term Hippocampal Slices: A Model System for Investigating Synaptic Mechanisms and Pathologic Processes. *Journal of Neuroscience Research* **42**:294–305.
8. Banke TG, Bowie D, Lee H, Huganir RL, Schousboe A, Traynelis SF. (2000) Control of GluR1 AMPA receptor function by cAMP-dependent protein kinase. *J. Neurosci.* **20**, 89–102.
9. Bannerman, D. M., Good, M. A., Butcher, S. P., Ramsay, M. & Morris, R. G. (1995) Distinct components of spatial learning revealed by prior training and NMDA receptor blockade. *Nature* **378**, 182–186.
10. Barria, A., Muller, D., Derkach, V., Griffith, L.C., and Soderling, T.R. (1997). Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation. *Science* **276**, 2042–2045.
11. Bateson, P. P. G. (1966) The characteristics and context of imprinting. *Biol. Rev.* **41**, 177–220.

12. Bateson, P. P. G., Horn, G. & Rose, S. P. R. (1972) Effects of early experience on regional incorporation of precursors into RNA and protein in the chick brain. *Brain Res.* **39**, 449–465.
13. Bateson, P. P. G., Rose, S. P. R. & Horn, G. (1973) Imprinting: lasting effects on uracil incorporation into chick brain. *Science* **181**, 576–578.
14. Bateson, P. P. G., Horn, G. & Rose, S. P. R. (1975) Imprinting: correlations between behaviour and incorporation of [14-C] uracil into chick brain. *Brain Res.* **84**, 207–220.
15. Bateson, P. & Horn, G. (1994) Imprinting and recognition memory — a neural net model. *Anim. Behav.* **48**, 695–715.
16. Bauer P., Schoels L., and Riess O. (2006) Spectrin mutations in spinocerebellar ataxia (SCA) *BioEssays* **28**:785–787.
17. Beck K. A. Spectrins and the Golgi. *Biochimica et Biophysica Acta* 1744 (2005) 374 – 382.
18. Beffert U, Morfini G, Bock HH, Reyna H, Brady ST, Herz J (2002) Reelin-mediated signaling locally regulates protein kinase B/Akt and glycogen synthase kinase 3. *J Biol Chem* **277**:49958–49964.
19. Beneyto M and Meador-Woodruff JH (2004) Expression of transcripts encoding AMPA receptor subunits and associated postsynaptic proteins in the macaque brain. *J Comp Neurol* **468**:530–554.
20. Bhatnagar R. S. and Gordon, J. I. (1997) Understanding covalent modifications of proteins by lipids: where cell biology and biophysics mingle. *Trends Cell Biol.* **7**, 14–21.
21. Bigay J., Faurobert, E., Franco, M. and Chabre, M. (1994) Roles of lipid modifications of transducin subunits in their GDP-dependent association and membrane binding. *Biochemistry* **33**, 14081–14090.
22. Bliss T. V. P. & Collingridge G. L. (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* **361**, 31–39.
23. Bolhuis, J. J., Johnson, M. H. & Horn, G. (1989) Interacting mechanisms during the formation of filial preferences: the development of a predisposition does not prevent learning. *J. Exp. Psychol.* **15**, 376–382.
24. Bolhuis, J. J. (1991) Mechanisms of avian imprinting: a review. *Biol. Rev.* **66**, 303–345.

25. Bolhuis, J. J. & Horn, G. (1992) Generalization of learned preferences in filial imprinting. *Anim. Behav.* **44**, 185–187.
26. Bolhuis, J. J. (1999) Early learning and the development of filial preferences in the chick. *Behav. Brain Res.* **98**, 245–252.
27. Bolhuis, J. J., Cook, S. & Horn, G. (2000) Getting better all the time: improving preference scores reflect increases in the strength of filial imprinting. *Anim. Behav.* **59**, 1153–1159.
28. Bolhuis, J. J. & Eda-Fujiwara, H. (2003) Bird brains and song: neural mechanisms of birdsong perception and memory. *Anim. Biol.* **53**, 129–145.
29. Boman, A. L. and Kahn, R. A. (1995) Arf proteins: the membrane traffic police? *Trends Biochem. Sci.* **20**, 147–150.
30. Bowie, D., Lange, G. D. & Mayer, M. L. (1998) Activitydependent Modulation of glutamate receptors by polyamines. *J. Neurosci.* **18**, 8175–8185.
31. Bradley, P., Horn, G. & Bateson, P. (1981) Imprinting: an electronmicroscopic study of chick hyperstriatum ventrale. *Exp. Brain Res.* **41**, 115–120.
32. Bradley, P. M., Davies, D. C. & Horn, G. (1985) Connections of the hyperstriatum ventrale of the domestic chick (*Gallus domesticus*). *J. Anat.* **140**, 577–589.
33. Bradley, P. M., Burns, P. D., Chinnery, P. F. & Webb, A. C. (1990) Local circuitry in the IMHV of the domestic chick *Gallus domesticus*. *Proc. R. Soc. Lond. B* **240**, 479–492.
34. Bradley, P. M., Burns, B. D., Titmus, J. & Webb, A. C. (1991) Morphological correlates of persistent potentiation in the chick brain slice. *Neuroreport* **2**, 197–200.
35. Braithwaite SP, Xia H, and Malenka RC (2002) Differential roles for NSF and GRIP/ABP in AMPA receptor cycling. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**:7096–7101.
36. Bramham, C. R., Bacher-Svendsen, K. & Sarvey, J. M. (1997) LTD in the lateral perforant path is β -adrenergic receptordependent. *Neuroreport* **8**, 719–724.
37. Broadbent, D. E. (1958) *Perception and Communication* (Pergamon, New York).
38. Brown M.A., Zhu L., Schmidt C., and Tucker P.W. (2007) Hsp90 – from signal transduction to cell transformation *Biochem Biophys Res Commun.* **363**(2): 241–246.
39. Burnashev, N. (2005) Dynamic modulation of AMPA receptormediated synaptic transmission by polyamines in principal neurons. *J. Neurophysiol.* **93**, 2371–1380.

40. Calabrese B. Halpain S. (2005) Essential role for the PKC target MARCKS in maintaining dendritic spine morphology. *Neuron*. **48**(1):77-90.
41. Ceccaldi, P.-E. et al. (1995) Dephosphorylated synapsin I anchors synaptic vesicles to actin cytoskeleton: an analysis by videomicroscopy. *J. Cell Biol.* **128**, 905–912.
42. Chan S. L. and Mark P. Mattson (1999) Caspase and Calpain Substrates: Roles in Synaptic Plasticity and Cell Death *Journal of Neuroscience Research* **58**:167–190.
43. Choi, S., Klingauf, J. & Tsien, R. W. (2003) Fusion pore modulation is a presynaptic mechanism contributing to expression of long-term potentiation. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **358**, 695–705.
44. Chung HJ, Xia J, Scannevin RH, Zhang X, Huganir RL (2000) Phosphorylation of the AMPA receptor subunit GluR2 differentially regulates its interaction with PDZ domain-containing proteins. *J Neurosci* **20**(19): 7258-7267.
45. Cipolla-Neto, J., Horn, G. & McCabe, B. J. (1982) Hemispheric asymmetry and imprinting: the effect of sequential lesions to the hyperstriatum ventrale. *Exp. Brain Res.* **48**, 22–27.
46. Clem, R. L. & Barth, A. (2006) Pathway-specific trafficking of native AMPARs by in vivo experience. *Neuron* **49**, 663–670.
47. Crombag H.S. Sutton J. M., Takamiya K., Lee H.-K., Holland P. C., Gallagher M., Huganir R. L. (2008) A necessary role for GluR1 serine 831 phosphorylation in appetitive incentive learning *Behavioural Brain Research* **191**. 178–183.
48. Daisley, J. N., Grüss, M., Rose, S. P. R. & Braun, K. (1998) Passive avoidance training and recall are associated with increased glutamate levels in the intermediate medial hyperstriatum ventrale of the day-old chick. *Neural Plast.* **6**, 53–61.
49. Daisley, J. N. & Rose, S. P. R. (2002) Amino acid release from the intermediate medial hyperstyriatum ventrale (IMHV) of day old chicks following a one-trial passive avoidance task. *Neurobiol. Learn. Mem.* **77**, 185–201.
50. Davies, D. C., Horn, G. & McCabe, B. J. (1983) Changes in telencephalic catecholamine levels in the domestic chick. Effects of age and visual experience. *Dev. Brain Res.* **10**, 251–255.

51. Davies, D. C., Johnson, M. H. & Horn, G. (1992) The effect of the neurotoxin DSP4 on the development of a predisposition in the domestic chick. *Dev. Psychobiol.* **25**, 251–259.
52. Del Olmo, N. et al. (2003) Taurine-induced synaptic potentiation and the late phase of long-term potentiation are related mechanistically. *Neuropharmacology* **44**, 26–39.
53. Derkach, V., Barria, A. & Soderling, T. R. (1999) Ca^{2+} /calmodulin-kinase II enhances channel conductance of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **96**, 3269–3274.
54. Desmond, N. L. & Levy, W. B. (1986) Changes in the postsynaptic density with long-term potentiation in the dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* **123**, 111–120.
55. Dosemeci, A., Reese, T.S., (1995) Effect of calpain on the composition and structure of postsynaptic densities. *Synapse* **20**, 91–97.
56. DeSouza S, Fu J, States BA, and Ziff EB (2002) Differential palmitoylation directs the AMPA receptor-binding protein ABP to spines or to intracellular clusters. *J Neurosci* **22**:3493–3503.
57. Disatnik M.H., Stéphane C. Boutet¹, Wilfred Pacio¹, Annie Y. Chan, Lindsey B. Ross, Christine H. Lee¹ and Thomas A. Rando. (2004) The bi-directional translocation of MARCKS between membrane and cytosol regulates integrin-mediated muscle cell spreading. *Journal of Cell Science* **117**, 4469–4479.
58. Dong H, O'Brien RJ, Fung ET, Lanahan AA, Worley PF, and Huganir RL (1997) GRIP: a synaptic PDZ domain-containing protein that interacts with AMPA receptors. *Nature (Lond)* **386**:279–284.
59. Ehlers, M. D. (2000) Reinsertion or degradation of AMPA receptors determined by activity-dependent endocytic sorting. *Neuron* **28**, 511–525.
60. Ehlers, M.D. (2003) Ubiquitin and the deconstruction of synapses. *Science* **302**, 800–801.
61. Esteban JA, Shi SH, Wilson C, Nuriya M, Huganir RL, Malinow R. (2003) PKA phosphorylation of AMPA receptor subunits controls synaptic trafficking underlying plasticity. *Nature Neurosci.* **6**, 136–143.
62. Firestein BL and Rongo C (2001) DLG-1 is a MAGUK similar to SAP97 and is required for adherens junction formation. *Mol Biol Cell* **12**:3465–3475.

63. Frade J.G., Barbosa R.M., and Laranjinha J. (2009) Stimulation of NMDA and AMPA Glutamate Receptors Elicits Distinct Concentration Dynamics of Nitric Oxide in Rat Hippocampal Slices *Hippocampus* **19**(7):603-11.
64. Frank, M. G., Issa, N. P. & Stryker, M. P. (2001) Sleep enhances plasticity in the developing visual cortex. *Neuron* **30**, 275–287.
65. Fu J, deSouza S, and Ziff EB (2003) Intracellular membrane targeting and suppression of Ser880 phosphorylation of glutamate receptor 2 by the linker I-set II domain of AMPA receptor-binding protein. *J Neurosci* **23**:7592–7601.
66. Gatlin JC, Estrada-Bernal A, Sanford SD, Pfenninger KH. (2006) Myristoylated, alanine-rich C-kinase substrate phosphorylation regulates growth cone adhesion and pathfinding. *Mol Biol Cell.* **17**(12):5115-30.
67. Gerges N. Z., Tran I. C., Backos D.S., Harrell J. M., Chinkers M., Pratt W. B., (2004) Independent Functions of hsp90 in Neurotransmitter Release and in the Continuous Synaptic Cycling of AMPA Receptors *The Journal of Neuroscience* **24**(20):4758 – 4766.
68. Graff JM, Young TN, Johnson JD, Blackshear PJ. (1989) Phosphorylation-regulated calmodulin binding to a prominent cellular substrate for protein kinase C. *J Biol Chem.* **264**(36):21818-23.
69. Grosshans, D. R., Clayton, D. A., Coultrap, S. J. & Browning, M. D. (2001) LTP leads to rapid surface expression of NMDA but not AMPA receptors in adult rat CA1. *Nature Neurosci.* **5**, 27–33.
70. Grüss, M. & Braun, K. (1996) Stimulus-evoked increase of glutamate in the mediorostral neostriatum hyperstriatum ventrale of domestic chick after auditory filial imprinting: an in vivo microdialysis study. *J. Neurochem.* **66**, 1167–1173.
71. Hampton, N. G., Bolhuis, J. J. & Horn, G. (1995) Induction and development of a filial predisposition in the chick. *Behaviour* **132**, 451–477.
72. Harvey, R. J., McCabe, B. J., Solomon, R. O., Horn, G. & Darlison, M. G. (1998) Expression of the GABAA receptor $\gamma 4$ -subunit gene: anatomical distribution of the corresponding mRNA in the domestic chick forebrain and the effect of imprinting training. *Eur. J. Neurosci.* **10**, 3024–3028.

73. Hayashi, Y., Shi, S.H., Esteban, J.A., Piccini, A., Poncer, J.C., and Malinow, R. (2000) Driving AMPA receptors into synapses by LTP and CaMKII: requirement for GluR1 and PDZ domain interaction. *Science* **287**, 2262–2267.
74. Hebb, D. O. (1949) *The Organization of Behavior* (John Wiley, New York).
75. Henley JM (2003) Proteins interactions implicated in AMPA receptor trafficking: a clear destination and an improving route map. *Neurosci Res* **45**:243–254.
76. Hering, H. & Shen, G. (2001) Dendritic spines: structure, dynamics and regulation. *Nature Rev. Neurosci.* **2**, 880–888.
77. Higo N., Oishi T., Yamashita A., Murata Y., Matsuda K., Hayashi M. (2006) Expression of protein kinase C-substrate mRNAs in the basal ganglia of adult and infant macaque monkeys. *The Journal of Comparative Neurology.* **499** Issue 4, 662 – 676.
78. Hinde, R. A. & Stevenson-Hinde, J. (1973) *Constraints on Learning* (Academic, London).
79. Hoffman, H. W. & Ratner, A. M. (1973) A reinforcement model of imprinting: implications for socialization of monkeys and men. *Psychol. Rev.* **80**, 527–544.
80. Hollmann, M., and Heinemann, S. (1994) Cloned glutamate receptors. *Annu. Rev. Neurosci.* **17**, 31–108.
81. Holman, D., Feligioni, M. & Henley, J. M. (2007) Differential redistribution of native AMPA receptor complexes following LTD induction in acute hippocampal slices. *Neuropharmacology* **52**(1):92-9.
82. Honey, R. C., Horn, G. & Bateson, P. (1993) Perceptual learning during filial imprinting: evidence for transfer of training studies. *Q. J. Exp. Psychol.* **46**, 253–269.
83. Honey, R. C., Horn, G., Bateson, P. & Walpole, M. (1995) Functionally distinct memories for imprinting stimuli: behavioral and neural dissociations. *Behav. Neurosci.* **109**, 689–698.
84. Horn, G. (1965) in *Advances in the Study of Animal Behavior* (eds Lehrman, D. S., Hinde, R. A. & Shaw, E.) **1**, 155–215 (Academic, New York).
85. Horn, G. & Wright, M. J. (1970) Characteristics of transmission failure in the squid stellate ganglion: a study of a simple habituating system. *J. Exp. Biol.* **52**, 217–231.

86. Horn, G., Rose, S. P. R. & Bateson, P. P. G. (1973) Monocular imprinting and regional incorporation of tritiated uracil into the brains of intact and 'split-brain' chicks. *Brain Res.* **56**, 227–237.
87. Horn, G., McCabe, B. J. & Bateson, P. P. G. (1979) An autoradiographic study of the chick brain after imprinting. *Brain Res.* **168**, 361–373.
88. Horn, G. (1981) Neural mechanisms of learning: an analysis of imprinting in the domestic chick. *Proc. R. Soc. Lond. B* **213**, 101–137.
89. Horn, G., McCabe, B. J. & Cipolla-Neto, J. (1983) Imprinting in the domestic chick: the role of each side of the hyperstriatum ventrale in acquisition and retention. *Exp. Brain Res.* **53**, 91–98.
90. Horn, G., Bradley, P. & McCabe, B. J. (1985) Changes in the structure of synapses associated with learning. *J. Neurosci.* **5**, 3161–3168.
91. Horn, G. (1991) in *Neural and Behavioural Plasticity. The Use of the Domestic Chick as a Model* (ed. Andrew, R. J.) 44–48 (Oxford Univ. Press, Oxford).
92. Horn, G. (1998) Visual imprinting and the neural mechanisms of recognition memory. *Trends Neurosci.* **21**, 300–306.
93. Horn, G., Nicol, A. U. & Brown, M. W. (2001) Tracking memory's trace. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **98**, 5282–5287.
94. Horn G, (2004) Pathways of past: the imprint of memory. *Nature Rev.Neurosci*, **5**, 108–121.
95. Horton, A. C. & Ehlers, M. D. (2004) Secretory trafficking in neuronal dendrites. *Nature Cell Biol.* **6**, 585–591.
96. Huang Z, Shimazu K, Woo NH, Zang K, Muller U, Lu B, Reichardt LF (2006) Distinct roles of the beta 1-class integrins at the developing and the mature hippocampal excitatory synapse. *J Neurosci* **26**:11208–11219.
97. Hung AY and Sheng M (2002) PDZ domains: structural modules for protein complex assembly. *J Biol Chem* **277**:5699–5702.
98. Hussain R. J., Deborah J. Stumpo, Perry J. Blackshear, Robert H. Lenox, Ted Abel, and Robert K. McNamara. (2006) Myristoylated Alanine Rich C Kinase Substrate (MARCKS) Heterozygous Mutant Mice Exhibit Deficits in Hippocampal. Mossy Fiber-CA3 Long-Term Potentiation. *Hippocampus* **16**:495–503.

99. Ishida, A., Kitani, T., Okuno, S. and Fujisawa, H. (1994). Inactivation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II by calcium/calmodulin. *J. Biochem. (Tokyo)* **115**, 1075–1082.
100. Ishida, A. and Fujisawa, H. (1995). Stabilization of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II through the autoinhibitory domain. *J. Biol. Chem.* **270**, 2163–2170
101. Ishiuchi S, Tsuzuki K, Yamada N, Okado H, Miwa A, Kuromi H, Yokoo H, Nakazato Y, Sasaki T, and Ozawa S (2001) Extension of glial processes by activation of Ca²⁺-permeable AMPA receptor channels. *Neuroreport* **12**:745–748.
102. Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, Kitani-Yasuda T, and Tsukita S (1993) The 220-kD protein colocalizing with cadherins in non-epithelial cells is identical to ZO-1, a tight junction-associated protein in epithelial cells: cDNA cloning and immunoelectron microscopy. *J Cell Biol* **121**:491–502.
103. Johnson, M. H., Bolhuis, J. & Horn, G. (1985) Interaction between acquired preferences and developing predispositions during imprinting. *Anim. Behav.* **33**, 1000–1006.
104. Johnson, M. H. & Horn, G. (1986) Dissociation of recognition memory and associative learning by a restricted lesion of the chick forebrain. *Neuropsychologia* **24**, 329–340.
105. Johnson, M. H. & Horn, G. (1987) The role of a restricted region of the chick forebrain in the recognition of individual conspecifics. *Behav. Brain Res.* **23**, 269–275.
106. Johnson, M. H. & Morton, J. (1991) *Biology and Cognitive Development: The Case of Face Recognition* (Blackwell, Oxford).
107. Jourdi H, Iwakura Y, Narisawa-Saito M, Ibaraki K, Xiong H, Watanabe M, Hayashi Y, Takei N, and Nawa H (2003) Brain-derived neurotrophic factor signal enhances and maintains the expression of AMPA receptor-associated PDZ proteins in developing ortical neurons. *Dev Biol* **263**:216–230.
108. Jourdi H., Yanagihara T., Martinez U., Bi X., Lynch G. and Baudry M. (2005) Effects of positive AMPA receptor modulators on calpain-mediated spectrin degradation in cultured hippocampal slices. *Neurochem. Int.* **46**: 31–40
109. Kask, K. et al. The AMPA receptor subunit GluR-B in its Q/R site-unedited form is not essential for brain development and function. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **95**, 13777–13782 (1998).

110. Kessels H.W and Malinow R. (2009) Synaptic AMPA Receptor Plasticity and Behavior *Neuron* **61**, 340-350.
111. Keinänen K, Wisden W, Sommer B, Werner P, Herb A, Verdoorn TA, Sakmann B, and Seeburg PH (1990) A family of AMPA-selective glutamate receptors. *Science* (Wash DC) **249**:556–560.
112. Kenneth B. Adler, Li Y. and Martin L. D. (2000) Myristoylated Alanine-Rich C-Kinase Substrate Protein :A Major Intracellular Regulatory Molecule Controlling Secretion of Mucin by Human Airway Goblet Cells. *Chest*; **117**, 266-267.
113. Kim, J., Blackshear, P. J., Jonson, J. D. and McLaughlin, S. (1994) Phosphorylation reverses the membrane association of peptides that correspond to the basic domains of MARCKS and neuromodulin. *Biophys. J.* **67**, 227-237.
114. Kim, J. H. & Huganir, R. L. (1999) Organization and regulation of proteins at synapses. *Curr. Opinion Cell Biol.* **11**, 248–254.
115. Kobayashi Y, Bridle KR, Ramm GA, O'Neill R, Britton RS, Bacon BR. (2007) Effect of phorbol ester and platelet-derived growth factor on protein kinase C in rat hepatic stellate cells. *Liver Int.* **27**(8):1066-75.
116. Kopitar-Jerala N, Turk B. Kobayashi Y, Bridle KR, Ramm GA, O'Neill R, Britton RS, Bacon BR. (2007) Effect of phorbol ester and platelet-derived growth factor on protein kinase C in rat hepatic stellate cells. *Liver Int.* **27**(8):1066-75.
117. Kopitar-Jerala N, T. B. Kramar EA, Lin B, Rex CS, Gall CM, Lynch G (2006) Integrin-driven actin polymerization consolidates long-term potentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**:5579–5584.
118. Lashley, Karl S. 1950. In search of the engram. book
119. Lee, H. K., Barbarosie, M., Kameyama, K., Bear, M. F. & Huganir, R. L. (2000). Regulation of distinct AMPA receptor phosphorylation sites during bidirectional synaptic plasticity. *Nature* **405**, 955–959.
120. Lee, H.K., Takamiya, K., Han, J.S., Man, H., Kim, C.H., Rumbaugh, G., Yu, S., Ding, L., He, C., Petralia, R.S., et al. (2003) Phosphorylation of the AMPA receptor GluR1 subunit is required for synaptic plasticity and retention of spatial memory. *Cell* **112**, 631–643.

121. Lee SH, Simonetta A, and Sheng M (2004) Subunit rules governing the sorting of internalized AMPA receptors in hippocampal neurons. *Neuron* **43**:221–236.
122. Liu, S. J. & Cull-Candy, S. G. (2002) Activity-dependent change in AMPA receptor properties in cerebellar stellate cells. *J. Neurosci.* **22**, 3881–3889.
123. Lorenz, K. (1937) The companion in the bird's world. *Auk* **54**, 245–273.
124. Lu, D., Yang,H., Lenox, R. H., Raizada, M. K., 1998. Regulation of angiotensinII-induced neuromodulation by MARCK Sinbrain neurons. *J. CellBiol.* **142**,217–227.
125. Luo W., Rodina A. and Chiosis G. (2008) Heat shock protein 90: translation from cancer to Alzheimer's disease treatment? *BMC Neuroscience*, 9. p1-8.
126. Lüthi A, Wikström MA, Palmer MJ, Matthews P, Benke TA, Isaac JT, Collingridge GL. (2004) Bi-directional modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity.*BC Neurosci.* **5**, 44.
127. Lynch, G. & Baudry, M. (1984) The biochemistry of memory: a new and specific hypothesis. *Science* **224**, 1057–1063.
128. Lynch G. ,Christopher S. Rex ,Christine M. Gall (2007) LTP consolidation: Substrates, explanatory power, and functional significance *Neuropharmacology* **52** 12-23.
129. Malenka, R. C. & Nicol, R. A. (1999) Long-term potentiation — a decade of progress? *Science* **285**, 1870–1874.
130. Manenti S., Sorokine O., Van Dorsselaer A. and Taniguchi H. (1992) Affinity purification and characterization of myristoylated alanine-rich protein kinase C substrate (MARCKS) from bovine brain. Comparision of the cytoplasmic and the membrane-bound forms. *J.Biol. Chem.***267**. 22310-22315.
131. Manenti, S., Yamauchi, E., Sorokine, O., Knibiehler, M., Van Dorsselaer, A., Taniguchi, H., Ducommun, B. and Darbon, J. M. (1999) Phosphorylation of the myristoylated protein kinase C substrate MARCKS by the cyclin E-cyclin-dependent kinase 2 complex in vitro. *Biochem. J.* **340**, 775–782.
132. Maquet, P. (2001) The role of sleep in learning and memory. *Science* **294**, 1048–1052.
133. Massaro C. M., Jan Pielage, and Graeme W. Davis (2010) Molecular mechanisms that enhance synapse stability despite persistent disruption of the spectrin/ankyrin/microtubule cytoskeleton *J. Cell Biol.* Vol. **187** No. 1 101–117.

134. Matsuzaki M, Honkura N, Ellis-Davies GC, Kasai H. (2004) Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature*; **429**:761-6.
135. Mayer ML and Armstrong N (2004) Structure and function of glutamate receptor ion channels. *Annu Rev Physiol* **66**:161–181.
136. Maycox, P. R., Link, E., Reetz, A., Morris, S. A. & Jahn, R. (1992) Clathrin-coated vesicles in nervous tissue are involved primarily in synaptic vesicle recycling. *J. Cell Biol.* **118**, 1379–1388.
137. McCabe, B. J., Horn, G. & Bateson, P. P. G. (1981) Effects of restricted lesions of the chick forebrain on the acquisition of filial preferences during imprinting. *Brain Res.* **205**, 29–37.
138. McCabe, B. J., Cipolla-Neto, J., Horn, G. & Bateson, P. (1982) Amnesic effects of bilateral lesions in the hyperstriatum ventrale of the chick after imprinting. *Exp. Brain Res.* **48**, 13–21.
139. McCabe, B. J. & Horn, G. (1988) Learning and memory: regional changes in N-methyl-D-aspartate receptors in the chick brain after imprinting. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **85**, 2849–2853.
140. McCabe, B. J. & Horn, G. (1991) Synaptic transmission and recognition memory: time course of changes in N-methyl-D-aspartate receptors after imprinting. *Behav. Neurosci.* **105**, 289–294.
141. McCabe, B. J. & Horn, G. (1994) Learning-related changes in Fos-like immunoreactivity in the chick forebrain after imprinting. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **91**, 11417–11421.
142. McCloskey, M. & Cohen, N. J. (1989) in *The Psychology of Learning and Motivation* (ed. Bower, G. H.) (Academic, New York).
143. McGaugh, J. L. (2000) Memory — a century of consolidation. *Science* **287**, 248–251.
144. McLaughlin, S. and Aderem, A. (1995) The myristoyl-electrostatic switch: A modulator of reversible protein-membrane interactions. *Trends Biochem. Sci.* **20**, 272-276.
145. McLennan, J. G. & Horn, G. (1992) Learning-dependent changes in the responses to visual stimuli of neurones in a recognition memory system. *Eur. J. Neurosci.* **4**, 1112–1122.

146. McNamara, R.K., Hussain, R.J., Simon, E.J., Stumpo, D.J., Blackshear, P.J., Abel, T., Lenox, R.H., (2005) Effect of myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) overexpression on hippocampus-dependent learning and hippocampal synaptic plasticity in MARCKS transgenic mice. *Hippocampus* **15**, 675–683.
147. Meng SZ, Ohyu J, and Takashima S (1997) Changes in AMPA glutamate and dopamine D2 receptors in hypoxic-ischemic basal ganglia necrosis. *Pediatr Neurol* **17**:139–143.
148. Meredith, R. M., McCabe, B. J., Kendrick, K. M. & Horn, G. (2000) Learning-related release of GABA and taurine in chick brain: a transient correlation following filial imprinting. *Eur. J. Neurosci.* **12**, 252.
149. Morris, R. G. M., Davis, S. & Butcher, S. P. (1990) Hippocampal synaptic plasticity and NMDA receptors: a role in information storage? *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **329**, 187–204.
150. Murray, D., Ben-Tal, N., Honig, B. and McLaughlin, S. (1997) Electrostatic interaction of myristoylated proteins with membranes: simple physics, complicated biology. *Structure* **5**, 985-989.
151. Murray D., Arbuzova A., Honig B. & McLaughlin S. (2002) The role of electrostatic and nonpolar interactions in the association of peripheral proteins with membranes. *Current Topics in Membranes.* **52**: 271-302.
152. Nicol, A. U., Brown, M. W. & Horn, G. (1995) Neurophysiological investigations of a recognition memory system for imprinting in the domestic chick. *Eur. J. Neurosci.* **7**, 766–776.
153. Nicol, A. U., Brown, M. W. & Horn, G. (1998) Hippocampal neuronal activity and imprinting in the behaving domestic chick. *Eur. J. Neurosci.* **10**, 2738–2741.
154. Nicolas G, Fournier CM, Galand C, Malbert-Colas L, Bournier O, Kroviarski Y, Bourgeois M, Camonis JH, Dhermy D, Grandchamp B, Lecomte MC. (2002) Tyrosine phosphorylation regulates alpha II spectrin cleavage by calpain. *Mol Cell Biol.* **22**(10):3527-36.
155. Nishida E. S, S. Koyasu Q, H.SakaiS, (1986) and I. Yaharae Calmodulin-regulated Binding of the 90-kDa Heat ShockProtein to Actin Filaments Vol. **261**, No.34, 16033-16036.

156. Nuriya M, Huganir RL (2006) Regulation of AMPA receptor trafficking by N-cadherin. *J Neurochem* **97**:652–661.
157. Oh, M. C. & Derkach, V. A. (2005) Dominant role of the GluR2 subunit in regulation of AMPA receptors by CaMKII. *Nature Neurosci.* **8**, 853–854.
158. Ohmori, S., Sakai, N., Shirai, Y., Yamamoto, H., Miyamoto, E., Shimizu, N. and Saito, N. (2000) Importance of protein kinase C targeting for the phosphorylation of its substrate, myristoylated alanine-rich C-kinase substrate. *J. Biol. Chem.* **275**, 26449–26457.
159. Osten P, Khatri L, Perez JL, Kohr G, Giese G, Daly C, Schulz TW, Wensky A, Lee LM, and Ziff EB (2000) Mutagenesis reveals a role for ABP/GRIP binding to GluR2 in synaptic surface accumulation of the AMPA receptor. *Neuron* **27**:313–325.
160. Palmer C. L. Cotton L., and Henley J.M. (2005) The Molecular Pharmacology and Cell Biology of α -Amino hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic Acid Receptors *Pharmacol Rev.* 57(2):253-77.
161. Palmer, C. L. et al. Hippocalcin functions as a calcium sensor in hippocampal LTD. *Neuron* **47**, 487–494 (2005).
162. Parfitt, K. D., Doze, V. A., Madison, D. V. & Browning, M. D. (1992) Isoprotenerol increases the phosphorylation of the synapsins and increases synaptic transmission in dentate gyrus, but not in area CA1 of the hippocampus. *Hippocampus* **2**, 59–64.
163. Park, M., Penick, E. C., Edwards, J. G., Kauer, J. A. & Ehlers, M. D. (2004) Recycling endosomes supply AMPA receptors for LTP. *Science* **305**, 1972–1975.
164. Patrick, G.N. et al. (2003) Ubiquitin-mediated proteasome activity is required for agonist-induced endocytosis of GluRs. *Curr. Biol.* **13**, 2073–2081.
165. Perez JL, Khatri L, Chang C, Srivastava S, Osten P, and Ziff EB (2001) PICK1 targets activated protein kinase Calpha to AMPA receptor clusters in spines of hippocampal neurons and reduces surface levels of the AMPA-type glutamate receptor subunit 2. *J Neurosci* **21**:5417–5428.
166. Perrett, D. I., Rolls, E. T. & Caan, W. (1982) Visual neurons responsive to faces in the monkey temporal cortex. *Exp. Brain Res.* **47**, 229–258.

167. Plant K, Pelkey KA, Bortolotto ZA, Morita D, Terashima A, McBain CJ, Collingridge GL, Isaac JT (2006) Transient incorporation of native GluR2-lacking AMPA receptors during hippocampal long-term potentiation *Nature Neurosci.* **9**, 602–604.
168. Poon H. F., Castenga A., Farr S. A., V. Thongboonkerd Lynn B. C., W. A. Banks, J. E. Mprley, J. B. Klein and D. A. Butterfiels (2004) Quantitative proteomics analysis of specific protein expression and oxidative modification in aged senescence-associated-prone 8 mice brain *Neuroscience* **126**, 915–926.
169. Pratt WB. (1998) The hsp90-based chaperone system: involvement in signal transduction from a variety of hormone and growth factor receptors. *Proc Soc Exp Biol Med* **217**, 420–434.
170. Ramakers, G. M. T., McNamara, R. K., Lenox, R. H. & De Graan, P. N. E. (1999) Differential changes in the phosphorylation of the protein kinase C substrate and growth associated protein-43/13-50 following Schaffer collateral long-term potentiation and long-term depression. *J. Neurochem.* **73**, 2175–2183.
171. Reiner A, Perkel DJ, Bruce LL, Butler AB, Csillag A, et al (2004) Revised nomenclature for avian telencephalon and some related brainstem nuclei. *J Comp Neurol* **473**:377–414
172. Reti IM and Baraban JM (2000) Sustained increase in Narp protein expression following repeated electroconvulsive seizure. *Neuropsychopharmacology* **23**:439–443.
173. Rosen, A., Keenan, K. F., Thelen, M., Nairn, A. C. and Aderem, A. (1990) Activation of protein kinase C results in the displacement of its myristoylated, alanine-rich substrate from punctate structures in macrophage Filopodia. *J. Exp. Med.* **172**, 1211–1215.
174. Rossi, E. A., Li, Z., Feng, H. and Rubin, C. S. (1999) Characterization of the targeting, binding, and phosphorylation site domains of an A kinase anchor protein and a myristoylated alanine-rich C kinase substrate-like analog that are encoded by a single gene. *J. Biol. Chem.* **274**, 27201–27210.
175. Saatman, KE, Murai, H, Bartus, RT, Smith, DH, Hayward, NJ, Perri, BR, McIntosh, T. (1996) Calpain inhibitor AK295 attenuates motor and cognitive deficits following experimental brain injury in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 3428–3433.

176. Salt, T. (1986) Mediation of thalamic sensory input by both NMDA receptors and non-NMDA receptors. *Nature* **322**, 263–265.
177. Sans N, Vissel B, Petralia RS, Wang YX, Chang K, Royle GA, Wang CY, O'Gorman S, Heinemann SF, Wenthold RJ (2003) Aberrant formation of glutamate receptor complexes in hippocampal neurons of mice lacking the GluR2 AMPA receptor subunit. *J. Neurosci.* **23**, 9367–9373.
178. Scarlett C.O., Blackshear P.J. (2003) Neuroanatomical development in the absence of PKC phosphorylation of the myristoylated alanine-rich C-kinase substrate (MARCKS) protein. *Developmental Brain Research* **144**, 25–42.
179. Seki, K., Chen, H. C. and Huang, K. P. (1995) Dephosphorylation of protein kinase C substrates, neurogranin, neuromodulin, and MARCKS, by calcineurin and protein phosphatases 1 and 2A. *Arch. Biochem. Biophys.* **316**, 673–679.
180. Selkoe, D. J. (2002) Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* **298**, 789–791.
181. Soderling, T. R. & Derkach, V. A. (2000) Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *Trends Neurosci.* **23**, 75–80.
182. Schmitt WB, Sprengel R, Mack V, Draft RW, Seeburg PH, Deacon RM, Rawlins JN, Bannerman DM. (2005) Restoration of spatial working memory by genetic rescue of GluR-A-deficient mice. *Nature Neurosci.* **8**, 270–272.
183. Schmitz, A. A. P., Pleschke, J. M., Kleczkowska, H. E., Althaus, F. R. and Verge' res, G. (1998) Poly (ADP-ribose) modulates the properties of MARCKS proteins. *Biochemistry* **37**, 9520–9527.
184. Seki, K., Chen, H. C. and Huang, K. P. (1995) Dephosphorylation of protein kinase C substrates, neurogranin, neuromodulin, and MARCKS, by calcineurin and protein phosphatases 1 and 2A. *Arch. Biochem. Biophys.* **316**, 673–679.
185. Shen, K. and Meyer, T. (1999) Dynamic control of CaMKII translocation and localization in hippocampal neurons by NMDA receptor stimulation. *Science (Washington, D.C.)* **284**, 162–167.
186. Shi, S., Hayashi, Y., Esteban, J. A. & Malinow, R. (2001) Subunit-specific rules governing AMPA receptor trafficking to synapses in hippocampal pyramidal neurons. *Cell* **105**, 331–343.

187. Sheu, F. S., McCabe, B. J., Horn, G. & Routtenberg, A. (1993) Learning selectively increases protein kinase C substrate phosphorylation in specific regions of the chick brain. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **90**, 2705–2709.
188. Sillitoe, A. M. (1975) The contribution of inhibitory mechanisms to the receptive field properties of neurones in the striate cortex of the cat. *J. Physiol. (Lond.)* **250**, 305–329.
189. Snedecor GW, Cochran WG (1989) Statistical methods. Iowa State University Press, Ames
190. Solomonina, R. O., McCabe, B. J., Jackson, A. P. & Horn, G. (1997) Clathrin proteins and recognition memory. *Neurosci.* **80**, 59–67.
191. Solomonina R.O., McCabe B.J. and Horn G. (1998) Neural cell adhesion molecules, learning, and memory in the domestic chick. *Behav. Neurosci.*, **112**, 646–655.
192. Solomonina, R., Kiguradze, T., McCabe, B.J. and Horn, G. (2000) Neural cell adhesion molecules, CaM kinase II and long-term memory in the chick. *Neuroreport*, **11**, 3139–3143.
193. Solomonina, R. O., Morgan K., Kotorashvili A., McCabe B.J., Jackson A.P. & Horn G. (2003) Analysis of differential gene expression supports a role for amyloid precursor protein and a protein kinase C substrate (MARCKS) in long-term memory. *Eur. J. Neurosci.* **17** (5), 1073–1081.
194. Solomonina RO, Kotorashvili A, Kiguradze T, McCabe BJ, Horn G. (2005) Ca²⁺/calmodulin protein kinase II and memory: learning-related changes in a localized region of the domestic chick brain. *J Physiol.* **569**:643–53.
195. Solomonina R.O., Apkhazava D., Nozadze M., Jackson A. P., McCabe B. J. G. Horn (2008) Different forms of MARCKS protein are involved in memory formation in the learning process of imprinting *Exp Brain Res* **188**:323–330.
196. Spizz, G. and Blackshear, P. J. (2001) Overexpression of the myristoylated alanine-rich C-kinase substrate inhibits cell adhesion to extracellular matrix components. *J. Biol. Chem.* **276**, 32264–32273.
197. Spreafico R, Frassoni C, Arcelli P, Battaglia G, Wenthold RJ, and De Biasi S (1994) Distribution of AMPA selective glutamate receptors in the thalamus of adult rats and during postnatal development. A light and ultrastructural immunocytochemical study. *Brain Res Dev Brain Res* **82**:231–244.

198. Squire, L. R. (1987) *Memory and Brain* (Oxford Univ. Press, Oxford).
199. Sreedhar AS, Kalm-r E, Csermely P, Shen YF. (2004) Hsp90 isoforms: functions, expression and clinical importance *FEBS Lett.* Mar 26;**562**(1-3):11-5.
200. Stevenson-Hinde, J. (1972) Effects of early experience and testosterone levels on song as a reinforcer. *Anim. Behav.* **20**, 430–435.
201. Stewart, M. G., Rose, S. P. R., King, T. S., Gabbott, P. L. A. & Bourne, R. (1984) Hemispheric asymmetry of synapses in chick medial hyperstriatum ventrale following passive avoidance training: a stereological investigation. *Dev. Brain Res.* **12**, 261–269.
202. Stewart, M. G. & Rusakov, D. A. (1995) Morphological changes associated with stages of memory formation in the chick following passive avoidance training. *Behav. Brain Res.* **66**, 21–25.
203. Stricker NL and Huganir RL (2003) The PDZ domains of mLin-10 regulate its trans-Golgi network targeting and the surface expression of AMPA receptors. *Neuropharmacology* **45**:837–848.
204. Stumpo, D. J., Bock, C. B., Tuttle, J. S. and Blackshear, P. J. (1995) MARCKS deficiency in mice leads to abnormal brain development and perinatal death. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **92**, 944-948.
205. Suzuki, T., Okumura-Noji, K., Tanaka, R. and Tada, T. (1994) Rapid translocation of cytosolic calcium/calmodulin-dependent protein kinase II into postsynaptic density after decapitation. *J. Neurochem.* **63**, 1529-1537.
206. Swanson, G. T., Kamboj, S. K. & Cull-Candy, S. G. (1997) Single-channel properties of recombinant AMPA receptors depend on RNA editing, splice variation, and subunit composition. *J. Neurosci.* **17**, 58–69.
207. Swanson-Park, J. L. et al. (1999) A double dissociation within the hippocampus of dopamine D1/D5 receptor and β -adrenergic receptor contributions to the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience* **92**, 485–497.
208. Taniguchi, H., Manenti, S., Suzuki, M. and Titani, K. (1994) Myristoylated alaninerich C kinase substrate (MARCKS), a major protein kinase C substrate, is an in vivo substrate of proline-directed protein kinase(s). A mass spectroscopic analysis of the post-translational modifications. *J. Biol. Chem.* **269**, 18299-18302.

209. Thelen, M., Rosen, A., Nairn, A. C. and Aderem, A. (1991) Regulation by phosphorylation of reversible association of a myristoylated protein kinase C substrate with the plasma membrane. *Nature* **351**, 320-322.
210. Thiagarajan, T. C., Lindskog, M. & Tsien, R. W. (2005) Adaptation to synaptic inactivity in hippocampal neurons. *Neuron* **47**, 725–737.
211. Thomas G. H. (2001) Spectrin :the ghost in the machine. *BioEssays* **23**:152-160.
212. Tomita S, Fukata M, Nicoll RA, and Brecht DS (2004) Dynamic interaction of stargazin- like TARPs with cycling AMPA receptors at synapses. *Science (Wash DC)* **303**:1508–1511.
213. Traniguchi, H. and Manenti, S. (1993) *J. Biol. Chem.* **268**, 9960-9963.
214. Vanderklis P., Takaomi C. Saido, Christine Gal (1995), Amy Arai and Gary Lynch Proteolysis of spectrin by calpain accompanies theta-burst stimulation in cultured hippocampal slices *Molecular Brain Research Volume* **32**, Issue 1, Pages 25-35.
215. Vanderklis P. and Bahr B. A. (2000) The pathogenic activation of calpain: a marker and mediator of cellular toxicity and disease states. *Int. J. Exp. Path.* **81**: 323–339.
216. Wang Z ,Edwards G et al., (2008) Myosin Vb Mobilizes Recycling Endosomes and AMPA Receptors for Postsynaptic Plasticity *Cell* **135**, 535–548.
217. Watson, A., McCabe, B. J. & Horn, G. (1991) Quantitative analysis of the ultrastructural distribution of GABA-like immunoreactivity in the intermediate and medial part of the hyperstriatum ventrale of chick. *J. Neurocytol.* **20**, 145–156.
218. Wechsler A. and V.I.Teichberg (1998) Brain spectrin binding to the NMDA receptor is regulated by phosphorylation, calcium and calmodulin *The EMBO Journal Vol.17 No.14* pp.3931–3939.
219. Weiskrantz, L. (1982) Neuroanatomy and amnesia: a case for multiple memory systems. *Hum. Neurobiol.* **6**, 93–105.
220. Wechsler A. and V. I.Teichberg (1998) Brain spectrin binding to the NMDA receptor is regulated by phosphorylation, calcium and calmodulin *The EMBO Journal Vol.17 No.14* pp.3931–3939.
221. Wilson, P. (1980) The organisation of the visual hyperstriatum in the domestic chick. I. Topology and topography of the visual projection. *Brain Res.* **188**, 319–332.

222. Wohnsland F., Arndt A. P. Schmitz, Michel O. Steinmetz, (2000) Ueli Aepli and Guy Vergères Influence of the effector peptide of MARCKS-related protein on actin polymerization: a kinetic analysis *Biophysical Chemistry*. Volume 85, Issues 2-3, Pages 169-177.
223. Wu, W. C., Walaas, S. I., Nairn, A. C. and Greengard, P. (1982) Calcium/phospholipid regulates phosphorylation of a Mr " 87k " substrate protein in brain synaptosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 79, 5249-5253.
224. Wu, M., Chen, D. F., Sasaoka, T. and Tonegawa, S. (1996) Neural tube defects and abnormal brain development in F52-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 2110-2115.
225. Yamauchi, E., Kiyonami, R., Kanai, M. and Taniguchi, H. (1998) The C-terminal conserved domain of MARCKS is phosphorylated in vivo by proline-directed protein kinase. Application of ion trap mass spectrometry to the determination of protein phosphorylation sites. *J. Biol. Chem.* 273, 4367-4371.
226. Ye, G.L. et al. (2005) AMPA and NMDA receptor-mediated currents in the developing dentate gyrus granule cells. *Brain Res. Dev. Brain Res.* **155**, 26-32.
227. Zeier, H. & Karten, H. J. (1971) The archistriatum of the pigeon: organization of afferent and efferent connections. *Brain Res.* **31**, 313-326.
228. Zozulya, S. and Stayer L. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 11569-11573.
229. Zhu, J. J., Qin, Y., Zhao, M., Van Heist, L. & Malinow, R. (2002) Ras and Rap control AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity. *Cell* **110**, 443-455.
230. Zimmermann P, Tomatis D, Rosas M, Grootjans J, Leenaerts I, Degeest G, Reekmans G, Coomans C, and David G (2001) Characterization of syntenin, a syndecanbinding PDZ protein, as a component of cell adhesion sites and microfilaments. *Mol Biol Cell* **12**:339-350.