

მხედველობითი იმპრინტინგი წიწილებში - მიტოქონდრიული ცილები და α -ამინო-
3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლ პროპიონის მჟავას ტიპის გლუტამატის
რეცეპტორები

ნანა კუნელაური

*სადისერტაციო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის
მეცნიერებათა და ხელოვნების ფაკულტეტზე სიცოცხლის შემსწავლელ
მეცნიერებათა დოქტორის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნების
შესაბამისად*

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: რევაზ სოლომონია, პროფ. ბმდ

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2012

სარჩევი

გამოყენებული შემოკლებები	6
შესავალი	8
თავი 1. ლიტერატურული მიმოხილვა	12
1.1.1 იმპრინტინგი	12
1.1.2 მეხსიერება და ცვლილებები სინაფსურ გადაცემაში	14
1.1.3 ჰიპოკამპალური გრძელ-ვადიანი პოტენციაცია (გვპ) და იმპრინტინგი	16
1.1.4 კავშირების სტაბილიზირება	17
1.1.5 მეხსიერება და გენთა ექსპრესია	18
1.2.1 მიტოქონდრიის როლი ნეიროგენეზის პროცესში	19
1.2.2 მიტოქონდრია და სინაფსური პლასტიკურობა	21
1.2.3 მიტოქონდრია და ნეირონული უჯრედების სიკვდილი	23
1.2.4 ნევროლოგიური დარღვევები	26
1.2.4.1 ალცაიმერის დაავადება: (ად)	26
1.2.4.2 ამიოტროფული ლატერალური სკლეროზი (ალს)	28
1.2.4.3 ფსიქიკური დაავადებები	29
1.2.5 მიტოქონდრიულ შერწყმასა და ფრაგმენტაციაში მონაწილე გენების დისფუნქციით განპირობებული ნეიროდეგენერაციული დაავადებები	30
1.2.6 მიტოქონდრიული დინამიკა	31
1.2.7 ნეირონული დისფუნქციის შესაძლო მექანიზმები	33
1.2.8 დასკვნა	35
1.3.1 COX - ციტოქრომ- <i>c</i> ოქსიდაზა	36
1.3.2 ბირთვული ციტოქრომ <i>c</i> ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობა და ამ პროცესში მონაწილე გენების რეგულაცია ჟანგბადით	43
1.3.3 ბირთვული ციტოქრომ <i>c</i> ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობა და ამ პროცესში მონაწილე გენების რეგულაცია ნახშირბადით	48

1.3.4 ბირთვული ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობის, ტრანსლაციური რეგულაცია	50
1.3.5 მიტოქონდრიული ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობის, ტრანსკრიფციული რეგულაცია	51
1.3.6 მიტოქონდრიული ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობის, ტრანსლაციური რეგულაცია	52
1.3.7 კოფაქტორების რეგულაცია	55
1.3.8 ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობის განსხვავებული საფეხურების კოორდინაცია	57
1.3.9 რეტროგრადული რეგულაცია	61
1.3.10 ციტოქრომ c ოქსიდაზა და მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის (მსჯ) ორგანიზაცია	62
1.3.11 დასკვნა	63
1.4.1 სიციხით შოკირებადი ცილა 90	64
1.4.2 სმც90-ის სტრუქტურა	64
1.4.3 სმც90-ის ძირითადი ფუნქციები	65
1.5.1 არკ/არგ 3.1 გენის ექსპრესია და მეხსიერება	66
1.5.2 არკ/არგ 3.1 როგორც აქტიური ნეირონული მარკერი	69
1.5.3 არკ/არგ 3.1 და ამპა რეცეპტორების ტრეფიკინგი	70
1.5.4 არკ/არგ 3.1 და სინაფსური პლასტიკურობა	72
1.5.5 დასკვნა	75
1.6.1 α -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლ პროპიონატის რეცეპტორი (ამპარ)	76
1.6.2 ამპარ-ის გავრცელება ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში	76
1.6.3 ამპა რეცეპტორი და სინაფსური პლასტიკურობა	78
1.6.4 ამპა რეცეფტორის ფოსფორილირება	80
თავი 2. სამუშაოს მიზანი	81

თავი 3. მეთოდები და შედეგები	83
3.1 ქცევითი მეთოდები	83
3.1.1 წიწილების იმპრინტირება და ტვინის ნიმუშების მომზადება	83
3.1.2 წიწილების იმპრინტირება და ტვინის ნიმუშების მომზადება ტრენირებიდან 1 საათის შემდეგ გლუ-ა1-ის მისი ფოსფორილირებული ფორმის, სმც90-ის და არკ ცილის რაოდენობრივი ცვლილებების შესასწავლად	85
3.2 ბიოქიმიური მეთოდები	85
3.2.1 ცილის რაოდენობის განსაზვრა, ელექტროფორეზი, იმუნობლოტინგი	86
3.3 სტატისტიკური ანალიზი	88
3.3.1 ციტოქრომ c ოქსიდაზა I და II სუბერთეულები	88
3.3.2 სმც90, არკ/არგ 3.1 ჯ-გლუ-ა1 და ფ-გლუ-ა1, ჯ/ფ გლუ-ა1	89
თავი 4. შედეგები	90
4.1.1 ციტოქრომ c ოქსიდაზა, I და II სუბერთეული - ქცევა და იმუნოშეღებვა	90
4.1.2 ციტოქრომ c ოქსიდაზა, I და II სუბერთეული-ზოგადი მიმოხილვა	92
4.1.3 ციტოქრომ C ოქსიდაზა I სუბერთეული -იმმ	95
4.1.4 ციტოქრომ c ოქსიდაზა II სუბერთეული	98
4.1.5 კორელაცია ციტოქრომ c ოქსიდაზა I-სა და ციტოქრომ c ოქსიდაზა II-ს შორის	102
4.2.1 სიცხით შოკირებადი ცილა 90	105
4.3.1 მყისიერი ადრეული გენის არკ/არგ3.1 ცილოვანი პროდუქტი	106
4.4.1 გლუტამატური რეცეპტორების გლუ-ა1 სუბერთეულის და მისი 831 - სერინის ნაშთზე ფოსფორილირებული ფორმის ცვლილებები 30 წუთიანი დასწავლის შემდეგ	108
4.4.2 იმუნოშეღებვა	109
4.4.3 გლუ-ა1	111
4.4.4 ფ-გლუ-ა1	113
4.4.5 ფ/ჯ-გლუ-ა1	118

თავი 5. დისკუსია	124
5.1 ციტოქრომ c ოქსიდაზა	124
5.2 სიცხით შოკირებადი ცილა 90	129
5.3 არკ/არგ 3.1	129
5.4 გლუ-ა1 და მისი ფოსფორილირება	130
თავი 6. დასკვნები	133
RESUME	134
თავი 7. გამოყენებული ლიტერატურა	138

გამოყენებული შემოკლებები

აბპ-ამილოიდური β პეპტიდი

აგფ-აპოპტოზის გამომწვევი ფაქტორი

ად-ალცაიმერის დაავადება

ალს-ამიოტროფული ლატერალური სკლეროზი

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

არკ/არგ 3.1-მყისიერი ადრეული გენი

ატფ-ადენოზინ ტრიფოსფატი

გვდ-გრძელვადიანი დეპრესია

გვპ -გრძელვადიანი პოტენციაცია

ერ-ენდოპლაზმური რეტიკულუმ

თხ- თავისუფლების ხარისხი

იმმ-მეზოპალიუმის მედიალური და ინტერმედიალური ნაწილი

კამპII- Ca^{2+} / კალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინკინაზა II

კდა-კილო დალტონი

მამპს-მირისტოილირებული ალანინით მდიდარი პროტეინკინაზა C სუბსტრატი

მკ.მოლი-მიკრომოლი

მკგ-მიკროგრამი

მ-რნმ-მატრიცული რიბონუკლეინის მჟავა

მსჯ-მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვი

ნამ-ნეირონული ადჰეზიის მოლეკულები

ნმდა-N მეთილ D ასპარტატი

ნმდარ- N მეთილ D ასპარტატული რეცეპტორი

პაფ-1-აპოპტოზის პროტეაზა აქტივატორულ ფაქტორ 1-ს

პნ-ნიდოპალიუმის პოსტერიორ ნაწილი

ჟრს-ჟანგბადის რეაქციული სახეობები

ჟფ- ჟანგვითი ფოსფორირება

რნმ- რიბო-ნუკლეინის მჟავა

სსც- საშუალო სტანდარტული ცდომილება

სშც 90-სიცხით შოკირებადი ცილა 90

ტწნფ-ტვინით წარმოებული ნეიროტროფული ფაქტორი

უპს-უჯრედის პროგრამული სიკვდილი

შს- შინაგანი სტანდარტი

ცა 2- ცილა 2 კომპლექსის ადაპტორი

ცნს-ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში

ჰნე-ჰიდროქსინონენალი

Mnf- მიტოფუჟენები

N-BAR- N-ტემინალურ Bin/amphiphysin/Rvs

შესავალი

ხერხემლიანებში ნეირომეცნიერების კვლევის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ამოცანას წარმოადგენს იმ ნეიროფიზიოლოგიური, უჯრედული და მოლეკულური პროცესების შესწავლა, რომლებიც საფუძვლად უდევს დასწავლის პროცესში მიღებული ინფორმაციის შენახვას. ამ პრობლემის გადაჭრისათვის კი საჭიროა ტვინის იმ უბნების იდენტიფიკაცია, რომლებიც მეხსიერების კვალის შენახვის პროცესში მონაწილეობს.

მეხსიერების პრობლემების შესწავლისადმი ხანგრძლივი და დიდი ინტერესის მიუხედავად მეხსიერების ნეირონული საფუძვლების ექსპერიმენტებზე დაფუძნებული მონაცემები ჯერ კიდევ ბუნდოვანია. აუცილებელია მეხსიერებისა და დასწავლის ნეირონული მექანიზმების საფუძვლიანი შესწავლა. ამ მიმართულებით კვლევა არა მარტო სუფთა მეცნიერული თვალსაზრისით არის მნიშვნელოვანი, არამედ იმითაც, რომ გონებრივი დაავადებების რაციონალური მკურნალობა ტვინის მიერ ინფორმაციის შენახვის და გახსენების ღრმა ცოდნას მოითხოვს.

დასწავლისა და მეხსიერების პრობლემების წარმატებული შესწავლისათვის მხედველობითი იმპრინტინგის მოდელი წიწილებში ერთ-ერთი საუკეთესოა.

იმპრინტინგი ეს არის პროცესი, როდესაც ზოგიერთი სახეობის ახლადდაბადებულები, მათ შორის შინაური წიწილები სწავლობენ და შემდეგ ამოიცნობენ წარდგენილი ობიექტის მახასიათებლებს. (მიმოხილვისათვის იხ. Bolhuis,1991).

მიუხედავად მრავალი მონაცემისა, რომელიც ასახავს იმპრინტინგის დროს მიმდინარე ბიოქიმიურ ცვლილებებს, არსებობს უამრავი ჯერ კიდევ ამოუხსნელი შეკითხვა იმ ბიოქიმიური გზებისა და მოლეკულური ცვლილებების შესახებ,

რომლებიც მეხსიერების შენახვას განაპირობებენ (მიმოხილვისათვის იხ. Horn et al., 2004).

წიწილების წინა ტვინის შემოსაზღვრული უბანი, მეზოპალიუმის მედიალური და ინტერმედიალური ნაწილი (იმმ) ინახავს იმპრინტინგის შედეგად მიღებულ ინფორმაციას. (Horn, 1985, 2004; Johnston et al., 1993). ტვინის ეს უბანი ასევე დაკავშირებულია პასიური განრიდების დასწავლის პროცესთან წიწილებში. (Rose, 2000; Gibbs and Summers, 2002)

შინაურ წიწილებში მედიალური მეზოპალიუმის წინა ნაწილი მონაწილეობს სმენით იმპრინტინგში. (Bredenkötter and Braun, 1997). ხოლო კაუდალური ნაწილი მომდერალ ჩიტებში სიმღერის დასწავლის საცავს წარმოადგენს. (Bolhuis and Gahr, 2006; Gobes et al., 2010)

იმმ-ს დაზიანება იწვევს შეცნობისა და ვიზუალური უპირატესობის მოშლას. (McCabe et al., 1981, 1982).

იმპრინტინგის საპასუხოდ წიწილების თავის ტვინის იმმ-ში ირთვება მთელი რიგი კასკადები, რომლებიც იწვევენ მეხსიერებასთან დაკავშირებულ ცვლილებებს კერძოდ: იზრდება NMDA გლუტამატერგული რეცეპტორების რაოდენობა, იზრდება მყისიერი ადრეული გენის *c-fos*-ის ექსპრესია, იზრდება ნეირონული ადჰეზიის მოლეკულების (ნამ), კლატრინის მძიმე ჯაჭვების და სხვა ცილების რაოდენობა (McCabe and Horn, 1989, 1994, Solomon et al., 1997, 1998, 2000).

ზემოთ მოყვანილი ცდები ფოკუსირებული იყო იმ ცილოვან მოლეკულებზე, რომლებსაც სხვა მონაცემების მიხედვით შეეძლოთ აქტიური როლი ეთამამათ სინაფსიური პლასტიურობის პროცესებში. უფრო საინტერესო იქნებოდა მათი ფართო მასშტაბიანი შესწავლა ისეთი მიდგომით, რომელიც არ იქნებოდა წინასწარ აქცენტირებულ გარკვეულ ცილოვან მოლეკულებზე. ამ მიზნით სუბტრაქციული ჰიბრიდიზაციის მეთოდის გამოყენებით შესწავლილი იქნა გენთა ექსპრესიის

ცვლილებები იმ-ში დასწავლის შემდეგ (Solomon et al., 2003). ქსოვილები აღებული იყო დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ და წარმოადგენდა იმ-ს გაერთიანებულ ნიმუშებს ტრენირებული წიწილების ორი ჯგუფიდან "კარგად დამსწავლელები" და "ცუდად დამსწავლელები".

35-ზე მეტი გენი იქნა იდენტიფიცირებული (კანდიდატი გენები), რომელთა ექსპრესია იზრდებოდა ან მცირდებოდა იმპრინტინგის პროცესში, მაგრამ შესაძლოა ეს ცვლილებები არ იყვნენ დაკავშირებული დასწავლასთან, შესაძლოა ისინი ასახავდნენ შემთხვევით ვარიაციებს ნიმუშებს შორის, ამის გამო როგორც პირველი საფეხური შესწავლილ იქნა ორი კანდიდატი გენის, კერძოდ კი მირისტოილირებული ალანინით მდიდარი პროტეინცინაზა C-ს სუბსტრატის და ამილოიდის წინამორბედი ცილის ტრანსლიაციის პროდუქტები (Solomon et al., 2003),

მარცხენა იმ-ში, სადაც ამ ცილების რაოდენობა სარწმუნოდ იზრდებოდა დასწავლის სიძლიერესთან ერთად. დასწავლის პროცესს გავლენა არ ქონდა ამ ცილების ექსპრესიაზე მარჯვენა იმ-სა და საკონტროლო რეგიონებში (მარცხენა და მარჯვენა პოსტერიორ ნიდოპალიუმში (პნ-ში)).

ამ მონაცემების საფუძველზე ჩვენ გავაგრძელებთ იმ მონაცემების შემდეგი ანალიზი, რომლებიც მიღებულ იქნა SSH-ექსპერიმენტით ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ. ჩვენი სამუშაოს მიზანს შეადგენდა შემდეგი კანდიდატი გენების: ციტოქრომ C-ოქსიდაზას I და II სუბერთეულის და სიცხით შოკირებადი ცილა 90-ის ცილოვანი მოლეკულების რაოდენობრივი ცვლილებების შესწავლა. მათი შესაბამისი მ-რნმ-ის დონე მომატებული იყო კარგად დამსწავლელი წიწილების მარცხენა იმ-ში ცუდად დამსწავლელებთან შედარებით. გენის ეს პროდუქტები ამორჩეული იქნა შემდეგი მიზეზების გამო: ციტოქრომ c ოქსიდაზას I და II სუბერთეულების ექსპრესია ხდება მიტოქონდრიაში და ეს ფერმენტი ერთ-ერთი ძირითადი მონაწილეა ენერჯის მეტაბოლიზმში. მიტოქონდრია დიდ როლს თამაშობს ნეირონული ფუნქციის მრავალ ასპექტში, იგი შეიძლება მონაწილეობდეს სინაფსურ

ცვლილებებში, რომლებიც საფუძვლად უდევს დასწავლისა და მეხსიერების პროცესს. (Horn, 1952; Li et al., 2004; Mattson et al., 2008).

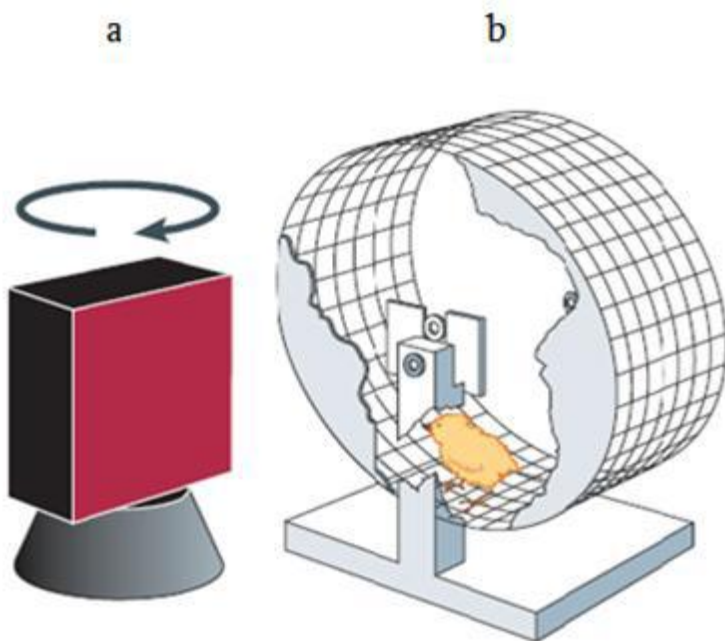
სიცხით შოკირებადი ცილა 90 (სშც-90) დიდი რაოდენობითაა განაწილებული ნეირონებში. (D'Souza and Brown, 1998) და შეიძლება მონაწილეობდეს სინაფსური ვეზიკულების რეციკლიზაციის პროცესში.

ჩვენს ლაბორატორიაში ჩატარებულმა სამუშაოებმა აჩვენეს, რომ წიწილების ერთ საათიანი ტრენირების ოქმით, დასწავლიდან ერთი საათის შემდეგ ადგილი აქვს α -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლ პროპიონის მჟავას გლუტამატური რეცეპტორის I სუბერთეულის (გლუ-ა1) 831-ე სერინის ნაშთის მეხსიერებისათვის სპეციფიკურად ფოსფორილირების ზრდას. აქვს თუ არა ანალოგიურ ცვლილებებს ადგილი უფრო ადრე? ამ კითხვაზე პასუხის გასაცემად ჩვენ გამოვიყენეთ 30 წუთიანი ტრენირების ოქმი.

თავი 1: ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1.1 იმპრინტინგი

იმპრინტინგის-შთაბეჭდვის შესწავლა შესაძლებელია შინაურ ქათმებში (*Gallus gallus domesticus*), და იგი წარმოადგენს ზოგადი დასწავლის ფორმას. თუკი ახლადგამოჩევილ წიწილებს წარუდგენენ მოძრავ სხეულს ისინი დაიმახსოვრებენ მის თვისებებს. იმპრინტინგის საშუალებით წიწილა იმახსოვრებს დედის გამოსახულებას და მიყვება მხოლოდ მას და არა სხვა რომელიმე ზრდასრულ ქათამს (Spalding, 1954; Lorenz, 1937). ლაბორატორიულ პირობებში წიწილას შეუძლია დაიმახსოვროს მისთვის წარდგენილი ხელოვნური ობიექტის დეტალები და საბოლოოდ ამ საგანს მიანიჭოს უპირატესობა სხვა საგნებთან შედარებით.



სურ.1. (ა.ბ) ტრენირების პროცედურა და მოწყობილობები.

a. ტრენირების სტიმული, მანათობელი ყუთი;

b. წიწილების საწვრთნელი ბორბალი.

ლაბორატორიული ცდებისათვის წიწილები გამოჩეკვისთანავე იმყოფებიან სიბნელეში. გამოჩეკვიდან 22–28 საათის შემდეგ ისინი ინდივიდუალურად თავსდებიან მბრუნავ ბორბლებში, მათ წარედგინებათ იმპრინტინგ სტიმული,

მანათობელი ყუთი ტრენირების განმავლობაში წიწილები ცდილობენ მიაღწიონ ტრენირების სტიმულამდე (სურათი 1). ტრენირების შემდეგ ყოველ წიწილას უტარდება უპირატესობის ტესტი, იგი ზომავს დასწავლის სიძლიერეს (Bolhuis et al., 2000). უპირატესობის მაჩვენებლის დათვლა ხდება შემდეგნაირად: ნაცნობი იმპრინტინგის სტიმულისადმი წიწილის მიერ გამოვლენილი აქტივობის მაჩვენებელი რიცხვი იყოფა მთლიან აქტივობაზე. (მთლიანი აქტივობა წარმოადგენს როგორც ნაცნობი, ასევე ახალი იმპრინტინგის სტიმულისადმი გამოვლენილი აქტივობების ჯამს). თუ წიწილა რეაგირებს მხოლოდ იმპრინტინგის სტიმულზე მაშინ იგი 100%-იანი დამსწავლეა; თუ იგი თანაბრად რეაგირებს როგორც ნაცნობ იმპრინტიგის, ასევე ახალ იმპრინტინგის სტიმულზე, მაშინ იგი 50%-იანი დამსწავლეა.

ფრინველებში აგრეთვე ვხვდებით სმენით იმპრინტინგს, რომელსაც ადგილი აქვს ახალგაზრდა მომღერალი ჩიტების შემთხვევაში, რომლებიც იმეორებენ თავისი მშობლის ურთულეს გალობას, რომელიც რამოდენიმე თვის წინ მოისმინეს (Stevenson-Hinde, 1972; Doupe&kuhl, 1999). იმპრინტინგი იძლევა უნიკალურ შესაძლებლობას მეხსიერების შესწავლისათვის, რადგანაც იმპრინტინგის შემთხვევაში დასწავლამდე ტვინში სხვა ინფორმაციის კვალი არ არსებობს.

არსებობს მრავალი ექსპერიმენტული მონაცემი, რომ წინა ტვინის სახურავის განსაზღვრულ უბანი მეზოპალიუმის მედიალურ და ინტერმედიალურ ნაწილი ინახავს იმპრინტინგის შედეგად მიღებულ ინფორმაციას (Horn et al., 1979; Horn, 1985, Horn, 2004). ამ ფაქტს ადასტურებს საკმაოდ საფუძვლიანი მონაცემები, კერძოდ: ამ რეგიონის დაზიანება ხელს უშლიდა იმპრინტინგის პროცესს (McCabe et al., 1981), ხოლო გაწვრთნის შემდეგ ამ უბნის დაზიანების შედეგად ქრებოდა შეძენილი უპირატესობა (McCabe et al., 1982). აგრეთვე ჩატარდა ექსპერიმენტები მარცხენა და მარჯვენა იმპ-ს თანმიმდევრობითი დაზიანების გამოყენებით, რამაც გამოავლინა ვიზუალური იმპრინტინგისათვის ინფორმაციის დამატებითი შენახვის საიტი,

რომელიც იმ-ს გარეთა მხარეს მდებარეობს და მის პარალელურად მოქმედებს (Cipolla-Netto, 1982). ეს უბანი ყალიბდება და ფუნქციონირებს დასწავლიდან 4-6 საათის შემდეგ და თავის ფუნქციას ინარჩუნებს სულ მცირე 26 საათის განმავლობაში (Honey 1995).

ნავარაუდევია, რომ დასწავლა იწვევს ცვლილებებს ნეირონულ კავშირებში (Cajal, 1955; Hebb, 1949). ადრე ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა ცვლილებები რნმ-ისა და ცილის სინთეზში, იმპრინტინგის საპასუხოდ. წიწილების ტვინში, რომლებსაც იმპრინტინგის სტიმული ჰქონდათ წარდგენილი [3H]-ურაცილის ჩართვის ხარისხი უფრო მაღლი იყო იმ წიწილებთან შედარებით, რომლებსაც მხოლოდ სინათლე ჰქონდათ წარდგენილი. მსგავს ეფექტს ადგილი ჰქონდა მხოლოდ ცერებრული ჰემისფეროების დორსალურ ნაწილში.

1.1.2 მეხსიერება და ცვლილებები სინაფსურ გადაცემაში

იმპრინტინგის შედეგად მარცხენა იმ-ში ადგილი აქვს პოსტსინაფსური სიმკვრივის (ჰსს) ზომიანი ზრდას, არ აღინიშნება ცვლილებები პრესინაფსურ საიტებსა და სინაფსების რაოდენობაში. საიმპრინტინგო წვრთნა 140 წუთის განმავლობაში იწვევს ჰსს-ს სიგრძის 17%-იან მომატებას, (Bradley et al., 1981; Horn et al., 1985).

აღნიშნულ ცვლილებებს ადგილი არ ჰქონდა მარჯვენა იმ-ში.

აღნიშნულ ცვლილებებთან შესაბამისად მარცხენა იმ-ში ადგილი ჰქონდა N მეთილ D ასპარტატული რეცეპტორის (ნმდარ) გლუტამატური რეცეპტორების მატებას, მარჯვენა იმ-ში მსგავსი ეფექტი არ აღინიშნება (McCabe et al., 1988; McCabe et al., 1991),

ნმდარ-ს ზრდა დაკავშირებულია დასწავლასთან. ნმდარ-ის გაზრდილი რაოდენობა მოსალოდნელია, რომ ნეირონებს შორის სინაფსური ტრანსმისიის სიძლიერეს ზრდის (Biscoe et al., 1977; Salt, 1986).

ტრენირების შემდეგ ასევე ირთვება პოსტსინაფსური მექანიზმები.

ცვლილებები პსს-ს ზომის გაზრდაში შეამოწმეს ტრენირებიდან 3 საათის შემდეგაც (Horn, 1985; Bradley et al., 1981) თუმცა შესაძლებელია ცვლილებებს გაცილებით უფრო ადრეც ჰქონდეს ადგილი. პსს შეიცავს კამკII-ის მაღალ კონცენტრაციას (Kennedy et al., 1983; Kennedy, 1997), როდესაც იგი აქტივდება Ca^{2+} /კალმოდულინით კამკII განიცდის სწრაფ აუტოფოსფორილირებას Thr286 ნაშთზე, აუტოფოსფორილირება ახანგრძლივებს მის მოქმედებას Ca^{2+} კონცენტრაციის შემცირების შემდეგაც. იმპრინტინგის დროს აქტივირებული კამკII აძლიერებს იმმ-ის სინაფსებში ამაგზნებელ ტრანსმისიას, თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ ამაგზნებელის გარდა იმპრინტინგში შემაკავებელი მექანიზმებიც მონაწილეობს.

კლატრინული ცილები ჩართული არიან სინაფსური ვეზიკულების რეციკლირებაში (Maycox et al., 1992). ტრენირებიდან 7-10 საათის შემდეგ იმმ-ში არ იყო კლატრინის მძიმე ჯაჭვის რაოდენობის ცვლილება, მაშინ როდესაც ნმდარNMDA მომატება შეინიშნება, მაგრამ სამაგიეროდ კლატრინის მძიმე ჯაჭვების რაოდენობის მომატებას ადგილი ჰქონდა ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ. ცილის რაოდენობის მატება კორელაციაში იყო დასწავლის სიძლიერესთან, მისი რაოდენობა უფრო მეტად იყო მომატებული მარცხენა იმმ-ში ვიდრე მარჯვენაში (Solomon et al., 1997). კვლევა გვაჩვენებს რომ იმმ-ში ნეიროტრანსმიტერის გამოთავისუფლება უნდა გაზრდილიყო იმპრინტინგის შემდეგ.

კამკII დიდ როლს თამაშობს სინაფსური ფუნქციის მოდიფიცირებაში და აქტივდება ჰიპოკამპალური გვკ-სა და იმპრინტინგის დროს. შემოთავაზებული იყო მოსაზრება, რომ კამკII შესაძლებელია ყოფილიყო ხანგრძლივი სინაფსური

მეხსიერების საფუძველი მოლეკულა, ყველა სხვა პროცესების ჩართვის გარეშე (Lisman et al., 2002). იმპრინტირებიდან მოპოვებული მონაცემები ამ მოსაზრებას მხარს არ უჭერს. მიუხედავად იმისა, რომ იმპრინტირების შედეგად იზრდება აუტოფოსფორილირებული კამკII-ის რაოდენობა მსგავს ეფექტს ადგილი არ ჰქონდა ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ (Solomonina et al., 2005).

1.1.3 ჰიპოკამპალური გრძელ-ვადიანი პოტენციაცია (გვპ) და იმპრინტირები

ორივე გვპ-სა და იმპრინტირების დროს ადგილი აქვს დენდრიტული ქაცვების პოსტსინაფსური სიმკვრივეების (პსს) ზომის ზრდას სინაფსების რაოდენობის გაზრდის გარეშე (Horn et al., 1985; Sorra et al., 1998; Harris et al., 2003). მიჩნეულია, რომ კამკII-ის ფოსფორილირება აუცილებელია გვპ-ს ჩამოყალიბებისათვის (Lisman et al., 2002; Matthews et al., 2003). იმ-ში კამკII-ის რაოდენობის აქტივაცია კორელაციაშია იმპრინტირების სიძლიერესთან დასწავლის ადრეულ სტადიებზე (Solomonina et al., 2005). ტაურინი და ნორადრენალინი საჭიროა როგორც იმპრინტირებისათვის ასევე გვპ-ს გვიანი ფაზისათვის.

მოუმწიფებელი ვირთაგვის ჰიპოკამპალური ანათლებში გვპ იწვევს პოსტსინაფსური ამპა რეცეპტორების რაოდენობის ზრდას (Zhu et al., 2002), ხოლო ზრდასრული ვირთაგვის ანათლებში ნმდა რეცეპტორების რაოდენობა იზრდება (Grosshans et al., 2001). ნმდა რეცეპტორების რაოდენობა ასევე იზრდება იმ-ში იმპრინტირების შემდეგ, მაგრამ რეცეპტორების ზრდას ზრდასრულ ვირთაგვასთან შედარებით (სადაც რეცეპტორების რაოდენობა იზრდება გვპ-დან 30 წუთის შემდეგ) ადგილი აქვს უფრო მოგვიანებით. მიუხედავად განსხვავებისა აღმოჩენა მიუთითებს, რომ გვპ-ს და იმპრინტირებს აქვთ ერთი და იგივე თვისებები, ორივე იწვევს ამაგზნებელი ტრანსმისიის გაძლიერებას. ნორადრენალინის მაგრამ არა დოფამინის

დონე იზრდება ქათმის წინა ტვინში იმპრინტინგის შედეგად (Davies et al., 1983). იმ-ში ნორადრენალინის მომატებული დონე კორელაციაშია დასწავლასთან (Davies et al., 1985). ეს მონაცემები მიუთითებს იმპრინტინგში ნორადრენალინის მაგრამ არა დოფამინის როლზე.

1.1.4 კავშირების სტაბილიზირება

მიჩნეულია, რომ ნეირონული ადჰეზიის მოლეკულები (ნუამ)უჯრედებს აკავშირებს ერთმანეთთან. ზრდასრულ ძუძუმწოვრებში იდენტიფიცირებულია ნუამ-ის სამი იზოფორმა მოლეკულური მასებით 180, 140 და 120 კდა (Edelman et al., 1991). ნმდარ-ები 180 კდა და 140 კდა ტრანსმემბრანული ცილებია.

ნუამ140 კდა გვხვდება როგორც პრე, ასევე პოსტსინაფსურ მემბრანაზე, იგი დაკავშირებულია სინაფსის ორივე კომპონენტის ციტოჩონთან. ნუამ 180 კდა მდებარეობს მხოლოდ პოსტსინაფსურ საიტში და მისი ციტოპლაზმური დომენი ასოცირებულია ციტოჩონჩხის ცილებთან (Persohn et al., 1989). იმპრინტინგის შედეგად ნუამ-ის სამივე იზოფორმის რიცხვი იზრდება მარცხენა იმ-ში ტრენირებიდან 24 და არა 9.5 საათის შემდეგ (Solomon et al., 1998).

1.1.5 მეხსიერება და გენთა ექსპრესია

იმისათვის, რომ მოეხდინათ იმ გენების იდენტიფიცირება, რომლებიც მონაწილეობას იღებენ მეხსიერების ფორმირებაში, ორი იმ-ის ნიმუში შეადარეს ერთმანეთს. ერთი ნიმუში იყო კარგად დამსწავლელი წიწილებისაგან, ხოლო მეორე ნიმუში იყო ცუდად დამსწავლელი წიწილებისაგან. იდენტიფიცირებული იქნა 30-ზე მეტი კანდიდატი გენი, ხოლო მათი ტრანსლაციის პროდუქტებისაგან ორი შემდგომშიც იქნა შესწავლილი, ესენი არიან: ამილოიდის წინამორბედი ცილა აწც და მირისტოლირებული ალანინით მდიდარი პროტეინ კინაზა C-ს სუბსტრატი (მამპს). .

ორივე ცილის დონე, 24 საათის შემდეგ ტრენირებიდან, დასწავლის სიმღიერესთან ერთად გაიზარდა, ეფექტი უფრო ძლიერი იყო მარცხენა იმ-ში ვიდრე მარჯვენაში. აწც დაკავშირებულია ალციმერის დაავადებასთან, რომელიც იწვევს მეხსიერების დაკარგვას და ცვლილებებს სინაფსების ორგანიზაციაში (Selkoe, 2002). მამპს და აწც და კლატრინი მონაწილეობას იღებენ სინაფსური ვეზიკულების ტრეფიკინგში, მობილიზაციაში, გამოთავისუფლებასა და რეფთეიქში (Maycox et al., 1992; Horn, 1998; Marquez-Sterling et al., 1997; Walaas et al., 2000, Yang et al., 2002).

ამ ცილების დასწავლასთან დაკავშირებული ცვლილება, მხარს უჭერს მოსაზრებას, რომ განსაზღვრული უჯრედული გზები კორდინირებულად რეგულირდება მეხსიერების ფორმირების პროცესში. დამატებით შეიძლება ითქვას, რომ როგორც მამპს-ს ასევე აწც-ს შეუძლიათ გავლენა იქონიონ გენთა ექსპრესიაზე.

ფორსფორილირებული მამპს ურთიერთქმედებს Tob127-თან, იმ ცილების ოჯახის წარმომადგენელთან, რომელიც იღებს მონაწილეობას უჯრედის ზრდასა და დიფერენციაციაში (Tirone et al., 2001). ეს ურთიერთქმედება შესაძლებელია ხორციელდებოდეს მიტოგენ გააქტივებული კინაზური კასკადის საშუალებით, რომელიც არეგულირებს გენთა ტრანსკრიფციას (Cho et al., 2001).

1.2.1 მიტოქონდრიის როლი ნეიროგენეზის პროცესში

მიტოქონდრია შედგება ორი მემბრანისაგან, ინტერმემბრანული სივრცისა და შიდა მატრიქსისაგან,

ენერჯის წარმოქმნის მოლეკულური მექანიზმი და ელექტრონების ტრანსპორტული ჯაჭვი, ორგანიზებულია ხაზობრივი სტრუქტურით, რომელიც ხორციელდება მიტოქონდრიის შიდა ზედაპირზე.

მიტოქონდრიას აქვს კალციუმის გადაადგილების უნარი ციტოპლაზმიდან და მისი დაგროვება ხდება მიტოქონდრიის მატრიქსში. მიტოქონდრია ასევე არეგულირებს, უჯრედშიდა კალციუმის სწრაფ ცვლილებას და მონაწილეობს Ca^{2+} - ით მოდულირებად მრავალ სასიგნალო პროცესში. (Nicholls DG. et.al 2003 and Giacomello M. et. al 2007)

ნერვული სისტემის განვითარების პროცესში ღეროვანი უჯრედები პროლიფერაციას განიცდის და შემდგომში დიფერენცირდება ნერვულ უჯრედად, ახლადწარმოქმნილ უჯრედებს უვითარდება აქსონები და დენდრიტები, საბოლოოდ კი ყალიბდება სინაფსი, ამ პროცესის დროს მრავალი ახლადწარმოქმნილი უჯრედი განიცდის აპოპტოზს, რა როლი აკისრია ამ განვითარების დროს მიტოქონდრიას? ემბრიონული და პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპზე, ტვინის უჯრედებში ადგილი აქვს მიტოქონდრიული ენერჯის მეტაბოლიზმის ცვლილებას ცხიმოვანი მჟავების და გლუკოზის გამოყენებით, (Erecinska M. et. al 2004). აგრეთვე პროლიფერირებულ ღეროვან და პოსტმიტოზურ უჯრედებს, აქვთ სხვადასხვა დონის ბიოენერჯიული მოთხოვნილება, სინაპტოგენეზის დროს უჯრედებში იზრდება მიტოქონდრიის რაოდენობა, და მცირდება მისი გადაადგილების სიჩქარე. (Chang and Reynolds, 2006) ქლორამფენიკოლი რომელიც წარმოადგენს

მიტოქონდრიული ცილების სინთეზის ინჰიბიტორს, აფერხებს უჯრედების დიფერენციაციას, მაშინ როდესაც ოლიგომიცინი-მიტოქონდრიული ატფ-ის სინთეზის ინჰიბიტორი, არ აფერხებს ამ პროცესს, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ გაზრდილი მიტოქონდრიული მასა (და არა მიტოქონდრიული პროდუქტები) საჭიროა ნეირონული დიფერენციაციისათვის. (Vayssiere et al., 1992) გარდა ამისა ისეთი სიგნალები რომლებიც გავლენას ახდენენ მიტოქონდრიულ ბიოგენეზზე და ფუნქციაზე, მაგ: აზოტის ოქსიდი (Barsoum et al., 2006) და ტვინით წარმოებული ნეიროტროფული ფაქტორი (ტწნფ) (Markham et al., 2004), შეიძლება არეგულირებდეს ნეირონული პროგენიტორი უჯრედების პლორიფერაციასა და დიფერენციაციას, ზრდასრული ადამიანის ტვინის განვითარების პროცესში. (Cheng et al., 2003)

ღეროვანი უჯრედების დიფერენცირების შემდეგ, ნეირონს უვითარდება რამდენიმე ნეირიტი, ერთი მათგანი იწყებს სწრაფად ზრდას და ყალიბდება როგორც აქსონი, დანარჩენი ნეირიტები ხდებიან დენდრიტები. სანამ აქსოგენეზი მოხდება, მცირეხანს მიტოქონდრია განლაგდება ნეირიტის ფსკერზე და შემდგომ ყალიბდება აქსონი, (Mattson and Partin, 1999)

აქსოგენეზის დროს ხდება მიტოქონდრიის გადანაწილება - აქსონში ხდება მიტოქონდრიების შესვლა, მაშინ როდესაც მიტოქონდრიის რაოდენობა დენდრიტებში მცირდება (Ruthel and Hollenbeck, 2003). როდესაც ელექტრონების ტრანსპორტი შეფერხებულია მაშინ აქსოგენეზის პროცესიც მოშლილია, მაგრამ ეს დიდ გავლენას არ ახდენს დენდრიტულ ზრდაზე (Mattson and Partin, 1999).

მრავალი ახლადწარმოქმნილი ნეირონი განიცდის უჯრედის პროგრამული სიკვდილის (უპს-ის) ზემოქმედებას, ეს პროცესი რეგულირდება ნეიროტროპული ფაქტორებით, და კონტროლირდება მიტოქონდრიით, (Kirkland and Franklin, 2003). ცვლილებები Bcl-2 ოჯახის წევრების ექსპრესიის დონეში, რაც არეგულირებს მიტოქონდრიით მოდულირებად უპს-ს, ხდება ნეიროგენეზის პროცესისა და ნეირონალური დიფერენცირების დროს, მაგალითად თაგვების განვითარებად

ტვინში, ანტიაპოპტოზური Bcl-XL-ის დონე არის ძალიან მაღალი ნეიროგენეზის პიკში, მაშინ როდესაც პროაპოპტოზური BAX- ექსპრესიის პიკი ემთხვევა ასტროციტების წარმოქმნას (Chang et al., 2007). საინტერესოა რომ Bcl-XL-ის და BAX-ის ზეექსპრესია ნეირონულ პროგენიტორებში იწვევს ნეირონალურ და ასტროციტულ დიფერენციაციას, ამიტომ Bcl-XL-ის და BAX-ის როლი უჯრედის გადარჩენის და სიკვდილის პროცესში განსხვავებულია (Chang et al., 2007).

1.2.2 მიტოქონდრია და სინაფსური პლასტიკურობა

მიტოქონდრიის მიერ დიდი რაოდენობით ატფ-ის წარმოქმნა საჭიროა, იონური სინაფსური ჰომეოსტაზისა და ფოსფორილირების რეაქციისათვის. ძუძუმწოვრების ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში (ცნს-ში) პრესინაფსური ტერმინალები შეიცავს დიდი რაოდენობით მიტოქონდრიას. ნმდა რეცეპტორებიდან და ვოლტაჟ დაჭიმვრული Ca^{2+} ის არხებიდან, ხდება დიდი რაოდენობით Ca^{2+} ის გამოყოფა. (Toresson and Grant, 2005). დენდრიტები შეიცავს ასევე მიტოქონდრიებს, მაგრამ იგი ქაცვებში საერთოდ არ გვხვდება, ერთადერთ გამონაკლისს წარმოადგენს ყნოსვის ბორცვების დენდრიტული ქაცვები, რომლებიც ასრულებს როგორც პრესინაფსურ ასევე, პოსტინაფსურ ფუნქციებს (Cameron et al., 1991).

აქსონური და დენდრიტული მიტოქონდრიის ფუნქციური მახასიათებლები განსხვავდება ერთმანეთისაგან, მაგალითად კულტივირებულ ჰიპოკამპურ ნეირონებში 2-ჯერ მეტი მიტოქონდრიაა აქსონში, ვიდრე დენდრიტში, და მიტოქონდრიის მეტაბოლური აქტივობა უფრო მაღალია დენდრიტებში ვიდრე აქსონებში (Overly et al., 1996).

მიტოქონდრიის როლი აქსოგენეზის პროცესში გადამწყვეტია, ვირთავის ჰიპოკამპის ემბრიონული უჯრედების ნაწილს ამუშავებდნენ ეთიდიუმ

ბრომიდით, (მიტონეირონები) იგი აზიანებდა მიტოქონდრიულ დნმ-ს მაშასადამე არღვევდა ელექტრონების ტრანსპორტულ ჯაჭვს, უჯრედების მეორე ნაწილი იყო საკონტროლო. 4 დღის შემდეგ საკონტროლო უჯრედებში ვითარდებოდა გრძელი აქსონები და მოკლე დენდრიტები, მაშინ როცა მიტონეირონებში ფორმირდება დენდრიტები და არ ფორმირდება აქსონი (Mark et.al 2008).

ელექტრონული მიკროსკოპით ნანახი იქნა, დენდრიტული ქაცვი, სამი პოსტსინაფსური და ორი პრესინაფსური ტერმინალით, რომელშიც აღინიშნებოდა რამოდენიმე სინაფსური ვეზიკულა, და ერთი მიტოქონდრია ერთ პრესინაფსურ ტერმინალში. აქტიურ სინაფსებში მიტოქონდრიის გადანაცვლება შეიძლება იყოს განპირობებული იმით, რომ მას შესაძლოა ჰქონდეს როლი პლასტიკურობაში რასაც შეიძლება აღწევდეს, ლოკალური ატფ-ის გამოყენების გაზრდით და Ca^{2+} -ის გამოყოფით (Mark P. et.al 2008).

ის სინაფსები რომლებიც უფრო აქტიურია, ზომაში მატულობს, აგრეთვე ხდება მათი დიდხნიანი ფუნქციური გაძლიერება და უფრო გაადვილებულია მათი სინაფსური პლასტიკურობის პროცესებში მონაწილეობა. (Harms et al., 2008).

თანამედროვე მონაცემებით მიტოქონდრიას დიდი როლი შეიძლება ჰქონდეს სინაფსურ პლასტიკურობაში. სინაფტოგენეზის დროს მიტოქონდრიის გადაადგილება დენდრიტულ გამონაზარდებში კორელაციაშია განვითარებული ქაცვების მორფოლოგიურ პლასტიკურობასთან. ცვლილებები მიტოქონდრიულ ფუნქციებში (Ca^{2+} -ის რეგულაცია და ენერჯის მეტაბოლიზმი) ასევე თამაშობს როლს სინაფსურ პლასტიკურობაში (Mark et.al 2008).

ასაკთან დაკავშირებული კოგნიტიური სიძნელებები, რომელიც არის სინაფსური პლასტიკურობის ცვლილების შედეგი, დაკავშირებული უნდა იყოს მიტოქონდრიაში სტრუქტურულ ცვლილებებთან და ცვლილებებთან რნმ-ისა და დნმ-ის ოქსიდაციაში (Liu et al., 2002a). ფიქრობენ, რომ მიტოქონდრიას აქვს მედიატორის

როლი გლუტამატისა და ტვინით წარმოებული ნეიროტროფული ფაქტორი (ტწნფ) - ის დონის ცვლილებაში, სინაფსური პლასტიკურობის დროს. ამ დროს აღინიშნება მიტოქონდრიის სასიგნალო ფუნქციის გაზრდა. მიტოქონდრიის მემბრანული პოტენციალის ცვლილება ჩართავს გლუტამატ რეცეპტორებით მოდულირებად Ca^{2+} -ის ნაკადს, გლუტამატური რეცეპტორების სინაფსური აქტივობა შესაძლოა აგრეთვე მოქმედებდეს მიტოქონდრიულ ბიოგენეზზე Ca^{2+} -ის ნაკადისგან დამოუკიდებლად (Shuttleworth et al., 2003).

ზოგიერთი ნეიროტროპული ფაქტორი, მაგალითად როგორცაა ტწნფ, დიდ როლს თამაშობს ჰიპოკამპდამოკიდებულ დასწავლასა და მეხსიერებაში, და ასევე სინაფსურ პლასტიკურობაში (Lu et al., 2008).

ტწნფ სინაფსურ პლასტიკურობას ნაწილობრივ ხელს უწყობს, მიტოქონდრიული ენერჯის პროდუქციის გაზრდით. იმიტომ რომ ის ზრდის გლუკოზის მოხმარებას, კულტივირებულ კორტიკალურ ნეირონებში, ენერჯის მოთხოვნილების გაზრდის საპასუხოდ. (Burkhalter et al., 2003). და ზრდის მიტოქონდრიულ სუნთქვით შეუღლებას I კომპლექსში. (Markham et al., 2004).

1.2.3 მიტოქონდრია და ნეირონული უჯრედების სიკვდილი

უჯრედის სიკვდილის ორი ძირითადი ტიპია ცნობილი ნეკროზი და პროგრამული სიკვდილი.

ნეკროზის დროს მიტოქონდრიაში ხდება Ca^{2+} ის დაგროვება. მისი შიდა მემბრანა განიცდის სტრუქტურულ დისორგანიზაციას, ზიანდება ჯირჯვდება და შეიძლება განიცადოს გასკდომა.

იონოტროპული გლუტამატური რეცეპტორის აგონისტმა, ან ატფ-ის აქტივაციის

მიმართ მგრძობიარე K^+ არხებმა შესაძლოა დაიცვას მიტოქონდრიული ფუნქცია და შეაფერხოს ნეკროზი. (Rogawski, 1993; Liu et al., 2002b).

აპოპტოზის დროს ირთვება ორი აპოპტოზური კასკადი, I-შიდა გზა, რომელიც მიმდინარეობს მიტოქონდრიაში და II-გარე გზა, რომელიც მიმდინარეობს მიტოქონდრიის გვერდის ავლით (Stefanis, 2005). I გზა ინიცირდება უჯრედული სიკვდილის სიგნალით, მაგალითად ტროპიკული ფაქტორის მოშლით. აპოპტოზის ეს ჩამრთველი ხშირად ააქტივებს ისეთ კინაზებს როგორცაა JNK და ტრანსკრიფციის ფაქტორებს, მაგალითად p53 რომელიც იწვევს პროაპოპტოზური Bcl-2 ოჯახის წევრების Bax-ისა და Bak-ის მიტოქონდრიულ ტრანსლოკალიზაციას. ყოველივე ეს იწვევს ფორების წარმოქმნას მიტოქონდრიის გარეთა მემბრანაზე, მიტოქონდრიის გარეთა მემბრანის განვლადობის გაზრდა გამოწვეულია, მულტიპროტეინული ცილოვანი კომპლექსით წარმოქმნილი ფორების გაჩენით. ამ ფორების საშუალებით ციტოქრომი-c მიტოქონდრიის ინტერმემბრანული სივრციდან ციტოზოლში გადადის. აპოპტოზის პროტეაზა აქტივატორულ ფაქტორ 1-ს (აპაფ-1), უკავშირდება ასევე ატფ-ს და აყალიბებს აპოპტოსომას, რომელიც შემდგომში ააქტივებს ინიციატორ კასპაზა 9-ს (Riedl and Salvesen, 2007), კასპაზა 9 ააქტივებს კასპაზა 3-ს და ის თავის მხრივ იწვევს უჯრედული სიკვდილის პროცესს.

კასპაზების ინჰიბირებით შეიძლება შეფერხდეს უჯრედული სიკვდილი, მაგრამ ეს არ აფერხებს ციტოქრომი c-ს გამოყოფას ციტოზოლში. აპოპტოზის გამომწვევი ფაქტორი (აფგ) და HtrA2 ასევე მიტოქონდრიის სტრუქტურისა და ფუნქციის მნიშვნელოვან კომპონენტს წარმოადგენს, და ციტოზოლში მათი გამოყოფა შლის მიტოქონდრიულ ფუნქციას. (Cheung et al., 2006, Martins et al., 2004).

უჯრედის პროგრამული სიკვდილი (უპს) მცირდება თავგებში, რომლებსაც აკლია აპაფ-1, (Yoshida et al., 1998), კასპაზა 3 (Kuida et al., 1996) ან კასპაზა 9 (Hakem et al., 1998). უპს მცირდება ასევე იმ თავგებში, რომლებშიც ციტოქრომი c არის მუტაციური. ამ შემთხვევაში ის ვეღარ ააქტივებს კასპაზა 9-ს, მაგრამ ის

ფუნქციონირებს როგორც ელექტრონების გადამტანი (Hao et al., 2005).

Bax-ისა და Bak-ის კომბინირებული დეფიციტი ძალიან ეფექტურია იმისთვის, რომ შემცირდეს მიტოქონდრიის გარეთა მემბრანაში გამტარებლობა და აპოპტოზი. (Lindsten et al., 2000).

უპს ეხება მთლიან უჯრედს, მაგრამ აპოპტოზის ბიოქიმიური კასკადი, რომელშიც მიტოქონდრია მონაწილეობს, ხდება ლოკალურად დენდრიტებში და აქსონში, სადაც ისინი შესაძლოა მონაწილეობდნენ ნეურიტულ და სინაფსურ სტრუქტურაში და ფუნქციონალურ პლასტიკურობაში.

ემბრიონის ჰიპოკამპის ნეირონების დენდრიტებში გლუტამატის რეცეპტორების აქტივაცია იწვევს მიტოქონდრიის მემბრანაში ლოკალურ განვლადობას და კასპაზა 3-ის აქტივაციას დენდრიტში (Mattson et al., 1998).

მიტოქონდრია მონაწილეობს აგრეთვე, უჯრედული სიკვდილის იმ სხვა ტიპში, რომელიც მიმდინარეობს კასპაზებისგან დამოუკიდებლად და რომლის დროსაც მიტოქონდრიის გარეთა მემბრანა ხდება განვლადი, მაგრამ ამ შემთხვევაში ხდება არა ციტოქრომ c-ს არამედ აგფ-ის გამოყოფა.

ეს ცვლილებები ხდება ლოკალურად, სინაფსურ ტერმინალებში, დენდრიტებსა და აქსონებში, რაც მიუთითებს მათ როლს სინაფსურ პლასტიკურობასა და ნეირიტების ზრდაში.

1.2.4 ნევროლოგიური დარღვევები

ზოგიერთი გენეტიკური დაავადება მიტოქონდრიულ დნმ-ის ცვლილებით არის განპირობებული. ასეთი დაავადებების დროს, ძირითად სამიზნეს წარმოადგენს ის უჯრედები, რომლის ფუნქციონირებისთვისაც საჭიროა დიდი ოდენობით ენერგია. ასეთი უჯრედებია კუნთის უჯრედები და ნეირონები (Wallace, 2005). ყოველივე ეს იწვევს ისეთ ნევროლოგიურ დარღვევებს, როგორცაა: ალცაიმერის, ჰანტინგტონის, პარკინსონის დაავადებებს და ალბათ სხვებსაც.

1.2.4.1 ალცაიმერის დაავადება: (ად)

ალცაიმერის დაავადების დროს ადგილი აქვს პროგრესულად განვითარებად სინაფსურ დისფუნქციას, და საბოლოო ჯამში მთელი რიგი ნეირონების სიკვდილს. ტვინის ის რეგიონები, რომლებსაც გადამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს დასწავლისა და მეხსიერების პროცესებში. (ჰიპოკამპი, ენტორინალური და ფრონტალური კორტექსი) ხასიათდება ექსტრაცელულარული უჯრედგარე ფოლაქების დაგროვებით, რომელიც შექმნილია ამილოიდური β პეპტიდით და ინტრაცელულარული ნეიროფიბრილარული გროვებით, რომელიც არის მიკროტუბულინებთან დაკავშირებული პროტეინ ტაუს აგრეგაციის შედეგი. (Goedert and Spillantini, 2006).

გამომდინარე იქიდან, რომ ნეირონული დაავადებების დროს ადგილი აქვს Ca^{2+} -ის ჰომეოსტაზის და ენერგიის მეტაბოლიზმის დარღვევებს და შესაძლოა ადგილი ჰქონდეს აპოპტოზის დარღვევასაც, აქედან გამომდინარე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ამ დაავადების დროს ადგილი უნდა ჰქონდეს მიტოქონდრიულ ცვლილებებს.

ამილოიდური β პეპტიდის (აბპ) მონომერები ერთმანეთთან

ურთიერთქმედებისას ქმნიან ოლიგომერებს და ამ პროცესის დროს შესაძლოა აბზ ურთიერთქმედებდეს Fe^{2+} და Cu^{+} -თან რომ წარმოქმნას H_2O_2 და $OH\cdot$ და ამ ყველაფერს მოსდევს მემბრანაში ლიპიდური პეროქსიდაცია და 4 ჰიდროქსინონენალის (ჰნე) და ცერამიდის წარმოქმნა. (Bruce-Keller et al., 1998). პლაზმური მემბრანის იონ დამოკიდებული ატფაზას (Na^+ და Ca^{2+} -ის ტუმბოს), აგრეთვე გლუკოზისა და გლუტამატის ტრანსპორტერის ფუნქციის ცვლილებას მოჰყვება ჰნე-თი განპირობებული Ca^{2+} -ის დიდი რაოდენობით გამოთავისუფლება ნმდა რეცეპტორებიდან და ვოლტაჟ დაჰიშვრული Ca^{2+} -ის არხებიდან.

აბზ-მ შეიძლება ასევე გამოიწვიოს, პლაზმურ მემბრანაში Ca^{2+} -ის გამტარი ფორების გაჩენა. კალციუმის ასეთი დიდი რაოდენობით გამოყოფას ენდოპლაზმური რეტიკულუმ (ერ) საცავიდან, შესაძლოა შემდეგ მოსდევდეს მიტოქონდრიაში დიდი რაოდენობით Ca^{2+} -ის შესვლა და მისი ფუნქციობის დაზიანება. ჰნე და ცერამიდი შემდგომში შესაძლოა დიფუზიის გზით მოხვდეს მიტოქონდრიაში და პირდაპირ დააზიანოს მიტოქონდრიის ორივე მემბრანა. აბზ შეიძლება ასევე წარმოიქმნას ინტრაცელულარულად ენდოსომურ, ლიზოსომურ ნაწილში. ინტრაცელულარული აბზ შეიძლება ურთიერთქმედებდეს და აზიანებდეს მიტოქონდრიულ მემბრანებს. ამ გზით აბზ-მ შესაძლოა დააზიანოს მიტოქონდრიული ატფის წარმოქმნა და Ca^{2+} -ის რეგულაცია, რასაც უარყოფითი შედეგები მოჰყვება ნეირონულ პლასტიკურობის პროცესებისათვის.

პოზიტრონემისიური ტომოგრაფიით ნაჩვენები იქნა, რომ ალცჰაიმერის დაავადების (ად) მქონე პაციენტებს ტვინის დაზიანებულ რეგიონებში აღენიშნებათ შემცირებული ენერგიული მეტაბოლიზმი, რაც გვამდევს საფუძველს ვარაუდისა, რომ კოგნიტიური სიმბტომები შესაძლოა იყოს განპირობებული უჯრედული ენერჯის დეფიციტით (Mosconi et al., 2008)

ად პაციენტებში საკონტროლოსთან შედარებით აღინიშნება ციტოქრომ c ოქსიდაზას აქტივობის შემცირება. (Maurer et al., 2000).

ად პაციენტებში, რომლებიც ამჟღავნებენ გაზრდილ ოქსიდაციურ სტრესს, აღინიშნება მიტოქონდრიის დაზიანება. (Hirai et al., 2001; Moreira et al., 2007). და გაზრდილია თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნა (Swerdlow et al., 1997).

ად პაციენტებში მიტოქონდრიული ცვლილებების გამომწვევი მექანიზმი არ არის ცნობილი, მაგრამ ამ დროს შესაძლოა ადგილი ჰქონდეს ასაკთან და დაავადებასთან დაკავშირებულ ცვლილებებს აბჰ-ს დონეში, ოქსიდაციურ სტრესს და შემცირებულ უჯრედულ ენერჯიას.

ალცაიმერის დაავადების დროს, ნეირონებში აბჰ-მ შესაძლოა გამოიწვიოს მიტოქონდრიული დისფუნქცია, იმიტომ, რომ აბჰ-ს გავლენით მიტოქონდრიაში იზრდება მიტოქონდრიული ჟანგბადის რაოდენობა, ამის შედეგად მცირდება ატფ-ის წარმოქმნა და იზრდება მიტოქონდრიული კალციუმის უკუმთანთქმა, რაც თავის მხრივ წარმოადგენს აპოპტოზის ჩამრთველს. (Hashimoto et. al 2003).

შესაძლოა ალცაიმერის დაავადების დროს მიტოქონდრიული დისფუნქცია მიმდინარეობდეს აბჰ-ს საგან დამოუკიდებლად.

1.2.4.2 ამიოტროფული ლატერალური სკლეროზი(ალს).

კლინიკური მახასიათებელი ალს-სი არის პროგრესული, ნერგკუნთოვანი დისფუნქცია, რომელიც განპირობებულია დაღმავალი – მოტორული ნეირონების დეგენერაციით (Bromberg 2002). ამ დაავადების დროს, ადგილი აქვს მოტორულ ნეირონებში ოქსიდაციური სტრესის გაზრდას (Beal et al 1997, Pedersen et al 1998, Gutler et al 2002, Gai et al 2005.) და მიტოქონდრიაში მორფოლოგიურ ცვლილებებს. (Atsumi 1981).

მოტორული სიმპტომების გამოჩენის დროს ადგილი აქვს, მიტოქონდრიის მასიურ დეგენერაციას მოტორულ ნეირონებში და ეს პროცესი წინ უსწრებს მოტორული ნეირონების სიკვდილს (Kong & Xu 1998). BCL-2-ის ფუნქციის დარღვევა ალს-ში შესაძლოა მიტოქონდრიულ დისფუნქციაში იღებდეს მონაწილეობას. პრეკლინიკური მონაცემების თანახმად მიტოქონდრიული ენერჯის მეტაბოლიზმის სტაბილიზაცია ან გაზრდა შეამცირებს მიტოქონდრიული ჟანგბადის რეაქციული სახეობების (ჟრს) პროდუქციას, ან სტაბილურს გახდის მიტოქონდრიულ მემბრანებს.

1.2.4.3 ფსიქიკური დაავადებები:

ფსიქიკურ დაავადებებში: შიზოფრენია, დეპრესია, ბიპოლარული დარღვევები, ადგილი აქვს მიტოქონდრიის სტრუქტურულ, მოლეკულურ და ფუნქციურ დონეზე ცვლილებებს (Sao et al 2008 & Fattal 2006).

შიზოფრენიის დროს ფრონტალურ კორტექსში და კაუდატუსში კომპლექს IV-ის აქტივობის შემცირებას მოყვება გაზრდილი ემოციური მდგომარეობა და კოგნიტიური გაუარესება (Prince et al 2000).

დეპრესიულ პაციენტებში ადგილი აქვს ენერჯის მეტაბოლიზმის დეფიციტს, რასაც ადასტურებს ის ფაქტი, რომ ამ დროს ადგილი აქვს ატფ-ის შემცირებულ დონეს, საკონტროლოებთან შედარებით, (Gardner et al 2003).

1.2.5 მიტოქონდრიულ შერწყმასა და ფრაგმენტაციაში მონაწილე გენების დისფუნქციით განპირობებული ნეიროდეგენერაციული დაავადებები

სხვადასხვა დაავადებების დროს ნეირონებში მიტოქონდრიული დისფუნქცია ალბათ ამ უჯრედის მიერ ენერჯის მოთხოვნილების მაღალი დონით უნდა იყოს განპირობებული. მიტოქონდრია არეგულირებს კალციუმის და ატფ-ის დონეს, რითაც მიიღწევა სინაფსური ტრანსმისია. მიტოქონდრიული დინამიკის დარღვევებმა, შეიძლება გამოიწვიოს დეფექტები, მიტოქონდრიულ სუნთქვაში, მორფოლოგიასა და მოძრაობაში. (Chen & Chan. 2006).

ის ფაქტი, რომ მიტოქონდრიული გენების მუტაცია განაპირობებს სხვადასხვა ნეირონული დაავადებების წარმოშობას, გვიჩვენებს ფუნქციურ კავშირს მიტოქონდრისა და ნეირონს შორის. (Chen & Chan 2006).

მიტოქონდრიული ენცეფალომიოპათიების გამოწვევა ხდება მტ.დნმ-ის მუტაციით და ხასიათდება ნევროლოგიური სიმფტომებით (Dimauro & Davidzon 2005, Taylor & Turnbull 2005). ასეთ ნეირონულ დაავადებებს განეკუთვნება: ატაქსია და დისართრია.

ერთ-ერთ ნეიროდეგენერაციულ დაავადებას წარმოადგენს მემკვიდრული სპაზმური პარაპლეგია (მსპ) (Beal 2005.), ეს დაავადება იწვევს კიდურების დამბლას, მისი ერთი ფორმა მიიღება მიტოქონდრიის შიდა მემბრანული ცილის პარაპლეგინის მუტაციით, ამ დროს ნეირონებში აღინიშნება მიტოქონდრიის ულტრასტრუქტურული ცვლილებები (Ferreirinha et al. 2004). ამ დაავადების მეორე ფორმაში აღინიშნება სიციხით შოკირებადი ცილის HSP60- ის მუტაცია (Beal 2005.).

სინაფსის ულტრასტრუქტურულმა შესწავლამ აჩვენა მიტოქონდრიის მნიშვნელოვანი კონცენტრაცია ნერვულ დაბოლოებებში (Palay 1956.). ამ ექსპერიმენტებიდან გამომდინარე მიტოქონდრიის ამ რეგიონალურ დაგროვებას

უნდა ჰქონდეს ფუნქციური მნიშვნელობა.

ვირთაგვის ჰიპოკამპურმა უჯრედებმა აჩვენა დადებითი კორელაცია, მიტოქონდრიის არსებობასა და მზარდი დენდრიტების ჩამოყალიბებას შორის (Li et al. 2004.).

დროზოფილაში მიტოქონდრიის აქსონურ ტრანსპორტს ესაჭიროება ცილა მილტონი (Stowers et al. 2002.). ფოტორეცეპტორები მილტონს არ შეიცავენ, მათში მიტოქონდრია თავმოყრილია უჯრედის სხეულში და არა აქსონში, დროზოფილა მირო-ში, მიტოქონდრიის აქსონური ტრანსპორტისთვის საჭიროა dmiro ცილა (Guo et al. 2005.). ამ ცილის მუტაციით მიტოქონდრია აკუმულირდება უჯრედის სხეულში, რაც იწვევს ლარვულ ლოკომოტორულ დეფექტს და გუგის ადრეული ფუნქციის დაკარგვას.

1.2.6 მიტოქონდრიული დინამიკა

მიტოქონდრია მუდმივ დინამიკაშია, იგი მუდმივად განიცდის ფრაგმენტაციას და შერწყმას (Chen. & Chan 2005.). ეს პროცესები აკონტროლებენ არა მარტო მიტოქონდრიის პოპულაციის მორფოლოგიას, არამედ მის ფუნქციასაც.

მიტოქონდრიულ შერწყმას ახორციელებენ მიტოქონდრიის გარე მემბრანული ცილები მიტოფუჟენები, Mfn1 და Mfn2 (Chen et al. 2003, Rojo et al.2002, Santel E & Fuller 2001.). მიტოფუჟენების ინჰიბირება ან დელეცია აფერხებს შერწყმის ყოველგვარ პროცესს (Koshiba et al. 2004, Chen et al 2005.).

მესამე ცილა რომელიც საჭიროა მიტოქონდრიული შერწყმისთვის არის OPA1, დინამინ დაკავშირებული გტფ-აზა. ეს ცილა მოთავსებულია მემბრანათშორის სივრცეში, და მჭიდროდ არის დაკავშირებული შიდა მემბრანასთან (Gripic et al.

2004., Olichon et al. 2002, Satoh et al. 2003.). შესაძლოა, OPA1 მნიშვნელოვან როლს თამაშობს შიდა მემბრანის სტრუქტურის კონტროლში. ლიპიდური შრის შერწყმას აკატალიზებს ფოსფოლიპაზა D (მიტო PLD). (Jourdan & Martinou 2010, Choi et al. 2006.)

განსხვავებული მექანიზმით მიდის მიტოქონდრიული ფრაგმენტაცია, ამ პროცესში მონაწილეობს Fis1- მიტოქონდრიის გარეთა მემბრანის ცილა და Drp1- დინამინ დაკავშირებული გტფ-აზა. ამ რომელიმე ცილის ინჰიბიცია იწვევს მიტოქონდრიული ტუბულინების დაგრძელებას და შიდა კავშირების გაზრდას (Lee et al. 2004, Smirnova et al. 2001.). Drp1 ფუნქციონირებს როგორც "მექანოენზიმი" (Shav & Nunnari. 2002) ფუთავს მიტოქონდრიულ ტუბულინებს და იყენებს გტფ-ის ჰიდროლიზს იმისთვის, რომ ჩართოს ფრაგმენტაციის პროცესი (Smirnova et al. 2001.).

როდესაც ხდება მიტოქონდრიული შერწყმის პროცესის სრული შეფერხება ადგილი აქვს მიტოფუჟენების და OPA1-ის გადანაცვლებას, ძალიან შენელებულ უჯრედულ ზრდასა და შეფერხებულ უჯრედულ სუნთქვას (Chen et al. 2005).

მიტოქონდრიის დინამიკაში მომხდარმა დარღვევებმა შესაძლოა გამოიწვიოს ისეთი რთული დაავადებები როგორცაა პერიფერიული ნერვის ატროფია და დომინანტური ოპტიკური ატროფია.

ძირითადი გენი, რომელიც მონაწილეობს პერიფერიული ნერვის ატროფიის დაავადების წარმოშობაში, არის Mfn2 (Kijima K, et al. 2005, Lawson VH. et al. 2005, Zuchner S, et al. 2004.). ეს დაავადება განეკუთვნება მემკვიდრულ პერიფერიულ ნეიროპათოლოგიათა რიცხვს, რომელიც მოქმედებს როგორც მამოძრავებელ ასევე სენსორულ ნერვებზე, (Shy ME. 2004, Young P end Suter U. 2003)

დომინანტური ოპტიკური ატროფია , ყველაზე გავრცელებული მემკვიდრული ოპტიკური ნეიროპათოლოგიაა. ის ძირითადად გვხვდება ბავშვებში როგორც მხედველობის ბილატერალური დაკარგვა. ამ დაავადებასთან დაკავშირებულია სამი

ძირითადი გენი OPA1, OPA4, OPA5. (Alexander et al. 2000, Kerrison et al. 1999, Ferre 2005).

OPA1-ის დაკარგვა წინ უძღვის მძიმე უჯრედულ დისფუნქციას, შემცირებულ უჯრედის ზრდას, შემცირებულ მემბრანულ პოტენციალს, და უჯრედის სიკვდილსაც კი. (Chen et al. 2005, Olichon et al. 2003).

1.2.7 ნეირონული დისფუნქციის შესაძლო მექანიზმები.

უცნობია რომელი ტიპის მიტოქონდრიული დისფუნქცია მიიღწევა mfn2 და OPA1-ის ალელებით, ამ ცილების უჯრედულ ფუნქციაში მონაწილეობის შესახებ რამოდენიმე პუბლიკაცია გამოქვეყნდა. mfn2 და OPA1-ის მუტაციამ შეიძლება შეაფერხოს სუნთქვითი პროცესი (Chen et al. 2005)

მიტოქონდრიული შერწყმისას აღნიშნული, მუტაციების გავლენა კალციუმის რეგულაციაზე არ არის ცნობილი. მიტოქონდრიული დინამიკის დეფექტს შეიძლება გავლენა ჰქონდეს, მიტოქონდრიულ მოძრაობაზე, ციტოჩონჩხის გასწვრივ (Chen 2003.), მიტოქონდრიულ აგრეგაციაზე (Delettre et al 2000, Kamei et al 2005). და ბოლოს მიტოქონდრიული დინამიკის დეფექტები იწვევს უჯრედის პროგრამულ სიკვდილს (Youle E & Karbowski M. 2005, Olichon et al. 2003, Sugioka et al. 2004.).

უცნობია რატომ არის განსაზღვრული, პერიფერიული ნერვის ატროფია 2-ისათვის და დომინანტური ოპტიკური ატროფიისათვის დეფექტები, სპეციფიკური ნერვული უჯრედებისთვის. ჰისტოლოგიურმა შესწავლებმა აჩვენა, რომ ამ უჯრედებს გააჩნიათ სპეციფიკური თვისება რომელიც ხსნის რატომ არის ეს უჯრედები საჭირო მიტოქონდრიული ფუნქციონირებისთვის, (Carelli et al. 2004. Fabricius et al. 1993, Li et al. 2004). რეტინულ განგლიურ უჯრედებს აქვს ყველაზე

ხანგრძლივი პროცესები, თითოეული განგლიური უჯრედის აქსონი ეხვევა ოპტიკური ნერვის წვერის მიმართულებით, ექსტრემალურად გრძელი მოტორული და სენსორული ნეირონები, რომელიც დაზიანებულია პერიფერიული ნერვის ატროფიის დროს, საჭიროებს ზუსტ მიტოქონდრიულ ფუნქციონირებას, მიტოქონდრიის ტრანსპორტში მცირე დეფექტსაც კი შეიძლება ჰქონდეს არასასურველი ეფექტი, და დროთა განმავლობაში, დაგროვილმა დეფექტებმა შეიძლება გამოიწვიოს აქსონური დისფუნქცია.

მიტოქონდრია დიდი რაოდენობითაა თავმოყრილი უჯრედის სხეულში და უმეილინო აქსონის მახლობლად, სადაც წარმოიქმნება მოქმედების პოტენციალი. აქსონის მიელინიზირებულ ადგილებში მიტოქონდრია მცირე რაოდენობითაა, განსხვავებით არამიელინიზირებული ნაწილებისგან, მაგ: რანვიეს შევიწროებაში და თვით სინაფსში. მიელინიზაციასა და მიტოქონდრიულ თავმოყრას შორის ასეთი შებრუნებული კავშირის მნიშვნელობა ცნობილი არ არის, მაგრამ ეს შეიძლება განპირობებული იყოს არამიელინიზირებული ნაწილების მიერ ატფ-ის პროდუქციის მოხმარებით რათა განხორციელდეს ნეირონული ტრანსმისია, მაგ: ატფ დამოკიდებული ტუმბო, რომელიც მნიშვნელოვანია მემბრანული პოტენციალის აღდგენისთვის (Ariyasu et al. 1985), საინტერესოა, რომ ცდომილი ოპტიკური ნერვის დემიელინიზაცია დაკავშირებულია მიტოქონდრიის რაოდენობის მომატებასთან, რომლის რაოდენობაც საწყის დონეს უბრუნდება რემიელინიზაციის შემდეგ (Mutsaers & Carroll 1998.). მიტოქონდრიის ასეთი რეგიონალური მოთხოვნილების გამო, დეფექტებს, მიტოქონდრიულ განაწილებაში შეიძლება ჰქონდეს ცუდი შედეგი.

1.2.8 დასკვნა

განხილული მონაცემები დამაჯერებლად მიუთითებს იმაზე, რომ მიტოქონდრიული ფუნქცია ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესია, ნეირონის ფუნქციონირებისთვის, რაზედაც სხვა მონაცემებთან მიუთითებს ისიც, რომ მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციები მრავალი ნეირონული ნეიროპათოლოგიის გამომწვევია.

მიტოქონდრიის არსებობა ნერვული უჯრედის განსაზღვრულ სეგმენტში, არის აგრეთვე გადამწყვეტი, ნეირონული ნორმული ფუნქციონირებისთვის.

1.3.1 COX - ციტოქრომ-*c* ოქსიდაზა

ეუკარიოტების უჯრედებს აქვთ უნარი გამოიმუშაონ ენერჯია ატფ-ის მოლეკულის ფორმით. ამას ახორციელებენ ორი გზით გლიკოლიზის და გლუკოზის ოქსიდაციის გზით. აერობულ მდგომარეობაში ნახშირწყლების, ცილების და ცხიმების სრული ჟანგვა (წყლისა და ნახშირორჟანგის გამოყოფით) მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვისა და ჟანგვითი ფოსფორირების სისტემის მეშვეობით წარმოიქმნება 15 ჯერ უფრო მეტი ატფ ვიდრე გლიკოლიზის დროს. მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვი (მსჯ) და ჟანგვითი ფოსფორირება (ჟფ) შექმნილია 5 ფერმენტული კომპლექსით. I-IV კომპლექსებში, რომელიც მოთავსებულია მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე ელექტრონების გადამტანს წარმოადგენს უბიქინონი და ციტოქრომ *c*.

მსჯ-ში I და II კომპლექსში მცირდება ელექტროქიმიური გრადიენტი IV კომპლექსამდე, რომელიც შემდგომში აკატალიზებს მოლეკულური ჟანგბადის აღდგენას და საბოლოოდ წარმოიქმნება წყალი. I III IV კომპლექსები, იყენებენ ენერჯიას, რომელიც თავისუფლდება მიტოქონდრიული მატრიქსიდან ინტერმემბრანულ სივრცეში, ელექტრონული ნაკადის მიერ ელექტრონების გადატუმბვისას და წარმოქმნილი პროტონული გრადიენტი მიტოქონდრიის შიდა მემბრანის გასწვრივ, გამოიყენება V კომპლექსის მიერ, რათა მოხდეს ატფ-ის სინთეზი ადფ-დან, რის შემდეგაც ხდება ენერჯიის რეგულაცია უჯრედის საჭიროების მიხედვით.

მიტოქონდრიული სუნთქვა და ჟანგვითი ფოსფორირება მკაცრად რეგულირებული პროცესია და დამოკიდებულია გარემო სტიმულზე. ერთუჯრედიან სოკოებში მეტაბოლიზმის აქტივობა დამოკიდებულია იმაზე თუ რამდენად ხელმისაწვდომია ჟანგბადი და ნახშირბადი, (De Winde & Grivell 1993.) მაშინ

როდესაც ძუძუმწოვრების უჯრედებში, ნახშირბადის წყარო ნაკლებ მნიშვნელოვანია სუნთქვისთვის და ძირითადად რეგულირდება ჟანგბადის კონცენტრაციით (Kadowaki & Kitagawa 1991) რაც დამოკიდებულია კუნთების აქტივობაზე (Hood, Zak & Pette D. 1989) და ჰორმონების დონეზე. (Pillar & Seitz 1997; Wrutniak-Cabello et al. 2001) რომელი მექანიზმი არეგულირებს მსჯ-ს აქტივობას?

ქემოსმოსური ჰიპოთეზის თანახმად, რომელიც წამოყენებულ იქნა მიტჩელის მიერ 1961 წელს: მსჯ რეგულირდება მიტოქონდრიის შიდა მემბრანის გასწვრივ არსებული, პროტონული გრადიენტით (Mitchell 1966, Mitchell 1961). მიტოქონდრიაში ადგ-ატფ-ის *mimocvla* ასტიმულირებს ატფ-ის სინთეზს რის შედეგადაც მცირდება პროტონული გრადიენტი და საბოლოოდ ეს ყველაფერი საჭიროა მიტოქონდრიული სუნთქვისთვის.

ეუკარიოტების ციტოქრომ c ოქსიდაზა არის მიტოქონდრიული, კომპლექსური, ოლიგომერული მემბრანული ცილა, (Burke & Poyton 1998), რომელიც ძირითად როლს ასრულებს ენერჯის აერობული პროცესის რეგულაციაში. (Fontanesi et al. 2006). ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსი 13 სუბერთეულისაგან შედგება და კოდირდება, როგორც მიტოქონდრიული გენომით ასევე ბირთვული. ეუკარიოტების ციტოქრომ c ოქსიდაზა ყველაზე დიდი: I II III სუბერთეულები კოდირდება მიტოქონდრიული გენომით, ხოლო მისი დანარჩენი 10 განსხვავებული სუბერთეული ბირთვული გენებით (Saraste 1990). მაშინ როცა სოკოების ციტოქრომ c ოქსიდაზა 6 ან 8 ბირთვით კოდირებადი განსხვავებული პოლიპეპტიდურ სუბერთეულებისგან შედგება (Power et al. 1984; Taanman et al. 1992; Gier et al. 1995; Poyton et al. 1995; Poyton and McEwen, 1996).

სუნთქვითი ჯაჭვი თვითონ არეგულირებს ჟანგვითი ფოსფორილირების სიხშირეს, სწორედ მისი შესწავლისას იქნა იდენტიფიცირებული ციტოქრომ c ოქსიდაზა, როგორც სუნთქვითი ჯაჭვის ერთ-ერთი ტერმინალური წევრი და მას

გადამწყვეტი როლი აკისრია ამ პროცესის რეგულაციაში (Erecinska and Wilson, 1982; Wilson, 1982; Kadenbach, 1986; Poyton *et al.* 1988; Poyton and McEwen, 1996; Villani and Attardi, 1997).

სამი მიტოქონდრიული დნმ-ით კოდირებადი სუბერთეული აცალიბებს ფერმენტის კატალიზურ ცენტრს, რომელიც შეიცავს მეტალის პროსტეტურ ჯგუფებს, დანარჩენი 10 სუბერთეული რომელიც კოდირდება ბირთვული დნმ-ით მოქმედებს როგორც ცენტრის გარშემომსაზღვრელი შრე. ციტოქრომ c ოქსიდაზას ბიოგენეზის პროცესის ყველა დონეზე საჭიროა 20-ზე მეტი ბირთვით კოდირებადი ფაქტორის არსებობა (Fontanesi *et al.* 2006). ციტოქრომ c ოქსიდაზა შეიცავს ოთხ მეტალურ ცენტრს; ორ რკინას (Fe), ორ სპილენძს (Cu), ერთ თუთიას (Zn) და ერთ მაგნიუმს (Mg) (Poyton and McEwen, 1996).

ციტოქრომ c ოქსიდაზას აქვს განსხვავებული რედოქს-სენსიტიური კომფორმაციული მდგომარეობები რაც დაკავშირებულია ელექტრონების და პროტონების მოძრაობასთან (Chan and Li, 1990; Woodruff, 1993; Wikstrom *et al.* 1994; Iwata *et al.* 1995; Wittung and Malmstrom, 1996). არსებობს მრავალი მონაცემი ციტოქრომ c ოქსიდაზას სხვადასხვა კომფორმაციული მდგომარეობების შესახებ და ეს მდგომარეობები pH-ის მიმართ მგრძობიარეა (Moody, 1996). მიტოქონდრიით კოდირებად სუბერთეულებს ძირითადად კატალიზური ფუნქცია აკისრია (Poyton and McEwen, 1996). ხოლო ბირთვით კოდირებადი სუბერთეულები, სულ მცირე ჰოლოენზიმების ჩამოყალიბების და კატალიზური სუბერთეულების სტაბილურობას განაპირობებენ. (Cumsky *et al.* 1985, 1987; Trueblood and Poyton, 1987), ძუძუმწოვრების კერძოდ ხარების ციტოქრომ c ოქსიდაზას კრისტალური სტრუქტურებიდან (Tsukihara *et al.* 1995, 1996), და სოკოების გენეტიკური შესწავლებიდან (Poyton and McEwen, 1996; Meunier and Colson, 1994; Meunier *et al.* 1995), გამოამკარავდა, რომ ეუკარიოტების ციტოქრომ c ოქსიდაზა მიტოქონდრიით კოდირებადი I და II სუბერთეულები ასრულებენ ჰოლოენზიმების ელექტრონების ტრანსპორტის

ფუნქციას, სუბერთეული III არ შეიცავს მეტალურ ცენტრს და ის შეიძლება მოდულირებას უკეთებდეს ჰოლოენზიმის პროტონული ტუმბოს აქტივობას, და დიდ როლს თამაშობს ციტოქრომ c ოქსიდაზას სტრუქტურის აწყობაში, I და II სუბერთეულების სტაბილურობაში და ჟანგბადის გადაადგილებაში ბინუკლეურ რეაქტიულ ცენტრში (Brunori *et al.* 1987; Haltia *et al.* 1991; Riistama *et al.* 1996).

სუნთქვითი ჯაჭვის IV კომპლექსის ციტოქრომ c ოქსიდაზა ინჰიბირდება ინტრამიტოქონდრიალური ატფ-ადფ-ის მაღალი თანაფარდობის შემთხვევაში (Follmann *et al.* 1998) ატფ-ის IV სუბერთეულთან დაკავშირების ხარჯზე ძუძუმწოვრების ფერმენტებში, ხოლო Va სუბერთეულთან დაკავშირების ხარჯზე საფუარების ფერმენტებში (Arnold & Kadenbach 1997, Huttemann *et al.* 2001). სუნთქვის კონტროლის ეს მექანიზმი, ჩაირთვება ციკლურამფ – დამოკიდებული ფოსფორილირებით და გამორთვა ხდება ციტოქრომ c ოქსიდაზას Ca-ით გამოწვეული დეფოსფორილირებით (Bender & Kadenbach B. 2000). ეს ხსნის ციტოქრომ c ოქსიდაზას როლს ატფ-ის სინთეზში და სუნთქვის სიხშირის რეგულირებაში. ციტოქრომ c ოქსიდაზას ეს ალოსტერული რეგულაცია მოკლე ვადიანია, რადგან ის არის ფერმენტის კინეტიკის ცვლილების შედეგი, არის მყისიერი და არ საჭიროებს არც ცილების სინთეზს და არც აწყობას.

ციტოქრომ c ოქსიდაზას ხანგრძლივი რეგულაცია გულისხმიობს და მოიცავს ფერმენტული მოლეკულების რაოდენობის კონტროლს მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაში და იზოფორმების სუბერთეულების შემადგენლობის კონტროლს, რაც ფერმენტებს ანიჭებს სხვა და სხვა კატალიზურ თვისებებს. ეს რეგულაცია საჭიროებს ცილების სინთეზსა და ციტოქრომ c ოქსიდაზას აწყობას. ციტოქრომ c ოქსიდაზას როგორც მულტიმერული ფერმენტის კომპლექსის აწყობა ხდება ორი განსხვავებული გენომის ურთიერთკავშირით და საჭიროებს მრავალ დამხმარე კომპლექსის ამწყობ ფაქტორებს. (Fontanesi *et al.* 2006). ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობის პროცესების და მისი რეგულაციის შესწავლა უფრო ადვილია სოკოებში ვინაიდან ის

იძლევა მუტაციების უფრო დიდ შესაძლებლობას, რომ შემდეგში მოხდეს გადარჩევა და დამუშავება, როგორც გენომიკური კუთხით (McEwen et al., 1986; Tzagoloff & Dieckmann 1990), ასევე ცილოვან დონეზე. (Barrientos et al. 2002; Herrmann & Funes 2005; Poyton & McEwen 1996).

ციტოქრომ c ოქსიდაზას III სუბერთეული შეიძლება დიდ როლს თამაშობდეს I და II სუბერთეულებიდან პროტონის გადაადგილების გაადვილებაში (Hosler 2004.) ბირთვით კოდირებადი სუბერთეულები შემოსაზღვრავენ ენზიმის კატალიზურ ცენტრს, და არ თამაშობენ დიდ როლს ჟანგბადის აღდგენასა და პროტონის ვექტორული გადაადგილების კატალიზისთვის. (Fontanesi et al. 2006.)

სოკოებში ციტოქრომ c ოქსიდაზას სამი ყველაზე დიდი I, II, III სუბერთეული კოდირდება მიტოქონდრიულ დნმ-ში და წარმოადგენს ფერმენტის კატალიზურ ცენტრს, ეს სუბერთეულები ტრანსმემბრანული ცილებია და მოთავსებულია მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე და კოორდინაციას უკეთებს ჰემ-*a* და სპილენძ (Cu) კოფაქტორებს, რომლებიც პასუხისმგებელი არიან ელექტრონების გადატანაზე, ციტოქრომ c ოქსიდაზას I სუბერთეული შეიცავს ორ ჟანგვა-აღდგენით ცენტრს, რომლებიც ფორმირდება ჰემ-*a*-თი და სპილენძის იონებით.

ბაქტერიულ ციტოქრომ c ოქსიდაზაზე ჩატარებული ცდებით ნაჩვენებია იქნა, რომ შესაძლებელია COX3p მონაწილეობდეს პროტონის გადაცემის მოდულაციაში სუბერთეულ 1-სა და 2-ს შორის. ბირთვით კოდირებადი სუბერთეულების სპეციფიკური მნიშვნელობა სრულყოფილად არ არის ცნობილი, მაგრამ ცნობილია, რომ მონაწილეობენ ფერმენტის დიმერიზაციაში და კომპლექსის აწყობის სტაბილურობაში. მათი ფუნქციაა ასევე კატალიზური ცენტრის დაცვა ჟანგბადის რეაქციული სახეობებისაგან (ჟრს)-ისგან.

ციტოქრომ c ოქსიდაზას 4p, 5p-ს ორი იზოფორმა - ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5ap და 5bp, 6p, 7p და 9p, ასევე მნიშვნელოვანი უნდა იყოს ფერმენტის სტრუქტურის

აწყობასა და სტაბილურობისთვის. (Aggeler a& Capaldi 1990; Calder McEwen 1991; Dowhan. et al. 1985; Trueblood & Poyton 1987; Wright et al. 1986.). სუბერთეული ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5ap ასევე მნიშვნელოვანია კატალიზის მოდულაციაში. ატფ-ის დაკავშირება მატრიქსის ციტოქრომ c ოქსიდაზას 5ap დომენთან ხდება მაშინ როდესაც ინტერმიტოქონდრიული ატფ-ადგ ფარდობა არის მაღალი, ეს იწვევს ენერჯის ტრანსდუქციის შემცირებას ან ამცირებს პროტონულ ტუმბოს. უფრო მეტიც, ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5p-ის COOH-ტერმინალური დომენი ურთიერთქმედებს სუბერთეულ 2-თან და შეიძლება ჰქონდეს ფუნქცია შეაფერხოს წყლის ან პროტონის გამოდევნა ციტოქრომ c ოქსიდაზა 1p-სა და ციტოქრომ c ოქსიდაზა 2p-ს შორის არსებული სივრციდან (Burke & Poyton RO. 1998; Iwata et al. 1995. Tsukihara et al 1996.).

ციტოქრომ c ოქსიდაზა შეიძლება არსებობდეს მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე მონომერის ან/და დიმერის სახით. ციტოქრომ c ოქსიდაზა როგორც დიმერი ითვლება ფერმენტის აქტიურ ფორმად, რომელშიც ორი მონომერი დაკავშირებულია კარდიოლიპინის მოლეკულით (Kadenbach et al 2000; Tsukihara et al. 1995).

ხარის გულის ფერმენტის კრისტალური სტრუქტურების მეშვეობით დადგინდა, რომ ციტოქრომ c-ს დამაკავშირებელი საიტი მოთავსებულია ორ მონომერს შორის (Tsukihara et al. 1996.). მიტოქონდრიით კოდირებადი ორი და ზოგიერთი ბირთვით კოდირებადი სუბერთეულები მონაწილეობენ ოთხ სუბერთეულ-სუბერთეულ კონტაქტში, რაც ასტაბილურებს დომენის სტრუქტურას (Lee et al. 2001.).

ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობის პროცესი ნაწილობრივ არის შესწავლილი. საკითხავია როგორ რეგულირდება ორ ფიზიკურად განსხვავებულ გენომში კოდირებადი სუბერთეულების ექსპრესია და როგორ პოულობს ეს სუბერთეულები ერთმანეთს მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაში? ამ ორ გენეტიკურ წარმოშობას მოსდევს ტრანსკრიფციის, ტრანსლაციის მომწიფებისა და

მიტოქონდრიული იმპორტის გზები, გარდა სტრუქტურული სუბერთეულისა, ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობა საჭიროებს მთელი რიგი ცილოვანი ფაქტორების არსებობას, პროცესის ყველა საფეხურზე.

სპილენძი არის მნიშვნელოვანი კოფაქტორი უჯრედში ფერმენტის კატალიზური აქტივობისთვის, მაგრამ მისი ჟანგბადის მოლეკულით გააქტიურება შეიძლება წინ უძღოდეს ტოქსიკურობას (Valentine et al. 1998.). ამ მიზეზის გამო ფაქტიურად თავისუფალი წყლოვანი სპილენძის იონები ციტოპლაზმაში არ არის და ისინი ყოველთვის დაკავშირებული არიან სპეციფიკურ ცილებთან, რომლებიც საჭიროა უჯრედში სპილენძის გადატანისთვის (Valentine et al. 1998.).

ციტოქრომ c ოქსიდაზაში არსებული ჰემ-a სინთეზდება კატალიზური გზის დროს და ეს პროცესი მიმდინარეობს შიდა მიტოქონდრიაში.

სპილენძი და ჰემ-a ფერმენტის ცენტრში ღრმად არის ჩაძირული, რაც მეტყველებს იმაზე, რომ ის კორდინაციას უკეთებს ტრანსლაციის და მომწიფების სწრაფ მექანიზმს.

Cu-ის და ჰემ-a-ს გარდა ციტოქრომ c ოქსიდაზა ასევე შეიცავს Mg, Na-ისა და Zn-ის იონებს, მიტოქონდრიით კოდირებადი სუბერთეულები არის ჰიდროფობური ცილები. განსაკუთრებით ციტოქრომ c ოქსიდაზა 1p და ციტოქრომ c ოქსიდაზა 2p, ისინი აგრეგაციას განიცდიან წყლის გარემოში, ამ მიზეზის გამო ამ ცილების ექსპრესია და მომწიფება კომპლექსის აწყობის დროს საჭიროებს სპეციფიკური ჩაპერონების არსებობას. (Fontanesi et al. 2006)

გარემოს ცვლილებებთან დაკავშირებული ციტოქრომ c ოქსიდაზას ბიოგენეზის რეგულაცია და აქტივობა დიდ როლს თამაშობს უჯრედის ფიზიოლოგიასა და მეტაბოლიზმში. (Auffray et al. 2003.)

1.3.2 ბირთვული ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობა და ამ პროცესში მონაწილე გენების რეგულაცია ჟანგბადით

ყველა ბირთვული გენი, რომელიც აკოდირებს ციტოქრომ c ოქსიდაზას სუბერთეულებს არის აერობული გენები (Bunn & Poyton 1996; Poyton & Burke 1992). მათი ექსპრესიისთვის ოპტიმალური პირობაა, როცა ჟანგბადის წნევა ტოლია 200 მიკრო მოლის. (მკ.მოლის), რაც შეესაბამება ატმოსფერული ჟანგბადის კონცენტრაციას, მაგრამ მათი ექსპრესია ასევე ხდება დაბალ ანაერობულ პირობებში (Burke et al. 1997.). ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5b არის ჰიპოქსიური გენი, რომლის ექსპრესია ხდება მაშინ, როცა ჟანგბადის კონცენტრაცია 0.5 მკ.მოლზე დაბალია (Burke et al. 1997). ჟანგბადის მეშვეობით ამ გენების რეგულაცია შესწავლილია გადაუმუშავებელ შაქარზე, იმისთვის რომ გამოირიცხოს ნახშირბადის წყაროს გავლენა ციტოქრომ c ოქსიდაზას გენების ექსპრესიაზე (Burke et al. 1997). ამ შედეგების ანალიზით აღმოჩნდა, რომ აერობული გენების ექსპრესია დამოკიდებულია ჟანგბადის კონცენტრაციაზე და არა უბრალოდ მის ყოფნა არ ყოფნაზე, ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5a ტრანსკრიფციას განიცდის როცა ჟანგბადის კონცენტრაციაა 200-სა და 10მკ.მოლს შორის. სხვა აერობული გენები ექსპრესიის მნიშვნელოვან დაკლებას (40-70%-ით) ამჟღავნებენ, როცა ჟანგბადის კონცენტრაცია არის 200 მკ.მოლსა და 100 მკ.მოლს შორის, მაშინ როცა მათი ექსპრესია თითქმის უცვლელი რჩება 100-სა და 10 მკ.მოლს შორის. 10 მკ.მოლი ჟანგბადის კონცენტრაციის ქვევით ყველა აერობული გენის ექსპრესია თანდათანობით მცირდება და 1 მკ.მოლი ჟანგბადის კონცენტრაციაზე ციტოქრომ c ოქსიდაზა 4, 6, 7, 8 და 9 ხოლო 0,5 მკ.მოლი ჟანგბადის კონცენტრაციაზე ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5a საერთოდ წყვეტენ ექსპრესიას (Burke et al. 1997.). 1 და 0,5 მკ.მოლი ჟანგბადის კონცენტრაცია ითვლება ზღვრად ამ აერობული გენების ექსპრესიისათვის. (Burke et al. 1997.) ციტოქრომ c ოქსიდაზას მ-რნმ-ის დონე დაცულია, როცა ჟანგბადის კონცენტრაცია

0,5მკ.მოლზე მაღალია, რაც გვიჩვენებს, რომ ჰიპოქსიური გენები უფრო ადვილად რეგულირდება ვიდრე, აერობული გენები (Burke et al. 1997.).

ჟანგბადით რეგულირებადი გამოწვევა-ჩახშობის კინეტიკური ანალიზი გვიჩვენებს, რომ თუმცა ციტოქრომ c ოქსიდაზა სუბერთეული მთლიანად ექსპრესირდება 90წთ-ის შემდეგ როცა ანაერობიოზი დამთავრდება, სხვა აერობული გენები ექსპრესირდება 25-80%-ს შორის, 2 საათის შემდეგ, როცა ატმოსფერული სტაბილურობა მიიღწევა, (Burke et al. 1997.) ანუ ეს ყველაფერი ხდება აერობულიდან ანაერობულში გადასვლის პროცესში, მაგრამ რა ხდება როცა ადგილი აქვს პირიქით ანაერობულიდან აერობულში გადასვლას? 10-20 წთ-ის შემდეგ ამ გადანაცვლებასთან დაკავშირებით აერობული გენები ამჟღავნებენ ექსპრესიის მცირე გაზრდას. ჰიპოქსიური გენის ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5b ექსპრესიის გამოწვევა, აერობულიდან ანაერობულში გადასვლის დროს მნიშვნელოვნად დაბალია, აერობული გენის ექსპრესიის გაზრდაზე, როცა ხდება პირიქით ანაერობული მდგომარეობიდან აერობულში გადასვლა. ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5b სრული ექსპრესია ფაქტიულად საჭიროებს 12 საათს (Poyton & Burke . 1992.), აერობული და ჰიპოქსიური გენები რეგულირდება სხვადასხვა სიგნალის ტრანსდუქციური გზით და ეს უჯრედები სწრაფად ადაპტირდება გარემო ფაქტორების ცვლილებების შესაბამისად.

გასაკვირია, რომ ანაერობული პირობების გაზრდის პარალელურად ხდება ზოგიერთი გენის ექსპრესია, რომლებიც აკოდირებს ციტოქრომ c ოქსიდაზას სუბერთეულებს, ანალიზი საჭიროებს ორ განსხვავებულ პროცესს: 1) როცა გვაქვს ჟანგბადის დაბალი კონცენტრაცია (0,5 მკ.მოლზე ქვევით) და 2) როცა გვაქვს სრული ანაერობული პირობები. პირველ შემთხვევაში ციტოქრომ c ოქსიდაზას ექსპრესია შეიძლება აიხსნას სუბერთეული 5-ის ორი განსხვავებული იზოფორმის კინეტიკური მახასიათებლებით. ტრანსმემბრანული ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5p ურთიერთქმედებს ციტოქრომ c ოქსიდაზა 1p-სთან და იზოფორმაზე დამოკიდებულების მიხედვით ცილის გარემოს ცვლის ბინუკლეარული ცენტრის

გარემოთი. ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5bp-ს იზოფერმენტს აქვს მაღალი მაქსიმალური წრებრუნვის რაოდენობა და თუმცა, ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5ap-ს არსებობის დროს ჰემია3-ზე ელექტრონების დაშვება შეზღუდულია. ელექტრონების გადასვლა ჰემია3-დან ჰემია3-ზე არის 3-4 ჯერ უფრო სწრაფი ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5bp ს არსებობის დროს .

სრული კომპლექსის აწყობისას ციტოქრომ c ოქსიდაზას რაოდენობა მცირდება ჟანგბადის კონცენტრაციის შემცირების შესაბამისად. 0,1 მკ.მოლი ჟანგბადის კონცენტრაციის ქვევით ციტოქრომ c ოქსიდაზას აქტივობა არ აღირიცხება. (Rogers & Stewart 1973). თუმცა სრული ანაერობიოზის დროს ციტოქრომ c ოქსიდაზას გენები ტრანსკრიფციურად აქტიური ხდება. ორივე მიტოქონდრიით კოდირებადი და ბირთვით კოდირებადი სუბერთეულების უმეტესობა წარმოდგენილია პროტომიტოქონდრიაში, რაც გვიჩვენებს, რომ ციტოქრომ c ოქსიდაზას სუბერთეულები სინთეზირდება და იმპორტირდება ჟანგბადის მთლიანად არ არსებობის პირობებშიც კი (Burke et al. 1997; Dagsgaard 2001.). ვესტერნ იმუნობლოტინგის ანალიზით პროტომიტოქონდრიაში არ აღმოჩნდა სუბერთეული 8, რომელიც მონაწილეობს ციტოქრომ c ოქსიდაზას დიმერიზაციაში, ხოლო სუბერთეული 4, ძალიან შემცირებული რაოდენობით (0,2%) (Burke et al. 1997; Dagsgaard 2001).

აღმოჩნდა, რომ სუნთქვითი ჯაჭვი ფუნქციობს ჟანგბადის არარსებობის შემთხვევაშიც (David & Poyton 2005.), აქედან გამომდინარე შესაძლოა სუნთქვითი ჯაჭვი იყენებდეს უფრო ბოლო ელექტრონებს ვიდრე ჟანგბადს. (David & Poyton 2005.) ჰიპოქსიური გენების ექსპრესია, რომლებიც აკოდირებს მიტოქონდრიულ ნაშთურ ცილებს, მნიშვნელოვანია უჯრედისთვის, რომ განხორციელდეს მრავალი მეტაბოლური პროცესი, რომელიც ხდება მიტოქონდრიაში.

ბირთვული ციტოქრომ c ოქსიდაზას გენების ჟანგბადოვან რეგულიაციას შუამავლობს ჰემი, რომელიც მოქმედებს როგორც გარემო სიგნალის უჯრედშორისი

ეფექტორი. (Saltzger-Muller & Schatz 1978; Trawick et al. 1989; Trueblood et al. 1988). ჰემი-დეფიციტურ მუტანტებში ციტოქრომ c ოქსიდაზას გენების ექსპრესია მიმდინარეობს ჟანგბადის დონისგან დამოუკიდებლად, ამ მუტანტებში ჰიპოქსიური გენები დერეპრესირებულნი არიან, ხოლო აერობული გენები რეპრესირებულნი. (Hodge et al. 1989; Myers et al. 1987.). ჰემი ითვლება, როგორც აერობული რეგულაციის იდეალური ეფექტორი იმიტომ, რომ ჰემის ბიოსინთეზი საჭიროებს ჟანგბადს, ბიოსინთეზის ორი ფერმენტი ჟანგბადს იყენებს როგორც სუბსტრატს. (Labbe-Bois & Labbe P. 1990). ერთ-ერთი მათგანი არის ჰემ-13-ის პროდუქტი, რომელიც აკატალიზებს ჰემის სინთეზს (Labbe-Bois & Labbe 1990). ორი საინტერესო შემთხვევა შეიძლება განვიხილოთ: პირველი ციტოქრომ c ოქსიდაზას გენები ექსპრესირდება ჟანგბადის სრული არარსებობის დროს, ჰემ-13p შეიძლება ასევე ფუნქციონირებდეს ჟანგბადის არარსებობის პირობებში (Bilinski et al. 1978., Kwast et al 1999) და აგრეთვე მცირე რკინის რაოდენობა შეიძლება იყოს წარმოდგენილი ანაერობულ უჯრედში. (David & Poyton RO 2005, Hoffman et al 2003.) და მეორე, ციტოქრომ c ოქსიდაზას აერობული გენების მრნმ-ის დონე მცირდება ჟანგბადის კონცენტრაციის შემცირების პარალელურად, როცა ეს კონცენტრაცია მცირდება 200 მკ.მოლი-სა და 1 მკ.მოლი-ს შორის, ხოლო ჟანგბადის ამავე კონცენტრაციის პირობებში ჰემი-ის უჯრედშორისი დონე რჩება თითქმის მუდმივი. (Labbe-Bois & Labbe 1990) შეიძლება რკინა არეგულირებდეს ციტოქრომ c ოქსიდაზას გენების ექსპრესიას, ჰემის კონცენტრაციის ცვლილების შესაბამისად (Burke 1997).

ბირთვული გენების ციტოქრომ c ოქსიდაზას ჟანგბად დამოკიდებული რეგულაციის მიხედვით ჰემი მოქმედებს როგორც გარემო ფაქტორების შუამავალი (იგულისხმება ჟანგბადის კონცენტრაცია). მოგვიანებით სპეციფიკურ, ტრანსკრიფციულ ფაქტორებს შორის მოხდა ორი რკინადამოკიდებული ტრანსკრიფციული აქტივატორების იდენტიფიცირება: Hap1 ცილა და Hap კომპლექსი (Kwast et al 1999, Zitomer & Lowry 1992.) მაშინ როცა Hap1p მოდულაციას უკეთებს მხოლოდ აერობული გენების ჟანგბადოვან რეგულაციას და მისი აქტივობა თავის

მხრივ მოდულირდება ჰემის დაკავშირებით (Verdiere et al 1984, Zhang & Guarente. 1995). Hap კომპლექსის რეგულაცია მოდულირებს, ორი გარემო სტიმულის ჟანგბადის კონცენტრაციის და ნახშირბადოვანი წყაროს საპასუხოდ (Forsburg &Guarente 1989, Hahn & Guarente 1988, McNabb &Pinto 2005). როგორ მოდულაციას უკეთებს რკინა Hap კომპლექსის აქტივობას კვლავ უცნობია, მაგრამ შესაძლოა რკინა პოსტტრანსლაციურად არეგულირებდეს კომპლექსის (Hap4p) კატალიზურ სუბერთეულს (Forsburg &Guarente L 1989).

Hap კომპლექსის მეშვეობით ხდება ციტოქრომ c ოქსიდაზას აერობული გენების ციტოქრომ c ოქსიდაზა 4, ციტოქრომ c ოქსიდაზას 5a, ციტოქრომ c ოქსიდაზას 6-ის ჟანგბადოვანი რეგულაციის მოდულირება. (Buschlen et al. 2003, Trawick et al. 1992 , Trawick et al. 1989. Trueblood et al 1988.) აერობული მდგომარეობის და რკინის არსებობის დროს Hap2,3,4,5 იწვევს ციტოქრომ c ოქსიდაზას 5a-ს ექსპრესიას და Rox1/Reo1 ახშობს ციტოქრომ c ოქსიდაზას 5b-ს ექსპრესიას.

როდესაც უჯრედი ჟანგბადის დაბალი კონცენტრაციის პირობებშია და იგი არ შეიცავს რკინას, Hap კომპლექსს და Rox1/Reo1-ს არ შეუძლია სამიზნე ციტოქრომ c ოქსიდაზას გენის არც აქტივაცია და არც რეპრესია. ამ დროს ექსპრესირდება სუბერთეული 5-ის ჰიპოქსიური იზოფორმა (Trueblood et al 1988.). ციტოქრომ c ოქსიდაზას 5b-ს რეპრესია მოდულირდება არაპირდაპირი გზით Hap1p-ს მეშვეობით. ციტოქრომ c ოქსიდაზას 6-ის რეგულაციის შესწავლისას აღმოჩნდა, რომ მისი ტრანსკრიფციული რეგულაცია ხორციელდება აგრეთვე Hap1p-ით. (Trawick et al. 1989).

იმის გასარკვევად ციტოქრომ c ოქსიდაზას გენის რეგულაცია ჟანგბადით, დამოკიდებულია თუ არა თვით ციტოქრომ c ოქსიდაზას აქტივობაზე, მიტოქონდრიულ სუნთქვაზე ან ჟგ-ზე დაგსგარდმა (Dagsgaard et al 2006), გაზომა ციტოქრომ c ოქსიდაზას აერობული გენის ექსპრესიის დონე ბირთვში და მიტოქონდრიულ მუტანტებში, რომელშიც ციტოქრომ c ოქსიდაზას აქტივობა და

შესაბამისად სუნთქვა, ან ჟღ სრულად იყო შეჩერებული, შედეგებმა აჩვენა, რომ არც ჟღ, არც სუნთქვა, და არც ციტოქრომ c ოქსიდაზას აქტივობა არ ახდენს გავლენას ციტოქრომ c ოქსიდაზას გენების ექსპრესიაზე.

1.3.3 ბირთვული ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობა და ამ პროცესში მონაწილე გენების რეგულაცია ნახშირბადით

მიკროორგანიზმებში ყველა ბირთვული ციტოქრომ c ოქსიდაზას სტრუქტურული გენის ექსპრესიის დათრგუნვა ხდება გლუკოზით (DeRisi et al 1997), მაგალითისათვის განვიხილოთ ციტოქრომ c ოქსიდაზას 6-ის რეგულირება ჟანგბადით რკინა დამოკიდებული გზის დროს (Trawick et al. 1989)

ციტოქრომ c ოქსიდაზას ტრანსკრიფციულ რეგულაციას შუამდგომლობს სულ მცირე ოთხი განსხვავებული ტრანსკრიფციული ფაქტორი: Hap კომპლექსი, Snf1p, Ssn6p და Abf1p. (Trawick et al 1992, Trawick et al. 1989, Wright & Poyton 1990). გლუკოზის არარსებობის შემთხვევაში Snf1p მოქმედებს როგორც ფერმენტი და ააქტივებს და აფოსფორირებს სხვადასხვა რეპრესორებსა და აქტივატორებს. (Celenza & Carlson 1986) Snf1p-ის ერთ-ერთ სამიზნეს წარმოადგენს Ssn6p ფაქტორი, რომელიც მონაწილეობს გლუკოზის რეპრესიაში (Schultz & Carlson 1987).

Abf1p ფოსფოპროტეინია, რომელსაც შესაძლოა ჰქონდეს სულ მცირე, ოთხი განსხვავებული ფოსფორირებული მდგომარეობა. Abf1p-ზე გავლენას ახდენს ნახშირბადის წყარო და Snf1p/Ssn6p Ssn6p მნიშვნელოვანია Abf1p-ს დეფოსფორირებისთვის, Snf1p დამოკიდებული გზის დროს (Silve et al 1992). ფოსფორირების დონე განსაზღვრავს Abf1p-ს შემცველი ცილის დნმ-ის

კომპლექსის შემადგენლობას, რომელიც ფორმირდება ციტოქრომ c ოქსიდაზა 6 პრომოტორზე (Silve et al 1992, Trawick et al 1992) ეს მოდულაციას უკეთებს ციტოქრომ c ოქსიდაზა 6-ის მრნმ-ის ტრანსკრიფციას ნახშირბად დამოკიდებული გზის დროს. დღესდღეობით უცნობია Snf1p/Ssn6p დამოუკიდებლად მოქმედებს თუ არა იგივე გზის შემთხვევაში (Buschlen 2003, Trawick et al 1989).

ბოლო დროს ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა საშუალება მოგვცა რომ გაგვეგო ციტოქრომ c ოქსიდაზას ანსამბლიის როლი მეტაბოლური რეპროგრამირების დროს, რომელიც მიმდინარეობს ზოგიერთი სტრესული მდგომარეობის დროს.

ბირთვული გენები, რომლებიც აკოდირებენ ციტოქრომ c ოქსიდაზას სუბერთეულებს ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5-ს გარდა რეგულირდება ნახშირბადოვანი წყაროთი მათი რეპრესია ხდება გლუკოზით ხოლო გამოწვევა დიაუქსიის დროს (დიაუქსია არის ბერძნული სიტყვა და ნიშნავს მიკროორგანიზმების კულტურებში ერთმანეთის პარალელურად მიმდინარე ორი ზრდის ფაზის პროცესს, სადაც თანმიმდევრულად ხდება ორი შაქრის მეტაბოლიზმი) (DeRisi et al 1997). თუმცაღა გლუკოზის რეპრესია მთლიანად არ ახშობს მათ ტრანსკრიფციას. და მაგალითად ციტოქრომ c ოქსიდაზას 6-ის მრნმ-ი კვლავ შეიძლება აღმოჩნდეს გლუკოზა-რეპრესირებულ უჯრედში. (Wright et al 1989.) Hap კომპლექსი შუამავლობს ბირთვული ციტოქრომ c ოქსიდაზის-ის გენების რეგულაციას, ციტოქრომ c ოქსიდაზა 5b-ს გარდა (Buschlen et al 2003, Gunji et al 2004).

Hap4 გენი რომელიც აკოდირებს Hap კომპლექსის კატალიზურ სუბერთეულებს ინდუცირდება ასევე ცხრა დიაუქსიის განმავლობაში და წარმოადგენს ორი ტრანსკრიფციული რეგულატორიდან ერთ-ერთს (DeRisi et al 1997). აქტიური Hap კომპლექსი ფორმირებულია ყოველი სუბერთეულის მხოლოდ ერთი ასლით (McNabb & Pinto 2005).

ბირთვული ციტოქრომ c ოქსიდაზა სტრუქტურული გენების ექსპრესია ორჯერ

უფრო ნაკლებად იცვლება, გარემო სტრესის საპასუხოდ, ვიდრე დიაუქსის და ჟანგბადის კონცენტრაციის ცვლილების დროს. (Causton et al 2001).

შესაძლოა აგრეთვე სხვა დამატებითი ტრანსკრიფციული ფაქტორები იყოს საჭირო, ციტოქრომ c ოქსიდაზას სტრუქტურის აწყობის რეგულაციაში. მაგალითად ბირთვული გენის, HET494-ის ექსპრესიის რეგულაციის ანალიზმა აჩვენა, რომ ეს გენი აკოდირებს ციტოქრომ c ოქსიდაზა 3-ის ტრანსლაციური აქტივატორის მრნმ-ს (Marykwas & Fox 1989). ეს გენი რეპრესირდება გლუკოზით და გამოიწვევა ნახშირბადოვანი წყაროთი, მისი რეგულაცია არ საჭიროებს არც Hap კომპლექსს არც Snf1p, Snp2p, Ssn6p, Hxk2p-ს ტიპურ ტრანსკრიფციულ ფაქტორებს (Marykwas & Fox 1989).

1.3.4 ბირთვული ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობის, ტრანსლაციური რეგულაცია

თუმცა ბირთვით კოდირებადი სუბერთეულების ექსპრესიის რეგულაცია ძირითადად მიმდინარეობს ტრანსკრიფციულ დონეზე უახლესი მონაცემების თანახმად ციტოქრომ c ოქსიდაზა4-ის ექსპრესია რეგულირდება პოსტტრანსკრიფციულად კარდიოლიპინით. ეს არის მიტოქონდრიული მემბრანის მნიშვნელოვანი ფოსფოლიპიდი. (Su & Dowhan 2006)

1.3.5 მიტოქონდრიული ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობის, ტრანსკრიფციული რეგულაცია

სამი სუბერთეული რომელიც ეუკარიოტული ციტოქრომ c ოქსიდაზას კატალიზურ ცენტრს შეადგენს კოდირდება მტ-დნმ-ში. ისინი ისევე როგორც ბირთვით კოდირებადი სუბერთეულების ექსპრესიაც ცვლილებებს განიცდის ჟანგბადის და ნახშირბადის წყაროს ზეგავლენით.

ჟანგბადის კონცენტრაცია გავლენას ახდენს მტ-დნმ-ის გენების ექსპრესიაზე სამი განსხვავებული გზით. ციტოქრომ c ოქსიდაზა3-ის მრნმ-ის დონე 2-3 ჯერ მცირდება ანაერობული პროცესის ზრდის დროს მაშინ როდესაც ციტოქრომ c ოქსიდაზა1-ის მრნმ-ის დონე უცვლელია ჟანგბადის განსხვავებული კონცენტრაციის დროს.

საინტერესოა, რომ ციტოქრომ c ოქსიდაზა1p-ის ციტოქრომ c ოქსიდაზა2p-ის ექსპრესიაზე ჟანგბადის კონცენტრაციის ცვლილება გავლენას ახდენს პოსტტრანსკრიფციულ დონეზეც (Costanzo & Fox 1990, Poyton & McEwen 1996).

მიტოქონდრიული ციტოქრომ c ოქსიდაზას გენები რეპრესირდება გლუკოზით, თუმცა ჟანგბადის არსებობის პირობებში მათი გამოწვევა კი ხდება დიაუქსიის დროს (Mueller & Getz 1986, Ulery, Jang & Jaehning 1994). მიტოქონდრიული რნმ-ის შემცირებული სინთეზი ნანახია უფრო რეპრესირებულ უჯრედში ვიდრე დერეპრესირებულში. როგორც იზოლირებულ მიტოქონდრიქში ასევე *in vivo* (Cantwell et al. 1992, Mueller & Getz 1986, Ulery et al. 1994, Zennaro et al. 1985). ციტოქრომ c ოქსიდაზა1-ის მრნმ-ის დონე თითქმის 5-ჯერ იზრდება (Mueller & Getz 1986.) ინდუცირებულ მდგომარეობაში, იგი 20-ჯერ იზრდება როდესაც ციტოქრომ c ოქსიდაზა1, ციტოქრომ c ოქსიდაზა2-ის მრნმ-ის რაოდენობა გაზრდილია 3-ჯერ (Ulery et al. 1994).

მიტოქონდრიული რნმ-ის რეპრესია დამოკიდებულია სამ დამატებით რეგულატორულ მექანიზმზე. პირველი ის რომ მ-რნმს აქვს მნიშვნელოვნად მცირე ნახევრადდაშლის პერიოდი, ვიდრე რ-რნმ-ს (Min & Zassenhaus 1993). მეორე ის რომ მიტოქონდრიულ პრომოტორებს განსხვავებული ტრანსკრიფციული სუბერთეულებით შეუძლიათ ექსპრესიაზე გავლენის მოხდენა (Biswas & Getz 1988, Wettstein-Edwards et al 1986) და ბოლოს მიტოქონდრიული ტრანსკრიფცია გავლენას განიცდის პოლიცისტრონის ტრანსკრიფციული სუბერთეულებით (Mueller & Getz 1986) მტ-დნმ-ის გაზრდილი ასლების რაოდენობა და მიტოქონდრიული რნმ პოლიმერაზა კოდირდება ბირთვული RP041 გენით (Goldthwaite et al 1974, Wilcoxon et al. 1988).

მიტოქონდრიული დნმ-ის გენების დერეპრესია არაპირდაპირ გავლენას განიცდის ზოგიერთი ბირთვული ტრანსკრიფციული ფაქტორით Snf1p, Reg1p, Urr1p -თი SNF1-ში მუტაცია აფერხებს დერეპრესიას, მაშინ როცა, REG URR1-ის მუტაცია მიტოქონდრიული დნმ-ის გენების დერეპრესიის გამომწვევად ითვლება (Ulery et al 1994). საინტერესოა, რომ კატალიზური სუბერთეული Hap4p-ის ზეექსპრესია 2-3 ჯერ ზრდის ციტოქრომ c ოქსიდაზა2-ის მრნმ-ის დონეს და 1,45 ჯერ ციტოქრომ c ოქსიდაზა1-ის მრნმ-ის დონეს რეპრესირებულ უჯრედებში (Lascaris et al 2003) რაც მეტყველებს იმ ფაქტზე რომ Hap კომპლექსი არაპირდაპირ გავლენას ახდენს მტ-დნმ-ის გენთა ექსპრესიაზე.

1.3.6 მიტოქონდრიული ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობის, ტრანსლაციური რეგულაცია

მიტოქონდრიაში ტრანსლაციური მექანიზმის არსებობა შეიძლება ემსახურებოდეს მტ-დნმ-ით კოდირებული ციტოქრომ c ოქსიდაზას

სუბერთეულების სინთეზს. ცილები რომლებიც ძუძუმწოვრების მიტორიბოსომას აფორმირებენ კოდირდებიან ბირთვულ გენომში, ხოლო საფუარებში Var1 ცილა რომელიც წარმოადგენს მცირე რიბოსომული სუბერთეულის კომპონენტს კოდირდება მტ-დნმ-ში. დანარჩენი ცილები რომლებიც საჭიროა მტ-დნმ-ის გენების ექსპრესიისთვის ბირთვით კოდირებადია, მათი სინთეზი ხდება ციტოპლაზმურ რიბოსომებში და შემდგომ ტრანსპორტირდება მიტოქონდრიაში. მიტოქონდრიული ტრანსლაციის შესწავლა შეიძლება მთლიან უჯრედში ციტოპლაზმური რიბოსომების ინჰიბიტორების არსებობის პირობებში, ასევე მისი შესწავლა შესაძლებელია იზოლირებულ მიტოქონდრიაში. (Barrientos et al 2002, Barrientos et al 2004)

ვინაიდან მტ-დნმ-ის გენების ექსპრესიის დეტალური აღწერა *in vitro* სისტემაში შეუძლებელია, ფოქსმა და მისმა კოლეგებმა (Bonney & Fox 2000) *in vivo* გენეტიკურ სისტემაში შეისწავლეს Arg8p გენები, სადაც ამ გენების მუტაცია არ აღინიშნებოდა. Arg8p არის ხსნადი ცილა რომელიც ნორმალურ პირობებში სინთეზდება ციტოპლაზმაში და შემდგომ ტრანსპორტირდება მიტოქონდრიულ მატრიქსში.

სოკოების გენების უმეტესობა რომლებიც მონაწილეობენ მტ-დნმ-ით კოდირებადი სამი ცილის ექსპრესიაში, და რომლებიც აყალიბებენ ფერმენტის ცენტრს, არ გვხვდება უმაგლეს ეუკარიოტებში და მათ შორის ადამიანში. (Solans et al. 2004.) ეს შეიძლება აიხსნას მათი მტ-დნმ-ებისა და მ-რნმ-ებს შორის სხვაობით. მაგალითად სოკოების ციტოქრომ c ოქსიდაზა შეიცავს ინტრონებს მაშინ როცა ადამიანის არც ერთი მტ-დნმ გენები ინტრონებს არ შეიცავს.

მიტოქონდრიით კოდირებადი ციტოქრომ c ოქსიდაზას სუბერთეულების ექსპრესია საჭიროებს ერთი ან ორი ტრანსლაციური ფაქტორის არსებობას. რომელიც სპეციფიკურია ყოველი მ-რნმ-ისთვის. ციტოქრომ c ოქსიდაზა1-ის მ-რნმ-ის ტრანსლაცია საჭიროებს Pet309p-ს (Manthey & McEwen 1995) და Mss51p-ს (Decoster et al. 1990). ციტოქრომ c ოქსიდაზა2-ის მ-რნმ-ის ტრანსლაციაში ჩართულია Pet111p (Poutre & Fox TD 1987), ხოლო ციტოქრომ c ოქსიდაზა3-ის მ-რნმ-ის ტრანსლაციური

აქტივაცია საჭიროებს Pet54p, Pet494p და Pet122p-ს (Costanzo et al 1986., Kloeckener-Gruissem et al 1988).

განსხვავებაა აგრეთვე ადამიანისა და საფუარების მიტოქონდრიულ მ-რნმ-ბის პროცესინგსა და ტრანსლაციაში. საფუარებში ტრანსლაცია იმართება მ-რნმ-სპეციფიკური აქტივატორებით, რომლებიც ურთიერთქმედებენ რიბოსომებთან (Haffter & Fox 1992) და მათი სამიზნე 5' არატრანსლიაციურ რეგიონშია (Sanchirico et al 1998). მაშინ, როდესაც ადამიანების მიტოქონდრიაში ასეთ კავშირს ადგილი არ აქვს. (Attardi & Schatz G 1988) და შესაბამისად სპეციფიკური აქტივატორების არსებობა არ არის დადასტურებული.

მ-რნმ-ის სპეციფიკური ტრანსლაციური აქტივატორები მოქმედებენ მ-რნმ-ის 5'-არატრანსლირებად რეგიონზე და იწყება ტრანსლაცია. (Costanzo & Fox 1988). ეს ტრანსლაციური აქტივატორები შიდა მემბრანის ცილებია და თავის მხრივ შეიძლება იყოს ინტეგრალური, ანუ შიდა ცენტრალური; Pet309p, Mss51p, Pet111p, Pet494p და Pet122p ან პერიფერიული Pet54p (Brown et al 1994, Naithani et al 2003).

ციტოქრომ c ოქსიდაზა1p-ს ექსპრესია რეგულირდება ტრანსლაციურ დონეზე და დამოკიდებულია ციტოქრომ c ოქსიდაზას ანსამბლიის სხვა პარტნიორების არსებობაზე (Barrientos et al. 2002, Barrientos et al., 2004., Perez-Martinez et al., 2003.) ამ ყველაფრიდან გამომდინარე ციტოქრომ c ოქსიდაზა1-ის ექსპრესია ორი გენის კონტროლის ქვეშ იმყოფება ეს გენებია Mss51 და Pet309 (Decoster et al. 1990, Manthey & McEwen 1995). Shy1p -ს ფუნქცია დაკავშირებულია ციტოქრომ c ოქსიდაზა1p-ს სტრუქტურის აწყობასთან, (Barrientos et al 2002, Perez-Martinez et al., 2003, Smith et al. 2005) იგი დიდ ინტერესს იწვევს იმიტომ რომ ადამიანში მისი ჰომოლოგის Surf1p-ს შესწავლა გამოიყენება leigh's სინდრომის სადიაგნოსტიკოდ (Tiranti et al 1998, Zhu et al., 1998). მაშასადამე Pet309p, Mss51p ურთიერთქმედებენ 5' არატრანსლიაციებად რეგიონზე და იწყება ტრანსლაცია (Perez-Martinez et al 2003)., Mss51p საჭიროა ციტოქრომ c ოქსიდაზა1p-ს სინთეზისათვის. (Perez-Martinez et al 2003). Mss51p და

ციტოქრომ c ოქსიდაზა1p აყალიბებენ გარდამავალ კომპლექსს (Barrientos et al., 2004., Perez-Martinez X, et al., 2003) რომლის სტაბილიზაცია ხდება ციტოქრომ c ოქსიდაზა14p-ით, რომელმაც ციტოქრომ c ოქსიდაზა1p-სთან ურთიერთქმედებით შეუძლია მოახდინოს მისი სინთეზის დადმავალი რეგულაცია (Barrientos et al 2004). Mss51p-ის გამოყოფა კომპლექსიდან ხდება იმისთვის რომ წარიმართოს ციტოქრომ c ოქსიდაზა1p-ს სინთეზი ანსამბლიის დაბალ საფეხურზე. ეს კი კატალიზდება Shy1p-ით (Barrientos et al 2004). საფუარებში ციტოქრომ c ოქსიდაზა2p-ის მრნმ-ების ტრანსლაცია გამოიწვევა Pet111p-ით (Mulero & Fox 1993, Poutre & Fox 1987), რომელიც მიტოქონდრიის მემბრანაში გვხვდება მცირე კონცენტრაციით (Green-Willms NS, et al. 2001).

საფუარებში ციტოქრომ c ოქსიდაზა3p-ს სინთეზი იმართება სამი სპეციფიკური ტრანსლაციური აქტივატორებით, Pet54p, Pet122p, Pet494p-ით (Brown et al. 1994, Costanzo Fox 1988) რომელიც ურთიერთქმედებს ციტოქრომ c ოქსიდაზა3p-ის მრნმ-ის 5' არატრანსლიეციებად რეგიონთან. ციტოქრომ c ოქსიდაზა3p-ს სპეციფიკური აქტივატორები ურთიერთქმედებენ რათა ჩამოაყალიბონ ციტოქრომ c ოქსიდაზა3 მ-რნმ აქტივატორული კომპლექსი (Naithani et al. 2003).

1.3.7 კოფაქტორების რეგულაცია

სპილენძი მეტალური პროსტეტული ჯგუფია, რომელიც მნიშვნელოვანია ციტოქრომ ოქსიდაზას აწყობისა და ფუნქციონისთვის (Barros MH and Tzagoloff A. 2002.) ციტოქრომ c ოქსიდაზა შეიცავს სამ სპილენძის ატომს. ორი მათგანი დაკავშირებულია ციტოქრომ c ოქსიდაზა2p-სთან და შეადგენს CuA საიტს. მესამე კი CuB -ს რაც დაკავშირებულია ჰემე a3-ის ჰემ- a ჯგუფთან.

ცოცხალ უჯრედში სპილენძის იონები დაკავშირებულნი არიან მცირე ზომის

ხსნად ცილებთან ე.წ კოპერ-ჩაპერონებთან, რომლებიც პასუხისმგებელი არიან შიდაუჯრედულ სპილენძის ტრეფიკინგზე და კომპარტმენტალიზაციაზე. საფუარების მიტოქონდრიულ აპოენზიმში სპილენძის მიღებასა და ჩართვაში მონაწილეობს სულ მცირე ხუთი ცილა. სამი მათგანი სპილენძის ჩაპერონია და საჭიროა სპილენძის მიტოქონდრიაში მისატანად, ეს ცილებია ციტოქრომ c ოქსიდაზა17p, ციტოქრომ c ოქსიდაზა19p, ციტოქრომ c ოქსიდაზა23p.

ციტოქრომ c ოქსიდაზა17p მცირე ზომის ჰიდროფილური ცილაა რომელიც იკავშირებს სპილენძს (Glerum et al. 1996., Beers, et al. 1997, Heaton et al. 2000, Palumaa et al. 2004.). ამ ცილას აქვს უნარი, რომ სპილენძი ციტოპლაზმიდან გადაიტანოს მიტოქონდრიის შიდა მემბრანულ სავრცეში (Beers et al. 1997, Glerum et al. 1996.). ორი დამატებითი ჩაპერონი აადვილებს სპილენძის ჩართვას ციტოქრომ c ოქსიდაზა Cua და Cub აქტიურ ცენტრში. Sco1p და ციტოქრომ c ოქსიდაზაp, პირდაპირი გზით იღებს სპილენძს ციტოქრომ c ოქსიდაზა17p-დან, (Horng et al. 2004.). აგრეთვე in vitro ექსპერიმენტში Sco1p და ციტოქრომ c ოქსიდაზა11p- ს ხსნად ფორმას აქვს უნარი დაიკავშიროს სპილენძი. (Carr et al. 2002, Nittis et al. 2001). დღეისათვის გაურკვეველია როგორ ხდება სპილენძის გადატანა ამ ცილებს შორის, იმიტომ რომ ფიზიკური ურთიერთკავშირი ამ ცილებს შორის ჯერ-ჯერობით არ არის ნანახი. (Horng et al. 2004). Sco1p და ციტოქრომ c ოქსიდაზა11p მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე ქმნიან სპილენძის დამაკავშირებელ საიტს (Beers et al. 1997, Carr HS, et al. 2005). მეტალჩაპერონები რომლებიც ქმნიან ციტოქრომ c ოქსიდაზა1p-ს Cub საიტს წარმოადგენს ციტოქრომ c ოქსიდაზა11p-ს პროდუქტს (Carr et al. 2002, Hiser et al. 2000) და ის ზოგიერთ პროკარიოტში მონაწილეობს სუბერთეულ 1-ზე და 2-ზე Mg -ის ცენტრის ჩამოყალიბებაში (Hiser et al. 2000). ციტოქრომ c ოქსიდაზა2p-ს Cua ცენტრის ფორმირებაში მონაწილე მეტალჩაპერონები Sco1p-ს პროდუქტს წარმოადგენენ (Glerum et al. 1996.). ნაჩვენებია რომ Sco1p -ს აქვს უნარი დაიკავშიროს როგორც Cu (I) ასევე Cu (II) მაგრამ უცნობია იღებს თუ არა Sco1p ორივე კათიონს, თუ მხოლოდ Cu (I) მონოვალენტურ კათიონს ციტოქრომ c ოქსიდაზა17p-დან (Horng et

al. 2005). Sco1p შესაძლოა მონაწილეობდეს ციტოქრომ c ოქსიდაზა2p-სპილენძ დამაკავშირებელი საიტში ცისტეინის აღდგენაში და ეს აღდგენა საჭიროა კოფაქტორული გაერთიანებისთვის. (Abajian & Rosenzweig 2006, Ye et al. 2005).

ციტოქრომ c ოქსიდაზაში არსებული ჰემ-a განსხვავდება პროტოჰემისაგან (ჰემ-b) იმით, რომ მას ნახშირბადის ფარნეზილის ნაცვლად აქვს ვინილ-ჯგუფი ხოლო C8-ზე მეთილის ჯგუფის ნაცვლად ფორმილი (Caughey et al. 1975). ჰემ-a-ს ბიოსინთეზის გზის პირველი საფეხური ჰემ-0-ში ფარნეზილ-ტრანსფერაზათი კატალიზდება (Tzagoloff et al. 1993.). ჰემ-0-ის ოქსიდაცია ჰემ-a-ზე ორ საფეხურად ხდება პირველი საფეხური ციტოქრომ c ოქსიდაზა15p-თი კატალიზდება ფერედოქსინთან და ფერედოქსინ რედუქტაზასთან ერთად (Barros et al 2001, Barros et al. 2002, Brown et al. 2002).

იქიდან გამომდინარე, რომ ჰემ-a და ციტოქრომ c ოქსიდაზა-კოფაქტორები აყალიბებენ ფერმენტის მეტალურ აქტიურ ცენტრს, შესაძლოა Cu მონაწილეობდეს ჰემ-a-ს ბიოსინთეზში, მათ შორის სპეციფიკური კავშირი არსებობს, მაგრამ უახლესი შესწავლებით ნაჩვენებია იქნა, რომ სპილენძის არსებობა არ მოქმედებს ციტოქრომ c ოქსიდაზას 10p-სა და ციტოქრომ c ოქსიდაზა15p-ს არც ექსპრესიაზე, არც სტაბილურობაზე და არც აქტივობაზე (Morrison et al. 2005). აქედან გამომდინარე ჰემ-0-ისა და ჰემ-a-ს ბიოსინთეზი არ რეგულირდება სპილენძით.

1.3.8 ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის აწყობის განსხვავებული საფეხურების კოორდინაცია

როგორც ზემოთ ვისაუბრეთ, ციტოქრომ c ოქსიდაზას ბიოგენეზი მოიცავს, მთელი რიგი გზების კოორდინაციას, ესენია: მიტოქონდრიული ტრანსკრიფცია, ტრანსლაცია, იმპორტი, და მეტალური მეტაბოლიზმი. ეს პროცესები ძირითადად

მიმდინარეობს მკაცრად განსაზღვრულ მიტოქონდრიულ ნაწილში. უპირველესად მტდნმ-ით კოდირებადი გენების ციტოქრომ c ოქსიდაზა1 ციტოქრომ c ოქსიდაზა2, ციტოქრომ c ოქსიდაზა3-ის ექსპრესია საჭიროებს ტრანსკრიფციისა და ტრანსლაციის მკაცრ ორგანიზაციას, რაც მიიღწევა მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე, აქტიური ტრანსკრიფციის კომპლექსის არსებობით. ტრანსკრიფციასა და ტრანსლაციას შორის კოორდინაცია შედეგია ცილა-ცილოვანი ურთიერთქმედებისა, მათ შორის რნმ პოლიმერაზა და Rpo41p და მატრიქსული ცილა Nam1p რომელიც მონაწილეობს რნმ-ის პროცესინგსა და ტრანსლაციაში და მიტოქონდრიული მემბრანული ცილა Sls1p-ნუკლეოტიდების კომპონენტი, რომელიც აადვილებს მტ-დნმ-ის ურთიერთკავშირს შიდა მემბრანის შიდა მხარეზე (Odeheffer et al. 2001, Rodeheffer & Shadel 2003). საფუარების ორჯიბრიდული მეთოდით ანალიზმა აჩვენა დამატებითი ურთიერთქმედება Nam1p-სა და ციტოქრომ c ოქსიდაზა1-ის ტრანსლაციურ ფაქტორებს Pet309p, Pet111p, Pet494p-ს შორის რომელიც შემდგომ ურთიერთქმედებს Pet54p-სა და Pet122p-სთან. Nam1p-სა და Pet309p-ს ურთიერთკავშირი დასტურდება კოიმუნოპრეციპიტაციის ექსპერიმენტით (Naithani et al. 2003). მტ-დნმ-ით კოდირებადი ციტოქრომ c ოქსიდაზას სუბერთეულის ტრანსლაციის კოლოკალიზაცია აადვილებს ფერმენტის ცენტრის კოორდინირებულ აწყობას (Naithani et al. 2003). ციტოქრომ c ოქსიდაზა2p სინთეზდება როგორც წინამორბედი და საჭიროებს შემდგომ მომწიფებას სანამ ანსამბლიის ფუნქციურ კომპლექსში ჩაერთვება. ციტოქრომ c ოქსიდაზა2p ფორმირებადი წინამორბედი ექსპორტირდება შიდა მემბრანის გასწვრივ oxa1p მექანიზმით. (He & Fox 1997, Hell et al. 1998, Hell et al. 2001) და ციტოქრომ c ოქსიდაზა18-ის პროდუქტით (Souza et al. 2000).

Imp კომპლექსი ფორმირდება სამი სუბერთეულით, რომელშიც KImp1p -ს და Imp2p-ს აქვს განსხვავებული კატალიზური ფუნქცია, განსხვავებული სპეციფიკურობით სუბსტრატის მიმართ (Nunnari et al. 1993, Schneider et al. 1994). Som 1p კი ასტაბილურებს კომპლექსს (Jan et al. 2000). Imp1p პასუხისმგებელია ციტოქრომ c ოქსიდაზა2p-ს პროტეოლიტური დახლეჩისთვის მაგრამ საჭიროებს ორი სხვა

სუბერთეულის არსებობას (Jan et al. 2000, Nolden et al. 2005.).

მტ-დნმ-ით კოდირებადი ციტოქრომ c ოქსიდაზა-ს სამი სუბერთეული ჰიდროფილურია, იმისთვის რომ თავიდან იქნეს აცილებული მატრიქსის ჰიდროფილურ გარემოში არაპროდუქტიული აგრეგაცია, ამ ცილების სინთეზი მკაცრად არის შეუღლებული მემბრანაში ჩართვასთან. oxa1p-ს COOH -ტერმინალური დომენი, ურთიერთქმედებს მიტორიბოსომის დიდ სუბერთეულთან, და ხდება ჰიდროფობური ციტოქრომ c ოქსიდაზას სუბერთეულების ჩართვის გაადვილება სინთეზის შემდეგ, მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაში (Jia et al. 2003, Szyrach et al. 2003.). oxa1p და Mba1p შეთანხმებულად მოქმედებენ, რომ მოაგროვონ შიდა მემბრანაში მიტოქონდრიული რიბოსომები. Mba1p ფუნქციონირებს როგორც რიბოსომული რეცეპტორი. იგი დამოუკიდებლად ურთიერთქმედებს მასთან. (Ott et al 2006) ორივე რიბოსომული სუბერთეული მემბრანასთან დაკავშირებული რჩება oxa1p და Mba1p-ის არარსებობის შემთხვევაშიც, რაც იმას ნიშნავს, რომ ამ ურთიერთკავშირში სხვა ფაქტორებიც უნდა მონაწილეობდნენ (Ott et al 2006), ერთ-ერთი ასეთი დამატებითი ფაქტორი არის ციტოქრომ c ოქსიდაზა11p, რომელიც საჭიროა Cub ცენტრის ფორმირებისთვის ციტოქრომ c ოქსიდაზა1p-ში (Khalimonchuk et al. 2005). საინტერესოა, რომ ციტოქრომ c ოქსიდაზა1p-ს ორი მეტალური აქტიური საიტი ჩამალულია ღრმად მემბრანის ქვედა ზედაპირის ჰიდროფობულ ჯიბეში (Tsukihara et al. 1996, Iwata et al. 1995).

ციტოქრომ c ოქსიდაზა1p-ში ჰემი a₃-ისა და Cu-ის კოფაქტორების ლოკალიზაციიდან გამომდინარე, შეიძლება ვიფიქროთ, რომ ისინი არიან კოტრანსლაციური ჩანართები. (Carr & Winge 2003, Cobine et al 2004).

თანამედროვე მონაცემების თანახმად, სოკოების ჰომოლოგი Shi1p საჭიროა ჰემი a₃-ის ჩართვისთვის და ბინუკლეური ცენტრის სტაბილურობისთვის (Smith et al 2005.).

Cu-a აქტიური საიტი მოთავსებულია მიტოქონდრიის შიდა ზედაპირის ზედა მხარეზე ციტოქრომ c ოქსიდაზა_{2p} დომენში.

ბირთვით კოდირებადი ციტოქრომ c ოქსიდაზას სუბერთეულებისა და ციტოქრომ c ოქსიდაზას ასამბლიის ფაქტორების ციტოქრომ c ოქსიდაზა_{10p}, ციტოქრომ c ოქსიდაზა_{11p}, ციტოქრომ c ოქსიდაზა_{15p}, ციტოქრომ c ოქსიდაზა_{19p} და ციტოქრომ c ოქსიდაზა_{23p}-ს კოლოკალიზაცია მტკიცდება იმ ფაქტით, რომ მისი სინთეზი ხდება ციტოპლაზმური რიბოსომების მიერ და მჭიდროდ არის დაკავშირებული მიტოქონდრიის გარეთა მემბრანასთან. (Marc et al 2007. Margeot et al 2005.).

მიტოქონდრიის შიდა მემბრანას უჯრედულ მემბრანებს შორის ერთ-ერთი ყველაზე უფრო მაღალი ცილოვანი შემცველობა ახასიათებს. ამ მემბრანაში არსებული სუნთქვითი ჯაჭვის და ატფ-სინთაზური კომპლექსის ბიოგენეზი რთული პროცესია და საჭიროებს მემბრანასთან დაკავშირებული სხვადასხვა ცილების (მათ შორის ტრანსლოკაზების და აწყობის ფაქტორების) კოორდინირებულ ფუნქციობას. ამიტომაც გასაკვირი არ არის, რომ არსებობს განსაკუთრებული ”ხარისხის მაკონტროლებელი სისტემა”, რომელიც ამორებს აწყობილი კომპლექსების მიღმა დარჩენილ პოლიპეტიდებს და ამით თავიდან იცილებს მათ სახიფათო დაგროვებას მემბრანაზე. ამ სისტემის მთავარი კომპონენტია ორი მემბრანაში ჩაშენებული AAA, ATP დამოკიდებული პროტეაზა (Arnold & Langer 2002, Claypool & Koehler 2005, Langer et al 2001). AAA პროტეაზები აერთიანებს პროტეოლიტურ და ჩაპერონის მსგავს აქტივობებს, და აყალიბებს მემბრანაში ინტეგრირებულ ხარისხის მაკონტროლებელ საიტებს. უჯრედები რომლებიც არ შეიცავს AAA პროტეაზას, კარგავს ციტოქრომ c ოქსიდაზას აქტივობას. (Suzuki et al 1994, Van Dyck et al 1994). მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე წარმოდგენილია ორი AA პროტეაზა ესენია i-AAA და m-AAA პროტეაზები (Nolden et al. 2005.). i-AA შედგენილია Yme1 სუბერთეულით და აქტიურია ინტრამემბრანულ საიტზე (Leonhard et al 1996.). m-AAA პროტეაზები

შეადგენს ჰეტერო-ოლიგომერულ კომპლექსებს, რომლებიც შედგენილია Yta10 (Afg3)-ითა და Yta12 (Rca1) სუბერთეულებით საფუარებში და კატალიზურ აქტივობას ამჟღავნებენ მატრიქსისკენ (Arlt et al 1996.). ეუკარიოტულ უჯრედში პროტეოლიზი მოდულირდება სხვა მემბრანულ-ცილოვანი კომპლექსით, რომელიც შედგენილია პროჭიბითინებით (Nijtmans et al. 2000, Steglich et al 1999.). დღესდღეობით აღწერილია AAA პროტეაზების კიდევ ერთი როლი, მიტოქონდრიული რიბოსომული ცილა MrpL32 პროცესირდება m-AAA პროტეაზებით და ხელს უწყობს მის დაკავშირებას პრენსამბლურ რიბოსომულ ნაწილთან და ამით ამთავრებს რიბოსომულ ანსამბლუას შიდა მემბრანასთან ახლოს (Nolden et al 2005).

1.3.9 რეტროგრადული რეგულაცია

ბირთვული და მიტოქონდრიული კოორდინაციის მისაღწევად საჭიროა ორმხრივი კომუნიკაცია ორ გენომს შორის, რეტროგრადული რეგულაცია ეს არის ანტეროგრადული სიგნალი ბირთვიდან მიტოქონდრისკენ და კომუნიკაცია საპირისპირო მიმართულებით, რეტროგრადული რეგულაცია მოქმედებს როგორც მიტოქონდრიული ფუნქციონირების სენსორი. ფაქტიურად ის ატარებს ინფორმაციას მიტოქონდრიიდან ბირთვისკენ იმისთვის რომ შეიცვალოს ორგანულების ფუნქციონალური მდგომარეობა (Butow & Avadhani 2004). ზოგიერთი ფაქტორი, რომელიც უზამავლობს რეტროგრადულ რეგულაციას, დახასიათებულ იქნა საფუარებში, სამი დადებითი რეგულატორი მათ შორის-RTG1, RTJ2 და RTJ3 გენები (Jia et al 1997, Liao & Butow 1993) და ოთხი ნეგატიური რეგულატორი (Liu et al 2001, Liu et al. 2003, Tate et al 2002). RTG1-ისა და RTJ3-ის პროდუქტები არის

ტრანსკრიფციული ფაქტორები. რადგან ყველა მიტოქონდრიული გენომით კოდირებადი ცილა არ რეგულირდება RTG გენებით შეიძლება ვივარაუდოთ რომ ამ პროცესში მონაწილეობენ სხვა ფაქტორებიც. (Epstein Et al. 2001)

1.3.10 ციტოქრომ c ოქსიდაზა და მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის (მსჯ) ორგანიზაცია

მონომერული ციტოქრომ c ოქსიდაზას ანსამბლეა პირველი საფეხურია მაქსიმალურად ფუნქციონირებადი ფერმენტის ასაშენებლად, ცნობილია რომ ციტოქრომ c ოქსიდაზა მოქმედებს როგორც დიმერი (Poyton & McEwen 1996). სხვა კომპლექსებთან ის აყალიბებს სუნთქვით ჯაჭვს მაღალ ორგანიზებულ დონეზე .

ელექტრონულ მიკროსკოპით ნაჩვენებ იქნა მსჯ-ს ორი მთავარი სუპერკომპლექსის არსებობა. ხარის გულის მიტოქონდრიაში და აგრეთვე ადამიანის მიტოქონდრიაში ორი ძირითადი სუპერკომპლექსია (Schafer et al. 2006). მსჯ-ს სუპერკომპლექსები შესაძლოა მონაწილეობდნენ ინდივიდუალური კომპლექსების უმთავრესად, I კომპლექსის სტაბილიზაციაში (Acin-Perez et al. 2004, Krause et al. 2004, Schagger et al. 2004, Stroh et al. 2004).

შესწავლებით ნაჩვენებ იქნა რომ იმ გენების დელეცია რომელიც აკოდირებს bc1 კომპლექსის სუბერთეულებს QCR6, QCR9, QCR10, RIP1 და ციტოქრომ c ოქსიდაზას სუბერთეულებს ციტოქრომ c ოქსიდაზა-8, ციტოქრომ c ოქსიდაზა- 12, და ციტოქრომ c ოქსიდაზა- 13 არ მოქმედებს ანსამბლიის სუპერკომპლექსებზე.

1.3.11 დასკვნა

ატფ-ის წყაროს უმეტესი ნაწილი რომელიც საჭიროა ეუკარიოტების უჯრედებში სხვადასხვა პროცესების განსახორციელებლად, არის მიტოქონდრია. ცვლილებებს ციტოქრომ c ოქსიდაზას ანსამბლეაში დიდი გავლენა აქვს უჯრედზე. სხვადასხვა დაავადებების დროს როგორცაა გულის იშემიური დაავადებები, ალცაიმერის, პარკინსონის დაავადებები, აღინიშნება ციტოქრომ c ოქსიდაზას დეფიციტი. (Abajian &Rosenzweig 2006. Acin-Perez et al. 2004) ასეთ პაციენტებში ციტოქრომ c ოქსიდაზას შემცირებული დონე განაპირობებს უჯრედის მიერ ნაკლები ენერჯის წარმოქმნას. მიტოქონდრიები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ აგრეთვე სინაფსური პლასტიურობის პროცესებშიც.

ციტოქრომ c ოქსიდაზას ბიოგენეზის სრულყოფილი ცოდნა, მნიშვნელოვანია როგორც სინაფსური პლასტიურობის ასევე დაავადების მოლეკულური საფუძველების უკეთ შეცნობისათვის.

ციტოქრომ c ოქსიდაზას აწყობაში მონაწილე ცილოვანი მოლეკულების და შესაბამისი გენების სია თითქმის ცნობილია საფუარებში, მაგრამ ეს პროცესი კიდევ ინტენსიურ კვლევას საჭიროებს.

1.4.1 სიცხით შოკირებადი ცილა 90

სიცხით შოკირებადი ცილა 90 (სმც90) განეკუთვნება ატფ-ზე დამოკიდებული, ჰეტეროგენული, ჩაპრონების ოჯახს. (Garrido et al. 2012, Den and Lu 2012). სმც90 არის მხოლოდ ზოგიერთი ცილების ჩაპრონი როგორცაა სტეროიდული ჰორმონების რეცეპტორები და უჯრედული ციკლის კინაზები. უჯრედებში სმც90-ის ექსპრესიის დონე სტრესის საპასუხოდ მატულობს (Buchner 1999).

სმც90-ს ძირითადი როლი აკისრია ზოგიერთი ცილოვანი კომპლექსის აწყობისა და შენარჩუნების პროცესში. ზოგიერთ კომპლექსში ნანახია, რომ სმც90 მოდულირებას უკეთებს კომპლექსურ აწყობას, არასტაბილური ცილების სუბერთეულების სტაბილიზაციით და მისი კომპლექსში გაერთიანების გაადვილებით. ასევე შეიძლება სმც90 იწვევდეს ზოგიერთ კომპლექსში ცვლილებებს, მაგრამ არც ერთ შემთხვევაში სმც90 არ წარმოადგენს საბოლოო აწყობილი კომპლექსის ნაწილს. (Makhnevych 2012)

სმც90 მთელ რიგ უჯრედებში საჭიროა მნიშვნელოვანი ფუნქციის მქონე ცილების ფუნქციონირების, დახვევის, სტაბილურობის, გააქტიურებისთვის და ასევე სასიგნალო ცილებისთვის, რომლებიც ჩართულია უჯრედის გადარჩენის, უჯრედული ციკლის კონტროლის და ტრანსკრიფციული რეგულაციის პროცესში (Pratt 1998).

1.4.2 სმც90-ის სტრუქტურა

სმც90 ჰომოდიმერული ცილა, რომლის თითოეული მონომერი წარმოდგენილია N და C ტერმინალური უბნებისაგან (Minami et. al., 1994). იგი 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. (Den & Lu 2012).

აღსანიშნავია, რომ გარემოში ატფ-ის დამატებისას ან ტემპერატურის მატებასთან ერთად სმც90-ის N ტერმინალური უბანი განიცდის სტრუქტურულ ტრანსფორმაციებს, უახლოვდება და უკავშირდება ერთმანეთს. რაც ნათლად გვიჩვენებს, რომ სმც90 საკმაოდ მოქნილია და შეუძლია სხვადასხვა სტრუქტურული ფორმების მიღება (Maruya et. al., 1999) ხოლო მოცემულ უბანში შესაბამისი ინჰიბიტორების დაკავშირება მოლეკულის ინჰიბირებას იწვევს.

1.4.3 სმც90-ის ძირითადი ფუნქციები

სმც90 უერთდება კალციუმის მიერ გააქტივებულ კალმოდულინს და შემდგომ F-აქტინს უკავშირდება. უჯრედში ამ ურთიერთქმედებას მაშინ აქვს ადგილი, როდესაც ეს სამი ცილა სმც90, F-აქტინი და კალმოდულინი ჭარბი რაოდენობითაა (Nishida, et al., 1986).

სტრესის საპასუხოდ სმც90-ის ექსპრესიის დონე დაახლოებით ათჯერ მატულობს, როგორც ეუკარიოტული, ასევე პროკარიოტული უჯრედების შემადგენლობაში. საფუარის გენეტიკურმა ანალიზმა აჩვენა, რომ სმც90-ს მაღალი კონცენტრაცია აუცილებელ პირობას წარმოადგენს მაღალ ტემპერატურაზე მიკრობის ნორმალური ზრდისთვის. ამრიგად, ორგანიზმის ნორმალური მდგომარეობისას სმც90 ფიზიოლოგიური დონე შესაძლოა წარმოადგენს ბუფერს, რომელიც იცავს ორგანიზმს სითბური შოკის ან სხვა სტრესის დროს არააქტიური ცილების სწრაფი დაგროვებით გამოწვეული დამაზიანებელი შედეგებისაგან.

სმც90 ჩართულია უჯრედის გადარჩენაში და სხვადასხვა სასიგნალო გზაში, რომლებსაც მივყავართ უჯრედის კვდომამდე, აპოპტოზამდე და ნეკროზამდე. ფუნქციურად სმც90 იწვევს შესაფერისი ცილების დახვევას და აღადგენს სამგანზომილებიან ცილოვან სტრუქტურას, რომელიც გადამწყვეტია შემდგომი ტოქსიკური უჯრედული სტრესისთვის (Den & Lu 2012). ნიკოტინით განპირობებულ აპოპტოზში მხოლოდ სმც90 α არის ჩართული, რაც უჩვენა დნმ-ის ფრაგმენტაციამ და კასპაზა-3-ის აქტივაციამ (Sreedhar et. al., 2004).

სმც90 ძუძუმწოვრების ტვინში განვითარებიდან გვიანდელ ასაკამდე ექსპრესირდება. იგი განსაკუთრებით უხვადაა ჰიპოკამპში ვარაუდობენ რომ ეს ცილა მედიატორის როლს ასრულებს ცილების ტრეფიკინგის პროცესში, და სინაფსურ გადაცემაში, მისი მოქმედების მექანიზმი პრესინაფსურ და პოსტსინაფსურ უბნებში ურთიერთდამოუკიდებელია.

სმც90 დიდ როლს თამაშობს აგრეთვე პრესინაფსურ დაბოლოებაში ნეიროტრანსმიტერების გამოთავისუფლებისა და პოსტსინაფსურ მემბრანაზე ამპა რეცეპტორების წრებრუნვის პროცესში (Gerges et al 2004).

სმც90-ის ფუნქციის მოშლა იწვევს სიმსივნის (Len Neckers and Paul Workman 2012) და სხვადასხვა ნეიროდეგენერაციული დაავადებების განვითარებას. (Luo, et al. 2008).

1.5.1 არკ/არგ 3.1 გენის ექსპრესია და მეხსიერება.

არკ/არგ 3.1 არის ეფექტორული, მყისიერი ადრეული გენი, რომელიც მონაწილეობს მეხსიერების კონსოლიდაციაში. ამ გენის კლონირება მოხდა ათეული წლის უკან, თუმცაღა ტვინში მისი ფიზიოლოგიური დანიშნულება ჯერ კიდევ ბუნდოვანი რჩება.

ჰიპოკამპში აფერენტული ბოჭკოების მაღალსიხშიროვანი სტიმულაცია,

სინაფსურ სიძლიერეში იწვევს ხანგრძლივი ცვლილებების პოტენციალს, და ეს ხანგრძლივი ცვლილებების პოტენციალი კორელაციაშია მეხსიერებასთან, (Whitlock et al., 2006) რაც საჭიროებს ნმდა რეცეპტორებიდან კალციუმის ნაკადის გამოთავისუფლებას და ამჟამად რეცეპტორების სწრაფ ჩართვას (Malenka and Nicoll, 1999).

ხანგრძლივი ცვლილებები დამოკიდებული უნდა იყოს, გენთა ტრანსკრიფციის სწრაფ გამოწვევაზე და შემდეგ ცილების სინთეზზე.

ნერვულ სისტემაში ნეირონების აქტივაციის მატებას, ხშირად თან სდევს ზოგიერთი მყისიერი ადრეული გენის ექსპრესია და ეს პროცესი შესაძლოა მონაწილეობდეს სინაფსურ პლასტიკურობასა და მეხსიერების ფორმირებაში.

ელექტროკონვულსიების პროცესების ბიოქიმიური ცვლილებების შესწავლისას პაულ ვორლეის და მისი კოლეგების მიერ იდენტიფიცირებული იქნა რამოდენიმე მყისიერი ადრეული გენი, რომლებიც დღეს დღეობით მოიხსენიება როგორც ეფექტორული მყისიერი ადრეული გენები. (Guzowski, 2002). ეფექტორული მყისიერი ადრეული გენები აკოდირებს ზრდის ფაქტორებს, (ტვინით წარმოებული ზრდის ფაქტორი, β -აქტივინი), სიგნალის გადამტან მოლეკულებს (Homer 1a, Rheb), მეტაბოლურ ფერმენტებს, (COX-2), და უჯრედის ზედაპირულ ცილებს (Arcadlin, Narp). ვორლეის მიერ იდენტიფიცირებული ეფექტორული ადრეული გენებიდან ერთ-ერთს წარმოადგენს არკ-ი (Lyford et al., 1995).

აგრეთვე Dietmar Kuhl-მა ჰიპოკამპიდან გამოყო არკ-ი და უწოდა არგ 3.1 (Link et al., 1995).

თავის ტვინში არგ/არგ 3.1 გენის ექსპრესია იზრდება ძლიერი სინაფსური აქტივობით, ბუნებრივი სტიმულით, კრუნჩხვით, ხანგრძლივი ცვლილებების პოტენციალით, და მეხსიერებასთან დაკავშირებული პროცესებით (Guzowski, 2002).

არგ/არგ 3.1 შერჩევითად ექსპრესირდება წინა ტვინის CaMKII-პოზიტიურ გლუტამატურ ნეირონებში (Vazdarjanova et al., 2006). არგ/არგ 3.1 უკავშირდება და

ფოსფორილდება CaMKII-ის მიერ. (Donaiet al., 2003).

არკ/არგ 3.1 ნანახია პოსტსინაფსურ სიმკვრივეში, ისევე როგორც ბევრ მყისიერადრეულ გენს მის ინდუქციასაც ესაჭიროება ნმდა რეცეპტორების აქტივაცია in vivo-ში. (Link et al., 1995; Steward and Worley, 2001b).

ნანახი იქნა რომ, ახლადსინთეზირებული არკ/არგ 3.1-ის მრნმ სწრაფად გადაადგილდება დენდრიტებში და გროვდება შერჩევითად აქტივირებულ სინაფსებში.

ნმდა რეცეპტორების აქტივაცია არაა არკ/არგ3.1 გენის მრნმ-ის ტრანსკრიფციის გამომწვევი ერთადერთი მექანიზმი. PC12 უჯრედებში და განცალკევებული ჰიპოკამპის ნეირონებში, მემბრანის დეპოლარიზაცია და ამის შემდგომ კალციუმის ნაკადი ვოლტაჟ-დაჭიმურული კალციუმის არხებით ასევე იწვევს არკ/არგ 3.1 –ის მრნმ-ის სინთეზს, ამ მცირე სისტემაში შესაძლოა აგრეთვე -ც-ამფ-მა ჩართოს არკ/არგ 3.1-ის მრნმ-ის სინთეზი, კალციუმი და ც-ამფ- ორივე იწვევს არკ/არგ 3.1-ის ტრანსკრიფციას. MAPKასევე მონაწილეობს ც-ამფ დამოკიდებულ არკ/არგ 3.1-ის აქტივაციაში (Waltereit et al. 2001).

ბოლო დროს ჩატარებულ ექსპერიმენტებში რომელშიც გამოყენებულია როგორც ჰიპოკამპური ანათლები, ასევე ცალკეული უჯრედები, მეტყველებს, იმაზე, რომ არკ/არგ 3.1-ის ტრანსკრიფცია კონტროლირდება ნმდა და ამჟამად რეცეპტორებით. ნმდა რეცეპტორების აქტივაცია ზრდის არკ/არგ3.1 ის დონეს, ხოლო ამჟამად რეცეპტორების აქტივაცია ამცირებს ამ პროცესს, ქოლერის ტოქსინ მგრძნობიარე G ცილის მეშვეობით (Rao et al , 2006)

1.5.2 არკ/არგ 3.1 როგორც აქტიური ნეირონული მარკერი

ნეირომეცნიერების ძირითადი როლი მდგომარეობს ნერვული წრეების, ქცევასთან დაკავშირებაში. ნეირონის დენდრიტებში არკ/არგ 3.1-ის მრნმ-ის ექსპრესია იზრდება ნეირონის სწრაფი აქტივაციის შემდეგ. არკ/არგ 3.1 –ის ექსპრესია შეიძლება გამოყენებულ იქნას, როგორც ნეირონული აქტივატორის მარკერი. 1999წ-ს გუზოვკიმ გამოაქვეყნა ნაშრომი, რომელშიც ის ნეირონული სტრუქტურების შესწავლისას არკ/არგ 3.1 –ს იყენებს როგორც მარკერს (Guzowski et al, 1999) ტემპორალური აქტივობის უჯრედული ანალიზი ხდება *in situ* ფლორესცენტული ჰიბრიდიზაციის (ე.წ. catFISH მეთოდი) მეშვეობით. ბირთვული არკ/არგ 3.1 ის პრემრნმ-ისთვის და ციტოპლაზმური არკ/არგ 3.1-ის მრნმ-ისთვის აქტივობის განსხვავებული დრო ფიქსირდება (Wallace et al, 1998).

catFISH მეთოდით ციტოპლაზმური არკ/არგ 3.1 –ის მრნმ-ის დეტექცია ხდება 20–45 წთ-ის განმავლობაში ისე, რომ ორი ქცევითი ექსპერიმენტის შემდეგ, რომელთა შორის ინტერვალი სულ მცირე 20 წუთია იმ ნეირონებში რომლებიც უფრო აქტიურია ექსპერიმენტის დროს ჩნდება როგორც ბირთვული ასევე ციტოპლაზმური არკ/არგ 3.1 მრნმ (Guzowski et al, 2001).

ამგვარად catFISH –მა შესაძლოა განსაზღვროს ინდივიდუალური ნეირონის აქტივობა, ასევე ასობით აქტიური ნეირონის სივრცობრივი განაწილება და აქტიურ ნეირონთა ანსამბლის კომპლექსის აწყობა (Guzovski et al, 1999).

1.5.3 არკ/არგ 3.1 და ამჰა რეცეპტორების ტრეფიკინგი

თანამედროვე მონაცემებით არკ/არგ 3.1 არეგულირებს ამჰარ-ბის ტრეფიკინგს Chowdhury et al. (2006)–ის შრომების თანახმად ენდოციტოზსა და არკ/არგ 3.1 –ს შორის არის არის პირდაპირი კავშირი. არკ/არგ 3.1 პირდაპირ მოქმედებს მემბრანული ვეზიკულების ენდოციტოზში მონაწილე ცილებზე, ენდოფილინ 3–სა და დინამინ 2–ზე. დინამინ 2, დინამინ გტფაზას ოჯახს მიეკუთვნება. (Praefcke and McMahon, 2004)

დინამინები ფოსფოლიპიდებს უკავშირდება პლექსტრინის (pleckstrin) ჰომოლოგიური დომენის მეშვეობით და მონაწილეობს ცილა–ცილოვან ურთიერთქმედებაში პროლინით მდიდარ დომენებში (Hinshaw, 2000). არკ/არგ 3.1 დინამინ 2–ს უკავშირდება პლექსტრინის ჰომოლოგიურ დომენზე.

ენდორფილინ 3, წარმოადგენს ციტოპლაზმურ Scr-homology3 (SH3)–ის შემცველ ცილას, რომელიც ნანახია პოსტინაპსურ სიმკვრივეებს.

ენდორფილინები ურთიერთქმედებენ დინამინთან და ამფიფისინთან იმისთვის რომ დაარეგულირონ, კლატრინ–დამაკავშირებელი ვეზიკულურ რეციკლიზაცია (Conner and Schmid, 2003). ენდორფილინები ასევე შეიცავს N-ტემინალურ Bin/amphiphysin/Rvs (N-BAR) დომენს, რომლებიც მონაწილეობს მრუდზედაპირიანი ზედაპირის შეცნობაში. BAR დომენს, აქვს ბანანის ფორმა რომელიც ძირითადად უკავშირდება უარყოფითად დამუხტულ მემბრანას (McMahon and Gallop, 2005).

არკ/არგ 3.1 დინამინ-2 ის მსგავსად იკავშირებს ენდორფილინს მაგრამ არა ცილა-ცილოვანი SH3 დომენით, არამედ BAR დომენის მეშვეობით.

ტვინის მრავალ რეგიონში ამჰა რეცეპტორების ეგზოციტოზის და ენდოციტოზის რეგულაცია საფუძვლად უდევს სინაფსურ პლასტიკურობას. (Bredt

and Nicoll, 2003), ამის საფუძველზე Chowdhury-მ გადაამოწმა შესაძლოა თუ არა არკ/არგ 3.1 არეგულირებდეს ამჰა რეცეპტორების ზედაპირულ ექსპრესიას (Chowdhury et al., 2006).

ჰიპოკამპის ცალკეული ნეირონების გამოყენებით მან აჩვენა, რომ არკ/არგ 3.1-ის ზეექსპრესია იწვევს ამჰა რეცეპტორების ზედაპირული ექსპრესიის დაუნრეგულაციას, ამჰა რეცეპტორების ენდოციტოზის გაზრდის ხარჯზე, ამ დროს გადამწყვეტ როლს თამაშობს არკ/არგ 3.1-ის ურთიერთქმედება დინამინ-2 თან და ენდოფილინ-3 თან. მუტირებულ არკ/არგ 3.1-ს რომელსაც არ შეუძლია არც დინამინის და არც ენდოფილინის დაკავშირება ამჰა რეცეპტორების ზედაპირულ ექსპრესიაზე არანაირი გავლენა არ აქვს. არკ/არგ 3.1 -ის ზეექსპრესიას თან შდევს ტოტალური ამჰა რეცეპტორების დაკარგვა. არკ/არგ 3.1 ნოკაუტი თავგების ჰიპოკამპურ ნეირონებში ადგილი აქვს ამჰა რეცეპტორების ზედაპირული ექსპრესიის 2-ჯერ გაზრდას და ენდოციტოზის შემცირებას (Shepherd et al., 2006). ჰიპოკამპის ანათლებში კი არკ/არგ 3.1-ის ზეექსპრესია იწვევს როგორც ამჰა რეცეპტორების ზედაპირული ექსპრესიის ასევე ამჰა რეცეპტორებით მოდულირებადი სინაფსური ტრანსმისიის შემცირებას. ამ დროს არავითარი ცვლილება არ შეიმჩნევა ნმდა და გაზა რეცეპტორებით მოდულირებად სინაფსურ გადატანაში (Rial Verde et al., 2006).

In vivo-ში არკ/არგ 3.1 მყისიერად ექსპრესირდება ძლიერი სინაფსური აქტივობის საპასუხოდ, ამ დროს მაღალსიხშიროვანი სტიმულაცია არკ/არგ 3.1-ის გარდა უნდა ააქტივებდეს მთელ რიგ იმ სასიგნალო კასკადებს, რომლებიც თავის მხრივ უნდა არეგულირებდეს ამჰა რეცეპტორების ტრეფიკინგის რეგულაციაში მონაწილე სხვა მექანიზმებს.

შესაძლოა ამჰა რეცეპტორები უკავშირდებოდნენ PSD 95-ს SH3-GK დომენით, თუ ეს ასეა მაშინ არკ/არგ 3.1-ის ზეექსპრესია უნდა იწვევდეს სინაფსური ამჰა რეცეპტორების შემცირებას (Elias et al., 2006; Schnell et al., 2002).

1.5.4 არკ/არგ 3.1 და სინაფსური პლასტიკურობა

სინაფსური პლასტიკურობის რამოდენიმე ფორმაა ცნობილი, მათ შორისაა გრძელვადიანი პოტენციაცია (გვპ) და გრძელვადიანი დეპრესია (გვდ). პლასტიკურობის ამ განსხვავებულ ფორმაში მონაწილეობს ამავე რეცეპტორები (Bredt and Nicoll, 2003).

დიდი ხნის წინ არსებობდა ვარაუდი, რომ არკ/არგ 3.1 შესაძლოა პირდაპირ მონაწილეობდეს გვპ-ში და შემდგომ მეხსიერების ფორმირებაში, იმიტომ რომ სინაფსური გაძლიერება წინ უძღვის არკ/არგ 3.1-ის სწრაფ მომატებას.

2000 წელს გუზოვსკის შრომების მიხედვით არკ/არგ 3.1 არეგულირებს გვპ-ს მოგვიანო ფაზას (Guzowski et al., 2000). მღვიძარე ვირთაგვის ჰიპოკამპში შეჰყავდათ არკ/არგ 3.1 ანტისენს ოლიგონუკლეოტიდები, ეს ბლოკადა იწვევდა არკ/არგ 3.1-ის მრნმ-ბის ზრდას, რაც უნდა მომხდარიყო მაღლსიხშირიანი სტიმულაციით. ამ მანიპულაციას მცირე გავლენა ჰქონდა გვპ-ზე პირველი ოთხი საათის განმავლობაში, მაგრამ შემდგომში გვპ ქვეითდებოდა და მეხუთე დღეს ბაზისურ დონეს უბრუნდებოდა. ვირთაგვებში რომელშიც ეს ანტისენსი შეჰყავდათ სპეციალური წლის პლატფორმის ტესტის შემდეგ მათში სწრაფადვე აღინიშნებოდა მეხსიერების კონსოლიდაციის გაძნელება. ხოლო იმ ვირთაგვებში რომლებშიც ამ წყლის ტესტიდან 8 საათის შემდეგ შეჰყავდათ აღნიშნული ანტისენსი, ანუ იმ პეროდში როცა არკ/არგ 3.1-ის დონე შემცირებულია, ვლინდებოდა დასწავლის გაძნელება. McIntyre და მისი კოლეგების (2005) კვლევის მიხედვით, დორსალურ ჰიპოკამპში ამ ანტისენსის შეყვანა აძნელებს მეხსიერების შენახვას. Kelly and Deadwyler (2003)-ის ნაშრომის მიხედვით კი ცხოველებს, რომლებიც არიან ძლიერ ტრენირებულები (ანუ ზედმეტად ნავარჯიშები) აქვთ მაღალი არკ/არგ 3.1 მრნმ-ის დონე

საკონტროლოებთან შედარებით. ამ მონაცემების ამტკიცებს ის ფაქტი, რომ არკ/არგ 3.1-ის ნოკაუტ თაგვებს აღენიშნებათ მეხსიერების ზოგიერთი ფორმის (ხანგრძლივი, სივრცობრივი, შიშის და გემოვნების მეხსიერების) დეფიციტი. აგრეთვე არსებობს მონაცემები, რომ არკ/არგ 3.1 არეგულირებს ორიენტაციას (McIntyre et al. 2005). როგორ ახდენს გავლენას არკ/არგ 3.1 მეხსიერების ფორმირებაზე? თანამედროვე მონაცემების მიხედვით ენდოსომების რეციკლიზაცია მონაწილეობს გვპ-ს ექსპრესიის სტაბილურობაში (Park et al. 2004) ხოლო გვდ-ისათვის საჭიროა კლატრინ-დამოკიდებული ენდოციტოზი (Carroll et al. 1999). Chowdhury-ის კვლევის მიხედვით არკ/არგ 3.1 უნდა არეგულირებდეს ამჰა რეცეპტორების ენდოციტოზს და ენდოსომების რეციკლიზაციას, აქედან გამომდინარე გასაკვირი არა არის, რომ არკ/არგ 3.1-ის გენეტიკური მოშლა წინ უძღოდეს გვპ-ს და გვდ მოგვიანო ფაზის დისფუნქციას (Rial Verde et al., 2006).

ნეირონებში კლატრინით მოდულირებადი ენდოციტოზი ხდება ე.წ. ცხელ წერტილებში რომლებიც მოთავსებულია პერისინაფსურად (Blanpied et al., 2002; Racz et al., 2004). იმისათვის რომ მოხდეს კლატრინით მოდულირებადი ენდოციტოზი და გვდ, ცილა 2 კომპლექსის ადაპტორის (ცა2)-ის ჩართვაა აუცილებელი. წინა შრომების მიხედვით, პეპტიდები, რომლებიც აინჰიბირებენ გლუ-ა2 ისა და ცა2-ს შორის ურთიერთქმედებას აფერხებენ გვდს (Bredt and Nicoll 2003). გლუ-ა2-ისა და ცა2-ს შორის ურთიერთქმედების შეფერხება ახდენს გავლენას ასევე არკ/არგ 3.1-ის უნარზე, რომ მოახდინოს ამჰა-თი მოდულირებადი სინაფსური ტრანსმისიის დაუნრეგულაცია. მაშინ როდესაც არკ/არგ 3.1-ის ზეექსპრესია ანათლების კულტურაში იწვევს გლუ-ა2/გლუ-ა3-ის შემცველი ამჰა რეცეფტორების ზედაპირულ დაუნრეგულაციას, ასევე ანათლების კულტურაში არკ/არგ 3.1-ის ზეექსპრესია თრგუნავს გვდ-ს.

ფოსფატაზას ინჰიბიტორები აგრეთვე აფერხებენ გვდ-ს და ასევე არკ/არგ 3.1-ს ხდიან უუნაროს რომ მოახდინოს ამჰა-თი მოდულირებადი სინაფსური

ტრანსმისია(Rial Verde et al., 2006).

არკ/არგ 3.1-ის როლი ასევე იკვეთება სინაფსური პლასტიკურობის ახლად აღმოჩენილ ფორმაზეც -ჰომეოსტაზურ სინაფსურ პლასტიკურობაზე (Davis, 2006). კორტიკალურ და ჰიპოკამპურ კულტურებში ნეირონული აქტივობის ქრონიკული ბლოკირება იწვევს mEPSC-ს ამპლიტუდის გაზრდას (Turrigiano et al., 1998). მექანიზმი, რომელიც ამ ფენომენს უდევს საფუძვლად არ არის ცნობილი. თანამედროვე მონაცემებით, (Stellwagen and Malenka, 2006) ნეირონული აქტივობის ბლოკირება TTX-ით (ვოლტაჟდაჭიშკრული ნატრიუმის არხების მახლოკირებელი) ამცირებს გლუტამატის გამოყოფას და იწვევს გლიიდან ციტოკინ TNF- α -ს გამოყოფას ეს შემდგომში არეგულირებს ამჟამად რეცეფტორით მოდულირებად სინაფსურ ტრანსმისიას დღემდე უცნობი მექანიზმით.

არკ/არგ 3.1-ის ცილოვანი დონის შემცირება კორელაციაშია ამჟამად რეცეპტორების ზედაპირული ექსპრესიის გაზრდასთან, და mEPSC-ს ამპლიტუდის გაზრდასთან, მაშინ როდესაც არკ/არგ 3.1-ის ზეექსპრესია კორელაციაშია ამჟამად რეცეპტორების ზედაპირული ექსპრესიის გაზრდასთან, და mEPSC-ს ამპლიტუდის შემცირებასთან.

მნიშვნელოვანია ,რომ არკ/არგ 3.1-ის მაღალი დონე მიიღწევა ზეექსპრესიით ბლოკირებადი ჰომეოსტაზური სინაფსური პლასტიკურობით (Shepherd et al., 2006). ამ ფაქტების სასიკეთოდ მეტყველებს ის ფაქტი,რომ არკ/არგ 3.1 ნოკაუტ თაგვების კულტურის ნეირონები ავლენენ გაზრდილ ამჟამად რეცეფტორების ზედაპირულ ექსპრესიას.

1.5.6 დასკვნა

გვპ-სთვის და სინაფსური პლასტიკურობის სხვა ფორმისთვის, რომლებიც შესაძლებელია მონაწილეობდეს დასწავლისა და მეხსიერების, პროცესებში საჭიროა სინაფსური მოდიფიკაციები. ეს მოდიფიკაციები მოიცავს ცვლილებებს გენთა ტრანსკრიფციაში და შემდგომ ცილების სინთეზის პროცესში.

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

ამპარ-ებს ფუნდამენტური მნიშვნელობა გააჩნია ტვინის უჯრედების ფუნქციონებაში. რეცეპტორების კლასიფიკაციას ახდენენ ფარმაკოლოგიური და ელექტროფიზიოლოგიური თვისებების მიხედვით. იონოტროპული გლუტამატური რეცეპტორები იყოფიან სამ მთავარ ჯგუფად: პირველ ჯგუფს მიეკუთვნება α -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლპროპიონის მჟავა (ამპა) - მეორე ტიპის რეცეპტორებია N-მეთილ-D-ასტარტატი (ნმდა) - ტიპის რეცეპტორები, ხოლო მესამე ჯგუფს მიეკუთვნება 2-კარბოქსი-3-კარბოქსიმეთილ-4-იზოპროპენილპიროლიდინი (კაინატური) - ტიპის რეცეპტორები. ამპა რეცეპტორებს ფუნდამენტური მნიშვნელობა გააჩნია ნერვული სისტემის ფუნქციონებაში. ისინი მონაწილეობენ სინაფსის ფორმაციასა და სტაბილიზაციაში, მათი ფუნქციის რეგულაცია საფუძვლად უდევს სინაფსურ პლასტიკურობას. ამპმ-რ-ებთან დაკავშირებული ცვლილებები მკაცრი უჯრედული რეგულაციის ქვეშ ხორციელდება. მოლეკულური და უჯრედული მექანიზმებით კონტროლდება მისი პოსტსინაფსური ჩამაგრება და გადატანა, რის გამოც უჯრედის ზედაპირზე მისი აქტიური ფორმის ექსპრესიას აქვს ადგილი (Kessels et. al., 2009).

1.6.2 ამპარ-ის გავრცელება ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში-ში

ამპარ-ები გლუტამატის იონოტროპული რეცეპტორებია, რომლებიც ტვინში განაპირობებენ სწრაფი აღზნებითი გადაცემის უმეტესობას. ისინი ჰეტეროტეტრამერებია და შედგებიან გლუ- α 1-გლუ- α 4 სუბერთეულებისგან.

გლუ-1 სუბერთეული ძირითად როლს ასრულებს ჰიპოკამპურ გრძელვადიან პოტენციაციაში (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).

ზრდასრული ორგანიზმის ჰიპოკამპის ამაგზნებელ სინაფსებში ამპა-რ-ები ძირითადად გლუ-ა1 და გლუ-ა2 სუბერთეულებისგან შედგებიან, ხოლო ზოგიერთ შემთხვევაში გლუ-ა3 და გლუ-ა2 სუბერთეულებისგან. ზრდასრულ ტვინში გლუ-ა2 განიცდის რნმ-ის ედიტინგს, გლუტამინის მაკოდირებელი 607-ე კოდონი ჩანაცვლებულია არგინინის კოდონით (Kask et. al., 1998).

ამპარ-ები ტვინის სხვადასხვა უბანში სხვადასხვა რაოდენობებით არიან გავრცელებული ეს გავრცელება მოიცავს ტვინის შემდეგ უბნებს: ცენტრალური ნერვული სისტემა, ჰიპოკამპი, კორტექსის გარე შრე, ოლფაქტორული უბნები, ლატერალური სექტუმი, ბაზალური განგლია და ამიგდალა (Keinanen et. al., 1990).

გლიაში ამ რეცეპტორების აქტივაციამ შესაძლოა გამოიწვიოს ატფ-ის და აზოტის ოქსიდის გამონთავისუფლება, რომლებიც მოქმედებენ როგორც პარაკრინული და აუტოკრინული მესენჯერები და გავლენას ახდენენ გლიის მორფოლოგიაზე (Ishiuchi et. al., 2001).

ენდოგენური შიდაუჯრედული პოლიამინები ურთიერთქმედებენ ამპარ-ის ღია არხთან თუ მას აკლია გლუ-ა2, რასაც შედეგად მოჰყვება რეცეპტორის ვოლტაჟ დამოკიდებული დაბლოკვა (Bowie, et al., 1998). გლუ-ა2 სუბერთეულის ყოფნა არყოფნამ შეიძლება შეცვალოს ამპარ-ის თვისებები და შესაბამისად სინაპსური გადაცემა.

1.6.3 ამჰა რეცეპტორი და სინაფსური პლასტიკურობა

არსებობს მოსაზრება იმის თაობაზე, რომ ამჰარ-ების სუბერთეულთა სხვადასხვა სახის რეკომპოზიციას ტვინი იყენებს სინაფსური პლასტიკურობისთვის. ამჰარ-ების სიხშირე პლაზმურ მემბრანაზე რეგულირდება ენდოციტოზისა და ეგზოციტოზის პროცესების მეშვეობით (Ehlers, et al., 2000).

ტვინის ნორმალური განვითარება ემყარება ქიმიურ კომუნიკაციას ნეირონებს შორის სპეციალიზირებულ სინაფსურ საიტებზე. გვიანი ემბრიოგენეზიდან მოყოლებულ ტვინში ყოველთვის წარმოიქმნება უდიდესი რაოდენობის სინაფსური კავშირები. ამ სინაფსების უმეტესობა მოქმედებს გლუტამატ-განპირობებული ნეიროტრანსმისიის მეშვეობით. ამ კონტაქტების ადგილზე სინაფსურ ნაპრალში გლუტამატის გამონთავისუფლება წარმოშობს იონთა პოსტსინაფსურ შედინებას, უპირატესად ამჰა და ნმდა რეცეპტორების გააქტივების ხარჯზე. ამ სინაფსების ფორმაციის და მომწიფებისას ხორციელდება მრავალი ურთიერთშეთანხმებული პროცესი, მათ შორის: პრე- და პოსტსინაფსური ცილების სინთეზი და წრებრუნვა, ისევე როგორც კონტაქტური ადგილების სტაბილიზაცია, შესუსტება და არასასურველი კონტაქტების ამოღება. გლუტამატერგული სინაფსის მომწიფების მახასიათებელი თვისება არის ამჰმ და ნმდა რეცეპტორების თანაფარდობის გაზრდა (Ye et. al., 2005).

სინაფსური სტიმულაციის პასუხად პოსტსინაფსურ ნმდარ გავლით უჯრედში კალციუმის შედინება ამჰარ-ების ციკლის ძირეული მარეგულირებელია (Horton, et al., 2004). ამას შედეგად ხდება ამჰარ-ების ტრეფიკინგის ცვლილება.

მაშასადამე ამაგზნებელი სინაფსები ხასიათდებიან ამჰა-ტიპის რეცეპტორების სიგნალის გადაცემით და ნმდა-ტიპის რეცეპტორების გრძელვადიანი ცვლილებების ამოქმედებით სინაფსური გადაცემისას: ორივე ეს ასპექტი შეიძლება ჩართული იყოს,

გვპ და გვდ პროცესებში (Bredt & Nicoll 2003).

გვპ-ს დროს ამპარ-ების (მემბრანაში) ჩასმა ნაჩვენები იქნა CA3-CA1 სინაპსების მაგალითზე და როგორც ჩანს გლუ-ა1 სუბერთეული მნიშვნელოვნადაა ჩართული ამ აქტივობაზე დამოკიდებულ ამპარ-ების სინაპსებისთვის მიწოდებაში გვპ-ს დროს (Hayashi, et al., 2000).

ზოგადად სინაფსების პლასტიკურობა რეგულირდება პრესინაფსურ საიტზე ცვლილებებით ნეიროტრანსმიტერი მოლეკულების გამონთავისუფლების ან პოსტინაფსური ნეიროტრანსმიტერი რეცეპტორების ტიპობრივი, რიცხოვრივი ან თვისობრივი ცვლილებებით.

სინაფსური პლასტიკურობის მოდელების *in vitro* კვლევებისას იდენტიფიცირებული იქნა პოსტინაფსური ამპმ ტიპის გლუტამატური რეცეპტორების რეგულირებული ტრეფიკინგი, როგორც ფართოდ გავრცელებული მექანიზმი აქტიურ დამოკიდებული ცვლილებებისა სინაფსურ ტრანსმისიაში (Bredt & Nicoll 2003). ასევე ცნობილია, რომ სინაფსური ამპარ-ების ტრეფიკინგი დამოკიდებულია სუბერთეულოვან შემადგენლობაზე: სინაფსური სიძლიერე მოიცავს გრძელდაბოლოებიან ამპარ-ის აქტიურ დამატებას სინაფსებზე; სინაფსურ სისუსტეს ადგილი აქვს ყოველი გრძელ ან მოკლედაბოლოების ამპარ-ის სინაფსებიდან აქტიური ენდოციტოზის დროს; და მოკლე დაბოლოების ამპარ-ისაგან შემდგარი გადაცემა სინაფსებში დამოუკიდებელია აქტივობის და სინაფსური სიძლიერის ცვლილებებისგან (Kessels & Malinow 2009).

1.6.4 ამპა რეცეპტორის ფოსფორილირება

ამპარ-ის ფოსფორილირების შედეგად ხდება, რეცეპტორის თვისებების მოდულაცია (Derkach, et al., 1999). გლუ-ა1 სუბერთეულის ფოსფორილირება ხდება C დაბოლოების სერ831-ის ნაშთის კამკII-ით (Lee et. al., 2000) და ეს პროცესი მნიშვნელოვნად ზრდის ჰომომერული გლუ-ა1-ის შემცველი ამპა რეცეპტორის არხის გამტარობას და გლუტამატის დაკავშირების ეფექტურობას. ვინაიდან ამპა-რ-ების არხის გამტარობა იზრდება გვპ-ს დროს (Luthi et. al., 2004) და ამ დროს იზრდება ასევე კამკII-ს ექსპრესია CA1 პირამიდულ ნეირონებში, შესაძლოა კამკII-თი განპირობებული ფოსფორილირება მნიშვნელოვან როლს თამაშობდეს CA1 ჰიპოკამპური გვპ-ის ადრეულ ფაზაში. თუმცა ჩვეულებრივ პირობებში, ჰიპოკამპში გლუ-ა1-ის გარდა ამპა რეცეპტორები ასევე შეიცავენ გლუ-ა2-ს (Holman et. al., 2007).

როდესაც ფოსფორილირება არ ხდება ჰეტერომერული გლუ-ა1 ისა და გლუ-ა2 - ის არხის გამტარობა გაცილებით დაბალია, ვიდრე ჰომომერული გლუ-ა1-ის შემცველის და კამკII-ს ჰეტერომერშიც ძალუმს სერ831-ის ფოსფორილირება, მაგრამ ამ შემთხვევაში ცვლილება არხის გამტარობაზე არ აღინიშნება (Oh et. al., 2005).

თავი 2. სამუშაოს მიზანი

ლიტერატურის მიმოხილვისას ჩვენ განვიხილეთ ის ექსპერიმენტები, რომლის მიზანს წარმოადგენდა წიწილებში მხედველობითი იმპრინგის პროცესის მეხსიერების და დასწავლის პროცესში მონაწილე გენების იდენტიფიკაცია. ეს ექსპერიმენტები ჩატარებული იყო სუბსტრაქციული ჰიბრიდიზაციის გამოყენებით, ნიმუშების მხოლოდ ერთ წყვილზე და იდენტიფიკაციებული იქნა დაახლოებით 40-მდე გენი. ნიმუშების მინიმალური რაოდენობის გამო ეს გენები «კანდიდატ გენებად» მოიხსენიება. ორი მათგანისათვის შემდგომში ნაჩვენები იქნა მეხსიერებისათვის სპეციფიკური ცვლილებები (Solomon et al., 2003). ეს მონაცემები მიუთითებს დანარჩენი კანდიდატი გენების ცილოვანი პროდუქტების შესწავლის აუცილებლობაზე და დიდ მნიშვნელობაზე.

ჩვენი ყურადღება შეჩერდა ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის I და II სუბერთეულებზე. ეს სუბერთეულები მიტოქონდრიული გენომით კოდირდება და მათი მავკოდირებელი მ-რნმ-ის დონე მომატებული იყო კარგად დამსწავლელი წიწილების იმ-ში ცუდად დამსწავლელთან. ამავე ნიმუშებში მომატებული მიტოქონდრიული ტრანსპორტული რნმ-ების დონეები. ლიტერატურის მიმოხილვიდან სჩანს თუ რა დიდი მნიშვნელობა გააჩნია მიტოქონდრიებს სინაფსური პლასტიურობის პროცესებში და ყოველივე ამ მონაცემიდან გამომდინარე ჩვენ ერთ-ერთ მიზანს წარმოადგენდა ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის I და II სუბერთეულების რაოდენობრივი ცვლილებების შესწავლები დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ.

სადისერტაციო ნაშრომის მეორე მიზანს შეადგენს გლუ-ა1-ის რაოდენობრივი ცვლილებებისა და მისი 831-ე სერინის ნაშთზე ფოსფორილირებული ფორმის ცვლილებების შესწავლა. ამ ამოცანის წინაპირობა შემდეგია: ტრენირებიდან 1 საათის

შემდეგ ადგილი აქვს კალციუმ-ალმოდულინ დამოკიდებული პროტეინ ინაზა II ავტოფოროსფორილირებული ფორმის დასწავლისათვის სპეციფიურ მატებას. ამ კინაზას ერთ-ერთ სუბსტრატს გლუ-ა1 წარმოადგენს. მართლაც ჩვენს ლაბორატორიაში ნაჩვენები იქნა, რომ 60 წუთიანი ტრეინინგიდან 1 საათის შემდეგ ადგილი აქვს ამ სუბსტრატის ფოსფორილირებული ფორმის დასწავლისათვის სპეციფიურ მატებას (დ. აფხაზავას სადოქტორო დისერტაცია, ილიას უნივერსიტეტი, 2011 წელი). აქვს ამ ეფექტს ადგილი უფრო ადრე 30 წუთიანი ტრეინინგის შემდეგ?

სშც90 ასევე კანდიდატ გენტა რიცხვს განეუთვნება. თუმცა მის ცვლილებას დასწავილდან 24 საათის შემდეგ ადგილი არ აქვს (დ. აფხაზავას სადოქტორო დისერტაცია, ილიას უნივერსიტეტი, 2011 წელი). იქნებ მისი ცვლილება დროის სხვა წერტილზე ხდება? ეს საკითხი ჩვენი ნაშრომის კიდევ ერთ მიზანს შეადგენდა.

ტრენირებიდან ერთი საათის შემდეგ ადგილი აქვს ადრეული მყისიერი გენის Fos- ის დასწავლისათვის სპეციფიკურ მატებას (McCabe & Horn 1994). მონაწილეობს იმპრინტინგის დასწავლის პროცესში სხვა მყისიერი ადრეული გენი არკ/არგ 3.1? ამ საკითხის მნიშვნელობაზე მიუთითებს აგრეთვე ლიტერატურის მიმოხილვაც სადაც ნაჩვენებია უარყოფითი ავშირი ამჟა რეცეპტორების აქტივაციასა და ამ გენის ექსპორესიის დონეს შორის.

თავი 3. მეთოდები და შედეგები

3.1 ქცევითი მეთოდები:

3.1.1 წიწილების იმპრინტირება და ტვინის ნიმუშების მომზადება

ციტოქრომ c ოქსიდზას სუბერთეულების რაოდენობის განსაზღვრა დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ.

ექსპერიმენტების ეს სერია ჩატარებული იქნა 8 გამოჩეკვის წიწილებზე. წიწილები იჩეკებოდა და ინახებოდა სიბნელეში ტრენინგამდე. 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 მიახლოვებას, გადაადგილების მცდელობა იწვევდა მბრუნავი ბორბლის მოძრაობაში მოყვანას. მიახლოვების 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 მიახლოვების

აქტივობა წითელ ყუთზე ჯამური მიახლოებების აქტივობიდან (როგორც წითელ ყუთზე ასევე ლურჯ ცილინდრზე). თუ მიახლოებების 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 გამოჩვენებაში გამოიყენებოდა არატრენირებულ კონტროლად (ატრკ).

წიწილების დეკაპიტაცია ხორციელდებოდა ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ. თავის ტვინიდან ხდებოდა ოთხი უბნის ამოკვეთა: მარცხენა და მარჯვენა ნახევარსფეროს იმმ-ის და მარცხენა და მარჯვენა ნახევარსფეროს პნ-ის (ნპნ) (Horn 1991; Solomon et al. 1998). ტვინიდან ამოკვეთის შემდეგ ქსოვილის ყოველი ნაწილი დაუყოვნებლივ თავსდება მშრალ ყინულზე.

იმისათვის, რომ ყოველ ექსპერიმენტში ნიმუშები ფარავდნენ უპირატესობის ხარისხს ფართო სპექტრს 50-100-მდე ერთი ნიმუში იღებოდა დაბალი უპირატესობის ხარისხით $> 40 \leq 60$ -ზე; მეორე ნიმუში იღებოდა საშუალო უპირატესობის ხარისხით $> 60 \leq 80$ -ზე; და მესამე ნიმუში მაღალი უპირატესობის ხარისხით > 80 . ასე რომ ყოველ ექსპერიმენტში მაგალითად მარცხენა იმმ-ის ნიმუშები მზადდებოდა ერთი არატრენირებული და სამი ტრენირებული წიწილიდან (ცხადია ეს ნიმუშები არ ერეოდა ერთმანეთს). ვინაიდან იღებოდა ტვინის 4 უბანი, ყოველი ექსპერიმენტი მოიცავდა 16 ნიმუშს. შეგროვების შემდეგ ნიმუშებს ეძლეოდათ კოდური დასახელება და მათი შემდგომი დამუშავება ხდებოდა ბრმათ. ნიმუშები მიიღებულ იქნა 23 ტრენირებული და 8 არატრენირებული წიწილიდან. ცხოველთა რაოდენობა შეესაბამებოდა შესაბამისი სტატისტიკური ანალიზის მინიმალურ მოთხოვნებს.

3.1.2 წიწილების იმპრინტირება და ტვინის ნიმუშების მომზადება ტრენირებიდან 1 საათის შემდეგ გლუ-ა1-ის , მისი ფოსფორილირებული ფორმის, სმც90-ის და არკ ცილის რაოდენობრივი ცვლილებების შესასწავლად

ექსპერიმენტების ეს სერია ჩატარებული იქნა 9 გამოჩვევის წიწილებზე. წიწილების გამოჩვევა, შენახვა, ტრენინგის პირობები და უპირატესობის ტესტის გაზომვა ანალოგიური იყო ზემოთ აღწერილი პირობებისა. განსხვავება მდგომარეობდა ტრენინგის დროში - ამ შემთხვევაში ჩვენ ვახორციელებდით 30 წუთიან ტრენინგს და დეკაპიტაციის დროში - დეკაპიტაცია ხორციელდებოდა ტრენინგიდან 1 საათში. თითოეული ცხოველიდან იღებოდა ტვინის 4 უბანი და უმრავლესობა გამოჩვევაში შესაძლებელი გახდა ტრენირებული წიწილის შერჩევა უპირატესობის ტესტის სამი განსხვავებული მაჩვენებლის მიხედვით. საბოლოო ჯამში ნიმუშები მიღებული იქნა 25 ტრენირებული და 9 არატრენირებული წიწილიდან –სულ 136 ნიმუში. შეგროვების შემდეგ ნიმუშებს ეძლეოდათ კოდური დასახელება და მათი შემდგომი დამუშავება ხდებოდა ბრმათ. ცხოველთა რაოდენობა შეესაბამებოდა შესაბამისი სტატისტიკური ანალიზის მინიმალურ მოთხოვნებს.

3.2 ბიოქიმიური მეთოდები:

სუბუჯრედული ფრაქცია. ამ ცდებისათვის გამოიყენებოდა სუბუჯრედული ფრაქცია, რომელსაც მოცილებული ჰქონდა ბირთვები და დაუშლელი უჯრედები.. წიწილების თავის ტვინის ქსოვილოვანი ნიმუშები ჰომოგენიზირდებოდა (ბუფერის შემადგენლობა; 0.32 მოლი საქაროზა, 20 მმოლი HCl [pH 7.4], 1 მმოლი ეთილენდიამინ-ტეტრაამარმჟავა, 1 მმოლი ნატრიუმის ორთოვანადატი, 0.5 მმოლი ეთილენ გლიკოლ (2-ამინოეთილეთერ)- N,N,N',N'- ტეტრაამარმჟავა და პროტეაზების

და ფოსფატაზების ინჰიბიტორების ნარევი [Sigma]), ცენტრიფუგირდებოდა 1000გ-ზე 10 წთ-ის განმავლობაში დაუშლელი უჯრედებისა და ბირთვების დასალექად. მიღებული სუპერნატანტი გამოიყენებოდა შემდეგი ცდებისათვის. ნატრიუმის დოდეცილსულფატის (ნდს) კონცენტრირებული ხსნარი ემატებოდა ბირთვებ მოცილებულ ჰომოგენატის ფრაქციას იმ რაოდენობით, რომ ნდს-ის საბოლოო კონცენტრაცია 5% ყოფილიყო.

3.2.1 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 ირეცხებოდა კალიუმ-ფოსფატური ბუფერით, რომელიც 0.05% ტვინ-20-ს შეიცავდა. ყველა შემთხვევაში ფილტრის დაუკავშირებელი საიტების ბლოკირებას ვახორციელებდით 5%-იანი ხარის შრატის ალბუმინის ხსნარში ინკუბაციით დამის 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).

ციტოქრომ ოქსიდაზას I და II სუბერთეულების შემთხვევაში

გლუ-ა1-ის და ფ-გლუ-ა1-ის შემთხვევაში იდენტიური ნიმუშები დაიტანებოდა ორ გელზე და განცალავებულად იღებებოდნენ შესაბამისი ანტისხეულებით

სშც90 და არგ3/1-ის შემთხვევაში ერთი ნიტროცელულოზის ფილტრი ორ ნაწილად იჭრებოდა და იღებებოდა შესაბამისი ანტისხეულებით

გამოყენებული ანტისხეულები.

ამჰმ რეცეპტორის I სუბერთეულის და მისი 831-ე ნაშთზე ფოსფორილირებული ფორმის იდენტიფიკაციისათვის გამოიყენებოდა შესაბამისი პოლიკლონური ანტისხეულები კომპანია Millipore -დან (ჯამური გლუა-1-ისათვის Millipore AB1504 და 831-ე ნაშთზე ფოსფორილირებული ფორმისათვის Millipore 04-823).

ციტოქრომ ოქსიდაზას I და II სუბერთეულებისათვის გამოიყენებოდა ანტისხეულები კომპანია Millipore -დან (შესაბამისად A6403 და A6404).

სშც90-იდენტიფიკაციისათვის გამოყენებული ანტისხეულები მიღებული იყო კომპანია Sigma-დან, ხოლო არგ3/1-ის და აქტინის ბლოტინგისათვის გამოყენებული ანტისხეულები კი კომპანია Santa Crus-იდან.

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

ყოველი გელი შეიცავდა წიწილების არატრენირებული ჯგუფის იმ-ის ბირთვებ მოცილებული 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, გლუ-ა1-ის, სმც90-ის და სხვათა) “ფარდობითი რაოდენობა”

3.3 სტატისტიკური ანალიზი

3.3.1 ციტოქრომ c ოქსიდაზა I და II სუბერთეულები

ამ სამუშაოს წინაპირობას წარმოადგენდა სუბსტრაქციული ჰიბრიდიზაციული ექსპერიმენტები (იხ. Solomon et al., 2003), რომელიც ფოკუსირებული იყო იმ-ზე და მის როლზე დასწავლისა და მეხსიერების პროცესებში. ამავე დროს ამ ექსპერიმენტებმა კვლავ აჩვენა რომ პნს არ მონაწილეობდა ამ პროცესებში. ამ ფაქტებზე დაყრდნობით იმ-ის და პნ-ის მონაცემები განცალკავებულად მუშავდებოდა. ცილების სტანდარტიზირებული ფარდობითი რაოდენობები მუშავდებოდა ცვლადთა ანალიზით, სადაც ფაქტორს - ტრენირების მდგომარეობა (ტრენირებული, არატრენირებული წიწილები) წარმოადგენდა. სუბჯგუფების საშუალო მნიშვნელობების შედარება ხორციელდებოდა t-ტესტით.

იგივე მონაცემები მუშავდებოდა რეგრესიული ანალიზით სადაც ცვლად განმსაზღვრელს უპირატესობის ტესტი წარმოადგენდა. იმ შემთხვევებში, როდესაც რეგრესია სარწმუნო იყო, ვატარებდით შემდეგ რეგრესიას სადაც ცვლად გამსაზღვრელს წარმოადგენდა ტრეინინგის მიახლოებით აქტივობა. ამ ანალიზის მიზანს წარმოადგენდა დაგვედგინა იყო თუ არა მართო უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი განმსაზღვრელი ცილის რაოდენობის ცვლილებისა თუ მასში მოტორული აქტივობაც მონაწილეობდა. იმ შემთხვევაში, როდესაც ვსაზღვრავდით 50%-ის შესაბამისი ცილის რაოდენობას, ვიყენებდით უმცირეს კვადრატთა რეგრესიას. კორელაციის კოეფიციენტების შედარებისას ვიყენებდით ფიშერის ტრანსფორმაციას χ^2 სტატისტიკურ ტესტს (Snedecor and Cochran 1989)

3.3.2 სშც90, არკ/არგ 3.1 ჯ-გლუ-ა1 და ფ-გლუ-ა1, ჯ/ფ გლუ-ა1.

იმმ-ს და პნს-ს შორის ფუნქციური განსხვავების გამო (იხ. შესავალი) ამ ორი უბნის მონაცემები განცალკევებულად ანალიზდებოდა. მონაცემები ანალიზდებოდა ცვლადთა ანალიზით 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.

სშც90, არკ/არგ 3.1 ჯ-გლუ-ა1 და ფ-გლუ-ა1, ჯ/ფ გლუ-ა1-ის ფარდობით რაოდენობების ურთიერთკავშირები დასწავლის სიძლიერესთან ცალ-ცალკე ექვემდებარებოდა კორელაციულ ანალიზს.

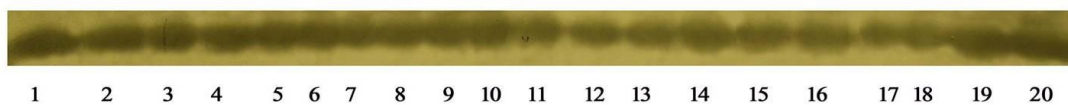
თავი 4. შედეგები

4.1.1 ციტოქრომ c ოქსიდაზა, I და II სუბერთეული - ქცევა და იმუნოშეღებვა

ტრენირებული წიწილების უპირატესობის ტესტის საშუალო მაჩვენებელი შეადგენდა 75.73 ± 3.54 (საშუალოს სტანდარტული შეცდომა). ეს მნიშვნელობა სარწმუნოდ განსხვავდება არა-უპირატესობის მაჩვენებელი 50-ისაგან ($F_{1,21} = 52.83, P < 0.001$). ტრენირების დროს ადევნების საშუალო მაჩვენებელი შეადგენდა 227.88 ± 33.89 მეტრს. უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი და ადევნების აქტივობას შორის არ შეიმჩნეოდა სარწმუნო ურთიერთკორელაცია ($r_{20} = -0.37, P = 0.090$).

ანტისხეულები ციტოქრომ ოქსიდაზას I სუბერთეულის მიმართ ურთიერთქმედებენ ცილოვან მოლეკულასთან 57 კდა, ხოლო ანტისხეულები ციტოქრომ ოქსიდაზას II სუბერთეულის წინააღმდეგ ცილოვანი მოლეკულასთან 30 კდა (იხილეთ სურათი 2 ა.ბ.). ანტისხეულები ჯამური აქტინის წინააღმდეგ ურთიერთქმედებენ ცილოვან მოლეკულებთან წონით 43 კდა (სურათი 2 გ.). იმუნოშეღებვის ეს პატერნი თანხმობაშია საკვლევი ცილების მახასიათებლებთან. შეღებვა ანტისხეულებით ჯამური აქტინის წინააღმდეგ ადასტურებს იმას, რომ დატანილი იყო ცილების ტოლი რაოდენობები.

ა ციტოქრომ C ოქსიდაზა-I



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

ბ ციტოქრომ C ოქსიდაზა-II



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

გ აქტინი



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

სურ.2 ა,ბ, გ. ციტოქრომ C ოქსიდაზა-I-ის (ა),ციტოქრომ C ოქსიდაზა-II-ის (ბ) და აქტინის (გ) ანტისხეულებით შეღებვის აუტორადიოგრამის ტიპური სურათი. ხაზების ოპტიკური სიმკვრივე ხაზობრივ დამოკიდებულებაშია ცილის რაოდენობასთან, თვითოეული ხაზი ერთ ნიმუშს წარმოადგენს. ხაზები 1-4 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი > 80-ზე, ხაზები 5-8 მდე წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი <80-ზე და >60-ზე, ხაზები 9-12 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი >40-ზე და < 60-ზე, ხოლო ხაზები 13-16 წარმოადგენენ არატრენირებული წიწილების ნიმუშებს.

უპირატესობის ტესტის თვითოეულ ფარგალში და არატრენირებული წიწილების ჯგუფში ნიმუშები წარმოდგენილია შემდეგი თანმიმდევრობებით: მარცხენა იმმ, მარჯვენა იმმ, მარცხენა პნ, და მარჯვენა პნ. შინაგანი სტანდარტები-(შს), 15, 30, 45, და 60 მკგ.

4.1.2 ციტოქრომ c ოქსიდაზა, I და II სუბერთეული- ზოგადი მიმოხილვა

თვითოეული ცილოვანი მოლეკულისათვის, ტვინის უბნისათვის და ტრენირების მდგომარეობისათვის (ტრენირებული და არატრენირებული), *t*-ტესტის, საშუალო მნიშვნელობების და საშუალოს სტანდარტული შეცდომის მნიშვნელობები მოცემულია ცხრილ 1-ში.

ჩვენ შევადარეთ ამ სუბერთეულების საშუალო რაოდენობები მარცხენა ნახევარსფეროს იმ-ში მარჯვენა ნახევარსფეროსთან ერთი და იგივე ტრენინგის მდგომარეობისათვის (მაგალითად, ციტოქრომ c ოქსიდაზას I სუბერთეულის რაოდენობა არატრენირებულებში) და ანალოგიური შედარებები განცახორციელეთ პნს-ისათვის. არცერთ შემთხვევაში სარწმუნო განსხვავებებს ადგილი არ ჰქონიათ ($P > 0.05$). ამ მიზეზის გამო ჩვენ გავაერთიანეთ მარცხენა და მარჯვენა ნახევარსფეროს მონაცემები მოცემული ცილისათვის მოცემულ პირობებში.

არა ყველა ტრენირებული წიწილა სწავლობს იმპრინტ-ობიექტის მახასიათებლებს (მაგალითისათვის იხილეთ McCabe and Horn, 1988, McCabe and Horn, 1994, Solomon et al., 2003). ამის გამო ჩვენ ვატარებდით აგრეთვე კორელაციურ ანალიზს, რომლის მიზანს წარმოადგენდა გაგვეჩვენა დაკავშირებული იყო თუ არა ცილის რაოდენობის ცვლილებები დასწავლის მაჩვენებლთან (უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი). ასეთი ტიპის ანალიზებმა წინა სამუშაოებში წარმოაჩინა განსხვავებები მარცხენა და მარჯვენა ნახევარსფეროს იმ-ებს შორის ამ დამოკიდებულების მიხედვით (იხილეთ Solomon et al., 1998, Solomon et al., 2003). ამ მიზეზის გამო კორელაციური ანალიზი განცალკავებულად ტარდებოდა მარცხენა და მარჯვენა ნახევარსფეროს იმ და პნ რეგიონებისათვის.

პნ-ში ციტოქრომ ოქსიდაზა I სუბერთეულის გარდა არცერთი კორელაცია ცილის რაოდენობასა და ტრენირების დროს მიახლოების აქტივობაზე არ იყო სარწმუნო.

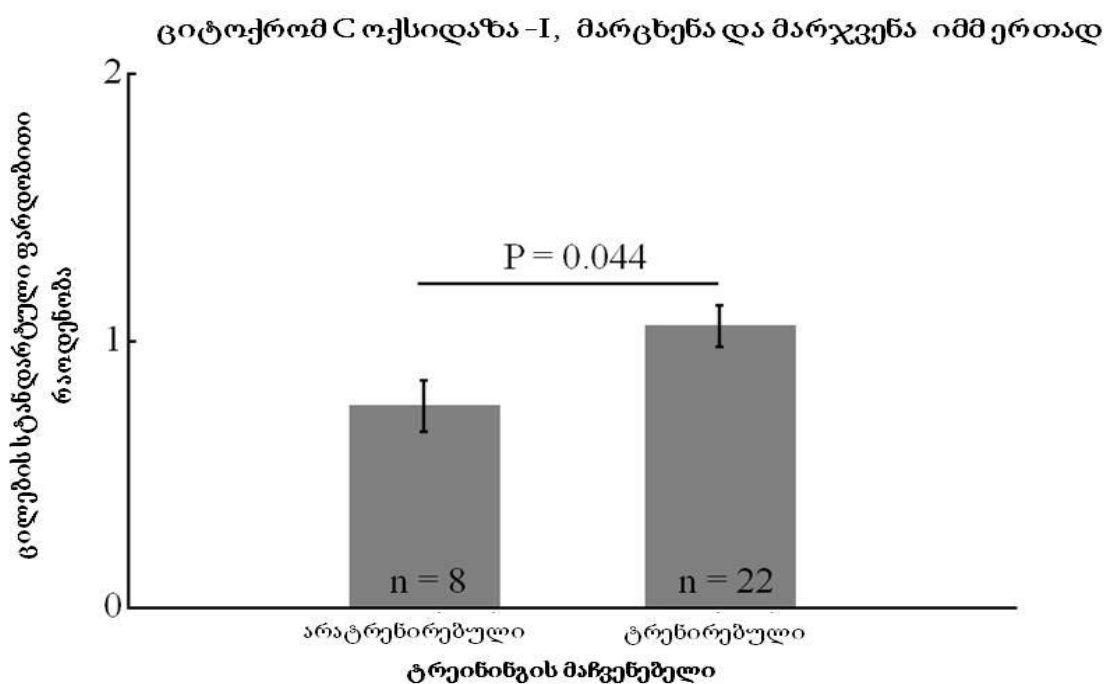
ცილოვანი მოლეკულა	რეგი ონი	მხარე	ტრენირების მდგომარეობა	საშუალო	სსც	<i>n</i>	<i>F</i>	თხ	<i>P</i>
CO-I	იმმ	მარცხენა	არატრენირებული	0.70	0.074	8			
		მარცხენა	ტრენირებული	1.10	0.096	22	5.78	28	0.023
	პნ	მარცხენა	არატრენირებული	1.18	0.11	8			
		მარცხენა	ტრენირებული	1.01	0.087	22	1.13	28	0.30
	იმმ	მარჯვენა	არატრენირებული	0.81	0.14	8			
		მარჯვენა	ტრენირებული	1.01	0.11	22	0.96	28	0.34
	პნ	მარჯვენა	არატრენირებული	1.19	0.20	7			
		მარჯვენა	ტრენირებული	0.99	0.083	21	1.39	26	0.25
	იმმ	მარცხენა&მარჯვენა	არატრენირებული	0.76	0.096	8			
		მარცხენა&მარჯვენა	ტრენირებული	1.05	0.079	22	4.45	28	0.044
პნ	მარცხენა&მარჯვენა	არატრენირებული	1.15	0.13	7				
	მარცხენა&მარჯვენა	ტრენირებული	1.016	0.069	21	2.70	28	0.11	
CO-II	იმმ	მარცხენა	არატრენირებული	0.66	0.086	7			
		მარცხენა	ტრენირებული	1.04	0.070	18	10.85	23	0.003
	პნ	მარცხენა	არატრენირებული	0.93	0.13	6			
		მარცხენა	ტრენირებული	1.15	0.070	20	2.79	24	0.11
	იმმ	მარჯვენა	არატრენირებული	0.88	0.13	5			
		მარჯვენა	ტრენირებული	1.01	0.061	20	1.28	23	0.27
	პნ	მარჯვენა	არატრენირებული	0.75	0.15	7			
		მარჯვენა	ტრენირებული	1.04	0.072	19	4.64	24	0.041
	იმმ	მარცხენა&მარჯვენა	არატრენირებული	0.77	0.11	5			
		მარცხენა&მარჯვენა	ტრენირებული	1.03	0.057	18	6.67	21	0.017
პნ	მარცხენა&მარჯვენა	არატრენირებული	0.83	0.12	6				
	მარცხენა&მარჯვენა	ტრენირებული	1.10	0.059	19	6.15	23	0.021	

ცხრილი-1. ცილების სტანდარტიზირებული ფარდობითი რაოდენობების შედარება ტრენირებულ და არატრენირებულ წიწილებს შორის. მონაცემები გამოსახულია საშუალო მნიშვნელობებით და საშუალოს სტანდარტული ცდომილებით და მოცემულია რეგიონის, ნახევარსფეროს და ტრენირების მდგომარეობის მიხედვით. მოცემულია აგრეთვე: *n* - ნიმუშების რაოდენობის, *F* - ცვლადთა ფარდობის, თ.ხ. - თავისუფლების ხარისხის, სსც-საშუალოს სტანდარტული ცდომილება, *P* - ალბათობის მონაცემები. სარწმუნო ცვლილებები გამუქებულია.

ცილოვანი მოლეკულა	კორელაცია	რეგიონი	მხარე	<i>R</i>	<i>P</i>	თხ
CO-I	(i) ცილის რაოდენობა უპირატესობის ტესტთან	იმმ	მარცხენა	0.553	0.0076	20
		პნ	მარცხენა	0.24	0.28	20
		იმმ	მარჯვენა	0.29	0.19	20
		პნ	მარჯვენა	-0.11	0.63	19
		იმმ	მარცხენა&მარჯვენა	0.55	0.008	20
		პნ	მარცხენა&მარჯვენა	0.002	0.99	19
	(ii) ცილის რაოდენობა ტრენირების დროს მიახლოების აქტივობაზე	იმმ	მარცხენა	-0.20	0.38	20
		პნ	მარცხენა	-0.43	0.046	20
		იმმ	მარჯვენა	-0.40	0.066	20
		პნ	მარჯვენა	-0.31	0.17	19
		იმმ	მარცხენა&მარჯვენა	-0.41	0.061	20
		პნ	მარცხენა&მარჯვენა	-0.52	0.015	19
CO-II	(i) ცილის რაოდენობა უპირატესობის ტესტთან	იმმ	მარცხენა	0.43	0.078	16
		პნ	მარცხენა	0.38	0.10	18
		იმმ	მარჯვენა	-0.23	0.33	18
		პნ	მარჯვენა	0.28	0.24	17
		იმმ	მარცხენა&მარჯვენა	0.15	0.54	16
		პნ	მარცხენა&მარჯვენა	0.37	0.12	17
	(ii) ცილის რაოდენობა ტრენირების დროს მიახლოების აქტივობაზე	იმმ	მარცხენა	-0.13	0.61	16
		პნ	მარცხენა	0.037	0.88	18
		იმმ	მარჯვენა	0.24	0.31	18
		პნ	მარჯვენა	-0.11	0.66	17
		იმმ	მარცხენა&მარჯვენა	0.066	0.79	16
		პნ	მარცხენა&მარჯვენა	-0.069	0.78	17

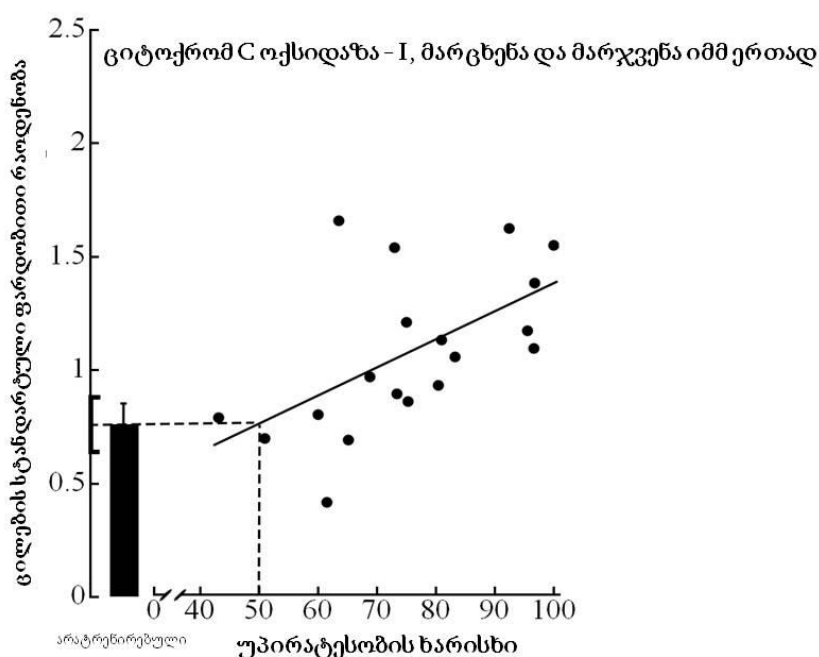
ცხრილი-2. ცილის სტანდარტიზირებული ფარდობითი რაოდენობების კორელაცია უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე და ტრენირების დროს მიახლოების აქტივობაზე. მონაცემები მოცემული რეგიონისა და ნახევარსფეროს მხარეს მიხედვით. *r*, კორელაციის კოეფიციენტი, ; *P*, ალბათობა (სარწმუნო მონაცემები გამუქებულია); თხ- თავისუფლების ხარისხი.

4.1.3 ციტოქრომ C ოქსიდაზა I სუბერთეული -იმმ

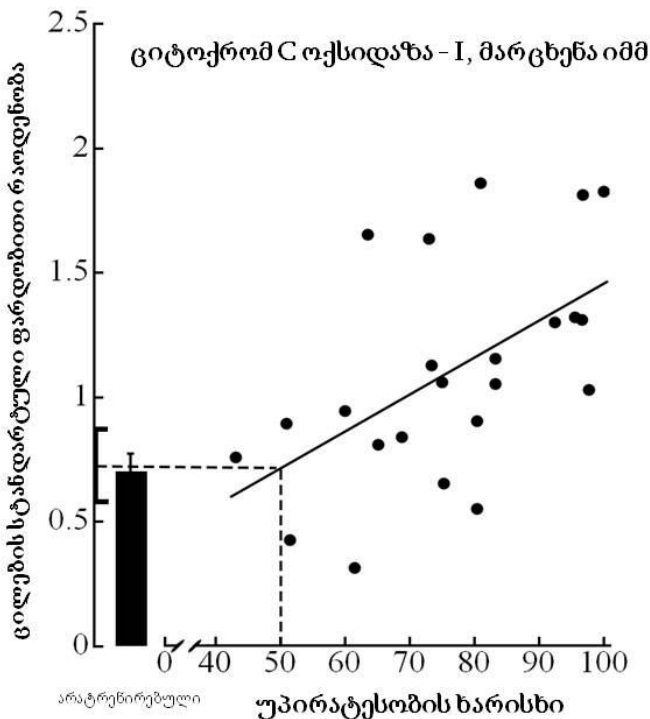


სურ. 3. ციტოქრომ c ოქსიდაზას I სუბერთეულის საშუალო მაჩვენებლები იმმ-ში. წიწილების ორი ჯგუფი შედარებული იყო ცვლადთა ანალიზის მიხედვით ($F_{1,28} = 4.45$, $P = 0.044$). ციტოქრომ ოქსიდაზა I სუბერთეულის საშუალო რაოდენობა ტრენირებულ წიწილებში 38%-ით უფრო მაღალი იყო ვიდრე არატრენირებულებში (სურათი 3).

ტრენირებულ წიწილებში ციტოქრომ ოქსიდაზა I სუბერთეულის რაოდენობა სარწმუნოდ იზრდებოდა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებლთან ერთად (სურათი 4). ამავე დროს ცილის ინტერპოლირებული რაოდენობა უპირატესობის მაჩვენებლის 50%-იან მაჩვენებელზე სარწმუნოდ არ განსხვავდება არატრენირებული წიწილების საშუალო მაჩვენებლისაგან. უპირატესობის ტესტის ეს მაჩვენებელი იმ წიწილების მაჩვენებელია, რომელიც გაიარეს ტრენირება მაგრამ ვერ ისწავლეს მხედველობითი იმპრინტ-სტიმულის მახასიათებლები. ყველა ეს მონაცემი მიუთითებს იმაზე, რომ ციტოქრომ ოქსიდაზა I-ის რაოდენობა დასწავლის სიძლიერის ზრდასთან ერთად იზრდება.



სურ. 4. ციტოქრომ C ოქსიდაზა- I-ის მარცხენა და მარჯვენა იმმ-ს დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტთან, ტრენირებულ წიწილებში, თვითოეული წერტილი შეესაბამება ცალკეული ნიმუშის მონაცემს, ციტოქრომ C ოქსიდაზა- I-სა და უპირატესობის ტესტს შორის სარწმუნო კორელაციაა ($r_{20} = 0.547$, $P = 0.0084$). ნაჩვენებია უმცირეს კვადრატთა რეგრესიის ხაზი. დაშტრიხული ხაზი მიუთითებს ”არანაირი უპირატესობის ხარისხ“-50-ს რაც აღნიშნულია რეგრესიის ხაზზე. ნავარაუდები მაჩვენებელი 0.74 ± 0.12 სარწმუნოდ არ არის განსხვავებული საშუალო მნიშვნელობისგან არატრენირებულ წიწილებში (0.76 ± 0.096) რომელიც ნაჩვენებია ვერტიკალურ შავ ხაზზე.



სურ. 5. ციტოქრომ C ოქსიდაზა- I-ის ფარდობითი რაოდენობის დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მარცხენა იმმ-ში. ციტოქრომ C ოქსიდაზა- I-სა და უპირატესობის ტესტს შორის ადგილი აქვს სარწმუნო კორელაციას. ($r_{20}=0.553$, $P=0.0076$). მაგრამ სარწმუნო სხვაობა არ იყო, ციტოქრომ C ოქსიდაზა- I-სა და "არანაირი უპირატესობის ხარისხ"-50-ს შორის (0.71 ± 0.15) და საშუალო მაჩვენებელი (0.70 ± 0.074) არატრენირებულ წიწილებში. მარჯვენა იმმ სთვის კორელაცია არ იყო სარწმუნო ($r_{20} = 0.29$, $P = 0.19$).

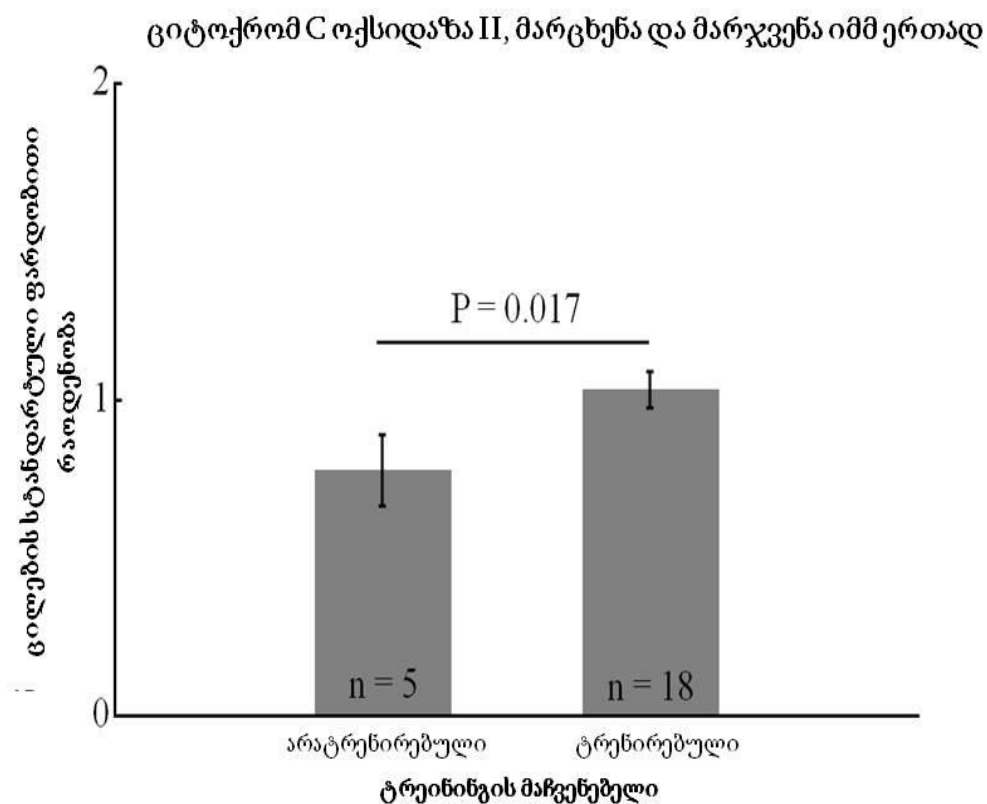
ანალიზის შემდგომ ეტაპზე ჩვენ მოვახდინეთ ციტოქრომ ოქსიდაზა I-ის რაოდენობრივი ცვლილებების ანალიზი ჰემისფეროების მიხედვით. მარცხენა ნახევარსფეროს იმმ-ისათვის კორელაცია კვლავ სარწმუნოდ დარჩა და ასევე ცილის ინტერპოლირებული რაოდენობა უპირატესობის მაჩვენებლის 50%-იან მაჩვენებელზე სარწმუნოდ არ განსხვავდება არატრენირებული წიწილების საშუალო მაჩვენებლისაგან (იხილეთ სურათი 5).

მარჯვენა ნახევარსფეროსათვის კორელაცია სარწმუნო არ იყო. ეს მიუთითებს იმაზე, რომ მარცხენა ნახევარსფეროს იმმ წარმოადგენს მთავარი “წვლილის” შემტანს ორივე ნახევარსფეროს გაერთიანებული მონაცემების სარწმუნო კორელაციაში.

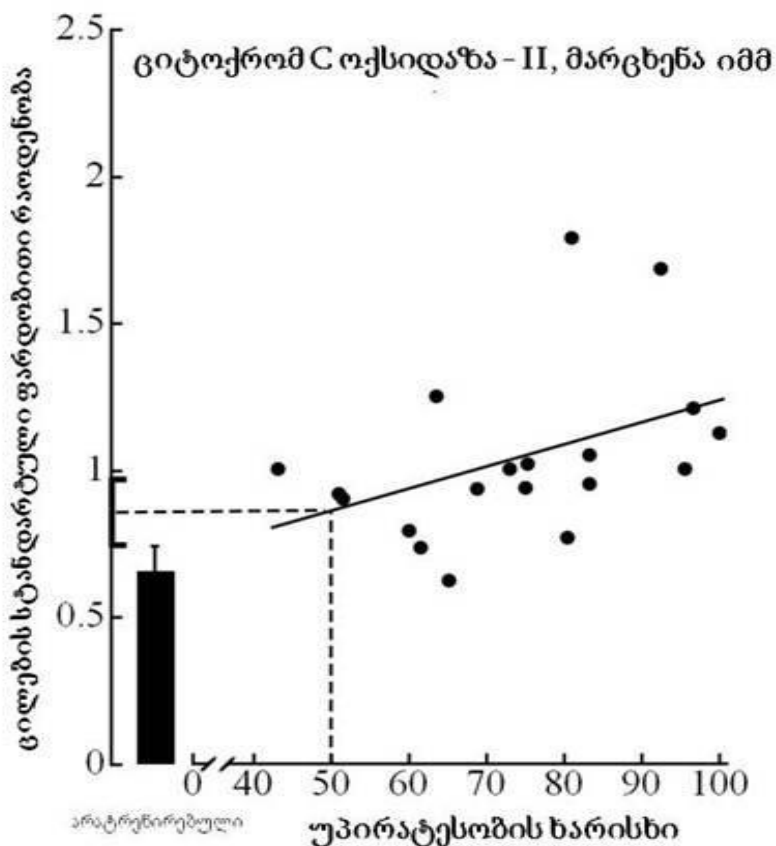
4.1.4 ციტოქრომ c ოქსიდაზა II სუბერთეული

ტრენირებულ წიწილებში ციტოქრომ c ოქსიდაზა II-ს საშუალო დონე 34%-ით უფრო მაღალი იყო ვიდრე არატრენირებულებში (სურათი 6 და ცხრილი 1). ტრენირებულ წიწილებში ორივე ნახევარსფეროს გაერთიანებული მონაცემისათვის ცილის რაოდენობის კორელაცია უპირატესონის ტესტის მაჩვენებელზე სარწმუნო არ იყო (იხილეთ ცხრილი 2).

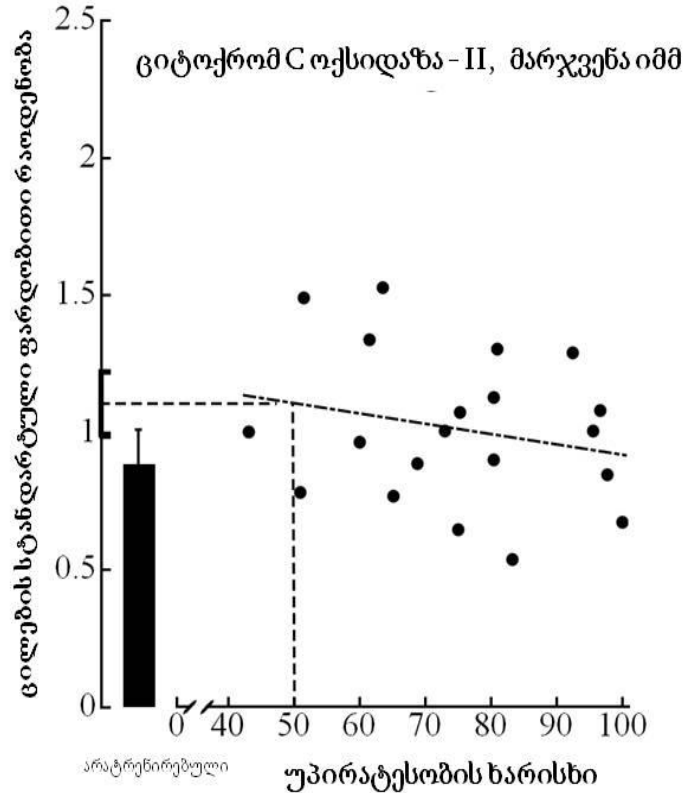
მონაცემების ნახევარსფეროების მიხედვით განცალკავებულმა ანალიზმა აჩვენა რომ მარცხენა ნახევარსფეროს იმმ-ში კორელაცია დადებითია და სარწმუნოა ცალმხრივი ტესტის მიხედვით (სურათი 7). ცილის ინტერპოლირებული რაოდენობა უპირატესობის მაჩვენებლის 50%-იან მაჩვენებელზე სარწმუნოდ არ განსხვავდება არატრენირებული წიწილების საშუალო მაჩვენებლისაგან. მარჯვენა ნახევარსფეროს იმმ-ისათვის კორელაცია უარყოფითია და არასარწმუნო (სურათი 10). მარცხენა და მარჯვენა ნახევარსფეროს კორელაციის მრუდები ერთმანეთისაგან სარწმუნოდ განსხვავდებიან.



სურ. 6. ნაჩვენებია ციტოქრომ C ოქსიდაზა- II-ის დონე (საშუალო მაჩვენებელი \pm სსც) ტრენირებულ და არატრენირებულ წიწილებში მარჯვენა და მარცხენა იმმ ერთად. N არის ნიმუშების რიცხვი. წიწილების ორი ჯგუფი შედარებული იყო ცვლადთა ანალიზის მიხედვით ($F_{1,21}=6.67$, $P=0.017$).

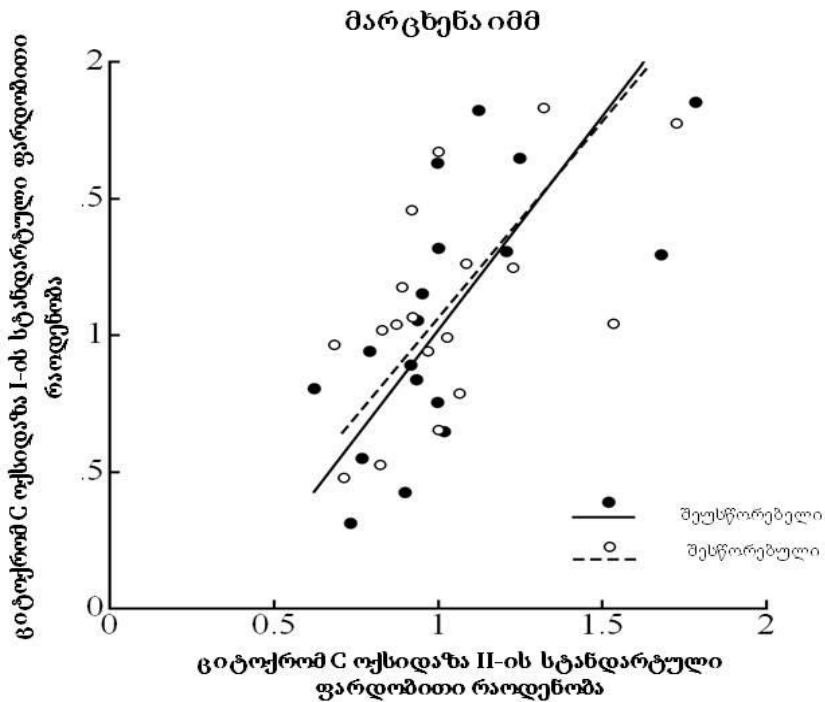


სურ. 7. ციტოქრომ C ოქსიდაზა-II სუბერთეულის ფარდობითი რაოდენობის დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტთან მარცხენა იმმ-ში. თვითოეული წერტილი შეესაბამება ცალკეული ნიმუშის მონაცემს. ცალმხრივი ტესტის მიხედვით ციტოქრომ C ოქსიდაზა- II სუბერთეულსა და უპირატესობის ტესტს შორის სარწმუნო კორელაციაა ($r=0.43$, $P=0.039$). ნაჩვენებია უმცირეს კვადრატა რეგრესიის ხაზი. დაშტრიხული ხაზი მიუთითებს "არანაირი უპირატესობის ხარისხ"-50-ს რაც აღნიშნულია რეგრესიის ხაზზე. გამოთვლილი მაჩვენებელი (0.86 ± 0.12) სარწმუნოდ არ არის განსხვავებული საშუალო მნიშვნელობისგან არატრენირებულ წიწილებში (0.66 ± 0.086), რომელიც ნაჩვენებია ვერტიკალურ შავ ხაზზე.



სურ. 8. ციტოქრომ C ოქსიდაზა- II ის ფარდობითი რაოდენობის დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მარჯვენა იმმ-ში. ციტოქრომ C ოქსიდაზა- I-სა და უპირატესობის ტესტს შორის ადგილი არ აქვს სარწმუნო კორელაციას. ($n_8 = 0.23$, $P = 0.33$ ორმხრივი ტესტი, $P=0.17$ ცალმხრივი ტესტი.), ციტოქრომ C ოქსიდაზა-II-სა ”არანაირი უპირატესობის ხარისხ“-50-ს გამოთვლილ მაჩვენებლსა და არატერნირებული წიწილების საშუალო მაჩვენებლს შორის სარწმუნო სხვაობას ადგილი არ ჰქონდა (შესაბამისად საშუალო მაჩვენებელი 1.10 ± 0.11 ; 0.88 ± 0.13 ; $t_{22}=1.32$, $P=0.20$). მნიშვნელოვანი განსხვავებაა მარცხენა და მარჯვენა იმმს რეგრესიის ხაზებს შორის ($F_{1,16}=6.84$, $P=0.019$).

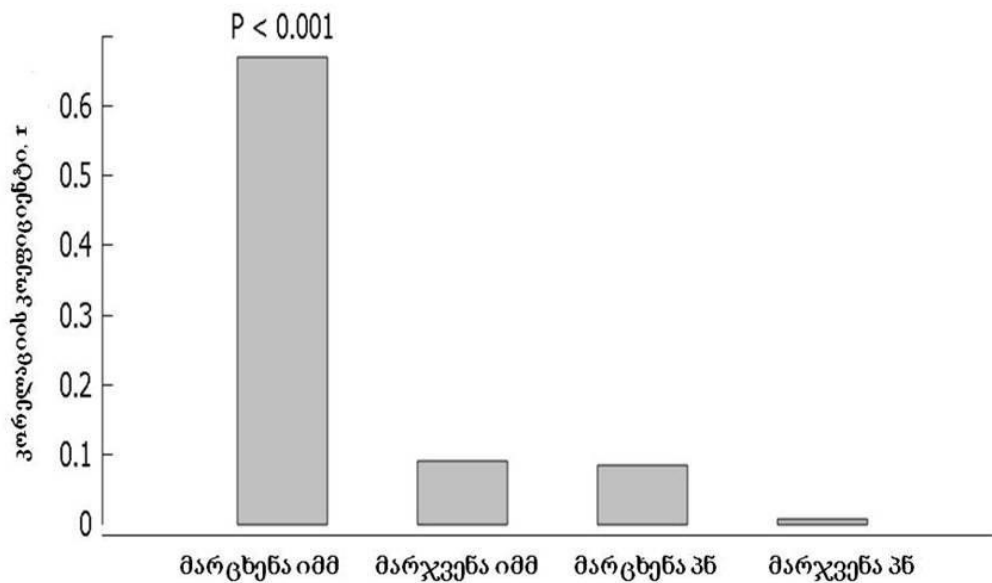
4.1.5 კორელაცია ციტოქრომ c ოქსიდაზა I-სა და ციტოქრომ c ოქსიდაზა II-ს შორის.



სურ. 10. ციტოქრომ c ოქსიდაზა I-ის და ფარდობითი რაოდენობის დამოკიდებულება ციტოქრომ c ოქსიდაზა II-ის ფარდობით რაოდენობაზე მარცხენა იმმ-ში.

კორელაცია ციტოქრომ c ოქსიდაზა I-ისა და ციტოქრომ c ოქსიდაზა II-ს შორის ტრენირებულ წიწილების მარცხენა იმმ-ში სარწმუნოა ($r_{16} = 0.67$, $P = 0.0024$; სურათი დახურული წრეები და უწყვეტი ხაზი). ეს ნიშნავს იმას, რომ ამ წიწილებში ციტოქრომ c ოქსიდაზა I-ის მაღალი დონე ასოცირებულია ციტოქრომ c ოქსიდაზა II-ის მაღალ დონესთან, ხოლო დაბალი დონე შესაბამისად ასოცირებულია დაბალ დონესთან. ასეთი კორელაცია მოსალოდნელი იქნებოდა როდესაც ორივე სუბერთეულის დონე იზრდება დასწავლის სიძლიერესთან ერთად, რასაც მართლა ადგილი აქვს (იხილეთ სურათები 5 და 7). საქმე იმაშია, რომ ეს კორელაცია

სარწმუნო რჩება მაშინ როდესაც ადგილი აქვს კორექციას უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე (ნაწილობრივი კორელაციის კოეფიციენტი $r_{xy,z;15} = 0.58$, $P = 0.015$; იხილეთ სურათი 10, ღია წრეები, წყვეტილი ხაზი). უპირატესობის ტესტზე კორექტირებული მრუდის დახრილობა ძალიან მსგავსია არაკორექტირებული მრუდის დახრილობისა. ეს მონაცემი მიუთითებს იმაზე, რომ ამ ორი ცილის ურთიერთქმედებაზე დასწავლას ზეგავლენა არ აქვს. მართლაც თუ ჩვენ ამ კორელაციას დავუმატებთ არატერენირებული წიწილების მონაცემებს პრაქტიკულ ცვლილებებს ადგილიარ აქვს ($r_{23} = 0.67$, $P < 0.001$;). ამრიგად, კორელაცია ციტოქრომ c ოქსიდაზა I-ისა და ციტოქრომ c ოქსიდაზა II-ს შორის მარცხენა იმ-ისათვის უნდა იყოს დამახასიათებელი; რადგან სხვა შესწავლილ რეგიონებში ასეთ კორელაციას ადგილი არ აქვს (იხილეთ ცხრილი და სურათი 11).

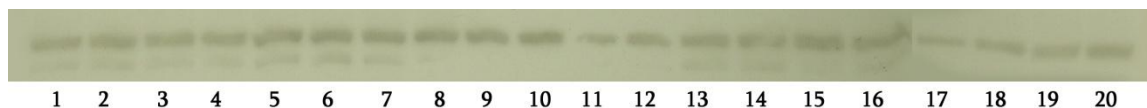


სურ.11 პერსონის კორელაციის კოეფიციენტი ციტოქრომ c ოქსიდაზა I-ის ფარდობით რაოდენობასა და ციტოქრომ c ოქსიდაზა II-ის ფარდობით რაოდენობას შორის, ტვინის დასწავლილ რეგიონებში მხოლოდ მარცხენა იმმსთვის იყო კორელაცია სარწმუნო (დანარჩენ ყველა სხვა რეგიონში $P > 0.6$). კორელაციის კოეფიციენტი სარწმუნოდ განსხვავდება ამ ოთხ სხვადასხვა რეგიონში ($X^2=9.12$, 3 *df*, $P=0.028$). მარჯვენა იმმ, მარცხენა პნ და მარჯვენა პნ ერთმანეთისაგან მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება ($X^2=0.095$, 2 *df*, $P=0.95$), ხოლო მარცხენა იმმ მნიშვნელოვნად განსხვავდება ერთად სამივე რეგიონისაგან ($X^2=9.21$, 1 *df*, $P=0.0024$).

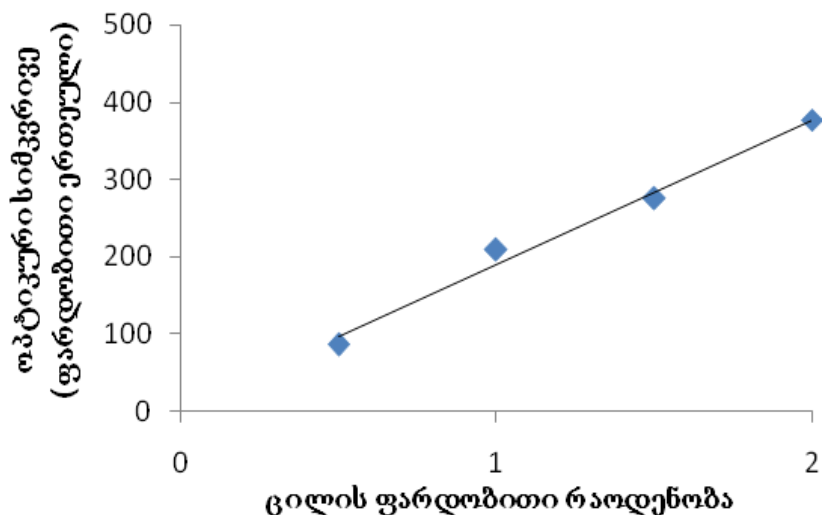
4.2.1 სიციხით შოკირებადი ცილა 90

სმც90 განეკუთვნება იმ კანდიდატ ცილოვან მოლეკულათა რიცხვს რომლის რაოდენობაც უნდა იმატებდეს დასწავლის შედეგად სელექციური პჯრ-ის შედეგებისა და მიკროარეების შედეგების თანახმად (Solomon et al., 2003). დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ სმც90-ის ცვლილებებს ადგილი არ აქვს. ესპერიმენტების მოცემულ სერაიში ჩვენ ამ ცილის რაოდენობრივი ცვლილებები შევისწავლეთ დასწავლიდან 1 საათის შემდეგ. ნახევარ საათიანი ტრენინგის პირობებში. ვესტერნ იმუნობლოტინგის შედეგის ტიპური მაგალითი მოცემულია სურათზე 12.

ა.



ბ.



სურ. 12. სიცხით შოკირებადი ცილა 90-ის ანტისხეულებით შეღებვის აუტორადიოგრამის ტიპური სურათი.

ა. ხაზები 1-4 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი > 80-ზე, ხაზები 5-8 მდე წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი <80-ზე და >60-ზე, ხაზები 9-12 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი >40-ზე და < 60-ზე, ხოლო ხაზები 13-16 წარმოადგენენ არატრენირებული წიწილების ნიმუშებს. ხაზები 17-20 წარმოადგენს შინაგან სტანდარტებს-(შს), 15, 30, 45, და 60 მკგ ცილის ოდენობით. უპირატესობის ტესტის თითოეულ ფარგალში და არატრენირებული წიწილების ჯგუფში ნიმუშები წარმოდგენილია შემდეგი თანმიმდევრობებით: მარცხენა იმმ, მარჯვენა იმმ, მარცხენა პნ, და მარჯვენა პნ. თითოეული ხაზი ერთ ნიმუშს წარმოადგენს.

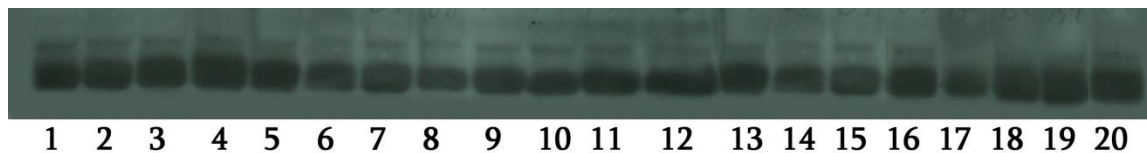
ბ. ხაზების ოპტიკური სიმკვრივე ხაზობრივ დამოკიდებულებაშია ცილის რაოდენობასთან.

მიღებული მონაცემების სტატისტიკურმა დამუშავებამ აჩვენა, რომ არანაირ სარწმუნო ეფექტებს ცვლადთა ანალიზის მიხედვით, არანაირ სარწმუნო სხვაობებს და არანაირ სარწმუნო კორელაციებს ადგილი არ აქვს.

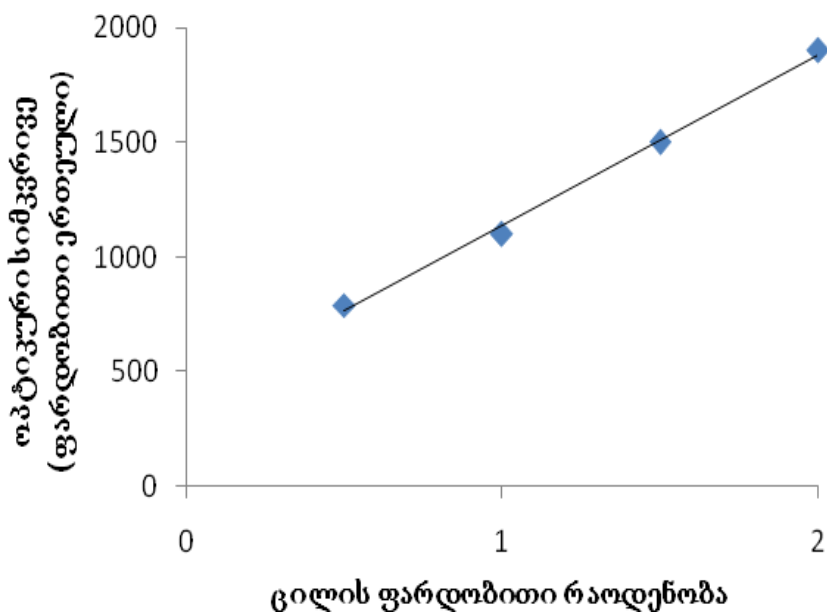
4.3.1 მყისიერი ადრეული გენის არკ/არგ3.1 ცილოვანი პროდუქტი.

ამ ცილოვანი მოლეკულისათვისაც ისევე როგორც სმც90-ისათვის არანაირ სარწმუნო ეფექტებს ცვლადთა ანალიზის მიხედვით, არანაირ სარწმუნო სხვაობებს და არანაირ სარწმუნო კორელაციებს ადგილი არ აქვს. ვესტერნ იმუნობლოტინგის შედეგების ტიპური მაგალითი მოცემულია სურათზე 13.

ა.



ბ.



სურ. 13 არკ /არგ 3.1-ის ანტისხეულებით შეღებვის აუტორადიოგრამის ტიპური სურათი.

ა. ხაზები 1-4 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი > 80-ზე , ხაზები 5-8 მდე წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი <80- ზე და >60- ზე, ხაზები 9-12 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი >40 ზე და < 60-ზე, ხოლო ხაზები 13-16 წარმოადგენენ არატრენირებული წიწილების ნიმუშებს. ხაზები 17-20 წარმოადგენს შინაგან სტანდარტებს-(შს), 15, 30, 45, და 60 მკგ ცილის ოდენობით. უპირატესობის ტესტის თითოეულ ფარგალში და არატრენირებული წიწილების ჯგუფში ნიმუშები წარმოდგენილია შემდეგი თანმიმდევრობებით: მარცხენა იმმ, მარჯვენა იმმ, მარცხენა პნ, და მარჯვენა პნ. თითოეული ხაზი ერთ ნიმუშს წარმოადგენს. ბ. ხაზების ოპტიკური სიმკვრივე ხაზობრივ დამოკიდებულებაშია ცილის რაოდენობასთან.

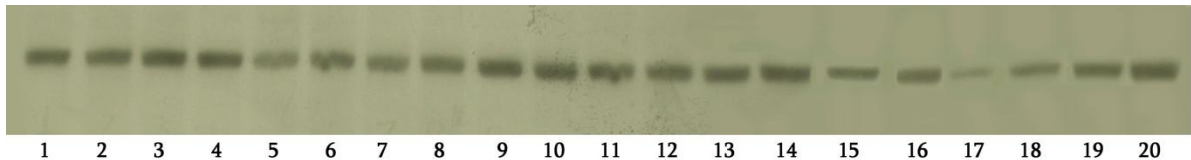
4.4.1 გლუტამატური რეცეპტორების გლუ-ა1 სუბერთეულის და მისი 831 - სერინის ნაშთზე ფოსფორილირებული ფორმის ცვლილებები 30 წუთიანი დასწავლის შემდეგ

როგორც უკვე აღნიშნული იყო ლიტერატურის მიმოხილვაში 1 საათიანი ტრენირების პირობებში, ტრენირების დამთავრებიდან დაახლოებით 40-50 წუთში ადგილი აქვს დასწავლისათვის სპეციფიკურად გლუა1-ის ფოსფორილირების ზრდას. 40-50 წუთი ტრენირების დამთავრებიდან აუცილებელია უპირატესობის ტესტის ჩასატარებლად, წიწილების ჯგუფებად დასახარისხებლად და დეკაპიტაციისათვის. ლოგიკურად დგება საკითხი აქვს თუ არა ამ ცვლილებებს უფრო ადრე ადგილი? უპირატესობის ტესტის გაზომვის გარეშე დასწავლისათვის სპეციფიკური ცვლილებების შესწავლა შეუძლებელია და ერთადერთ სწორ გზას ტრენირების დროის შემცირება წარმოადგენდა.

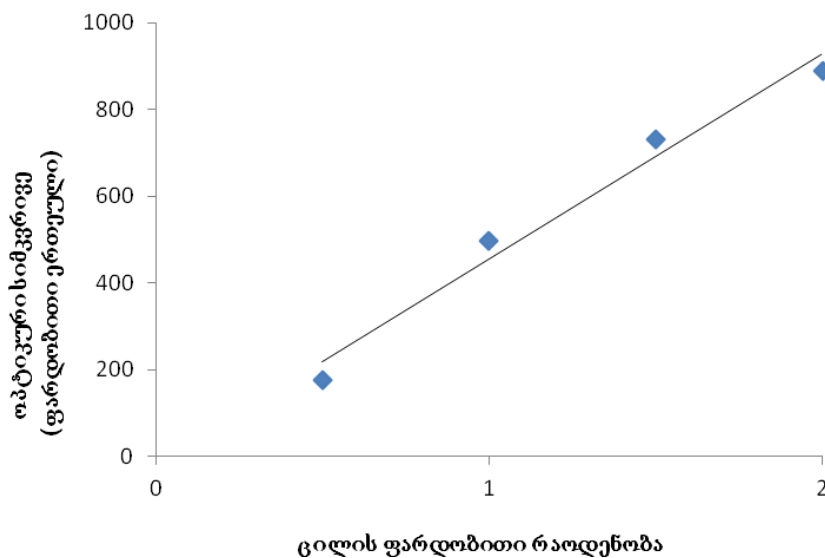
4.4.2 იმუნოშეღებვბ

ანტისხეულები გლუბ1-ის დბ ფ-გლუბ1-ის წინბბბბბბბბ მოქმედებენ ცილოვბნ მოლეკულბსბბნ წონით 103 კდბ, სურ14 დბ სურ. 15.

ბ.



ბ.

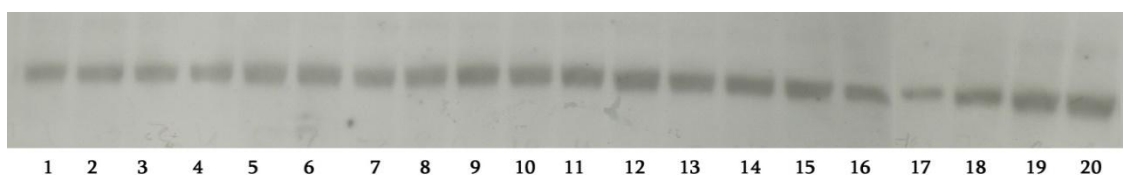


სურ. 14 გლუ-ბ1-ის ანტისხეულებით შეღებვის აუტორბდიოგრბმის ტბპბურბ სურბბთბ.

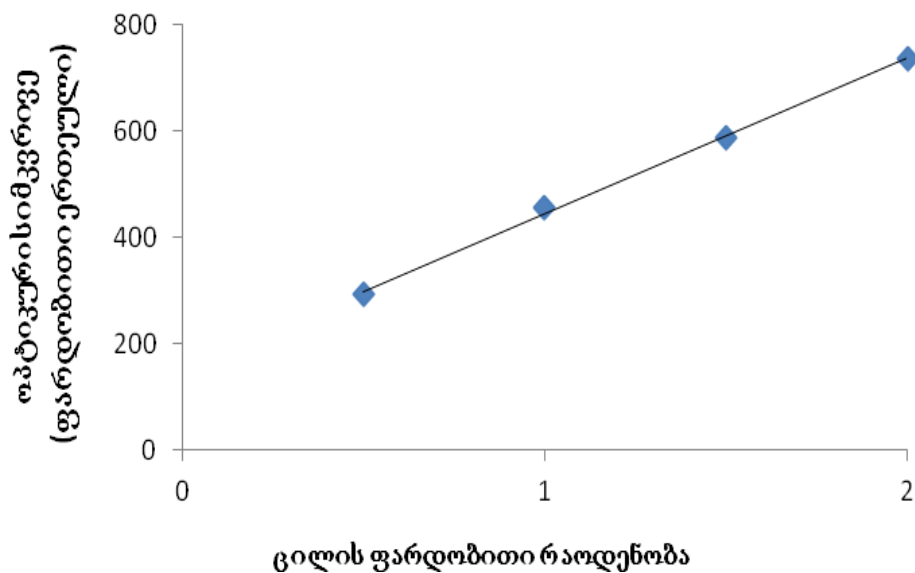
ბ. თვბთოეული ხბზბ ერთ ნბმუბს წბრმობდგენს. ხბზებბ 1-4 წბრმობდგენენ ბმ წბწბლებბს ნბმუბებს რომელთბ უბბრბტესობბს ხბრბსხბს მბჩვენებელი > 80-ზე , ხბზებბ 5-8 მდებ წბრმობდგენენ ბმ წბწბლებბს ნბმუბებს, რომელთბ უბბრბტესობბს ხბრბსხბს მბჩვენებელი <80- ზებ დბ >60- ზებ, ხბზებბ 9-12 წბრმობდგენენ ბმ წბწბლებბს ნბმუბებს რომელთბ უბბრბტესობბს ხბრბსხბს მბჩვენებელი >40 ზებ დბ < 60-ზე, ხოლო ხბზებბ 13-

16 წარმოადგენენ არატრენირებული წიწილების ნიმუშებს. ხაზები 17-20 წარმოადგენს შინაგან სტანდარტებს-(შს), 15, 30, 45, და 60 მკგ ცილის ოდენობით. უპირატესობის ტესტის თითოეულ ფარგალში და არატრენირებული წიწილების ჯგუფში ნიმუშები წარმოდგენილია შემდეგი თანმიმდევრობებით: მარცხენა იმმ, მარჯვენა იმმ, მარცხენა პნ, და მარჯვენა პნ. თითოეული ხაზი ერთ ნიმუშს წარმოადგენს. ბ. ხაზების ოპტიკური სიმკვრივე ხაზობრივ დამოკიდებულებაშია ცილის რაოდენობასთან.

ა.



ბ.



სურ. 15 ფ-გლუ-ა1-ის ანტისხეულებით შეღებვის აუტორადიოგრამის ტიპიური სურათი.

ა. თვითოეული ხაზი ერთ ნიმუშს წარმოადგენს. ხაზები 1-4 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი > 80-ზე, ხაზები

5-8 მდე წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს, რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი <80-ზე და >60-ზე, ხაზები 9-12 წარმოადგენენ იმ წიწილების ნიმუშებს რომელთა უპირატესობის ხარისხის მაჩვენებელი >40-ზე და < 60-ზე, ხოლო ხაზები 13-16 წარმოადგენენ არატრენირებული წიწილების ნიმუშებს. ხაზები 17-20 წარმოადგენს შინაგან სტანდარტებს-(შს), 15, 30, 45, და 60 მკგ ცილის ოდენობით. უპირატესობის ტესტის თითოეულ ფარგალში და არატრენირებული წიწილების ჯგუფში ნიმუშები წარმოდგენილია შემდეგი თანმიმდევრობებით: მარცხენა იმმ, მარჯვენა იმმ, მარცხენა პნ, და მარჯვენა პნ. თითოეული ხაზი ერთ ნიმუშს წარმოადგენს. ზ. ხაზების ოპტიკური სიმკვრივე ხაზობრივ დამოკიდებულებაშია ცილის რაოდენობასთან.

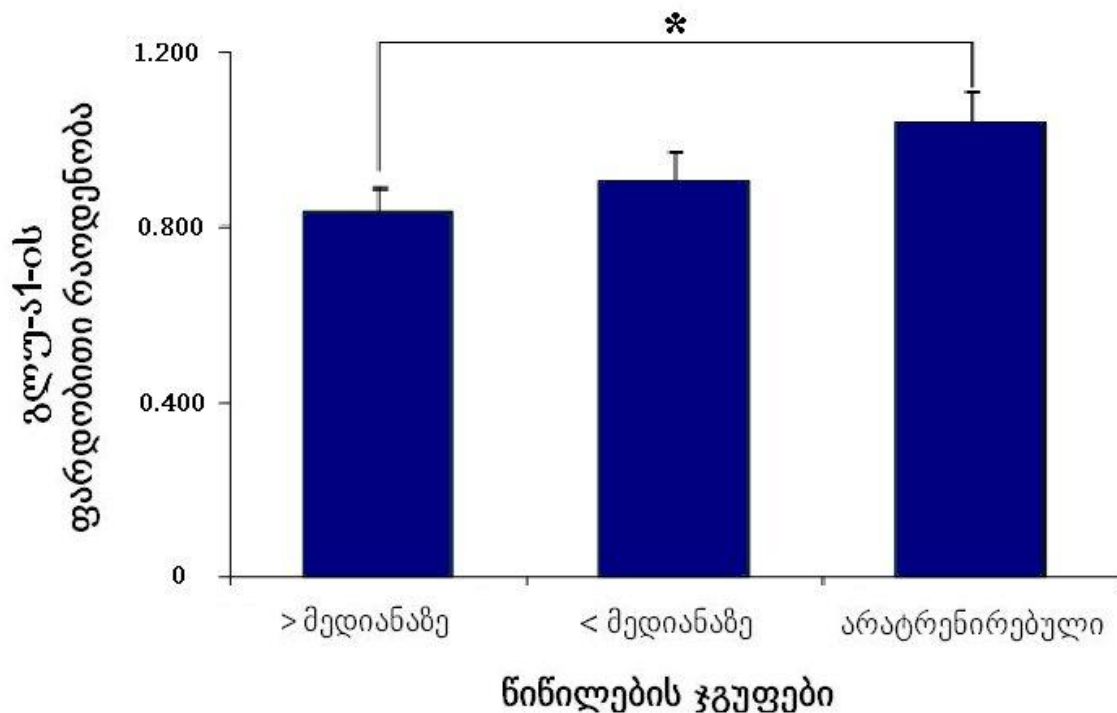
იმუნოშეღებვის ინტენსივობა პირდაპირპროპორციულია დატანილი ცილის რაოდენობისა და შესაბამისად მიღებული მონაცემები რაოდენობრივ ცვლილებებს ასახავენ.

4.4.3 გლუ-ა1

მონაცემები გლუ-ა1-ის რაოდენობრივი ცვლილებების შესახებ გაანალიზებული იქნა ცვლადთა ფაქტორიალური ანალიზით რეგიონისა (იმმ და პნ) და ტრენირების მდგომარეობის მიხედვით (უპირატესობის მაჩვენებელი > მედიანაზე; უპირატესობის მაჩვენებელი<მედიანაზე; არატრენირებული). როგორც რეგიონის ($F_{1,56}=6.48$, $P=0.0137$) ასევე ტრენირების ფაქტორების ($F_{2,56}=3.26$, $P=0.045$) ეფექტები სარწმუნოა. შესაბამისად ანალიზის შემდეგ საფეხურზე ეს რეგიონები უკვე განცალკავებულად იქნა გაანალიზებული. რადგან ძალიან ხშირ შემთხვევაში ეფექტები ლატერალიზებულია ჰემისფეროების მიხედვით ანალიზი ჰემისფეროს მიხედვითაც მოხდა.

მონაცემთა ანალიზმა იმ-ში ნახევარსფეროსა და ტრენირების მდგომარეობის მიხედვით გვაჩვენა, რომ ტრენირების მდგომარეობის ფაქტორის ზეგავლენა სარწმუნოა ($F_{2,56} = 4.03$, $P = 0.0232$), როდესაც ნახევარსფეროსი არა ($F_{1,56} = 0.79$, $P = 0.3782$). ასევე არასარწმუნოა ამ ორი ფაქტორის ურთიერთქმედება ($F_{1,56} = 0.02$, $P = 0.9821$). ამ შედეგებზე დაყრდნობით ჩვენ კვლავ გავაერთიანეთ მარცხენა და მარჯვენა ნახევარსფეროების მონაცემები.

იმ-ში ტრენირების მდგომარეობის ფაქტორის ზეგავლენა სარწმუნოა ცალმხრივი ტესტის მიხედვით ($F_{2,28} = 2.52$, $P = 0.099$). განსხვავება >მედიანაზე და < მედიანაზე ჯგუფებს შორის სარწმუნო არ არის ($T = 0.84$ $P = 0.413$ თხ = 20), თუმცა > მედიანაზე ჯგუფში გლუ-ა1 სუბერთეულების საშუალო მნიშვნელობა სარწმუნოდ უფრო ნაკლებია ვიდრე არატრენირებულებში ($T = -2.34$ $P = 0.031$ თხ = 18) და სხვაობა <მედიანაზე და არატრენირებულებს შორის არა სარწმუნოა ($T = 1.37$ $P = 0.187$ თხ = 18) იხილეთ სურ. 16.



სურ. 16 გლუ-ა1-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების სამი ჯგუფის იმმ-ში

I-წიწილები რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი > მედიანაზე

II-წიწილები რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი < მედიანაზე

III-არატრენირებული წიწილები

* - $P < 0.05$

კორელაცია იმმ-ში გლუ-ა1 სუბერთეულის რაოდენობასა და უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელს შორის სარწმუნო არ არის (კორელაციის კოეფიციენტი $r = -0.22$, $P = 0.323$). ამრიგად ეს ცვლილებები ჩვენ არ შეგვიძლია მივაკუთვნოთ დასწავლისათვის სპეციფიკურ ცვლილებებს.

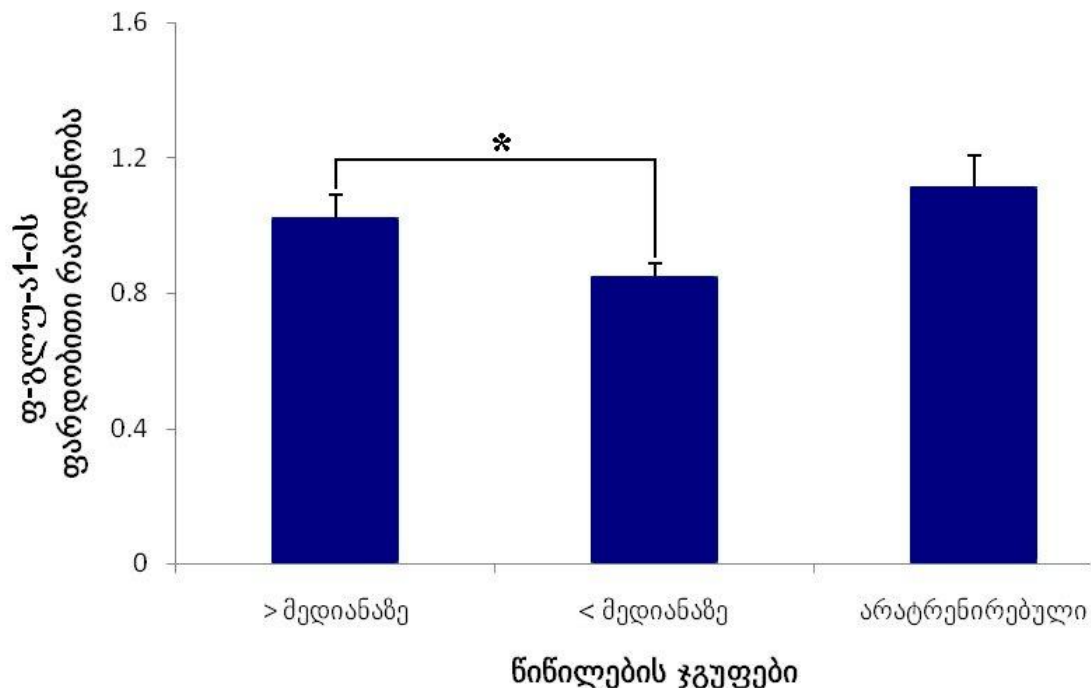
პნ-ში ტრენირების ფაქტორის ზემოქმედება სარწმუნო არ არის ($F_{2,28} = 1.07$, $P = 0.357$). ჯგუფებს შორის სხვაობაც შორს არის სარწმუნოებისაგან და არც კორელაციაა სარწმუნო ($r = -0.292$, $P = 0.187$).

4.4.4 ფ-გლუ-ა1

მონაცემები ფ-გლუ-ა1-ის რაოდენობრივი ცვლილებების შესახებ გაანალიზებული იქნა ცვლადთა ფაქტორიალური ანალიზით რეგიონისა (იმმ და პნ) და ტრენირების მდგომარეობის მიხედვით (უპირატესობის მაჩვენებელი > მედიანაზე; უპირატესობის მაჩვენებელი < მედიანაზე; არატრენირებული). არცერთი ფაქტორის მიხედვით სარწმუნო ეფექტს ადგილი არ აქვს (რეგიონი $F_{1,58} = 0.49$, $P = 0.485$, ტრენირების მდგომარეობა $F_{2,58} = 2.00$, $P = 0.145$), თუმცა იმის გათვალისწინებით რომ ეს უბნები სხვადასხვა ფუნქციებში არიან ჩართულები და გლუ-ა1 რეცეპტორისათვის სარწმუნო ეფექტი შეიმჩნევა ჩვენ მაინც ცალკ-ცალკე გავანალიზეთ ისინი მხოლოდ ტრენირების ფაქტორის მიხედვით.

იმ-ში ტრენირების ფაქტორის ეფექტი სარწმუნოა ($F_{2,28} = 4.29$, $P = 0.024$), ხოლო კნ-ში არა ($F_{2,28} = 0.04$, $P = 0.957$).

იმ-ში დაგეგმილმა შედარებებმა შემდეგი აჩვენეს: 1. ფ-გლუ-ა1-ის საშუალო მაჩვენებელი >მედიანაზე ჯგუფში სარწმუნოდ უფრო მაღალია ვიდრე ჯგუფში <მედიანაზე ($T = 2.34$ $P = 0.030$ თხ = 20) და თითქმის იგივეა რაც არატრენირებული წიწილების ჯგუფში ($T = -0.83$ $P = 0.416$ თხ. = 18), იხ. სურათი 17. ფ-გლუ-ა1-ის საშუალო მაჩვენებელი <მედიანაზე ჯგუფში სარწმუნოდ უფრო დაბალია ვიდრე არატრენირებული წიწილების ჯგუფში ($T = -2.90$ $P = 0.010$ თხ = 18). ამრიგად იქმნება შთაბეჭდილება, რომ ტრენინგის არასპეციფიკური ფაქტორები იწვევენ ფოსფორილირების შემცირებას, ხოლო დასწავლა კი მატებას ამ შემცირებული აქტივობის ფონზე.



სურ. 17 ფგლუ-ა1-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების სამი ჯგუფის იმ-ში

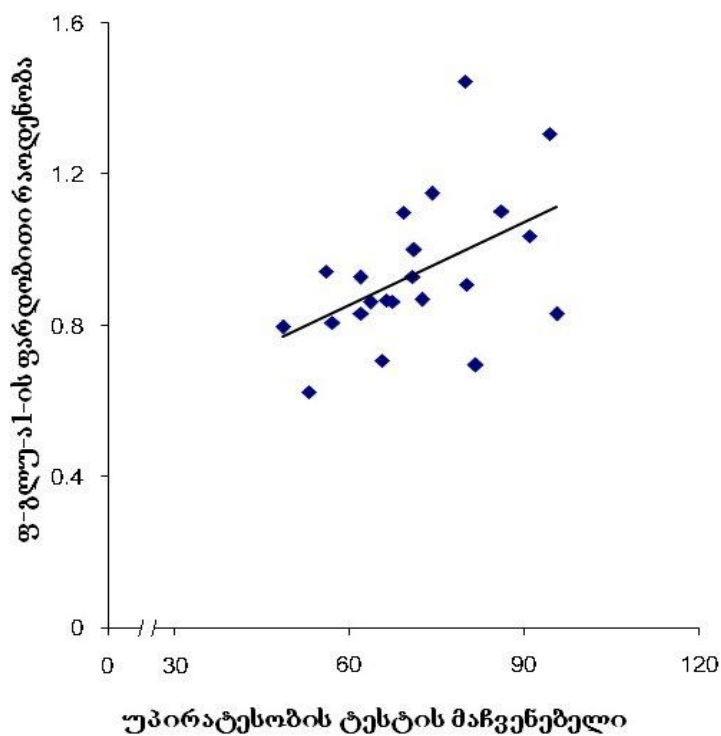
I-წიწილები რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი > მედიანაზე

II-წიწილები რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი < მედიანაზე

III-არატრენირებული წიწილები

* - $P < 0.05$

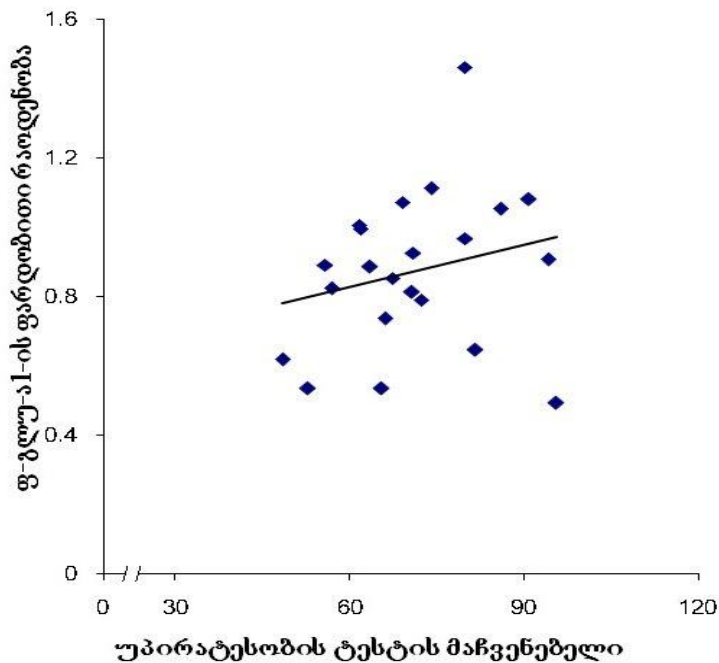
კორელაცია ფ-გლუ-ა1-სა და უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელს შორის დადებითი და სარწმუნოა ($F_{1,20}=6.39436$, $P=0.020$, $r=0.49$), სურ.18

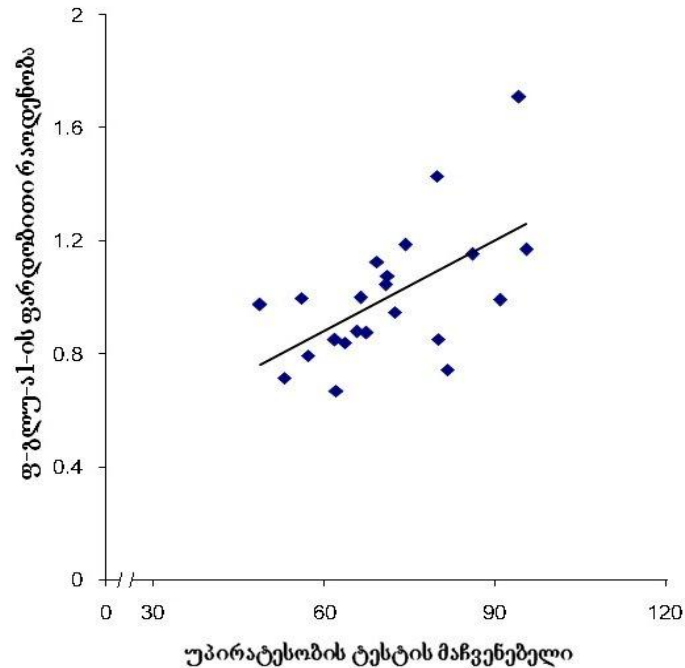


სურ.18 ფ-გლუ-ა1-ის ფარდობითი რაოდენობის დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მარცხენა და მარჯვენა იმმ-ში ერთად.

პნ-ში არცერთ ჯგუფებს შორის სხვაობა სარწმუნო არ არის და არც კორელაციაა სარწმუნო.

ნახევარსფეროების მიხედვით განცალკავებულმა ანალიზმა აჩვენა, რომ სარწმუნო კორელაცია უმთავრესად იმმ-ის მარჯვენა ნახევარსფეროში აღინიშნება ($F_{1,20}=10.1843$, $P=0.005$, $r=0.58$). მარცხენა ნახევარსფეროში კორელაცია დადებითია, მაგრამ სარწმუნო არ არის, სურ. 19.



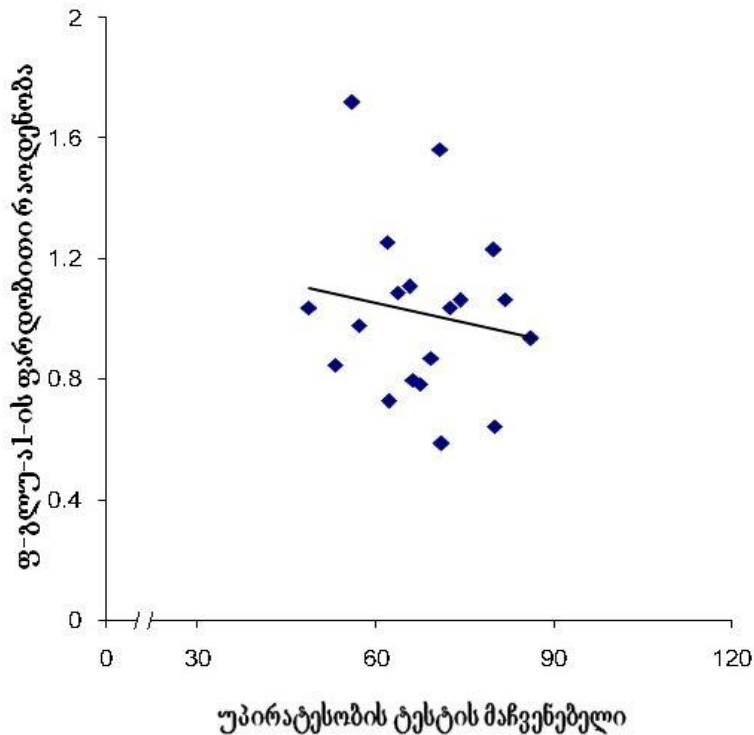


ბ

სურ 19. ფ-გლუ-ა1-ის ფარდობითი რაოდენობის დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მარცხენა (ა) და მარჯვენა იმმ-ში (ბ).

ამავე დროს სარწმუნო განსხვავება იმმ-ის მარცხენა და მარჯვენა ნახევარსფეროებს შორის არ შეიმჩნევა.

პნ-ში არცერთი ნახევარსფეროს მიხედვით, არცერთი პარამეტრის მიხედვით სარწმუნო ცვლილებები არ აღინიშნება. თვალსაჩინოებისათვის კორელაციის მრუდი ფ-გლუ-ა1-სა და უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელს შორის მოყვანილია სურათზე 20.



სურ.20 ფ-გლუ-ა1-ის ფარდობითი რაოდენობის დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მარჯვენა და მარცხენა პნ-ში ერთად.

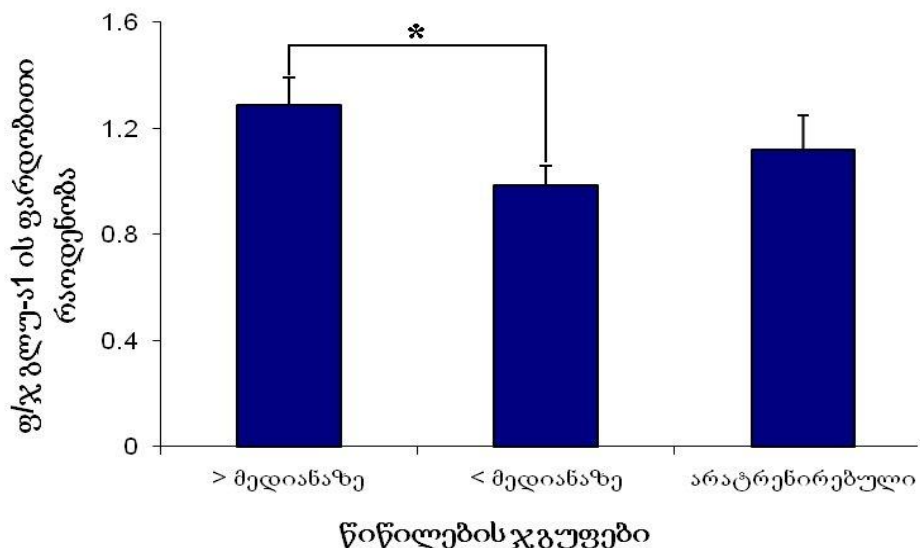
4.4.5 ფ/ჯ-გლუ-ა1

სერინის 831-ე ნაშთზე ფოსფორილირებული ფორმის მატება შეიძლება გამოწვეული იყოს უბრალოდ ჯამური ცილის მატებით, რომლის გარკვეული წილიც ფოსფორილირებულია. მართალია ფ/გლუ-ა1-ისათვის იმ-ში ჩვენს მიერ მატება არ აღრიცხულა, უფრო საპირისპირო ტენდენციასაც ჰქონდა ადგილი, მაგრამ ჩვენის აზრით ფ/ჯ-გლუ-ა1 მაჩვენებელი მნიშვნელოვანი პარამეტრია ამ რეცეპტორების მდგომარეობის ცვლილებისა.

იმ და პნ-ის გაერთიანებული მონაცემების ანალიზმა ორ-ფაქტორიანი ცვლადთა ანალიზის მიხედვით აჩვენა, რომ ტრენიერების მდგომარეობის ეფექტი სარწმუნოა ცალ-მხრივი ტესტის მიხედვით ($F_{2,56}=2.92$, $P=0.03$). ხოლო რეგიონის ეფექტი სარწმუნო არ არის.

კვლევის შემდეგ ეტაპზე ჩვენ გავანალიზეთ ცვლილებები ცალკ-ცალკე რეგიონების მიხედვით.

ფ/ჯ-გლუ-ა1 საშუალო მაჩვენებელი იმ-ში წიწილების იმ ჯგუფისა, რომელშიც უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი მეტია მედიანაზე სარწმუნოდ უფრო მეტია ვიდრე იმ ჯგუფში, რომლის მაჩვენებელი ნაკლებია მედიანაზე ($T = 2.36$ $P = 0.029$ $n = 20$). სხვა სხვაობები სარწმუნო არ არის. რიცხობრივი მონაცემების შედარების საფუძველზე, ისევე როგორც ფოსფორილირებული ფორმის შემთხვევაში იქმნება შთაბეჭდილება რომ ტრენინგის არასპეციკურ ფაქტორებს მივყავართ ამ მაჩვენებლის კლებადე, ხოლო დასწავლის პროცესს კი მატებამდე. ეს ორი პროცესი თითქოსდა ანეიტრალურს ერთმანეთს და ამის გამო ფ/ჯ-გლუ-ა1 საშუალო მაჩვენებელი იმ-ში წიწილების იმ ჯგუფისა, რომლის უპირატესობის ტესტის მნიშვნელობა მეტია მედიანაზე მხოლოდ ცოტათი და არასარწმუნოდ აღემატება არატრენირებული წიწილების მაჩვენებელს, სურათი 21.



სურ. 21 ფ/ჯ გლუ-ა1-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების სამი ჯგუფის იმმ-ში

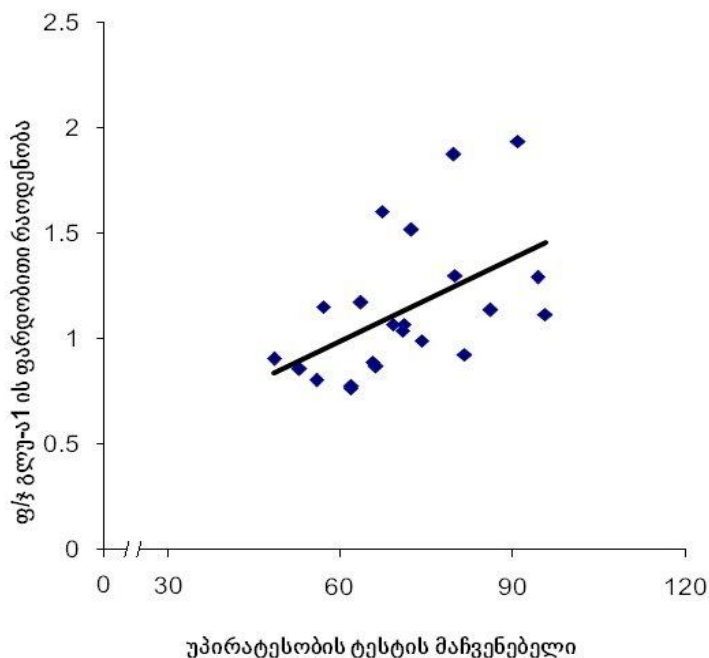
I-წიწილები რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი > მედიანაზე

II-წიწილები რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი < მედიანაზე

III-არატრენირებული წიწილები

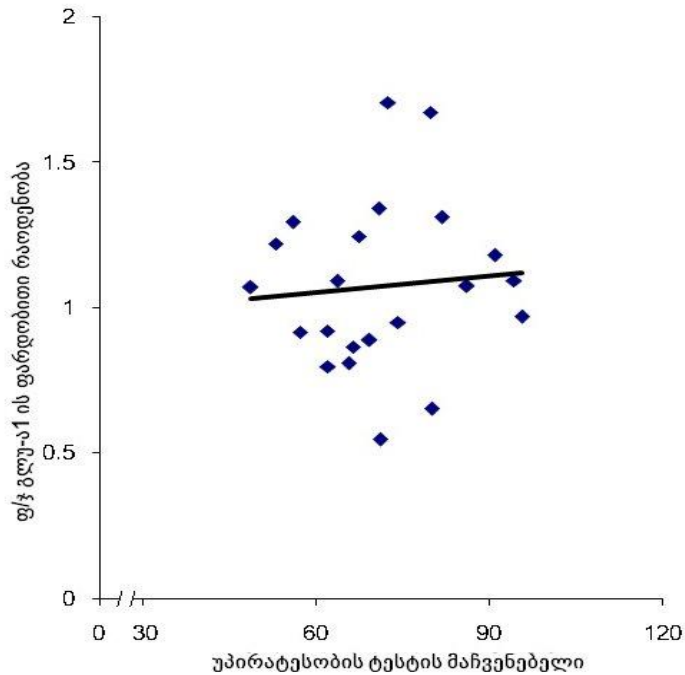
* - $P < 0.05$

კორელაციურმა ანალიზმა ფ/ჯ-გლუ-ა1 მაჩვენებლებსა და უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელს შორის აჩვენა, რომ იმმ-ისათვის ეს კორელაცია სარწმუნოა ($r=0.51$, $P=0.014$ იხ. სურათი 22



სურ.22 ფ/ჯ-გლუ-ა1-ის ფარდობითი რაოდენობის დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მარცხენა და მარჯვენა იმმ-ში ერთად.

ხოლო პნ-ისათვის ის ძალიან შორს დგას სარწმუნოებისაგან ($r=0.08$, $P=0.713$, იხ. სურათი (18)).

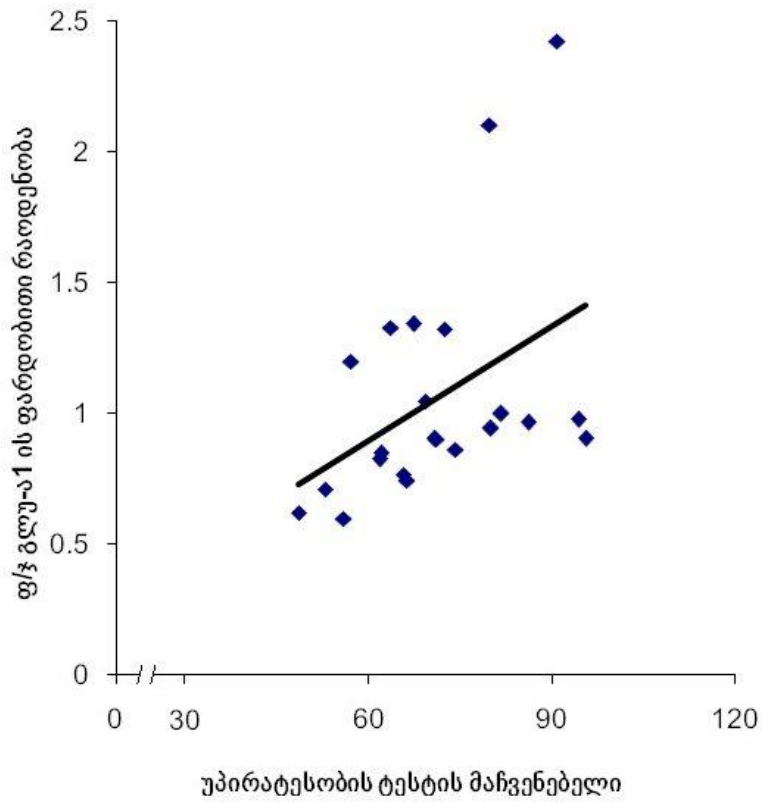


სურ.23 ფ/ჯ-გლუ-ა1-ის ფარდობითი რაოდენობის დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მარჯვენა მხარეზე მარცხენა და მარჯვენა პნ-ში ერთად.

კორელაციის სარწმუნოება იმ-ში უნდა მიუთითებდეს იმაზე, რომ ეს ცვლილებები მეხსიერებისათვის უნდა იყოს სპეციფიკური - ადგილი აქვს 831-ე სერინის ნაშთზე ფოსფორილირებული გლუ-ა1 სუბერთეულების პროპორციულ მატებას, ისე რომ სარწმუნოდ არ იცვლება თვითონ სუბერთეულების ჯამური რიცხვი.

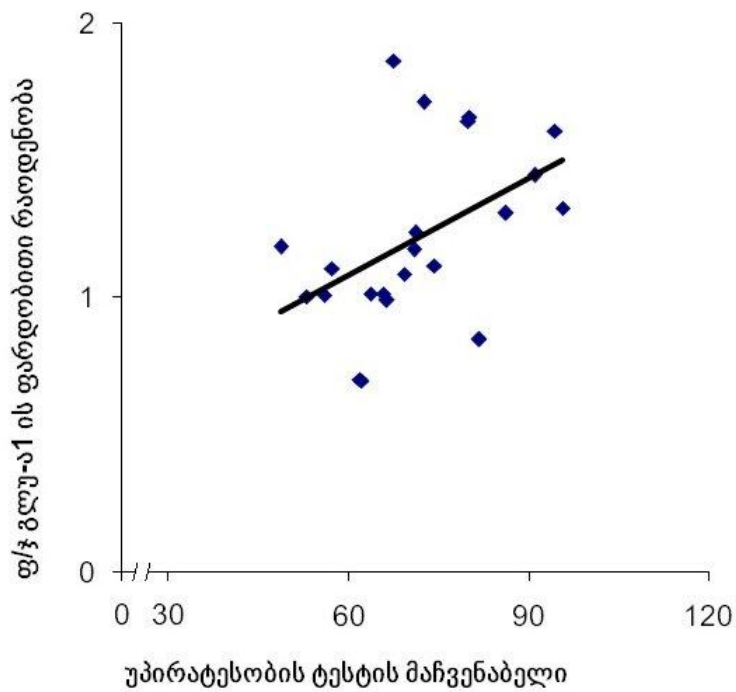
შემდეგ ეტაპზე ჩვენ მიღებული მონაცემები გავანალიზეთ უკვე ნახევარსფეროების მიხედვით. როგორც მარცხენა ასევე მარჯვენა ნახევარსფეროსათვის კორელაცია ფ/ჯ-გლუ-ა1 მარჯვენა მხარესა და უპირატესობის ტესტის მნიშვნელობებს შორის სარწმუნოა (მარცხენა იმ $r=0.43$, $P=0.046$, მარჯვენა იმ $r=0.47$, $P=0.026$ იხ. სურათი 24 ა,ბ

ა.



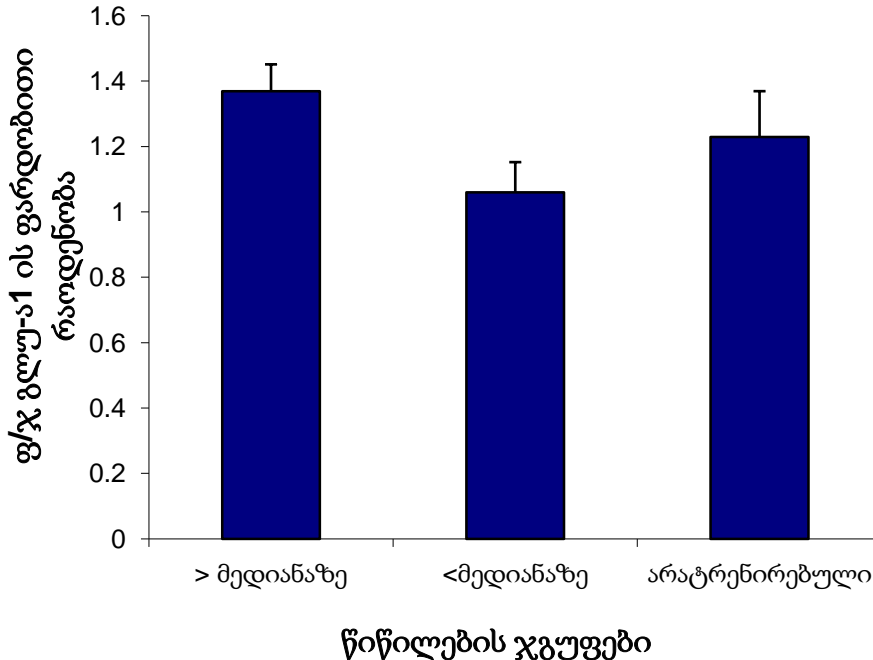
სურ.24ა ფ/ჯ-გლუ-ა1-ის ფარდობითი რაოდენობის დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მარცხენა იმ-ში

ბ.



სურ.24ბ ფ/ჯ-გლუ-ა1-ის ფარდობითი რაოდენობის დამოკიდებულება უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელზე მარჯვენა იმ-ში (ბ).

დაგეგმილი შედარებების ანალიზმა აჩვენა რომ ჯგუფებს შორის (>მედიანაზე, < მედიანაზე და არატერნირებულები) მარცხენა იმ-ისათვის, მარცხენა და მარჯვენა პნ-ებისათვის სარწმუნო სხვაობები არ შეიმჩნევა. მარჯვენა ნახევარსფეროს იმ-ისათვის ფ/ჯ-გლუ-ა1საშუალო მაჩვენებელი >მედიანაზე ჯგუფში სარწმუნოდ უფრო მაღალია ვიდრე იმ ჯგუფისა, რომლის მაჩვენებელი <მედიანაზე, $T=2.51$ $P= 0.021$, $n = 20$ იხ. სურათი 25 .



სურ. 25 ფ/ჯ გლუ-ა1-ის ფარდობითი რაოდენობების საშუალო მაჩვენებლები წიწილების მარჯვენა იმ-ში

I-წიწილები რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი > მედიანაზე

II-წიწილები რომელთა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელი < მედიანაზე

III-არატერნირებული წიწილები

* - $P < 0.05$

თავი 5 დისკუსია

5.1 ციტოქრომ c ოქსიდაზა

ლიტერატურის მიმოხილვაში ჩვენ გავაანალიზეთ მთელი რიგი უჯრედული და მოლეკულური ცვლილებები, რომლებიც ხდება ტვინის იმმ რეგიონში იმპრინტინგ-ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ. ამ კვლევებმა აჩვენა, რომ თავის ტვინის იმმ-ს მარცხენა და მარჯვენა ჰემისფეროები ჩართულია იმპრინტინგის პროცესში. მაგალითად იმპრინტინგის შემდეგ მარცხენა და მარჯვენა იმმ-ში ხდება მყისიერად ადრეული გენის პროდუქტის (FOS-ის) (McCabe and Horn, 1994) და აუტოფოსფორილებული კამკII I-ის რაოდენობრივი ზრდა (Solomon et al., 2005). სხვა ცვლილებები უფრო მკვეთრადაა გამოვლენილი მარცხენა იმმში ვიდრე მარჯვენაში.

იმპრინტინგს თან ახლავს აგრეთვე პოსტსინაფსური სიმკვრივის ზომის გაზრდა მარცხენა იმმ-ში. გარდა ამისა ტრენირების შემდეგ იყო სარწმუნო დადებითი კორელაციები უპირატესობის ტესტსა და ბიოქიმიური ცვლილებების რამოდენიმე საზომს შორის მარცხენა იმმში, ხოლო შესაბამისი კორელაციები მარჯვენა იმმ-ში ბოლომდე სარწმუნო არ იყო (იხ. Solomon et al., 1997, 1998, 2003)

მარცხენა იმმ-ში ასევე ადგილი ქონდა ნმდა გლუტამატ მგრძნობიარე რეცეპტორების საშუალო რიცხვის ზრდას (McCabe and Horn, 1994), კალციუმ-დამოკიდებული და კალიუმით გამოწვეული გამა-ამინოერბოს მჟავას და ტაურინის *in vitro* გამოთავისუფლებას, მამპს ცილის ფოსფორილირებას (Sheu et al., 1993), კლატრინის მძიმე ჯაჭვის ცილების და ნეირონული ადჰეზიის მოლეკულების, მამპს და აწყ-ს რაოდენობრივ ზრდას, (Solomon et al., 1997, 1998, 2003). ამ

ცვლილებებიდან ზოგიერთი არის დროზე დამოკიდებული, ყველა ეს შესწავლილი ცვლილება მუდმივად აღინიშნებოდა მარცხენა იმ-ში. მარცხენა და მარჯვენა პნ-ში დასწავლასთან დაკავშირებული ცვლილებები არ აღმოჩენილა (Solomonias et al., 1997, 1998, 2003, 2005). იმ-ს შედეგები გვიჩვენებს, რომ მარცხენა და მარჯვენა იმ ორივე ჩართულია დასწავლისა და მეხსიერების პროცესში. მაგრამ მათი ფიზიოლოგიური და მოლეკულური ცვლილებების მიმართულებები განსხვავებულია. ამ ორ უბანს აქვს ურთიერთგადამფარავი, მაგრამ ამავე დროს განსხვავებული ფუნქციები დასწავლის პროცესში. ტვინის ამ ორი რეგიონის თანმიმდევრობითი დაზიანების გამოყენებით ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა გამოავლინა მათ შორის უმნიშვნელოვანესი ფუნქციური სხვაობა მარჯვენა იმ მონაწილეობს ინფორმაციის შენახვის დამატებითი სისტემის ფორმირებაში, რომელიც იმ-ს გარეთ მდებარეობს. (Cipollia-Neto et al., 1982; McCabe et al., 1982; Honey et al., 1995.).

ციტოქრომ c ოქსიდაზა I და II სუბერთეულების მაკოდირებელი გენები მდებარეობს ერთმანეთის მოსაზღვრედ და ერთად განიცდის ტრანსკრიფციას (Kelly and Scarpulla, 2004). ციტოქრომ c ოქსიდაზა შედგება იმ სუბერთეულებისაგან, რომლებიც კოდირდება როგორც მიტოქონდრიული, ასევე ბირთული დნმ-ის მიერ. ბევრი ფაქტორი მონაწილეობს სუბერთეულების დაჯგუფებაში და კოფაქტორების და მეტალთა იონების ჩართვაში, ფერმენტული კომპლექსის მომწიფებაში (Fontanesi et al., 2006; Mick et al., 2011). გარდა ამისა, არსებობს ნაკლებად ცნობილი ცილების ჯგუფი, რომელიც მონაწილეობს მოუმწიფებელი ციტოქრომ c ოქსიდაზას პრე-კომპლექსის სტაბილიზაციაში (Khalimonchuk and Rodel, 2005). შესაძლოა მარცხენა იმ შეიცავს იმ ყველა ფაქტორს, რომელიც საჭიროა ფერმენტული კომპლექსის ასაწყობად. სხვა შესწავლილი რეგიონების ანსამბლურ კომპლექსში სუბერთეულების თანამშრომლობა ნაკლებ კოორდინირებულია. ამის შედეგად ერთი ან ორივე არაანსამბლური სუბერთეულები დეგრადირდება (Fontanesi et al., 2006). განსხვავებამ ორი სუბერთეულის დეგრადაციის ხარისხს შორის უნდა ახსნას ნანახი დისოციაცია ციტოქრომ c ოქსიდაზა I და II სუბერთეულების რაოდენობას

შორის მარჯვენა იმ-სა და ორივე ნახევარსფეროს პნ-ში.. დადებითი კორელაცია ამ ორი სუბერთეულის რაოდენობას შორის მარცხენა იმ-ში და შესამჩვევი კორელაციის არარსებობა ტვინის სხვა რეგიონებში ბადებს მოსაზრებას იმის შესახებ, რომ მარცხენა იმმ შეიცავს დიდი პროპორციით კომბინირებულ სუბერთეულებს არაკომბინირებულ სუბერთეულებთან შედარებით და შესაბამისად და უფრო მეტ აწყობილ ფერმენტულ კომპლექსებს, ვიდრე სხვა რეგიონები.

შინაური წიწილები მიეკუთვნება ცხოველთა იმ ჯგუფს, რომლთაც გააჩნიათ მომწიფებული ქცევა დაბადებისთანავე. ამ ჯგუფში შედის ასევე ზოგიერთი ჩიტი და ძუძუმწოვარი (Sluckin (1972)). შინაური წიწილები იჩეკება გახელილი თვალებით და რამდენიმე საათის შემდეგ უკვე შეუძლიათ აქტიურად მოძრაობა და შესწავლა დედის თვისებების და სხვა გარშემო მყოფი ობიექტებისა. ნერვული პროცესები რომლებიც ჩართულნი არიან მეხსიერების კვალის ფორმირებაში, რაც განსაკუთრებით ნათლადაა გამოხატული მარცხენა იმ-ში, შესაძლოა რთავდნენ ჟანგვითი მეტაბოლიზმის გაძლიერებულ მექანიზმს (Gibbs et al., 2006). შესაძლოა ეს მოლეკულური მექანიზმი მონაწილეოდეს ამ ენზიმური კომპლექსის კოორდინირებულ აწყობაში მარცხენა იმ-ში, განსხვავებით ტვინის სხვა რეგიონებისგან, რომლებსაც არ აქვთ მეხსიერების საცავის ფორმირების უნარი, გარკვეული საათების მანძილზე წიწილის გამოჩეკვიდან.

ჩვენი მიღებული მონაცემები გვამლევს საშუალებას დასკვნისა, რომ ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ ციტოქრომ c ოქსიდაზა-I-ის და II -ის ცვლილებები დასწავლისათვის სპეციფიკურია. ეს დასკვნა შემდეგ ფაქტებზეა დაფუძნებული(1) ტრენირებულ წიწილებში ციტოქრომ c ოქსიდაზა-I-ის რაოდენობა სარწმუნოდ იზრდებოდა უპირატესობის ტესტის მაჩვენებელთან ერთად,(სურ.5). ამავე დროს ამ ცილის ინტერპოლირებული რაოდენობა უპირატესობის მაჩვენებლის 50%-იან მაჩვენებელზე სარწმუნოდ არ განსხვავდება არატრენირებული წიწილების საშუალო მაჩვენებლისგან. აქედან გამომდინარე ციტოქრომ c ოქსიდაზა-I-ის რაოდენობა

დასწავლის სიძლიერის ზრდასთან ერთად იზრდება და არ არის დამოკიდებული ტრენირების გვერდით ეფექტებზე. (2) ციტოქრომ c ოქსიდაზა-I-ის რაოდენობა არ არის სარწმუნო კორელაციაში მიახლოების აქტივობასთან ტრენინგის პროცესში, რაც მიუთითებს იმაზე რომ ლოკომოტორული აქტივობა ტრენინგის პროცესში თავისთავად არ იყო ციტოქრომ c ოქსიდაზა-I-ის დონეზე მნიშვნელოვანი მოქმედი გვერდითი ეფექტი. მოტივაციური მდგომარეობა მიღებულ შედეგებზე გავლენას არ ახდენდა; (3) ციტოქრომ c ოქსიდაზა-I-ის ცვლილებები იყო რეგიონალურად სპეციფიკური და განსხვავდებოდა პნ-ში ციტოქრომ c ოქსიდაზა-I-ის ცვლილებებისაგან. ამ რეგიონში არ შეიმჩნეოდა სარწმუნო კორელაცია ცილის რაოდენობასა და უპირატესობის ტესტის მაჩვენებლს შორის და ერდაერთი სარწმუნო კორელაცია იყო უარყოფითი კავშირი ცილის რაოდენობასა და ტრენირების დროს მიახლოების აქტივობა შორის. (4) ციტოქრომ- c ოქსიდაზა-II სუბერთეულის შემთხვევაშიც მარცხენა იმ-ში აღინიშნებოდა რეგიონალური ცვლილებები, ასევე ადგილი ქონდა პოზიტიურ კორელაციას ციტოქრომ- c ოქსიდაზა-II-ის რაოდენობასა და უპირატესობის ტესტს შორის (სურათი 7), ამ ცილის რაოდენობა არ იყო სარწმუნო კორელაციაში ცხოველის მოტორულ აქტივობასთან. სარწმუნო სხვაობა არ იყო ციტოქრომ c ოქსიდაზა-II-სა ინტერპოლირებულ რაოდენობასა არანაირი "უპირატესობის ხარისხ"-50-ს მაჩვენებლსა და არატრენირებულ წიწილების საშუალო მაჩვენებლს შორის.

დასწავლასთან დაკავშირებულ ბიოქიმიურ ცვლილებებს რომლებიც აღინიშნება მარცხენა იმ-ში ტრენინგის შემდეგ (Solomon et al 1998, 2003, 2008) ესაჭიროება ადექვატური ენერგომომარაგება, ის ფაქტი რომ იზრდება ციტოქრომ c ოქსიდაზა-I-ის, და ციტოქრომ c ოქსიდაზა-II-ის რაოდენობა ტვინის ამ რეგიონში შესაძლოა ასახავდეს მიტოქონდრიულ პასუხს ამ მოთხოვნის შესაბამისად (იხ. Attwell and Laughlin 2001). არსებობს სხვა კავშირებიც მიტოქონდრიულ ფუნქციასა და იმ ზოგიერთ ნეირონულ ცვლილებებს შორის რაც მოსდევს

იმპრინტინგის პროცესს. დასწავლის პროცესი იწვევს პრესინაფსურ და პოსტინაფსურ ცვლილებებს მარცხენა იმ-ში და რა თქმა უნდა შესაძლოა ამ პროცესებშიც იყო ჩართული მიტოქონდრია. დენდრიტული ქაცვების პოსტინაფსური სიმკვრივის საშუალო სიგრძე ტრენირებულ წიწილების თავის ტვინში შედარებით გაზრდილი იყო ვიდრე არატრენირებულებში (Horn et al. 1985). ეს ზრდა განისაზღვრება გლუტამატის რეცეპტორების, მათ შორის ნმდა რეცეპტორების რიცხვის ზრდით (Sheng and Hoogenraad, 2007). დენდრიტული ქაცვების სინაფსების გააქტივებას ადგილი აქვს საიმპრინტინგო წვრთნის შედეგად. ეს სავარაუდოდ განაპირობებულია გადიდებულ პოსტინაფსურ სიმკვრივეში (პსს) კალციუმის დიდი ნაკადის შესვლით. კალციუმის ამ ნაკადმა კი შესაძლოა გამოიწვიოს რიგი დაღმავალი სასიგნალო კასკადების აქტივაცია - იზრდება პროტეინკინაზების აქტივაცია, (იხ. Derkach et al., 2007) შესაბამისად იზრდება ენერგეტიკული მოთხოვნილება. კალციუმის ნაკადის გაზრდამ შესაძლოა გამოიწვიოს მიტოქონდრიონის გადაადგილება/ტრანსლოკაცია, ქაცვების ფუძეზე რაც ენერჯის გაძლიერებულ მოთხოვნაზე გარკვეულ პასუხია (Li et al., 2004; Mattson et al., 2008, MacAskill and Kittler, 2010).

რაც შეეხება პრესინაფსურ მხარეს აქ მიტოქონდრია ჩართულია სინაფსური ვეზიკულების რეციკლიზაციაში (Rowland et al., 2000; Perkins et al., 2010) და ამ პროცესში მიტოქონდრია ერთ-ერთ მთავარ როლს თამაშობს. იმპრინტინგის დროს, დროის ზუსტად ამ წერტილზე ვეზიკულების რეციკლიზაციის ერთ-ერთი მთავარი "მოთამაშის" კლატრინის მძიმე ჯაჭვების ზრდას აქვს ადგილი მარცხენა იმ-ში (Solomon et al., 1997). იმპრინტინგის დროს მიტოქონდრია ასევე აკუმულირებს ციტოპლაზმურ კალციუმს, და შესაძლოა გავლენას ახდენდეს ტრანსმისიის პროცესზე ზოგიერთ პრესინაფსურ ტერმინალში (Billups and Forsythe, 2002, მიმოხილვისათვის MacAskill et al., 2010). ტრანსმისის დასწავლისათვის სპეციფიკურ მატებას მართლაც აქვს ადგილი იმპრინტინგის შემდეგ (Meredith et al., 2004).

5.2 სიციხით შოკირებადი ცილა 90

სშც90 დასწავლაში მონაწილე კანდიდატთა გენთა სიაში აღმოჩნდა სუბსტრაციული ჰიბრიდიზაციის ექსპერიმენტების მონაცემების მიხედვით (Solomon et al., 2003).- ამ ცილოვანი მოლეკულის შესაბამისი გენის მრნმ-ის ექსპრესია მარცხენა იმმ-ში კარგად დამსწავლელ წიწილებში უფრო მომატებული იყო ვიდრე ცუდად დამსწავლელებში იმპრინტინგიდან 24 საათის შემდეგ. დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ სშც90 ცილის დონის არანაირ ცვლილებებს ადგილი არ ჰქონდა ((Solomon et al., 2011). ჩვენ ამ ცილის რაოდენობრივი ცვლილებები შევისწავლეთ 30 წუთიანი ტრენინგის და დასწავლიდან 1 საათის პირობებში. ამ შემთხვევაშიც არანაირი ცვლილებები არ იქნა დაფიქსირებული. სშც90-ის მ-რნმ-ის მომატებული ექსპრესიის დაფიქსირება მარცხენა იმმ-ში შეიძლება არ წარმოადგენდეს არტეფაქტს - უბრალოდ მომატებული დონის მ-რნმ-ის შესაბამის ტრანსლიაციას ადგილი არ აქვს შესაბამის ცილოვან მოლეკულაში.

5.3 არკ/არგ 3.1

არკ/არგ 3.1 მყისიერ ადრეულ გენთა პროდუქტების რიცხვს განეკუთვნება. ამ ცილის დონის მატებას აქვს ადგილი საკმაოდ სწრაფად სინაფსური აქტივობის მატების პარალელურად (იხილეთ ლიტერატურის მიმოხილვა). ლოგიკურად მოსალოდნელი იყო რომ ამ ცილის დონე მოიმატებდა იმპრინტინგ-დასწავლიდან დროის მოკლე მონაკვეთში. ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები მიუთითებს იმაზე რომ ამ ცილისათვის ტრენირების ამ ოქმით და დროის ამ წერტილზე სარწმუნო ცვლილებებს ადგილი არ აქვს. ამავე დროს დროის იგივე წერტილზე დასწავლისათვის სპეციფიკურად Fos გენის ცილოვანი პროდუქტი იცვლება (McCabe

and Horn 1994). როგორ შეიძლება ეს ავხსნათ?

ლიტერატურის მიმოხილვისას ჩვენს მიერ აღნიშნული იყო რომ არსებობს უარყოფითი კორელაცია ამჰმ რეცეპტორების აქტივობასა და არკ/არგ 3.1 ცილის ექსპრესიას შორის (Rao et al, 2006). ჩვენი მონაცემები მიუთითებს, რომ დროის ამ წერტილზე ამჰმ რეცეპტორის გლუ-ა1 სუბერთეულის ფოსფორილირებას და სავარაუდოდ მისი აქტივობის მატებას უნდა ჰქონდეს ადგილი (იხილეთ კვლევის შედეგები და აგრეთვე დისკუსიის შემდეგი ქვეთავი). ამრიგად არკ/არგ 3.1 გენის ექსპრესიის მატება შეუთავსებელი იქნებოდა ამჰმ რეცეპტორების აქტივაციასთან.

5.4 გლუ-ა1 და მისი ფოსფორილირება

გლუ-ა1 ფოსფორილირების ცვლილება იმპრინტინგის შემდეგ ჩვენ გავანალიზეთ 3 პარამეტრის მიხედვით: ჯ-გლუ-ა1-ის, ფ-გლუ-ა1-ის და მათი ფარდობის მიხედვით. ეს განპირობებულია იმით, რომ ჯამური გლუ-ა1 რაოდენობის მატებამ შეიძლება ისედაც გამოიწვიოს ფოსფორილირებული ფორმის მატება, რადგან შეუძლებელია სუბერთეულის მთლიანი აუზიდან გარკვეული, თუნდაც მცირე პროცენტი მაინც არ იყოს ფოსფორილირებული. ამავე მიდგომით ჩვენს ლაბორატორიაში ნაჩვენები იყო, რომ 1 საათიანი ტრენირების ოქმით, 1 საათის შემდეგ ადგილი ფ/ჯ-გლუ-ა1-ის დასწავლისათვის სპეციფიკურ მატებას. ჩვენ დავსვით ასეთი შეკითხვა - არის თუ ტრენირების უფრო მცირე დრო საკმარისი იმავე ცვლილებებისათვის? აქვე უნდა აღვნიშნოთ, რომ დაახლოებით ანალოგიური სცენარით ჩატარებულმა კვლევამ Fos გენის ექსპრესიის ცვლილებისა აჩვენა რომ დროის ძალიან მცირე პერიოდითაც კი ტრენირება გენის ექსპრესიის ზრდას იწვევს გარკვეულ ფიქსირებულ წერტილზე ტრენინგის სტარტიდან (იხ. Suge and McCabe 2004). ეს მიუთითებს იმაზე, რომ მცირედროიანი ტრენინგიც რთავს გარკვეულ

რეაქციათა თანამიმდევრობას, რომელსაც თავისი სცენარი გააჩნია.

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები მიუთითებს რომ ნახევარ საათიანი ტრეინინგიდან 1 საათის შემდეგაც ადგილი აქვს მეხსიერებისათვის სპეციფიკურად ფ/ჯ-გლუ-ა1-ის მაჩვენებლის ზრდას. ეს განპირობებული უნდა იყოს ჯ-გლუ-ა1-ის გარკვეული შემცირებით და ფ-გლუა1-ის მატებით. მიღებული მონაცემების სხვა მონაცემებთან შეჯერება მიუთითებს რომ გლუ-ა1-ის ფოსფორილირების მატება დროის უფრო მცირე მონაკვეთიანი ტრეინინგით მიიღწევა და ის ალბათ დროის გარვეულ პერიოდში უნდა ნარჩუნდებოდეს.

რასთან არის შეუღლებული გლუ-ა1 ფოსფორილირების მატება? ნაჩვენებია რომ გლუ-ა1-ის 831-ე სერინის ნაშთზე ფოსფორილირება იწვევს არხის გამტარობის გაზრდას და ასევე ამჟამ რეცეპტორების სინაფსებში ჩართვას (Derkach et al., 1999; Hu et al., 2007). ახალი მონაცემები მიუთითებს, რომ არხის გამტარობის გაზრდა გამოწვეულია არხის გახსნის ალბათობის გახსნით გახსნის სიხშირის მომატებით (Kristensen et al., 2011). ჩვენ შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ იმ-ში ფ/ჯ-გლუ-ა1-ის მაჩვენებლის ზრდა უნდა ასახავდეს დასწავლისათვის სპეციფიკურად ამჟამ არხის გამტარებლობის მატებას. სერინის 831-ე ნაშთი გლუ-ა1 სუბერთეულში გარდა კამკII-ისა შეიძლება ფოსფორილდებოდეს პროტეინკინაზა C-თი (პკC) (Roche et al., 1996). ირკვევა, რომ პკC- ძალუმს აგრეთვე 818-ე სერინის ნაშთის (Boehm et al., 2006), 840-ე სერინის (Lee et al., 2007) და 816 სერინის (Lin et al., 2009) ნაშთების ფოსფორილირება. 816-ე სერინის, 818-სერინის და 840 სერინის ნაშთების ფოსფორილირება პკC-თი ჩართულია სინაფსური პლასტიურობის პროცესებში (Boehm et al 2006, Lee et al., 2007, Lin et al., 2009). ამავე დროს ჩვენ ვერ შევძელით თუნდაც ერთი ნაშრომის ნახვა სადაც ნაჩვენები იქნებოდა პკC-თი განხორციელებული 831-ე სერინის ნაშთის ფოსფორილირების მონაწილეობა სინაფსური პლასტიურობის პროცესებში. გამომდინარე იმ ფაქტიდან, რომ თანხვდენა არის კამკII-ის აქტივაციასა და ფ/ჯ-გლუ-ა1 მატებას შორის დროისა და

რეგიონის მიხედვით ჩვენ ვვარაუდობთ რომ იმპრინტინგის დროს მომატებულ ფ/ჯ-გლუ-ა1-ზე პასუხისმგებელი სწორედ კამკII უნდა იყოს.

გლუა1-ის ფოსფორილირების მიხედვით არ შეიმჩნევა ასიმეტრია ნახევარსფეროებს შორის. საერთოდ ასიმეტრია დროის ამ წერტილზე დროის ამ წერტილზე აღრიცხული არ არის (იხ. Solomonina et al., 2005; McCabe and Horn 1994), მაგრამ ჩნდება უკვე რამოდენიმე საათის შემდეგ (McCabe and Horn, 1989, Sheu et al., 1993). ასიმეტრია მკვეთრად არის გამოვლენილი ჩვენს ექსპერიმენტებშიც დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ ციტოქრომ c ოქსიდაზას და I და II სუბერთეულების შემთხვევაში (იხილეთ კვლევის შედეგები და აგრეთვე განხილვა).

თავი 6. დასკვნები

1. დასწავლიდან 24 საათის შემდეგ წიწილების თავის ტვინის მარცხენა იმმ-ში ადგილი აქვს ციტოქრომ c ოქსიდაზას და I და II სუბერთეულების რაოდენობრივ ზრდას, რაც დადებით სარწმუნო კორელაციაშია დასწავლის მაჩვენებელთან, რეგიონ სპეციფიკურია და მეხსიერებისათვის სპეციფიკური ხასიათისაა
2. მარცხენა იმმ-ში, მარჯვენა იმმ-ისა და პნ-ის განსხვავებით ადგილი აქვს დადებით, მაღალ სარწმუნო კორელაციას ციტოქრომ c ოქსიდაზასა და I და II სუბერთეულების ცვლილებებს შორის. ეს კორელაცია დასწავლაზე არ არის დამოიდებული. ჩვენ ვვარაუდობთ პოსტ-ემბრიონული განვითარების ამ სტადიაზე მიტოქონდრიული სპეციფიკური ფაქტორის/ფაქტორების არსებობას მარცხენა იმმ-ში, რომელიც განაპირობებს ციტოქრომ c ოქსიდაზას კომპლექსის ეფექტურ ჩამოყალიბებას და ხელს უწყობს ტვინის ამ უბნის “მეხსიერების საცავად“ ფუნქციონირებას განვითარების ამ ადრეულ სტადიაზე.
3. 30 წუთიანი ტრეინინგის პირობებში, დასწავლიდან ერთი საათის შემდეგ იმმ-ში ადგილი აქვს 831-ე სერინის ნაშთზე ფოსფორილირებული გლუ-ა1 სუბერთეულების დასწავლისათვის სპეციფიკურ მატებას. ეს მატება არ არის გამოწვეული სუბერთეულის რაოდენობის ჯამური მატებით, არამედ განპირობებულია ფოსფორილირებული მოლეკულების წილის მომატებით. გლუ-ა1-ის 831-ე სერინის ნაშთზე ფოსფორილირება და ამ რეაქციით გამოწვეული ცვლილებები დასწავლისა და მეხსიერების ერთ-ერთ ადრეულ პროცესს უნდა წარმოადგენდეს.
4. 30 წუთიანი ტრეინინგის პირობებში, დასწავლიდან ერთი საათის შემდეგ არცერთ შესწავლილ უბანში ადგილი არ აქვს სმც90-ის და არკ/არგ 3.1-ის ცვლილებებს.

**Ilia State University,
Institute of Chemical Biology**

Nana Kunelauri

Visual Imprinting in chicks - mitochondrial proteins and α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid type glutamate receptors

A major impediment to understanding the molecular basis of learning and memory has been the identification of brain regions involved in the storage process. This impediment has largely been overcome in the case of visual imprinting which is a learning process by which the young of certain species, including domestic chicks, come to recognize an object as a result of being exposed to it. Before imprinting no previous visual learned experience has made its mark on the brain. There is strong converging evidence that a restricted part of the chick forebrain, the intermediate and medial part of the mesopallium (IMM) stores information acquired through imprinting and other forms of avian learning. Advantage has been taken of these features of imprinting to demonstrate a series of learning-specific changes in the gene expression patterns and amounts of neuronally important proteins. All these changes are positively correlated with the amount chicks learn and cannot be attributed to side-effects of the training procedure and most of them are time-dependent (for review see Horn 2004).

For the study of differential gene expression after imprinting Suppressive Subtractive Hybridization (SSH) approach was used (Solomon et al., 2003). Nearly 50 genes were identified, whose expression is up- or downregulated 24h after imprinting. For protein products of two of them, namely amyloid precursor protein (APP) and myristoylated, alanine-rich C-kinase substrate learning specific increase was demonstrated in the left IMM (Solomon et al., 2003).

One of the aims of the present work was to further explore results obtained by the SSH experiments. The protein products of the following candidate genes were assayed: subunits I and II of cytochrome c oxidase (CO-I and CO-II, respectively). In the SSH experiments the mRNA levels of CO-I, CO-II were upregulated in the left IMM of chicks that showed a strong preference for the imprinted object. CO-I and CO-II are catalytic subunits of the cytochrome c oxidase enzyme complex and are expressed in mitochondria. This enzyme is central to energy metabolism, and mitochondria play a role in many aspects of neuronal function including, the synaptic changes that underlie learning and memory.

Results. In the present study we have shown that amounts of two protein subunits CO-I and CO-II of cytochrome c oxidase complex are influenced by both learning-independent and learning-dependent factors. In the left IMM, but not in three other brain regions (right IMM, left and right posterior pole of the nidopallium [PPN]) studied, the amounts of CO-I and CO-II co-varied: the correlation between them was highly significant. This relationship did not depend on learning. However, learning influenced the amounts of both proteins, but did so only in the left IMM. In this region amounts of each protein increased with the strength of learning. These findings raise the possibility that the molecular mechanisms involved in the coordinated assembly of cytochrome c oxidase are precociously developed in the left IMM compared to the other regions studied. *This precocious development may enable the region to respond efficiently to the oxidative demands made by the changes in synaptic connectivity that underlie memory formation; and would allow the left IMM to function as a storage site within hours after hatching.*

In the membrane fraction of IMM 1 h after the end of training, the amount of Thr286-autophosphorylated α -calcium/calmodulin dependent protein kinase II (α CaMKII) and the proportion of total α CaMKII that was phosphorylated increased as chicks learned (Solomon et al., 2005). No learning-related effects were observed in the PPN, a control forebrain region that does not display learning-related changes following imprinting. No learning-related effects were found in either the IMM or the PPN 24 h after training.

α CaMKII is thus implicated in early processes underlying memory formation (Solomon et al. 2005).

The learning-related activation of α CaMKII 1 h after the end of training raises questions concerning the signaling pathways activated by α CaMKII during memory formation. An important target of α CaMKII is the GluA1 subunit of the α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA) receptor. Activated α CaMKII directly phosphorylates Ser831 in the C terminus of the GluA1, promotes its delivery into the postsynaptic membrane and increases the channel conductance of AMPA receptors.

The second aim of our experiments was to investigate whether the learning-related increase in the autophosphorylation of α CaMKII described above is followed by changes in the Ser831 phosphorylation of GluA1 and in total amount of this subunit. Original α CaMKII studies were conducted with a one-hour training protocol and biochemical measurements made 1 h and 24 h after the end of training. Previous studies in our laboratory has demonstrated that indeed according to this behavioural protocol increase in the ratio of phosphorylated to total amount of GluA1 (P/T-GluA1) was increased. Since a learning-related increase in Fos-like immunoreactivity is achieved also with a shorter period of training in present series of experiments chicks were trained for 30 min and decapitated after 1 h.

Results. In the present study we have investigated whether the learning-related increase in α CaMKII autophosphorylation is followed by changes in the Ser831 phosphorylation of GluA1 (P-GluA1) and in total amount of this subunit (T-GluA1). Trained chicks together with untrained control chicks were trained for 30 min and killed 1 h after training. Tissue was removed from the IMM together with tissue from the PPN as a control. Amounts of P-GluA1 and T-GluA1 were measured. In the left IMM the P-GluA1/T-GluA1 ratio increased in a learning-specific way. *The results indicate that a regionally-dependent, learning-specific increase in GluA1 phosphorylation occurs early in recognition memory formation.*

The third and fourth aims of the present work was to study the changes in the amounts of heat shock protein 90 (HSP90) and the activity-regulated cytoskeletal protein (Arc, also known as Arg3.1) 1h after the end of 30 minute training period. HSP90 is one candidate proteins according to the SSH studies, but has not shown any changes 24h after training. Arc/Arg3.1 is involved in the processes of synaptic plasticity including memory.

Results. Neither for HSP90, nor for arc/Arg3.1 no changes were shown 1h after the end of 30 min training session in any brain region studied. .

თავი 7. გამოყენებული ლიტერატურა

1. Abajian C and Rosenzweig AC. Crystal structure of yeast Sco1. *J Biol Inorg Chem* Mar 11: 459–466, 2006.
2. Acin-Perez R, Bayona-Bafaluy MP, Fernandez-Silva P, Moreno- Loshuertos R, Perez-Martos A, Bruno C, Moraes CT, and Enriquez JA. Respiratory complex III is required to maintain complex I in mammalian mitochondria. *Mol Cell* 13: 805–815, 2004.
3. Aggeler R and Capaldi RA. Yeast cytochrome *c* oxidase subunit VII is essential for assembly of an active enzyme. Cloning, sequencing, and characterization of the nuclear-encoded gene. *J Biol Chem* 265: 16389–16393, 1990.
4. Alexander C, Votruba M, Pesch UE, Thiselton DL, Mayer S, Moore A, Rodriguez M, Kellner U, Leo-Kottler B, Auburger G et al.: OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28. *Nat Genet* 2000, 26:211-215.
5. Allen LA, Zhao XJ, Caughey W, and Poyton RO. Isoforms of yeast cytochrome *c* oxidase subunit V affect the binuclear reaction center and alter the kinetics of interaction with the isoforms of yeast cytochrome *c*. *J Biol Chem* 270: 110–118, 1995.
6. Ariyasu RG, Nichol JA, Ellisman MH: Localization of sodium/potassium adenosine triphosphatase in multiple cell types of the murine nervous system with antibodies raised against the enzyme from kidney. *J Neurosci* 1985, 5:2581-2596.
7. Arlt H, Steglich G, Perryman R, Guiard B, Neupert W, and Langer T. The formation of respiratory chain complexes in mitochondria is under the proteolytic control of the m-AAA protease. *EMBO J* 17: 4837–4847, 1998.
8. Arlt H, Tauer R, Feldmann H, Neupert W, and Langer T. The YTA10–12 complex, an AAA protease with chaperone-like activity in the inner membrane of mitochondria. *Cell* 85: 875–885, 1996.
9. Arnold I and Langer T. Membrane protein degradation by AAA proteases in mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1592: 89–96, 2002.

10. Arnold S and Kadenbach B. Cell respiration is controlled by ATP, an allosteric inhibitor of cytochrome-*c* oxidase. *Eur J Biochem* 249: 350–354, 1997. Attardi G and Schatz G. Biogenesis of mitochondria. *Annu Rev Cell Biol* 4: 289–333, 1988.
11. Atsumi T. The ultrastructure of intramuscular nerves in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol.* 1981;55:193–198.
12. Auffray C, Imbeaud S, Roux-Rouquie M, and Hood L. From functional genomics to systems biology: concepts and practices. *CR Biol* 326: 879–892, 2003.
13. Babcock GT and Wikstrom M. Oxygen activation and the conservation of energy in cell respiration. *Nature* 356: 301–309, 1992. Barrientos A, Barros MH, Valnot I, Rotig A, Rustin P, and Tzagoloff A. Cytochrome oxidase in health and disease. *Gene* 286: 53–63, 2002. Barrientos A, Korr D, and Tzagoloff A. Shy1p is necessary for full expression of mitochondrial *COX1* in the yeast model of Leigh’s syndrome. *EMBO J* 21: 43–52, 2002.
14. Barrientos A, Zambrano A, and Tzagoloff A. Mss51p and Cox14p jointly regulate mitochondrial Cox1p expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J* 23: 3472–3482, 2004.
15. Barros MH and Tzagoloff A. Regulation of the heme A biosynthetic pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* 516: 119–123, 2002.
16. Barros MH, Carlson CG, Glerum DM, and Tzagoloff A. Involvement of mitochondrial ferredoxin and Cox15p in hydroxylation of heme O. *FEBS Lett* 492: 133–138, 2001.
17. Barros MH, Nobrega FG, and Tzagoloff A. Mitochondrial ferredoxin is required for heme A synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 277: 9997–10002, 2002.
18. Barsoum MJ, Yuan H, Gerencser AA, Liot G, Kushnareva Y, Gräber S, Kovacs I, Lee WD, Waggoner J, Cui J, et al. Nitric oxide-induced mitochondrial fission is regulated by dynamin-related GTPases in neurons. *EMBO J.* 2006;25:3900–3911.
19. Beal MF, Ferrante RJ, Browne SE, Matthews RT, Kowall NW, Brown RH., Jr. Increased 3-nitrotyrosine in both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* 1997;42:644–654.
20. Beal MF: Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Ann Neurol* 2005, 58:495-505.

21. Beers J, Glerum DM, and Tzagoloff A. Purification, characterization, and localization of yeast Cox17p, a mitochondrial copper shuttle. *J Biol Chem* 272: 33191–33196, 1997.
22. Bender E and Kadenbach B. The allosteric ATP-inhibition of cytochrome *c* oxidase activity is reversibly switched on by cAMP-dependent phosphorylation. *FEBS Lett* 466: 130–134, 2000.
23. Biscoe TJ, Evans RH, Francis AA, Martin MR, Watkins JC, Davies J, Dray A. D-alpha-Aminoadipate as a selective antagonist of amino acid-induced and synaptic excitation of mammalian spinal neurones. *Nature*. 1977 Dec 22-29;270(5639):7435.
24. Biswas TK and Getz GS. Promoter-promoter interactions influencing transcription of the yeast mitochondrial gene, *Oli 1*, coding for ATPase subunit 9: *cis* and *trans* effects. *J Biol Chem* 263: 4844–4851, 1988.
25. Blanpied, T.A., Scott, D.B., and Ehlers, M.D. (2002). *Neuron* 36, 435–449.
26. Boehm, J. Kang MG, Johnson RC, Esteban J, Huganir RL, Malinow R. (2006). Synaptic incorporation of AMPA receptors during LTP is controlled by a PKC phosphorylation site on GluR1. *Neuron* 51, 213–225.
27. Bolhuis JJ, Cook S, Horn G. Getting better all the time: improving preference scores reflect increases in the strength of filial imprinting. *Anim Behav*. 2000 Jun;59(6):1153-1159.
28. Bonnefoy N and Fox TD. In vivo analysis of mutated initiation codons in the mitochondrial *COX2* gene of *Saccharomyces cerevisiae* fused to the reporter gene ARG8m reveals lack of downstream reinitiation. *Mol Gen Genet* 262: 1036–1046, 2000.
29. Bradley P, Horn G, Bateson P. Imprinting. An electron microscopic study of chick hyperstriatum ventrale. *Exp Brain Res*. 1981;41(2):115-20.
30. Brecht, D.S., and Nicoll, R.A. (2003). *Neuron* 40, 361–379.
31. Bromberg MB. Diagnostic criteria and outcome measurement of amyotrophic lateral sclerosis. *Adv. Neurol.* 2002;88:53–62.

32. Brown KR, Allan BM, Do P, and Hegg EL. Identification of novel hemes generated by heme A synthase: evidence for two successive monooxygenase reactions. *Biochemistry* 41: 10906–10913, 2002.
33. Brown NG, Costanzo MC, and Fox TD. Interactions among three proteins that specifically activate translation of the mitochondrial *COX3* mRNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 14: 1045–1053, 1994.
34. Bruce-Keller AJ, Li YJ, Lovell MA, Kraemer PJ, Gary DS, Brown RR, Markesbery WR, Mattson MP. 4-Hydroxynonenal, a product of lipid peroxidation, damages cholinergic neurons and impairs visuospatial memory in rats. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1998;57:257–267.
35. Brunori M, Antonini G, Malatesta F, Sarti P, and Wilson MT. Cytochrome-c oxidase. Subunit structure and proton pumping. *Eur J Biochem* 169: 1–8, 1987.
36. Bunn HF and Poyton RO. Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia. *Physiol Rev* 76: 839–885, 1996.
37. Burke PV and Poyton RO. Structure/function of oxygen-regulated isoforms in cytochrome *c* oxidase. *J Exp Biol* 201: 1163–1175, 1998.
38. Burke PV, Raitt DC, Allen LA, Kellogg EA, and Poyton RO. Effects of oxygen concentration on the expression of cytochrome *c* and cytochrome *c* oxidase genes in yeast. *J Biol Chem* 272: 14705–14712, 1997.
39. Burkhalter J, Fiumelli H, Allaman I, Chatton JY, Martin JL. Brain-derived neurotrophic factor stimulates energy metabolism in developing cortical neurons. *J. Neurosci.* 2003;23:8212–8220.
40. Buschlen I, Amillet JM, Guiard B, Fournier A, Marcireau C, and Bolotin-Fukuhara M. The *S. cerevisiae* HAP complex, a key regulator of mitochondrial function, coordinates nuclear and mitochondrial gene expression. *Comp Funct Genom* 4: 37–46, 2003.
41. Butow RA and Avadhani NG. Mitochondrial signaling: the retrograde response. *Mol Cell* 14: 1–15, 2004.
42. Cajal, S. R. *Histology du Systeme Nerveux de l'Homme et des Vertebres*. Vol. 2 (Paris, 1911) (Republished by Maloine, 1955).

43. Calder KM and McEwen JE. Deletion of the *COX7* gene in *Saccharomyces cerevisiae* reveals a role for cytochrome c oxidase subunit VII in assembly of remaining subunits. *Mol Microbiol* 5: 1769–1777, 1991.
44. Cameron HA, Kaliszewski CK, Greer CA. Organization of mitochondria in olfactory bulb granule cell dendritic spines. *Synapse*. 1991;8:107–118.
45. Cantwell R, McEntee CM, and Hudson AP. Regulation of mitochondrial transcription during the stringent response in yeast. *Curr Genet* 21: 241–247, 1992.
46. Carelli V, Ross-Cisneros FN, Sadun AA: Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. *Prog Retin Eye Res* 2004, 23:53-89.
47. Carr HS, George GN, and Winge DR. Yeast Cox11, a protein essential for cytochrome c oxidase assembly, is a Cu(I)-binding protein. *J Biol Chem* 277: 31237–31242, 2002.
48. Carr HS, Maxfield AB, Horng YC, and Winge DR. Functional analysis of the domains in Cox11. *J Biol Chem* 280: 22664–22669, 2005. Carr HS and Winge DR. Assembly of cytochrome c oxidase within the mitochondrion. *Acc Chem Res* 36: 309–316, 2003.
49. Carroll, R.C., Lissin, D.V., von Zastrow, M., Nicoll, R.A., and Malenka, R.C. (1999). *Nat. Neurosci.* 2, 454–460.
50. Caughey WS, Smythe GA, O’Keeffe DH, Maskasky JE, and Smith MI. Heme A of cytochrome c oxidase. Structure and properties: comparisons with hemes B, C, and S and derivatives. *J Biol Chem* 250: 7602–7622, 1975.
51. Causton HC, Ren B, Koh SS, Harbison CT, Kanin E, Jennings EG, Lee TI, True HL, Lander ES, and Young RA. Remodeling of yeast genome expression in response to environmental changes. *Mol Biol Cell* 12: 323–337, 2001.
52. Celenza JL and Carlson M. A yeast gene that is essential for release from glucose repression encodes a protein kinase. *Science* 233: 1175– 1180, 1986.
53. Chang DT, Reynolds IJ. Differences in mitochondrial movement and morphology in young and mature primary cortical neurons in culture. *Neuroscience*. 2006;141:727–736

54. Chang MY, Sun W, Ochiai W, Nakashima K, Kim SY, Park CH, Kang JS, Shim JW, Jo AY, Kang CS, et al. Bcl-XL/Bax proteins direct the fate of embryonic cortical precursor cells. *Mol. Cell Biol.* 2007;27:4293–4305.
55. Chen H, Chan DC: Emerging functions of mammalian mitochondrial fusion and fission. *Hum Mol Genet* 2005, 14:R283-R289
56. Chen H, Chomyn A, Chan DC: Disruption of fusion results in mitochondrial heterogeneity and dysfunction. *J Biol Chem* 2005, 280:26185-26192.
57. Chen H, Detmer SA, Ewald AJ, Griffin EE, Fraser SE, Chan DC: Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. *J Cell Biol* 2003, 160:189-200.
58. Cheng A, Wang S, Cai J, Rao MS, Mattson MP. Nitric oxide acts in a positive feedback loop with BDNF to regulate neural progenitor cell proliferation and differentiation in the mammalian brain. *Dev. Biol.* 2003;258:319–333.
59. Cheung EC, Joza N, Steenaart NA, McClellan KA, Neuspiel M, McNamara S, MacLaurin JG, Rippstein P, Park DS, Shore GC, McBride HM, et al. Dissociating the dual roles of apoptosis-inducing factor in maintaining mitochondrial structure and apoptosis. *EMBO J.* 2006;25:4061–4073.
60. Chowdhury, S., Shepherd, J.D., Okuno, H., Lyford, G., Petralia, R.S., Plath, N., Kuhl, D., Huganir, R.L., and Worley, P.F. (2006). *Neuron* 52, this issue, 445–459
61. Cipolla-Neto J, Horn G, McCabe BJ. Hemispheric asymmetry and imprinting: the effect of sequential lesions to the hyperstriatum ventrale. *Exp Brain Res.* 1982;48(1):22-7.
62. Claypool SM and Koehler CM. Hereditary spastic paraplegia: respiratory choke or unactivated substrate? *Cell* 123: 183–185, 2005.
63. Cobine PA, Ojeda LD, Rigby KM, and Winge DR. Yeast contain a non-proteinaceous pool of copper in the mitochondrial matrix. *J Biol Chem* 279: 14447–14455, 2004.
64. Conner, S.D., and Schmid, S.L. (2003). *Nature* 422, 37–44.
65. Costanzo MC and Fox TD. Control of mitochondrial gene expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *Annu Rev Genet* 24: 91–113, 1990.

66. Costanzo MC and Fox TD. Specific translational activation by nuclear gene products occurs in the 5' untranslated leader of a yeast mitochondrial mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 2677–2681, 1988.
67. Costanzo MC, Seaver EC, and Fox TD. At least two nuclear gene products are specifically required for translation of a single yeast mitochondrial mRNA. *EMBO J* 5: 3637–3641, 1986.
68. Dagsgaard C, Taylor LE, O'Brien KM, and Poyton RO. Effects of anoxia and the mitochondrion on expression of aerobic nuclear COX genes in yeast: evidence for a signaling pathway from the mitochondrial genome to the nucleus. *J Biol Chem* 276: 7593–7601, 2001.
69. David PS and Poyton RO. Effects of a transition from normoxia to anoxia on yeast cytochrome *c* oxidase and the mitochondrial respiratory chain: implications for hypoxic gene induction. *Biochim Biophys Acta* 1709: 169–180, 2005.
70. Davies DC, Horn G, McCabe BJ. Changes in telencephalic catecholamine levels in the domestic chick. Effects of age and visual experience. *Brain Res.* 1983 Nov;312(2):251-5.
71. Davies DC, Horn G, McCabe BJ. Noradrenaline and learning: effects of the noradrenergic neurotoxin DSP4 on imprinting in the domestic chick. *Behav Neurosci.* 1985 Aug;99(4):652-60.
72. Davis, G.W. (2006). *Annu. Rev. Neurosci.* 29, 307–323.
73. De Winde JH and Grivell LA. Global regulation of mitochondrial biogenesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 46: 51–91, 1993.
74. Decoster E, Simon M, Hatat D, and Faye G. The *MSS51* gene product is required for the translation of the COX1 mRNA in yeast mitochondria. *Mol Gen Genet* 224: 111–118, 1990.
75. Delettre C, Lenaers G, Griffoin JM, Gigarel N, Lorenzo C, Belenguer P, Pelloquin L, Grosgeorge J, Turc-Carel C, Perret E et al.: Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat Genet* 2000, 26:207-210.

76. Derkach, V.A., Oh, M.C., Guire E.S., and Soderling S.R. (2007) Regulatory mechanisms of AMPA receptors in synaptic plasticity. *Nature Reviews Neurosciences* 8, 101-113
77. Dimauro S, Davidzon G: Mitochondrial DNA and disease. *Ann Med* 2005, 37:222-232.
78. Donai, H., Sugiura, H., Ara, D., Yoshimura, Y., Yamagata, K., and Yamauchi, T. (2003). *Neurosci. Res.* 47, 399–408.
79. Edelman GM, Crossin KL Cell adhesion molecules: implications for a molecular histology. *Annu Rev Biochem.* 1991;60:155-90.
80. Elias, G.M., Funke, L., Stein, V., Grant, S.G., Bredt, D.S., and Nicoll, R.A. (2006). *Neuron* 52, 307–320.
81. Epstein CB, Waddle JA, Hale WT, Dave V, Thornton J, Macatee TL, Garner HR, and Butow RA. Genome-wide responses to mitochondrial dysfunction. *Mol Biol Cell* 12: 297–308, 2001.
82. Erecinska M, Cherian S, Silver IA. Energy metabolism in mammalian brain during development. *Prog. Neurobiol.* 2004;73:397–445.
83. Eubel H, Heinemeyer J, Sunderhaus S, and Braun HP. Respiratory chain supercomplexes in plant mitochondria. *Plant Physiol Biochem* 42: 937–942, 2004.
84. Fabricius C, Berthold CH, Rydmark M: Axoplasmic organelles at nodes of Ranvier. II. Occurrence and distribution in large myelinated spinal cord axons of the adult cat. *J Neurocytol* 1993, 22:941-954.
85. Fattal O, Budur K, Vaughan AJ, Franco K. Review of the literature on major mental disorders in adult patients with mitochondrial diseases. *Psychosomatics.* 2006;47:1–7.
86. Ferre M, Amati-Bonneau P, Tourmen Y, Malthiery Y, Reynier P: eOPA1: an online database for OPA1 mutations. *Hum Mutat* 2005, 25:423-428
87. Ferreira F, Quattrini A, Pirozzi M, Valsecchi V, Dina G, Broccoli V, Auricchio A, Piemonte F, Tozzi G, Gaeta L et al.: Axonal degeneration in paraplegin-deficient mice is associated with abnormal mitochondria and impairment of axonal transport. *J Clin Invest* 2004, 113:231-242.

88. Follmann K, Arnold S, Ferguson-Miller S, and Kadenbach B. Cytochrome *c* oxidase from eucaryotes but not from procaryotes is allosterically inhibited by ATP. *Biochem Mol Biol Int* 45: 1047–1055, 1998. Glerum DM, Shtanko A, and Tzagoloff A. Characterization of *COX17*, a yeast gene involved in copper metabolism and assembly of cytochrome oxidase. *J Biol Chem* 271: 14504–14509, 1996.
89. Gardner A, Johansson A, Wibom R, Nennesmo I, von Döbeln U, Hagenfeldt L, Hällström T. Alterations of mitochondrial function and correlations with personality traits in selected major depressive disorder patients. *J. Affect. Disord.* 2003;76:55–68.
90. 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
91. Giacomello M, Drago I, Pizzo P, Pozzan T. Mitochondrial Ca²⁺ as a key regulator of cell life and death. *Cell Death Differ.* 2007;14:1267–1274.
92. Glerum DM, Shtanko A, and Tzagoloff A. *SCO1* and *SCO2* act as high copy suppressors of a mitochondrial copper recruitment defect in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 271: 20531–20535, 1996.
93. Goedert M, Spillantini MG. A century of Alzheimer's disease. *Science.* 2006;314:777–781
94. Goldthwaite CD, Cryer DR, and Marmur J. Effect of carbon source on the replication and transmission of yeast mitochondrial genomes. *Mol Gen Genet* 133: 87–104, 1974.
95. Green-Willms NS, Butler CA, Dunstan HM, and Fox TD. Pet111p, an inner membrane-bound translational activator that limits expression of the *Saccharomyces cerevisiae* mitochondrial gene *COX2*. *J Biol Chem* 276: 6392–6397, 2001.
96. Griparic L, van der Wel NN, Orozco IJ, Peters PJ, van der Blik AM: Loss of the intermembrane space protein Mgm1/OPA1 induces swelling and localized constrictions along the lengths of mitochondria. *J Biol Chem* 2004, 279:18792-18798.

97. Grosshans DR, Clayton DA, Coultrap SJ, Browning MD. LTP leads to rapid surface expression of NMDA but not AMPA receptors in adult rat CA1. *Nat Neurosci.* 2002Jan;5(1):27-33.
98. Gunji W, Kai T, Takahashi Y, Maki Y, Kurihara W, Utsugi T, Fujimori F, and Murakami Y. Global analysis of the regulatory network structure of gene expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *DNA Res* 11: 163–177, 2004.
99. Guo X, Macleod GT, Wellington A, Hu F, Panchumarthi S, Schoenfield M, Marin L, Charlton MP, Atwood HL, Zinsmaier KE: The GTPase dMiro is required for axonal transport of mitochondria to Drosophila synapses. *Neuron* 2005, 47:379-393.
100. Guzowski, J.F. (2002). *Hippocampus* 12, 86–104.
101. Guzowski, J.F., Lyford, G.L., Stevenson, G.D., Houston, F.P., McGaugh, J.L., Worley, P.F., and Barnes, C.A. (2000). *J. Neurosci.* 20, 3993–4001.
102. Guzowski, J.F., McNaughton, B.L., Barnes, C.A., and Worley, P.F. (2001). *Curr. Opin. Neurobiol.* 11, 579–584.
103. Haffter P and Fox TD. Suppression of carboxy-terminal truncations of the yeast mitochondrial mRNA-specific translational activator *PET122* by mutations in two new genes, *MRP17* and *PET127*. *Mol Gen Genet* 235: 64–73, 1992.
104. Hakem R, Hakem A, Duncan GS, Henderson JT, Woo M, Soengas MS, Elia A, de la Pompa JL, Kagi D, Khoo W, et al. Differential requirement for caspase 9 in apoptotic pathways in vivo. *Cell.* 1998;94:339–352.
105. Hao Z, Duncan GS, Chang CC, Elia A, Fang M, Wakeham A, Okada H, Calzascia T, Jang Y, You-Ten A, et al. Specific ablation of the apoptotic functions of cytochrome C reveals a differential requirement for cytochrome C and Apaf-1 in apoptosis. *Cell.* 2005;121:579–591.
106. Harms KJ, Rioult-Pedotti MS, Carter DR, Dunaevsky A. Transient spine expansion and learning-induced plasticity in layer 1 primary motor cortex. *J. Neurosci.* 2008;28:5686–5690.
107. Harris KM, Fiala JC, Ostroff L. Structural changes at dendritic spine synapses during longterm potentiation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2003 Apr 29;358(1432):745-8.

108. Hashimoto M, Rockenstein E, Crews L, Masliah E. Role of protein aggregation in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Neuromolecular Med.* 2003;4:21–36.
109. He S and Fox TD. Membrane translocation of mitochondrially coded Cox2p: distinct requirements for export of N and C termini and dependence on the conserved protein Oxa1p. *Mol Biol Cell* 8: 1449–1460, 1997.
110. Heaton D, Nittis T, Srinivasan C, and Winge DR. Mutational analysis of the mitochondrial copper metallochaperone Cox17. *J Biol Chem* 275: 37582–37587, 2000.
111. Hell K, Herrmann JM, Pratje E, Neupert W, and Stuart RA. Oxa1p, an essential component of the N-tail protein export machinery in mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 2250–2255, 1998.
112. Hell K, Neupert W, and Stuart RA. Oxa1p acts as a general membrane insertion machinery for proteins encoded by mitochondrial DNA. *EMBO J* 20: 1281–1288, 2001.
113. Herrmann JM and Funes S. Biogenesis of cytochrome oxidase-sophisticated assembly lines in the mitochondrial inner membrane. *Gene* 354: 43–52, 2005.
114. Hinshaw, J.E. (2000). *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16, 483–519.
115. Hirai K, Aliev G, Nunomura A, Fujioka H, Russell RL, Atwood CS, Johnson AB, Kress Y, Vinters HV, Tabaton M, et al. Mitochondrial abnormalities in Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 2001;21:3017–3023.
116. Hiser L, Di Valentin M, Hamer AG, and Hosler JP. Cox11p is required for stable formation of the Cu(B) and magnesium centers of cytochrome c oxidase. *J Biol Chem* 275: 619–623, 2000.
117. Hodge MR, Kim G, Singh K, and Cumsy MG. Inverse regulation of the yeast *COX5* genes by oxygen and heme. *Mol Cell Biol* 9: 1958–1964, 1989.
118. Hoffman M, Gora M, and Rytka J. Identification of rate-limiting steps in yeast heme biosynthesis. *Biochem Biophys Res Commun* 310: 1247–1253, 2003

119. Honey RC, Horn G, Bateson P, Walpole M. Functionally distinct memories for imprinting stimuli: behavioral and neural dissociations. *Behav Neurosci.* 1995 Aug;109(4):689-98.
120. Hood DA, Zak R, and Pette D. Chronic stimulation of rat skeletal muscle induces coordinate increases in mitochondrial and nuclear mRNAs of cytochrome-c-oxidase subunits. *Eur J Biochem* 179: 275–280, 1989.
121. Horn G YC, Cobine PA, Maxfield AB, Carr HS, and Winge DR. Specific copper transfer from the Cox17 metallochaperone to both Sco1 and Cox11 in the assembly of yeast cytochrome C oxidase. *J Biol Chem* 279: 35334–35340, 2004.
122. Horn G YC, Leary SC, Cobine PA, Young FB, George GN, Shoubridge EA, and Winge DR. Human Sco1 and Sco2 function as copperbinding proteins. *J Biol Chem* 280: 34113–34122, 2005.
123. 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).
124. Hosler JP. The influence of subunit III of cytochrome c oxidase on the D pathway, the proton exit pathway and mechanism-based inactivation in subunit I. *Biochim Biophys Acta* 1655: 332–339, 2004.
125. Iwata S, Ostermeier C, Ludwig B, and Michel H. Structure at 2.8 Å resolution of cytochrome c oxidase from *Paracoccus denitrificans*. *Nature* 376: 660–669, 1995.
126. Jan PS, Esser K, Pratje E, and Michaelis G. Som1, a third component of the yeast mitochondrial inner membrane peptidase complex that contains Imp1 and Imp2. *Mol Gen Genet* 263: 483–491, 2000.
127. Jia L, Dienhart M, Schramp M, McCauley M, Hell K, and Stuart RA. Yeast Oxa1 interacts with mitochondrial ribosomes: the importance of the C-terminal region of Oxa1. *EMBO J* 22: 6438–6447, 2003.
128. Jia Y, Rothermel B, Thornton J, and Butow RA. A basic helix-loophelix-leucine zipper transcription complex in yeast functions in a signaling pathway from mitochondria to the nucleus. *Mol Cell Biol* 17: 1110–1117, 1997.
129. Kadenbach B, Huttemann M, Arnold S, Lee I, and Bender E. Mitochondrial energy metabolism is regulated via nuclear-coded subunits of cytochrome c oxidase. *Free Radic Biol Med* 29: 211–221, 2000.

130. Kadowaki T and Kitagawa Y. Hypoxic depression of mitochondrial mRNA levels in HeLa cell. *Exp Cell Res* 192: 243–247, 1991.
131. Kamei S, Chen-Kuo-Chang M, Cazevielle C, Lenaers G, Olichon A, Belenguer P, Roussignol G, Renard N, Eybalin M, Michelin A et al.: Expression of the Opa1 mitochondrial protein in retinal ganglion cells: its downregulation causes aggregation of the mitochondrial network. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005, 46:4288–4294
132. Kelly, M.P., and Deadwyler, S.A. (2003). *J. Neurosci.* 23, 6443–6451.
133. Kennedy MB, Bennett MK, Erondy NE. Biochemical and immunochemical evidence that the "major postsynaptic density protein" is a subunit of a calmodulin-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1983 Dec;80(23):7357–61.
134. Kennedy MB. The postsynaptic density at glutamatergic synapses. *Trends Neurosci.* 1997 Jun;20(6):264–8.
135. Kerrison JB, Arnould VJ, Ferraz Sallum JM, Vagefi MR, Barmada MM, Li Y, Zhu D, Maumenee IH: Genetic heterogeneity of dominant optic atrophy, Kjer type: Identification of a second locus on chromosome 18q12.2–12.3. *Arch Ophthalmol* 1999, 117:805–810.
136. Khalimonchuk O, Ostermann K, and Rodel G. Evidence for the association of yeast mitochondrial ribosomes with Cox11p, a protein required for the Cu(B) site formation of cytochrome *c* oxidase. *Curr Genet* 47: 223–233, 2005.
137. Kijima K, Numakura C, Izumino H, Umetsu K, Nezu A, Shiiki T, Ogawa M, Ishizaki Y, Kitamura T, Shozawa Y et al.: Mitochondrial GTPase mitofusin 2 mutation in Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. *Hum Genet* 2005, 116:23–27.
138. Kirkland RA, Franklin JL. Bax, reactive oxygen, and cytochrome *c* release in neuronal apoptosis. *Antioxid. Redox Signal.* 2003;5:589–596.
139. Kloeckener-Gruissem B, McEwen JE, and Poyton RO. Identification of a third nuclear protein-coding gene required specifically for posttranscriptional expression of the mitochondrial *COX3* gene is *Saccharomyces cerevisiae*. *J Bacteriol* 170: 1399–1402, 1988.

140. Kong J, Xu Z. Massive mitochondrial degeneration in motor neurons triggers the onset of amyotrophic lateral sclerosis in mice expressing a mutant SOD1. *J. Neurosci.* 1998;18:3241–3250.
141. Koshiba T, Detmer SA, Kaiser JT, Chen H, McCaffery JM, Chan DC: Structural basis of mitochondrial tethering by mitofusin complexes. *Science* 2004, 305:858-862.
142. Krause F, Scheckhuber CQ, Werner A, Rexroth S, Reifschneider NH, Dencher NA, and Osiewacz HD. Supramolecular organization of cytochrome *c* oxidase- and alternative oxidase-dependent respiratory chains in the filamentous fungus *Podospira anserina*. *J Biol Chem* 279: 26453–26461, 2004.
143. Kristensen A.S., Jenkins M.A., Banke T.G., Schousboe A., Makino Y., Johnson R.C., Haganir R., Traynelis S.F. (2011) Mechanism of Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II regulation of AMPA receptor gating. *Nature Neuroscience*, 14, 727-737
144. Kuida K, Zheng TS, Na S, Kuan C, Yang D, Karasuyama H, Rakic P, Flavell RA. Decreased apoptosis in the brain and premature lethality in CPP32-deficient mice. *Nature*. 1996;384:368–372.
145. Kwast KE, Burke PV, Staahl BT, and Poyton RO. Oxygen sensing in yeast: evidence for the involvement of the respiratory chain in regulating the transcription of a subset of hypoxic genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 5446–5451, 1999.
146. Labbe-Bois R and Labbe P. Tetrapyrrole and heme biosynthesis in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. In: *Biosynthesis of Heme and Chlorophylls*, edited by Dailey HA. New York: McGraw-Hill, 1990, p. 235–285.
147. Langer T, Kaser M, Klanner C, and Leonhard K. AAA proteases of mitochondria: quality control of membrane proteins and regulatory functions during mitochondrial biogenesis. *Biochem Soc Trans* 29: 431–436, 2001.
148. Lascaris R, Bussemaker HJ, Boorsma A, Piper M, van der Spek H, Grivell L, and Blom J. Hap4p overexpression in glucose-grown *Saccharomyces cerevisiae* induces cells to enter a novel metabolic state. *Genome Biol* 4: R3, 2003.
149. Lee HK, Takamiya K, Kameyama K, He K, Yu S, Rossetti L, Wilen D, Haganir RL (2007) Identification and characterization of a novel phosphorylation site on the GluR1 subunit of AMPA receptors. *Mol Cell Neurosci.* 36, 86-94.

150. Lee SJ, Yamashita E, Abe T, Fukumoto Y, Tsukihara T, Shinzawa-Itoh K, Ueda H, and Yoshikawa S. Intermonomer interactions in dimer of bovine heart cytochrome *c* oxidase. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 57: 941–947, 2001.
151. Lee YJ, Jeong SY, Karbowski M, Smith CL, Youle RJ: Roles of the mammalian mitochondrial fission and fusion mediators Fis1, Drp1, and Opa1 in apoptosis. *Mol Biol Cell* 2004, 15:5001-5011.
152. Leonhard K, Herrmann JM, Stuart RA, Mannhaupt G, Neupert W, and Langer T. AAA proteases with catalytic sites on opposite membrane surfaces comprise a proteolytic system for the ATP-dependent degradation of inner membrane proteins in mitochondria. *EMBO J* 15: 4218–4229, 1996.
153. Li YC, Zhai XY, Ohsato K, Futamata H, Shimada O, Atsumi S: Mitochondrial accumulation in the distal part of the initial segment of chicken spinal motoneurons. *Brain Res* 2004, 1026:235-243.
154. Li Z, Okamoto K, Hayashi Y, Sheng M: The importance of dendritic mitochondria in the morphogenesis and plasticity of spines and synapses. *Cell* 2004, 119:873-887.
155. Liao X and Butow RA. *RTG1* and *RTG2*: two yeast genes required for a novel path of communication from mitochondria to the nucleus. *Cell* 72: 61–71, 1993.
156. Lin, D.T. Makino Y., Sharma K., Hayashi T., Neve R., Takamiya K., Huganir R.L. (2009). Regulation of AMPA receptor extrasynaptic insertion by 4.1N, phosphorylation and palmitoylation. *Nat. Neurosci.* 12, 879–887 (2009).
157. Lindsten T, Ross AJ, King A, Zong WX, Rathmell JC, Shiels HA, Ulrich E, Waymire KG, Mahar P, Frauwirth K, et al. The combined functions of proapoptotic Bcl-2 family members bak and bax are essential for normal development of multiple tissues. *Mol. Cell.* 2000;6:1389–1399.
158. Link, W., Konietzko, U., Kauselmann, G., Krug, M., Schwanke, B., Frey, U., and Kuhl, D. (1995). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 5734–5738.
159. Lisman J, Schulman H, Cline H. The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci.* 2002 Mar;3(3):175-90.
160. Liu D, Lu C, Wan R, Auyeung WW, Mattson MP. Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels protects neurons against ischemia-induced

- death by a mechanism involving suppression of Bax translocation and cytochrome c release. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2002b;22:431–543.
161. Liu J, Head E, Gharib AM, Yuan W, Ingersoll RT, Hagen TM, Cotman CW, Ames BN. Memory loss in old rats is associated with brain mitochondrial decay and RNA/DNA oxidation: partial reversal by feeding acetyl-L-carnitine and/or R- α -lipoic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2002a;99:2356–2361.
 162. Liu Z, Sekito T, Epstein CB, and Butow RA. RTG-dependent mitochondria to nucleus signaling is negatively regulated by the seven WD-repeat protein Lst8p. *EMBO J*20: 7209–7219, 2001.
 163. Liu Z, Sekito T, Spirek M, Thornton J, and Butow RA. Retrograde signaling is regulated by the dynamic interaction between Rtg2p and Mks1p. *Mol Cell* 12: 401–411, 2003.
 164. Lu Y, Christian K, Lu B. BDNF: a key regulator for protein synthesis-dependent LTP and long-term memory? *Neurobiol. Learn. Mem.* 2008;89:312–323.
 165. Lyford, G.L., Yamagata, K., Kaufmann, W.E., Barnes, C.A., Sanders, L.K., Copeland, N.G., Gilbert, D.J., Jenkins, N.A., Lanahan, A.A., and Worley, P.F. (1995). *Neuron* 14, 433–445.
 166. Malenka, R.C., and Nicoll, R.A. (1999). *Science* 285, 1870–1874.
 167. Manthey GM and McEwen JE. The product of the nuclear gene *PET309* is required for translation of mature mRNA and stability or production of intron-containing RNAs derived from the mitochondrial *COX1* locus of *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J*14: 4031–4043, 1995.
 168. Marc P, Margeot A, Devaux F, Blugeon C, Corral-Debrinski M, and Jacq C. Genome-wide analysis of mRNAs targeted to yeast mitochondria. *EMBO Rep* 3: 159–164, 2002.
 169. Margeot A, Garcia M, Wang W, Tetaud E, di Rago JP, and Jacq C. Why are many mRNAs translated to the vicinity of mitochondria: a role in protein complex assembly? *Gene* 354: 64–71, 2005.
 170. Mark P. et.al 2008

171. Markham A, Cameron I, Franklin P, Spedding M. BDNF increases rat brain mitochondrial respiratory coupling at complex I, but not complex II. *Eur. J. Neurosci.* 2004;20:1189–1196.
172. Marquez-Sterling NR, Lo AC, Sisodia SS, Koo EH. Trafficking of cell-surface beta-amyloid precursor protein: evidence that a sorting intermediate participates in synaptic vesicle recycling. *J Neurosci.* 1997 Jan 1;17(1):140-51.
173. Martins LM, Morrison A, Klupsch K, Fedele V, Moiso N, Teismann P, Abuin A, Grau E, Geppert M, Livi GP, et al. Neuroprotective role of the Reaper-related serine protease HtrA2/Omi revealed by targeted deletion in mice. *Mol. Cell. Biol.* 2004;24:9848–9862.
174. Marykwas DL and Fox TD. Control of the *Saccharomyces cerevisiae* regulatory gene *PET494*: transcriptional repression by glucose and translational induction by oxygen. *Mol Cell Biol*9: 484–491, 1989.
175. Mattson MP, Keller JN, Begley JG. Evidence for synaptic apoptosis. *Exp. Neurol.* 1998;153:35–48.
176. Mattson MP, Partin J. Evidence for mitochondrial control of neuronal polarity. *J. Neurosci. Res.* 1999;56:8–20.
177. Maurer I, Zierz S, Möller HJ. A selective defect of cytochrome c oxidase is present in brain of Alzheimer disease patients. *Neurobiol. Aging.* 2000;21:455–462.
178. Maycox PR, Link E, Reetz A, Morris SA, Jahn R. Clathrin-coated vesicles in nervous tissue are involved primarily in synaptic vesicle recycling. *J Cell Biol.* 1992 Sep;118(6):1379-88.
179. McCabe BJ, Horn G, Bateson PP. Effects of restricted lesions of the chick forebrain on the acquisition of filial preferences during imprinting. *Brain Res.* 1981 Jan 26;205(1):29-37.
180. McCabe BJ, Horn G. Learning and memory: regional changes in N-methyl-D-aspartate receptors in the chick brain after imprinting. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988 Apr;85(8):2849-53.
181. McCabe BJ, Horn G. Synaptic transmission and recognition memory: time course of changes in N-methyl-D-aspartate receptors after imprinting. *Behav Neurosci.* 1991 Apr;105(2):289-94.

182. McEwen JE, Ko C, Kloeckner-Gruissem B, and Poyton RO. Nuclear functions required for cytochrome c oxidase biogenesis in *Saccharomyces cerevisiae*. Characterization of mutants in 34 complementation groups. *J Biol Chem* 261: 11872–11879, 1986.
183. McIntyre, C.K., Miyashita, T., Setlow, B., Marjon, K.D., Steward, O., Guzowski, J.F., and McGaugh, J.L. (2005). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 10718–10723.
184. McMahon, H.T., and Gallop, J.L. (2005). *Nature* 438, 590–596.
185. McNabb DS and Pinto I. Assembly of the Hap2p/Hap3p/Hap4p/Hap5p-DNA complex in *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryot Cell* 4: 1829–1839, 2005.
186. Min J and Zassenhaus HP. A nucleoside triphosphate-regulated, 3_exonucleolytic mechanism is involved in turnover of yeast mitochondrial RNAs. *J Bacteriol* 175: 6245–6253, 1993.
187. Mitchell P. Chemiosmotic coupling in oxidative and photosynthetic phosphorylation. *Biol Rev Camb Philos Soc* 41: 445–502, 1966.
188. Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature* 191: 144–148, 1961.
189. Moreira PI, Siedlak SL, Wang X, Santos MS, Oliveira CR, Tabaton M, Nunomura A, Szveda LI, Aliev G, Smith MA, et al. Increased autophagic degradation of mitochondria in Alzheimer disease. *Autophagy*. 2007;3:614–615.
190. Morrison MS, Cricco JA, and Hegg EL. The biosynthesis of heme O and heme A is not regulated by copper. *Biochemistry* 44: 12554–12563, 2005.
191. Mosconi L, De Santi S, Li J, Tsui WH, Li Y, Boppana M, Laska E, Rusinek H, de Leon MJ. Hippocampal hypometabolism predicts cognitive decline from normal aging. *Neurobiol. Aging*. 2008;29:676–692.
192. Mueller DM and Getz GS. Steady state analysis of mitochondrial RNA after growth of yeast *Saccharomyces cerevisiae* under catabolite repression and derepression. *J Biol Chem* 261: 11816–11822, 1986.
193. Mueller DM and Getz GS. Transcriptional regulation of the mitochondrial genome of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 261: 11756–11764, 1986.

194. Mutsaers SE, Carroll WM: Focal accumulation of intra-axonal mitochondria in demyelination of the cat optic nerve. *Acta Neuropathol (Berl)* 1998, 96:139-143.
195. Myers AM, Crivellone MD, Koerner TJ, and Tzagoloff A. Characterization of the yeast *HEM2* gene and transcriptional regulation of *COX5* and *COR1* by heme. *J Biol Chem* 262: 16822–16829, 1987.
196. Naithani S, Saracco SA, Butler CA, and Fox TD. Interactions among *COX1*, *COX2*, and *COX3* mRNA-specific translational activator proteins on the inner surface of the mitochondrial inner membrane of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell* 14: 324–333, 2003.
197. Nicholls DG, Vesce S, Kirk L, Chalmers S. Interactions between mitochondrial bioenergetics and cytoplasmic calcium in cultured cerebellar granule cells. *Cell Calcium*. 2003;34:407–424.
198. Nijtmans LG, de Jong L, Artal Sanz M, Coates PJ, Berden JA, Back JW, Muijsers AO, van der Spek H, and Grivell LA. Prohibitins act as a membrane-bound chaperone for the stabilization of mitochondrial proteins. *EMBO J* 19: 2444–2451, 2000.
199. Nittis T, George GN, and Winge DR. Yeast Sco1, a protein essential for cytochrome *c* oxidase function is a Cu(I)-binding protein. *J Biol Chem* 276: 42520–42526, 2001.
200. Nolden M, Ehses S, Koppen M, Bernacchia A, Rugarli EI, and Langer T. The m-AAA protease defective in hereditary spastic paraplegia controls ribosome assembly in mitochondria. *Cell* 123: 277–289, 2005.
201. Nunnari J, Fox TD, and Walter P. A mitochondrial protease with two catalytic subunits of nonoverlapping specificities. *Science* 262: 1997–2004, 1993.
202. Olichon A, Baricault L, Gas N, Guillou E, Valette A, Belenguer P, Lenaers G: Loss of OPA1 perturbs the mitochondrial inner membrane structure and integrity, leading to cytochrome *c* release and apoptosis. *J Biol Chem* 2003, 278:7743-7746.
203. Olichon A, Emorine LJ, Descoins E, Pelloquin L, Bricchese L, Gas N, Guillou E, Delettre C, Valette A, Hamel CP et al.: The human dynamin-related protein OPA1 is anchored to the mitochondrial inner membrane facing the inter-membrane space. *FEBS Lett* 2002, 523:171-176.

204. Ott M, Prestele M, Bauerschmitt H, Funes S, Bonnefoy N, and Herrmann JM. Mba1, a membrane-associated ribosome receptor in mitochondria. *EMBO J* 25: 1603–1610, 2006.
205. Overly CC, Rieff HI, Hollenbeck PJ. Organelle motility and metabolism in axons vs dendrites of cultured hippocampal neurons. *J. Cell Sci.* 1996;109:971–980.
206. Palay SL: Synapses in the central nervous system. *J Biophys Biochem Cytol* 1956, 2:193-202.
207. Palumaa P, Kangur L, Voronova A, and Sillard R. Metal-binding mechanism of Cox17, a copper chaperone for cytochrome c oxidase. *Biochem J* 382: 307–314, 2004.
208. Park, M., Penick, E.C., Edwards, J.G., Kauer, J.A., and Ehlers, M.D. (2004). *Science* 305, 1972–1975.
209. Pedersen WA, Fu W, Keller JN, Markesbery WR, Appel S, Smith RG, Kasarskis E, Mattson MP. Protein modification by the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal in the spinal cords of amyotrophic lateral sclerosis patients. *Ann. Neurol.* 1998;44:819–824.
210. Perez-Martinez X, Broadley SA, and Fox TD. Mss51p promotes mitochondrial Cox1p synthesis and interacts with newly synthesized Cox1p. *EMBO J* 22: 5951–5961, 2003.
211. Pillar TM and Seitz HJ. Thyroid hormone and gene expression in the regulation of mitochondrial respiratory function. *Eur J Endocrinol* 136: 231–239, 1997.
212. Poutre CG and Fox TD. PET111, a *Saccharomyces cerevisiae* nuclear gene required for translation of the mitochondrial mRNA encoding cytochrome c oxidase subunit II. *Genetics* 115: 637–647, 1987.
213. Poyton RO and Burke PV. Oxygen regulated transcription of cytochrome c and cytochrome c oxidase genes in yeast. *Biochim Biophys Acta* 1101: 252–256, 1992.
214. Poyton RO and McEwen JE. Crosstalk between nuclear and mitochondrial genomes. *Annu Rev Biochem*: 563–607, 1996.
215. Praefcke, G.J., and McMahon, H.T. (2004). *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5, 133–147.

216. Prince JA, Harro J, Blennow K, Gottfries CG, Oreland L. Putamen mitochondrial energy metabolism is highly correlated to emotional and intellectual impairment in schizophrenics. *Neuropsychopharmacology*. 2000;22:284–292.
217. Racz, B., Blanpied, T.A., Ehlers, M.D., and Weinberg, R.J. (2004). *Nat. Neurosci.* 7, 917–918.
218. Rao, V.R., Pintchovski, S.A., Chin, J., Peebles, C.L., Mitra, S., and Finkbeiner, S. (2006). *Nat. Neurosci.* 9, 887–895.
219. Rial Verde, E.M., Lee-Osbourne, J., Worley, P.F., Malinow, R., and Cline, H.T. (2006). *Neuron* 52, this issue, 461–474.
220. Riedl SJ, Salvesen GS. The apoptosome: signalling platform of cell death. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007;8:405–413.
221. Riistama S, Puustinen A, Garcia-Horsman A, Iwata S, Michel H, and Wikstrom M. Channelling of dioxygen into the respiratory enzyme. *Biochim Biophys Acta* 1275: 1–4, 1996.
222. Rodeheffer MS and Shadel GS. Multiple interactions involving the amino-terminal domain of yeast mtRNA polymerase determine the efficiency of mitochondrial protein synthesis. *J Biol Chem* 278: 18695–18701, 2003.
223. Rodeheffer MS, Boone BE, Bryan AC, and Shadel GS. Nam1p, a protein involved in RNA processing and translation, is coupled to transcription through an interaction with yeast mitochondrial RNA polymerase. *J Biol Chem* 276: 8616–8622, 2001.
224. Rogawski MA. Therapeutic potential of excitatory amino acid antagonists: channel blockers and 2,3-benzodiazepines. *Trends Pharmacol Sci.* 1993;14:325–331.
225. Rogers PJ and Stewart PR. Respiratory development in *Saccharomyces cerevisiae* grown at controlled oxygen tension. *J Bacteriol* 115: 88–97, 1973.
226. Rojo M, Legros F, Chateau D, Lombes A: Membrane topology and mitochondrial targeting of mitofusins, ubiquitous mammalian homologs of the transmembrane GTPase Fzo. *J Cell Sci* 2002, 115:1663–1674.
227. Ruthel G, Hollenbeck PJ. Response of mitochondrial traffic to axon determination and differential branch growth. *J. Neurosci.* 2003;23:8618–8624.

228. Salt TE. Mediation of thalamic sensory input by both NMDA receptors and non-NMDA receptors. *Nature*. 1986 Jul 17-23;322(6076):263-5.
229. Saltzgaber-Muller J and Schatz G. Heme is necessary for the accumulation and assembly of cytochrome *c* oxidase subunits in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 253: 305–310, 1978.
230. Sanchirico ME, Fox TD, and Mason TL. Accumulation of mitochondrially synthesized *Saccharomyces cerevisiae* Cox2p and Cox3p depends on targeting information in untranslated portions of their mRNAs. *EMBO J* 17: 5796–5804, 1998.
231. Santel A, Fuller MT: Control of mitochondrial morphology by a human mitofusin. *J Cell Sci* 2001, 114:867-874.
232. Satoh M, Hamamoto T, Seo N, Kagawa Y, Endo H: Differential sublocalization of the dynamin-related protein OPA1 isoforms in mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun* 2003, 300:482-493.
233. Schaegger H, de Coo R, Bauer MF, Hofmann S, Godinot C, and Brandt U. Significance of respirasomes for the assembly/stability of human respiratory chain complex I. *J Biol Chem* 279: 36349–36353, 2004.
234. Schafer E, Seelert H, Reifschneider NH, Krause F, Dencher NA, and Vonck J. Architecture of active mammalian respiratory chain supercomplexes. *J Biol Chem* 281: 15370–15375, 2006.
235. Schnell, E., Sizemore, M., Karimzadegan, S., Chen, L., Brecht, D.S., and Nicoll, R.A. (2002). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 13902–13907.
236. Schultz J and Carlson M. Molecular analysis of *SSN6*, a gene functionally related to the *SNF1* protein kinase of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 7: 3637–3645, 1987.
237. Selkoe DJ. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science*. 2002 Oct 25;298(5594):789-91.
238. Shao L, Martin MV, Watson SJ, Schatzberg A, Akil H, Myers RM, Jones EG, Bunney WE, Vawter MP. Mitochondrial involvement in psychiatric disorders. *Ann. Med.* 2008;40:281–295.

239. Shepherd, J.D., Rumbaugh, G., Wu, J., Chowdhury, S., Plath, N., Kuhl, D., Huganir, R.L., and Worley, P.F. (2006). *Neuron* 52, this issue, 475–484.
240. 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
241. Shuttleworth CW, Brennan AM, Connor JA. NAD(P)H fluorescence imaging of postsynaptic neuronal activation in murine hippocampal slices. *J. Neurosci.* 2003;23:3196–3208.
242. Shy ME: Charcot-Marie-Tooth disease: an update. *Curr Opin Neurol* 2004, 17:579-585.
243. Silve S, Rhode PR, Coll B, Campbell J, and Poyton RO. ABF1 is a phosphoprotein and plays a role in carbon source control of *COX6* transcription in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 12: 4197–4208, 1992.
244. Smirnova E, Griparic L, Shurland DL, van Der Blik AM: Dynamine-related protein drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. *Mol Biol Cell* 2001, 12:2245-2256. Chen H, Chan DC: Mitochondrial dynamics in mammals. *Curr Top Dev Biol* 2004, 59:119-144.
245. Smith D, Gray J, Mitchell L, Antholine WE, and Hosler JP. Assembly of cytochrome-c oxidase in the absence of assembly protein Surf1p leads to loss of the active site heme. *J Biol Chem* 280: 17652–17656, 2005.
246. Solans A, Zambrano A, and Barrientos A. Cytochrome *c* oxidase deficiency: from yeast to human. *Preclinica* 2: 336–348, 2004.
247. Solomon RO, Kiguradze T, McCabe BJ, Horn G. Neural cell adhesion molecules, CaMkinase II and long-term memory in the chick. *Neuroreport*. 2000 Sep 28;11(14):3139-43.
248. Solomon RO, Kotorashvili A, Kiguradze T, McCabe BJ, Horn G. Ca²⁺/calmodulin protein kinase II and memory: learning-related changes in a localized region of the domestic chick brain. *J Physiol*. 2005 Dec 1;569(Pt 2):643-53. Epub 2005 Sep 22.
249. Solomon RO, McCabe BJ, Horn G. Neural cell adhesion molecules, learning, and memory in the domestic chick. *Behav Neurosci*. 1998 Jun;112(3):646-55.

250. Solomonias, R. O., Kotorashvili, A., Kiguradze, T., McCabe, B. J. & Horn, G. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CamK II) and memory. *Acta Neurobiol.* 2003 Exp. 63 Suppl. 76.
251. Sorra KE, Harris KM. Stability in synapse number and size at 2 hr after long-term potentiation in hippocampal area CA1. *J Neurosci.* 1998 Jan 15;18(2):658-71.
252. Souza RL, Green-Willms NS, Fox TD, Tzagoloff A, and Nobrega FG. Cloning and characterization of *COX18*, a *Saccharomyces cerevisiae* PET gene required for the assembly of cytochrome oxidase. *J Biol Chem* 275: 14898–14902, 2000.
253. Spalding, D. A. Instinct, with original observations on young animals. *Macmillan's Magazine* 27, 282–293 (1873, reprinted by *Brit. J. Anim. Behav.* 282, 282–211, 1954).
254. Sreedhar AS, Kalm-r E, Csermely P & Shen YF. (2004) Hsp90 isoforms: functions, expression and clinical importance. *FEBS Lett.* 26; 562(1-3), 11-15
255. Stefanis L. Caspase-dependent and -independent neuronal death: two distinct pathways to neuronal injury. *Neuroscientist.* 2005;11:50–62.
256. Steglich G, Neupert W, and Langer T. Prohibitins regulate membrane protein degradation by the m-AAA protease in mitochondria. *Mol Cell Biol* 19: 3435–3442, 1999.
257. Stellwagen, D., and Malenka, R.C. (2006). *Nature* 440, 1054–1059.
258. Steward, O., and Worley, P.F. (2001). *Neuron* 30, 227–240.
259. Stowers RS, Megeath LJ, Gorska-Andrzejak J, Meinertzhagen IA, Schwarz TL: Axonal transport of mitochondria to synapses depends on Milton, a novel *Drosophila* protein. *Neuron* 2002, 36:1063-1077.
260. Stroh A, Anderka O, Pfeiffer K, Yagi T, Finel M, Ludwig B, and Schagger H. Assembly of respiratory complexes I, III, and IV into NADH oxidase supercomplex stabilizes complex I in *Paracoccus denitrificans*. *J Biol Chem* 279: 5000–5007, 2004.
261. Su X and Dowhan W. Translational regulation of nuclear gene *COX4* expression by mitochondrial content of phosphatidylglycerol and cardiolipin in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 26: 743–753, 2006.

262. Suge R. and McCabe B.J. (2004) Early stages of memory formation in filial imprinting: Fos-like immunoreactivity and behavior in domestic chick. *Neuroscience*, 123, 847-856
263. Sugioka R, Shimizu S, Tsujimoto Y: Fzo1, a protein involved in mitochondrial fusion, inhibits apoptosis. *J Biol Chem* 2004, 279:52726-52734.
264. Swerdlow RH, Parks JK, Cassarino DS, Maguire DJ, Maguire RS, Bennett JP, Jr., Davis RE, Parker WD., Jr. Cybrids in Alzheimer's disease: a cellular model of the disease? *Neurology*. 1997;49:918-925.
265. Szyrach G, Ott M, Bonnefoy N, Neupert W, and Herrmann JM. Ribosome binding to the Oxa1 complex facilitates co-translational protein insertion in mitochondria. *EMBO J* 22: 6448-6457, 2003.
266. Tate JJ, Cox KH, Rai R, and Cooper TG. Mks1p is required for negative regulation of retrograde gene expression in *Saccharomyces cerevisiae* but does not affect nitrogen catabolite repression-sensitive gene expression. *J Biol Chem* 277: 20477-20482, 2002.
267. Taylor RW, Turnbull DM: Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat Rev Genet* 2005, 6:389-402.
268. Tiranti V, Hoertnagel K, Carozzo R, Galimberti C, Munaro M, Granatiero M, Zelante L, Gasparini P, Marzella R, Rocchi M, Bayona-Bafaluy MP, Enriquez JA, Uziel G, Bertini E, Dionisi-Vici C, Franco B, Meitinger T, and Zeviani M. Mutations of *SURF-1* in Leigh disease associated with cytochrome c oxidase deficiency. *Am J Hum Genet* 63: 1609-1621, 1998.
269. Tirone F. The gene PC3(TIS21/BTG2), prototype member of the PC3/BTG/TOB family: regulator in control of cell growth, differentiation, and DNA repair? *J Cell Physiol*. 2001 May;187(2):155-65.
270. Toresson H, Grant SG. Dynamic distribution of endoplasmic reticulum in hippocampal neuron dendritic spines. *Eur. J. Neurosci*. 2005;22:1793-1798.
271. Towpik J. Regulation of mitochondrial translation in yeast. *Cell Mol Biol Lett* 10: 571-594, 2005.

272. Trawick JD, Kraut N, Simon FR, and Poyton RO. Regulation of yeast *COX6* by the general transcription factor ABF1 and separate HAP2- and heme-responsive elements. *Mol Cell Biol* 12: 2302–2314, 1992.
273. Trawick JD, Wright RM, and Poyton RO. Transcription of yeast *COX6*, the gene for cytochrome c oxidase subunit VI, is dependent on heme and on the *HAP2* gene. *J Biol Chem* 264: 7005–7008, 1989.
274. Trueblood CE and Poyton RO. Differential effectiveness of yeast cytochrome c oxidase subunit genes results from differences in expression not function. *Mol Cell Biol* 7: 3520–3526, 1987.
275. Trueblood CE, Wright RM, and Poyton RO. Differential regulation of the two genes encoding *Saccharomyces cerevisiae* cytochrome c oxidase subunit V by heme and the *HAP2* and *REO1* genes. *Mol Cell Biol* 8: 4537–4540, 1988.
276. Tsukihara T, Aoyama H, Yamashita E, Tomizaki T, Yamaguchi H, Shinzawa-Itoh K, Nakashima R, Yaono R, and Yoshikawa S. Structures of metal sites of oxidized bovine heart cytochrome c oxidase at 2.8 Å. *Science* 269: 1069–1074, 1995.
277. Tsukihara T, Aoyama H, Yamashita E, Tomizaki T, Yamaguchi H, Shinzawa-Itoh K, Nakashima R, Yaono R, and Yoshikawa S. The whole structure of the 13-subunit oxidized cytochrome c oxidase at 2.8 Å. *Science* 272: 1136–1144, 1996.
278. Turrigiano, G.G., Leslie, K.R., Desai, N.S., Rutherford, L.C., and Nelson, S.B. (1998). *Nature* 391, 892–896.
279. Tzagoloff A and Dieckmann CL. PET genes of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Rev* 54: 211–225, 1990.
280. Tzagoloff A, Nobrega M, Gorman N, and Sinclair P. On the functions of the yeast *COX10* and *COX11* gene products. *Biochem Mol Biol Int* 31: 593–598, 1993.
281. Ulery TL, Jang SH, and Jaehning JA. Glucose repression of yeast mitochondrial transcription: kinetics of derepression and role of nuclear genes. *Mol Cell Biol* 14: 1160–1170, 1994.
282. Valentine JS, Wertz DL, Lyons TJ, Liou LL, Goto JJ, and Gralla EB. The dark side of dioxygen biochemistry. *Curr Opin Chem Biol* 2: 253–262, 1998.

283. Van Dyck L, Pearce DA, and Sherman F. *PIMI* encodes a mitochondrial ATP-dependent protease that is required for mitochondrial function in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 269: 238–242, 1994.
284. Vayssière JL, Cordeau-Lossouarn L, Larcher JC, Basseville M, Gros F, Croizat B. Participation of the mitochondrial genome in the differentiation of neuroblastoma cells. *In Vitro Cell Dev. Biol.* 1992;28A:763–772.
285. Vazdarjanova, A., Ramirez-Amaya, V., Insel, N., Plummer, T.K., Rosi, S., Chowdhury, S., Mikhael, D., Worley, P.F., Guzowski, J.F., and Barnes, C.A. (2006). *J. Comp. Neurol.* 498, 317–329.
286. Verdier J, Creusot F, Guarente L, and Slonimski PP. The overproducing *CYP1* and the underproducing *hap1* mutations are alleles of the same gene which regulates in trans the expression of the structural genes encoding iso-cytochromes *c*. *Curr Genet* 10: 339–342, 1986.
287. Walaas SI, Sefland I. Modulation of calcium-evoked [3H]noradrenaline release from permeabilized cerebrocortical synaptosomes by the MARCKS protein, calmodulin and the actin cytoskeleton. *Neurochem Int.* 2000 Jun;36(7):581–93.
288. Wallace DC. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu. Rev. Genet.* 2005;39:359–407.
289. Wallace, C.S., Lyford, G.L., Worley, P.F., and Steward, O. (1998). *J. Neurosci.* 18, 26–35.
290. Waltereit, R., Dammermann, B., Wulff, P., Scafidi, J., Staubli, U., Kauselmann, G., Bundman, M., and Kuhl, D. (2001). *J. Neurosci.* 21, 5484–5493.
291. Wettstein-Edwards J, Ticho BS, Martin NC, Najarian D, and Getz GS. In vitro transcription and promoter strength analysis of five mitochondrial tRNA promoters in yeast. *J Biol Chem* 261: 2905–2911, 1986.
292. Whitlock, J.R., Heynen, A.J., Shuler, M.G., and Bear, M.F. (2006). *Science* 313, 1093–1097.
293. Wilcoxon SE, Peterson CR, Winkley CS, Keller MJ, and Jaehning JA. Two forms of RPO41-dependent RNA polymerase. Regulation of the RNA polymerase by glucose

- repression may control yeast mitochondrial gene expression. *J Biol Chem* 263: 12346–12351, 1988.
294. Wright RM and Poyton RO. Release of two *Saccharomyces cerevisiae* cytochrome genes, *COX6* and *CYC1*, from glucose repression requires the *SNF1* and *SSN6* gene products. *Mol Cell Biol* 10: 1297–1300, 1990.
 295. Wright RM, Dircks LK, and Poyton RO. Characterization of *COX9*, the nuclear gene encoding the yeast mitochondrial protein cytochrome c oxidase subunit VIIa. Subunit VIIa lacks a leader peptide and is an essential component of the holoenzyme. *J Biol Chem* 261: 17183–17191, 1986.
 296. Wright RM, Rosenzweig B, and Poyton RO. Organization and expression of the *COX6* genetic locus in *Saccharomyces cerevisiae*: multiple mRNAs with different 3' termini are transcribed from *COX6* and regulated differentially. *Nucleic Acids Res* 17: 1103–1120, 1989.
 297. Wrutniak-Cabello C, Casas F, and Cabello G. Thyroid hormone action in mitochondria. *J Mol Endocrinol* 26: 67–77, 2001.
 298. Yang H, Wang X, Sumners C, Raizada MK. Obligatory role of protein kinase C β and MARCKS in vesicular trafficking in living neurons. *Hypertension*. 2002 Feb;39(2 Pt 2):567-72.
 299. Ye Q, Imriskova-Sosova I, Hill BC, and Jia Z. Identification of a disulfide switch in BsSco, a member of the Sco family of cytochrome c oxidase assembly proteins. *Biochemistry* 44: 2934–2942, 2005.
 300. Yoshida H, Kong YY, Yoshida R, Elia AJ, Hakem A, Hakem R, Penninger JM, Mak TW. Apaf1 is required for mitochondrial pathways of apoptosis and brain development. *Cell*. 1998;94:739–750.
 301. Youle RJ, Karbowski M: Mitochondrial fission in apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005, 6:657-663.
 302. Young P, Suter U: The causes of Charcot-Marie-Tooth disease. *Cell Mol Life Sci* 2003, 60:2547-2560.
 303. Zennaro E, Grimaldi L, Baldacci G, and Frontali L. Mitochondrial transcription and processing of transcripts during release from glucose repression in “resting cells” of *Saccharomyces cerevisiae*. *Eur J Biochem* 147: 191–196, 1985.

304. Zhang L and Guarente L. Heme binds to a short sequence that serves a regulatory function in diverse proteins. *EMBO J*14: 313–320, 1995.
305. Zhu JJ, Qin Y, Zhao M, Van Aelst L, Malinow R. Ras and Rap control AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity. *Cell*. 2002 Aug 23;110(4):443-55
306. Zhu Z, Yao J, Johns T, Fu K, De Bie I, Macmillan C, Cuthbert AP, Newbold RF, Wang J, Chevrette M, Brown GK, Brown RM, and Shoubridge EA. *SURF1*, encoding a factor involved in the biogenesis of cytochrome c oxidase, is mutated in Leigh syndrome. *Nat Genet* 20: 337–343, 1998.
307. Zitomer RS and Lowry CV. Regulation of gene expression by oxygen in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Rev* 56: 1–11, 1992.
308. Zuchner S, De Jonghe P, Jordanova A, Claeys KG, Guergueltcheva V, Cherninkova S, Hamilton SR, Van Stavern G, Krajewski KM, Stajich J et al.: Axonal neuropathy with optic atrophy is caused by mutations in mitofusin 2. *Ann Neurol* 2006, 59:276-281.