

ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის აქსო-დენდრიტული სინაფსების აღნაგობაზე. ელექტრონულ-მიკროსკოპული და ატომურ-ძალოვან-მიკროსკოპული კვლევა

ვერა ოკუნევა

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

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ია ჟვანია, პროფ. ბმდ

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი
თბილისი, 2012

სარჩევი

1.შესავალი. საკითხის დაყენება. კვლევის მთავარი მიზანი, ამოცანები

2. ლიტერატურის მიმოხილვა

- 2.1. სტრესი
 - 2.1.1. ზოგადი დახასიათება
 - 2.1.2. სტრეს-ღერძი.....
- 2.2. ნუშისებრი სხეული და სტრესი
- 2.3 ჰიპოკინეზია და ჰიპოკინეტური სტრესი: გავლენა ორგანიზმზე
- 2.4 ხანგრძლივი ჰიპოკინეტური სტრესი და ნუშისებრი სხეული:
სტრუქტურული ცვლილებები
- 2.5 სტრესი და ცვლილებები სინაფსებში
- 2.6 სინაფსური ვეზიკულების ფრაქციები (პრესინაფსურ ტერმინალებში ვეზიკულების ლოკალიზაციის და ნეიროტრანსმისიაში მონაწილეობის მიხედვით)
- 2.7 ნეიროპოროსომა - ნეიროტრანსმისის უნივერსალური მანქანა.....

3. მასალა და მეთოდები

- 3.1. ცხოველები
- 3.2. ექსპერიმენტული დიზაინი
- 3.3. ცხოველების პერფუზია; მასალის მომზადება ელექტრონულ-მიკროსკოპული კვლევისთვის; ელექტრონული მიკროსკოპია
- 3.4 ელექტრონოგრაფებზე სინაფსური ვეზიკულების და აქტიური ზონის ანალიზი
- 3.4.1 მონაცემების რაოდენობრივი სტატისტიკური ანალიზი.....
- 3.5. პოროსომას ანალიზი.....
 - 3.5.1. პოროსომას აღწერა თავის ტვინიდან იზოლირებულ სინაპტოსომურ

- პრეპარატებზე: ატომურ-ძალოვან-მიკროსკოპული კვლევა
- 3.5.1.1. სინაპტოსომების, სინაფსური მემბრანის და სინაფსური ვეზიკულების იზოლაცია.....
- 3.5.1.2. პოროსომას ატომურ-ალოვან-მიკროსკოპული შესწავლა.....
- 3.5.2. პოროსომას ულტრასტრუქტურა: ელექტრონულ-მიკროსკოპული კვლევა.....
- 3.5.2.1. პოროსომას სტრუქტურული პარამეტრების სტატისტიკური ანალიზი

4. შედეგები

- 4.1. ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის სინაფსების ულტრასტრუქტურული ცვლილებები.....
- 4.1.1. პრესინაფსური ტერმინალები.....
- 4.1.2. გრანულარული ვეზიკულების შემცვლელი სინაფსები.....
- 4.1.3. სხვა ცვლილებები.....
- 4.2. 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი პოროსომას აღნაგობაზე.....
- 4.2.1. პოროსომა ატომურ-ძალოვან მიკროსკოპში
- 4.2.2. ნეიროპოროსომა ელექტრონულ მიკროსკოპში
- 4.2.2.1. პოროსომას ძირითადი პარამეტრების - სიღრმის და დიამეტრის რაოდენობრივი მონაცემების ანალიზი.....
- 4.2.2.2. პოროსომების ჰეტეროგენურობა ნორმალურ და ექსპერიმენტულ თავის ტვინში.....
- 4.2.2.2.1. საკონტროლო ცხოველები.....
- 4.2.2.2.2. ექსპერიმენტული ცხოველები.....
- 4.3. 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობაზე და ლოკალიზაციის მიხედვით მათ გადანაწილებაზე.....

5. მონაცემების განსჯა

- 5.1. ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვი და სტრესი
- 5.2. ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი და ნუშისებრ სხეულის
ცენტრალური ბირთვის სინაფსების ულტრასტრუქტურა
- 5.3. ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი და ნეიროპროსტომას აღნაგობა.....
- 5.4. ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი და ცვლილებები სინაფსურ
ვეზიკულებში.....

- 6. გამოყენებული ლიტერატურა

- 7. აბსტრაქტი (ინგლისურ ენაზე)

- 8. აბსტრაქტი (ქართულ ენაზე)

1. შესავალი. საკითხის დაყენება, კვლევის მიზანი და ამოცანები

ჰიპოკინეზიისთვის დამახასიათებელია ორგანიზმის მოტორიკის და კუნთოვანი სისტემის შემცირებული აქტივობა. მოტორული აქტივობის შემცირების ხარისხი ჰიპოკინეზიის სხვადასხვა ფორმების დროს განსხვავებულია. ჰიპოკინეზია შეიძლება განპირობებული იყოს სხვადასხვა მიზეზებით; მათ შორის, ბაზალური განგლიების ან სხვა მოტორული სტრუქტურების დაზიანებით, მენტალური დარღვევებით, რიგი დაავადებებით გამოწვეული ხანგრძლივი ინაქტივაციით, და სხვ. ჰიპოკინეზიის გარკვეული ხარისხი ზოგიერთი პროფესიების თანხმლებიცაა. ასეთია, მაგალითად, კოსმონავტის მდგომარეობა კოსმოსში. აღსანიშნავია, რომ ხანგრძლივი ჰიპოკინეზიის ისეთი ფორმების დროს, რომლებიც მოტორიკის განსაკუთრებით მნიშვნელოვან შემცირებასთან ასოცირდება, შეიძლება ადგილი ჰქონდეს სტრეს-ღერძის აქტივაციას. ასეთ შემთხვევებში შესაძლებელია საუბარი ე.წ. *ჰიპოკინეტური სტრესის* მდგომარეობაზე. შესაბამისად, რიგ შემთხვევებში ჰიპოკინეზია შეიძლება განხილული იქნეს, როგორც სტრესის გამომწვევი მდგომარეობა. ცნობილია ის მრავალფეროვანი და მრავალრიცხოვანი ცვლილებები, რომლებსაც სტრესი ორგანიზმში იწვევს (Olauson et al. 2012; Szklarczyk et al. 2012; Dzordjevik et al. 2012). თავის მხრივ, ჰიპოკინეზიაც სპეციფიური ტიპის ალტერაციების განვითარებასთან ასოცირდება (Ghizoni et al. 2006; Milanese et al, 2012). ამგვარად, ჰიპოკინეტური სტრესის დროს, ორგანიზმზე, ძირითადად, ორი ფაქტორი მოქმედებს: სტრესული და ჰიპოკინეტური.

მიუხედავად იმისა, რომ ჰიპოკინეტური სტრესი განსაკუთრებით გავრცელებულ პათოლოგიურ მდგომარეობებს არ განეკუთვნება, ის მაინც წარმოადგენს ჯანმრთელობის და მედიცინის უმნიშვნელოვანესი პრობლემას. ჰიპოკინეტური სტრესის სხვადასხვა ასპექტი მრავალ ექსპერიმენტულ და კლინიკურ შრომაშია გაშუქებული. ექსპერიმენტული კვლევების დიდი ნაწილი ზრდასრულ ვირთაგვებზეა შესრულებული. ასეთი ექსპერიმენტული ობიექტის შერჩევის მოტივაცია შემდეგია: ზრდასრული ვირთაგვასთვის დამახასიათებელია არსებობის

ჯოგური ტიპი; გარდა მაგისა, თავისი ცხოვრების ნირით, ის მაღალაქტიური ცხოველია. ასეთი ცხოველის მოწყვეტა მისთვის ჩვეული საცხოვრებელი პირობებიდან და რამოდენიმე საათითაც კი, ჰიპოკინეზიის მდგომარეობაში, იზოლირებულად გადაყვანა, მოქმედებს, როგორც სტრეს-ფაქტორი და იწვევს ორგანიზმში სტრეს-ლერძის აქტივაციას, რაც შესაბამისი მახასიათებლების - ადრენოკორტიკოპროპული ჰორმონის და კორტიკოსტერონის ადექვატურ ცვლილებებში ვლინდება. სწორედ ამიტომ ჰიპოკინეტური სტრესის შესასწავლად, ზრდასრული ვირთაგვა ერთ-ერთ ყველაზე ადექვატურ ექსპერიმენტულ ცხოველადაა მიჩნეული.

კარგად ცნობილია ლიმბური წარმონაქმნების უმნიშვნელოვანესი როლი სტრეს-რეაქციის განვითარებაში (Herman et al, 2005; Cjoi et al. 2007; Solomon et al. 2010). ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვი ერთ-ერთი ასეთი სტრუქტურაა. სტრესის გამომწვევ ფაქტორებზე საპასუხოდ, ამ სტრუქტურაში სპეციფიური ალტერაციები ვითარდება (Zambello et al. 2008; Nayanatara et al. 2011; Ponomorev et a., 2010). აღნიშნული ბირთვის ასეთი მგრძობელობა სტრესის მიმართ, დიდწილად განპირობებულია მასში განსაკუთრებით დიდი რაოდენობით კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონის რეცეპტორების არსებობით, ნივთიერების, რომელსაც სტრესის განვითარებაში ერთ-ერთი წამყვანი მნიშვნელობა ენიჭება (Marcinkiewicz 2009; Bruijnzeel et al. 2012; Tran, Greenwood-VanMeerveld, 2012). ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი სტრეს-ფაქტორით გამოწვეული ერთ-ერთი იმ მდგომარეობათაგანია, რომელიც ნუშისებრი სხეულის ცენტრალურ ბირთვში მნიშვნელოვან სტრუქტურულ ალტერაციებს იწვევს. კერძოდ, ელექტრონული მიკროსკოპის გამოყენებით, ამ ბირთვის ნეირონებში აღწერილია 90- და 120-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის გავლენით განვითარებული გამოხატული ულტრასტრუქტურული დარღვევები: რიგი ნეირონების პერიფერიული და/ან კეროვანი ქრომატოლიზი (იშვიათ შემთხვევებში ვლინდება ქრომატოლიზის ტოტალური ფორმა), ციტოპლაზმაში ვაკუოლების, მიელინის ან მემბრანისმაგვარი ჩანართების გამოჩენა, ზოგიერთი ბოჭკოს დემიელინიზაცია და სხვ. (Zhvania 1991, 1996; Zhvania, Bliadze 1991, Zhvania, Kakabadze 1996). ნეირონების ნაწილის ასეთი მნიშვნელოვანი სტრუქტურული დარღვევები ნეირონთაშორისი კომუნიკაციების და შესაბამისად, აღნიშნული

ბირთვის ნეირონულ წრეებში განვითარებულ პათოლოგიურ ალტერაციებთან უნდა ასოცირდებოდეს. ასეთი თვალთახედვიდან კი, განსაკუთრებით საინტერესო უნდა იყოს იმის გარკვევა, თუ როგორ ვლინდება ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი, ნეირონების პათოლოგიური ცვლილებების პარალელურად, ასევე სინაფსების აღნაგობაზე: ფუნქციურ და სტრუქტურულ ერთეულებზე, რომლებიც უშუალოდ განაპირობებენ ასეთ კომუნიკაციებს.

ელექტრონული მიკროსკოპია სინაფსების აღნაგობის შესწავლის ერთ-ერთი საუკეთესო მეთოდია. მრავალრიცხოვანი კვლევებიდან ნათელი გახდა, რომ სინაფსების სტრუქტურაზე სხვადასხვა ექსპერიმენტული ან პათოლოგიური პირობების ეფექტი ვლინდება არა მარტო მათი ულტრასტრუქტურის გამოხატულ დარღვევებში, არამედ ასევე გაცილებით ნატიფ ალტერაციებში, როგორცაა, ერთი შეხედვით, „ნორმალური“ აღნაგობის სინაფსებში სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობის, ზომის და/ან მათი გადაწილების ცვლილებები ან ნეიროტრანსმისიასთან უშუალოდ დაკავშირებული პრე- და პოსტსინაფსური უბნების (მაგ. აქტიური ზონის, პოსტსინაფსური მემბრანის სიმკვრივის, სინაფსური მემბრანების ოსმიოფილობის.) ალტერაციები და სხვ. (Kuromi, Kidokoro 2000; Zucker, Regehr 2002; Weyhermuller et al. 2011; Toth et al. 2012);

პოროსომა - ყოველი სეკრეტორული უჯრედის პლაზმურ მემბრანაში არსებული სუპრამოლეკულური სტრუქტურა, წარმოადგენს საიტს, რომელსაც სეკრეციის პროცესში ერწყმიან მემრანშემოსაზღვრული სეკრეტორული ვეზიკულები, შიგთავსის - სეკრეტის გამოყოფის მიზნით (Jena 2009 a,b; Jeremic 2008). უახლესი მონაცემების თანახმად, ნერვული უჯრედის პოროსომა - ნეიროპოროსომა, პრესინაფსურ მემბრანაზე არსებული, 12-17 ნმ-ის დიამეტრის მქონე, თასის ფორმის ლიპოპროტეინული სტრუქტურაა. ნეიროტრანსმისიის პროცესში მას წამიერად ერწყმიანი 40-50 ნმ დიამეტრის მქონე სინაფსური ვეზიკულები (Cho et al. 2004; Okuneva et al. 2012). ატომურ-ძალოვანი და ელექტრონული მიკროსკოპიის, ასევე ელექტრონული სიმკვრივის განსაზღვრის და კონტურების სამ-განზომილებიანი კარტირების შედეგად, გამოვლინდა ნეიროპოროსომაში შემავალი ცილები და მათი ასამბლირების პრინციპი (Jena 2008, 2009; Lee et al. 2009, 2011; Wang et al. 2012);

აღმოჩნდა, რომ სხვადასხვა ტიპის სეკრეტორული უჯრედების პოროსომას ცილოვან კომპლექსებს შორის, გარკვეული მსგავსება არსებობს (Cho et al. 2009, 2011; Chin et al. 2011; Shin et al. 2011); პარალელურად, მოხდა პოროსომას სტრუქტურული და ფუნქციური რეკონსტრუქცია ხელოვნურ ლიპიდურ მემბრანაში და საბოლოოდ დადგინდა მისი, როგორც უჯრედის სეკრეტორული მანქანის როლი (Jena et al. 2003; Jeremic et al. 2008; Cho et al. 2004). ჩვენს უკანასკნელ ნაშრომში, ელექტრონული მიკროსკოპის გამოყენებით, აღვწერეთ ნეიროპოროსომა სხვადასხვა ძუძუმწოვრების თავის ტვინში. შედეგად, ნათელი გახდა, რომ ნეიროპოროსომას ძირითადი სტრუქტურული პარამეტრები, სხვადასხვა ცხოველების ტვინში, ძირითადად, მსგავსია (Okuneva et al. 2012; Japaridze et al. 2012). მაგრამ ყველა ზემოთ ჩამოთვლილი კვლევა ჩატარებული იყო ნორმალურ ცხოველებზე და არც ერთი ავტორის მიერ არ იყო შესწავლილი, ახდებს თუ არა გავლენას პოროსომას/ნეიროპოროსომას აღნაგობაზე ისეთი ექსპერიმენტული/პათოლოგიური პირობები, რომლებიც სეკრეციის/ნეიროტრანსმისიის დარღვევებთან ასოცირდება. ამასთანავე, თუ გავითვალისწინებთ, რომ სწორედ ნეიროპოროსომა წარმოადგენს ნეიროტრანსმიტერის გამოყოფის უკანასკნელ საფეხურს/სტრუქტურას, მისი შესწავლა ექსპერიმენტულ/პათოლოგიურ თავის ტვინში განსაკუთრებით საინტერესო უნდა იყოს.

ცნობილია, რომ ცენტრალური ნერვული სისტემის ნეირონებს შორის კომუნიკაციებს დიდწილად ქიმიური სინაფსის სპეციალიზაცია განაპირობებს. ზოგიერთი სინაფსის აქტივობა "ჩურჩულის" მსგავსია, სხვა სინაფსების კი, "ყვირილის". სინაფსის ასეთი მდგომარეობა უშუალოდ უკავშირდება პრესინაფსურ ტერმინალში სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობას, ლოკალიზაციას ან მათ სხვა მახასიათებლებს [მაგ. არსებობს შეხედულება, რომ რაც უფრო "ხმაურიანია" სინაფსი, მით უფრო მეტი სინაფსური ვეზიკულაა საჭირო ეფექტური ტრანსმისიისთვის {Rizolli, Betz, 2005}]. ამიტომ, ბოლო წლებში, ნორმალურ და პათოლოგიურ ტვინში სინაფსის ფუნქციის შესწავლისას, სინაფსური ვეზიკულების რიცხვს, მათ გადანაწილებას და სხვა პარამეტრებს განსაკუთრებულ ყურადღებას ანიჭებენ.

ელექტრონული და ფლუორესცენტული მიკროსკოპის, ასევე ელექტროფიზიოლოგიური მეთოდების გამოყენებით, პრესინაფსურ ტერმინალებში აღწერილია სინაფსური ვეზიკულების სხვადასხვა გაერთიანებები - ფრაქციები.

ასეთი ფრაქციების შესწავლას უკანასკნელ დეკადაში განსაკუთრებულ ყურადღებას ანიჭებენ. ფრაქციებში გაერთიანებული ვეზიკულები ერთმანეთისგან განსხვავდებიან, როგორც ლოკალიზაციით, ასევე გამოყოფის მახასიათებლების მიხედვით. არსებობს ასეთი გაერთიანებების სხვადასხვა კლასიფიკაციები, ამასთანავე კლასიფიკაციებს შორის არსებული გარკვეული განსხვავებების მიუხედავად, განვითარების სხვადასხვა სტადიებზე მყოფი ცხოველების პრეპარატებზე (მინოგას, ბაყაყის ნეკნთაშორისი, დროზოფილას ლარვას და ადამიანის კალიქსის ნერვ-კუნთოვანი დაკავშირებები, ოქროს თევზის ბადურას ბიპოლარული სინაფსის ტერმინალი, ჰიპოკამპის ორსინაფსიანი ბუტონი) სინაფსური ვეზიკულების სამი მთავარი ფრაქციაა აღწერილი: (1) ვეზიკულები, რომლებიც შიგთავსს განსაკუთრებით ადვილად გამოჰყოფენ (Readily released pool – RRP). ასეთი ვეზიკულები პრესინაფსურ მემბრანასთან განსაკუთრებით ახლოს არიან ან უშუალოდ ერწყმიან მას. მცირე სტიმულაციის შრემთხვევაშიც კი, ნეიროტრანსმიტერს ისინი ძალიან ჩქარა გამოჰყოფენ. ვეზიკულების სხვა გაერთიანებებთან შედარებით, აღნიშნულ ფრაქციაში განსაკუთრებით მცირერიცხოვანი ან ერთეული ვეზიკულებია; (2) რეციკლირებული ვეზიკულები (Recycled pool – ReP) - პირველი ფრაქციის ვეზიკულებთან შედარებით, ეს ვეზიკულები უფრო მრავალრიცხოვნებია და აქტიური ზონისგან შედარებით დაშორებული. ასეთი ვეზიკულებიდან ნეიროტრანსმიტერის გამოყოფისთვის უკვე ზომიერი (და არა მცირე) სტიმულაციაა საჭირო. მათ რიცხვს დიდწილად განსაზღვრავს სინაფსის ფუნქციური მდგომარეობა ანუ სინაფსის მიერ გამოყოფილი ტრანსმიტერის/ტრანსმიტერების რაოდენობა და ნერვული სისტემის განვითარების ტიპი. აღნიშნული ფრაქციის შევსება მხოლოდ სინაფსური ვეზიკულების მიერ ტრანსმიტერის გამოყოფის შედეგად ხდება; (3) სარეზერვო ვეზიკულების ფრაქცია (Reserved pool – RSP). ამ ფრაქციაში შემავალი ვეზიკულები განსაკუთრებით მრავალრიცხოვანი და პლაზმური მემბრანასგან განსაკუთრებით დაშორებულია. მათი გამოყოფა ხდება მხოლოდ ძლიერი სტიმულაციის პირობებში, ძირითადად, მხოლოდ რეციკლირებული ვეზიკულების ფრაქციის სრული გამოფიტვის

შემთხვევაში, ან მაშინ, როდესაც ამ უკანასკნელის სრული შევსება (რეციკლირება) გარკვეული მიზეზების გამო ვერ მოხდა (Kuromi, Kidoroko 1998; Schikorski, Stevens 2001).

მართალია, აღნიშნულ ფრაქციებად სინაფსური ვეზიკულების დაყოფასთან დაკავშირებით, მრავალი კითხვა არსებობს (მაგალითად, არ არის დადგენილი ის მოლეკულური მექანიზმი/მექანიზმები, რომლებიც ფრაქციების შექმნას ან ცალკეულ ფრაქციებში ვეზიკულების რეციკლირებას განაპირობებს), მაგრამ განვითარების სხვადასხვა სტადიაზე მყოფ ნერვულ სისტემებში (ძუძუმწოვრები, მინოგა, დროზოფილა და სხვ.) სინაფსური ვეზიკულების მსგავსი ფრაქციების არსებობა ვეზიკულების გადანაწილების უნივერსალურ ხასიათზე მიუთითებს. განსაკუთრებული ინტერესი ვეზიკულების სხვადასხვა ფრაქციების მიმართ სწორედ ასეთი უნივერსალობითაა გამოწვეული.

ექსპერიმენტული და პათოლოგიური პირობების ეფექტი სხვადასხვა ფრაქციებში სინაფსური ვეზიკულების გადანაწილებაზე აღწერილია რიგ შრომებში (Wu, Borst 1999; Musazzi et al. 2010; Treccani et al. 2011). მართალია, როგორც აღინიშნა, არ არის ცნობილი, თუ რომელი მექანიზმია ჩართული ასეთ გადანაწილებაში, მაგრამ უდავოა, რომ ასეთი ცვლილებები უშუალოდ უნდა იყვნენ დაკავშირებული ალტერაციებთან სინაფსურ ტრანსმისიაში.

ცნობილია მწვავე სტრესის ეფექტი სტრეს-პასუხის ორგანიზაციაში ჩართული თავის ტვინის სტრუქტურების პრესინაფსურ ტერმინალებში სინაფსური ვეზიკულების სხვადასხვა მახასიათებლებზე (Musazzi et al. 2010). ამასთანავე, არაფერი არ არის ცნობილი, თუ რა გავლენას ახდენს სინაფსურ ვეზიკულებზე ქრონიკული სტრესი.

ჩემი სადისერტაციო ნაშრომის მიზანი იყო დამედგინა, ახდენს თუ არა ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი ეფექტს სტრეს-პასუხის ჩამოყალიბებაში ჩართული ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი ლიმბური წარმონაქმნის, ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის სინაფსების ნატიფ აღნაგობაზე. კერძოდ, ყველაფერი ზემოთქმულის გათვალისწინებით, მაინტერესებდა გამერკვია, იწვევს თუ არა აღნიშნული ექსპერიმენტული მდგომარეობა (ა) სინაფსების მნიშვნელოვან

ულტრასტრუქტურულ დარღვევებს, (ბ) ცვლილებებს სეკრეციის (ნეიროტრანსმისიის) უნივერსალური მანქანის - პოროსომას აღნაობაში, (გ) ალტერაციებს სხვადასხვა ლოკალიზაციის, და, შესაბამისად, სეკრეციის პროცესში განსხვავებულად ჩართული, სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობასა და გადანაწილებაში.

არც ერთი ამ საკითხთაგანი ლიტერატურაში გაშუქებული არ არის.

ექსპერიმენტი ტარდებოდა ვისტარის ხაზის ზრდასრულ მამრ ვირთაგვებზე. ექსპერიმენტულ მოდელად გამოყენებული იყო 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესი. კვლევის ძირითადი მეთოდი ელექტრონული მიკროსკოპიაა. გარდა ამისა, ერთ-ერთი საკითხის გასაშუქებლად, ასევე გამოვიყენე ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპი.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1. სტრესი

2.1.1. ზოგადი დახასიათება

სტრესი იწვევს ორგანიზმში რიგ სპეციფიურ ნეირონულ პასუხებს, რომლებიც ამზადებენ ორგანიზმს გარემოს ახალ გამოწვევებზე ადაპტაციისთვის. ასეთი პასუხების ჩამოყალიბებას წინ უსწრებს ფიზიკური ან ფსიქოლოგიური ფაქტორების (სტრესორების) გავლენით, ორგანიზმის ბალანსის ან ჰომეოსტაზის დარღვევები. მართალია, სტრესის დროს აქტიურდება ორგანიზმის მრავალი სისტემები, მაგრამ სტრეს-პასუხის ინტეგრაციაში განსაკუთრებით მნიშვნელოვანი თავის ტვინის როლია. კერძოდ, სტრესზე კონტროლს და სხვადასხვა ნევროლოგიური/ფსიქიატრიული დაავადებების ექსპრესიას ემოციური ან ლიმბური სისტემის და სტრესის მაკონტრონტოლირებელი წრის (სტრეს-ღერძი) „ინტერფეისი“ განსაზღვრავს. მაგალითად თუ სტრესზე კონტროლი ვერ ხერხდება ან ის ქრონიკულ ხასიათს იღებს, ორგანიზმში შეიძლება განვითარდნენ ფსიქიატრიული დარღვევები, დეპრესიების, შფოთვის და სხვა ტიპის ემოციური მოშლილობების და

შიზოფრენიის ჩათვლით. ამგვარად, ქრონიკული სტრესი ფსიქიატრიული დაავადებების უმნიშვნელოვანესი ტრიგერი.

2.1.2. სტრეს-ღერძი

ყველა ორგანიზმში, ბაქტერიიდან ადამიანამდე, არსებობს მექანიზმები, რომლებიც გარეთა და შიდა სფეროს საგრძნობ ცვლილებებზე საპასუხოდ, ორგანიზმის რეაქციის ფორმირებაში მონაწილეობენ. ძუძუმწოვრებში ამ ფუნქციას, პირველ როგში, ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-ადრენალური (ლიმბო-ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-ადრენალური ღერძი/ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-ადრენალ-გონადოტროპული ღერძი) - სტრეს-ღერძი განსაზღვრავს: ის მთავარ როლს ასრულებს სტრესის მაპროვოცირებელი სხვადასხვა შესასვლელების ინტეგრაციაში და საბოლოო გასასვლელის - თავის ტვინის ჰიპოთალამუსის პარავენტრიკულური ბირთვის მედიალური პარავენტრიკულური დანაყოფის ნეირონების კონვერგენციაში. კერძოდ, სტრეს-ფაქტორის/ფაქტორების (ფიზიკური და ემოციური) გავლენით, აღნიშნული ნეირონები ახდენენ სტრეს-ღერძის მთავარი აქტივატორის - კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონის, ასევე არგინინ ვაზოპრესინის სინთეზირებას (Imaki et al. 1996; Chrousos, Harris. 1998 a,b, Chrousos 2009, Chrousos et al. 2012). აღნიშნული პეპტიდები გამოიყოფიან პორტალურ სისხლში და აღწევენ წინა ჰიპოფიზის კორტიკოტროპებს, სადაც კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონის და არგინინ ვაზოპრესინის განსაკუთრებით მრავალრიცხოვანი რეცეპტორებია. ეს რეცეპტორები პასუხისმგებლები არიან საერთო პრეკურსორიდან, პროპიომელანოკორტინიდან ადრენოკორტიკოტროპული ჰორმონის (კორტიკოტროპინის) სინთეზზე და სისხლის ცირკულაციაში აღნიშნული ჰორმონის და მასთან დაკავშირებული ცილების გამოყოფაზე. თავის მხრივ, კორტიკოტროპინი აღწევს ადრენალური ქერქის უჯრედებს და ააქტიურებს ამ უჯრედებში გლუკოკორტიკოიდების ბიოსინთეზს და მათ სეკრეციას. მღრღნელებში ასეთი გლუკოკორტიკოსტეროიდი კორტიკოსტერონია, პრიმატებში - კორტიზოლი. სტეროიდებს გააჩნია ფართო მოქმედება, რასაც განაპირობებს სხვადასხვა ტიპის

ნეირონებში ექსპრესირებული სპეციალიზირებული მინერალოკორტიკოიდური და გლუკოკორტიკოიდული რეცეპტორები. კერძოდ, აღნიშნული რეცეპტორების საშუალებით, სხეულის სხვადასხვა ნაწილებში ექსპრესირდება და რეგულირდება შესაბამისი გენები და ორგანიზმი მზადდება სტრეს-ფაქტორებით გამოწვეულ, ენერჯის და მეტაბოლიზმის ალტერაციებთან ადაპტაციისთვის. გლუკოკორტიკოიდების უმნიშვნელოვანესი სამიზნე ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-ადრენალური ღერძის მთავარი მაკონტროლირებელი ცენტრი - ჰიპოთალამუსი და ჰიპოფიზია. მოქმედებენ რა აღნიშნულ სტრუქტურებზე, გლუკოკორტიკოიდები, ნეგატიური უკუკავშირის ციკლის მეშვეობით, თრგუნავენ კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონის და კორტიკოტროპინის პროდუქციას. ამგვარად, სტრეს-ფაქტორზე საპასუხოდ, კორტიკოსტერონის პროდუქციის ზრდა სხვადასხვა ეტაპზე განსხვავებულად ვლინდება: თავდაპირველად, ის, ხელს უწყობს განგამის ტიპის რეაქციების ჩამოყალიბებას, შემდგომში კი ხდება საერთო ადაპტაციური სინდრომის ადაპტაციური ფაზის ჩამოყალიბების ფასილიტაცია. აღსანიშნავია, რომ ადაპტაციური ფაზისთვის დამახასიათებელია განგამის რეაქციების - შესაბამისი იმუნური პასუხების ჩათვლით - სუპრესია. ამგვარად, სხეულს ეძლევა კონტრძალის გამოყენების საშუალება. ამასთანავე, მიუხედავად იმისა, რომ გლუკოკორტიკოიდები მრავალ უმნიშვნელოვანეს ფუნქციას ასრულებენ (სტრეს-რეაქციების მოდულაციის ჩათვლით), მათ სიჭარბეს მნიშვნელოვანი დარღვევების გამოწვევა შეუძლიათ. მაგალითად: ადამიანსა და ცხოველებში, ხანგრძლივ და "მკაცრ" სტრესზე საპასუხოდ, შესაძლებელია განვითარდეს ჰიპოკამპის ატროფია, რასაც გლუკოკორტიკოიდების დიდი კონცენტრაციების ხანგრძლივ ექსპოზიციას უკავშირებენ. თავის მხრივ, ჰიპოკამპის დეფიციტი იწვევს მეხსიერების რესურსების რედუქციას, რამაც ხელი უნდა შეუშალოს სტრესზე საპასუხოდ, სხეულის სწორი რეაქციის ფორმირებას (Chrousos, Harris 1998 a,b, Chrousos 2009, Chrousos et al. 2012).

როგორც აღინიშნა, კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონი ასრულებს წამყვან როლს სტრეს-ღერძის აქტივაციაში: ჰიპოფიზის კორტიკოტროპინის ტროფიკული აქტივობის რეგულაციაში, პროოპიომელანოკორტინის გენის ტრანსკრიფციაში და ადრენოკორტიკოტროპული ჰორმონის (კორტიკოტროპინის) სეკრეციაში (Lightman et al. 1993; Imaki et al., 1996; Chrousos, Harris 1998). ამასთანავე, სტრესის დროს,

კორტიკოტროპინის სეკრეციაში სხვა ფაქტორებიც - გაცილებით სუსტი სეკრეტაგონები: არგინინ ვაზოპრესინი, ოქსიტოცინი, ანგიოტენზინი II, ქოლეცისტოკინინი. კორტისტატინი, ვაზოაქტიური ინტესტინალური პეპტიდი და კატექოლამინები მონაწილეობენ. მათი უმრავლესობა სტრეს-ღერძის აქტივაციის მოდულაციისთვის ისევ კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონის არსებობას საჭიროებს (Kolik et al. 2012; Tringali et al. 2012; Wong et al 2012). ამ ნივთიერებებს შორის, განსაკუთრებით აღსანიშნავია არგინინ ვაზოპრესინი - პოტენციური ვაზოკონსტრიქტორი: ე.წ. "წყლის მაკონსერვირებელი ჰორმონი" ან "ანტიდიურეტიული ჰორმონი". ის გამოიყოფა სხეულის დეჰიდრატაციის დროს და იწვევს თირკმლებში წყლის მაკონსერვირებელ პოტენციურ ეფექტს. პარავენტრიკულური ბირთვის მაგნოცელულარული დანაყოფის ნეირონებში ორივე ჰორმონი ერთად ლოკალიზდება, ერთად გამოიყოფა და კორტიკოტროპებზე სინერგისტულ ეფექტს ახდენს (Arrmario 2006; Carasco et al. 2008). მართალია, საკუთრივ არგინინ ვაზოპრესინი ადრენოკორტიკოტროპული ჰორმონის სუსტი სტიმულატორია, მაგრამ ის მნიშვნელოვნად აძლიერებს კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონის ეფექტს (Chrousos, Harris 1998, Chrousos et al. 2012).

კიდევ ერთი ჰორმონი, რომელიც აქტიურად ჩართულია სტრეს-ღერძის რეგულაციაში, ოქსიტოცინია (Kunchulia et al. 2010; Beetz et al. 2012; Kumsta., Heinrichs 2012; Neurman, Landgraf 2012). მისი სიჭარბე, მაგალითად, პოზიტური სოციალური ურთიერთკავშირების დროს (Kunchulia et al 2010; Kumsta, Heinrichs 2012), თრგუნავს სტრეს-ღერძს და ამგვარად, "ეწინააღმდეგება" სტრესს, რაც პოზიტური ეფექტების, მაგალითად, ჭრილობის შეხორცებაში ვლინდება.

ამჟამად ეჭვს არ იწვევს, რომ სტრეს-ღერძის (იგივე ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-ადრენალური ღერძი, ლიმბო-ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-ადრენალური ღერძი ან ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-ადრენალ-გონადოტროპული ღერძი) ფუნქცია განპირობებულია მასში გაერთიანებული სტრუქტურების უკუკავშირებით და პირდაპირი გავლენებით. სწორედ ეს უკუკავშირები და გავლენები ჰქმნიან ნეიროენდოკრინული სისტემის იმ მთავარ ნაწილს, რომელიც აკონტროლებს სტრეს-რეაქციებს და არეგულირებს ორგანიზმის უმნიშვნელოვანეს პროცესებს, საჭმლის

მონელების, იმუნური სისტემის, განწყობის, ემოციების, სექსუალობის, ენერჯის შენახვის და მისი ხარჯვის ჩათვლით.

უკუკავშირებს შორის, განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია: (ა) ადრენალურ ქერქში სინთეზირებული კორტიზოლი ნეგატიური უკუკავშირის საშუალებით, შემაკავებლად მოქმედებს ჰიპოთალამუსზე და ჰიპოფიზზე და იწვევს კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონის და ვაზოპრესინის სეკრეციის შემცირებას; ამ გზითვე რეგულირდება პროოპიომელანოკორტინის დაშლა კორტიკოტროპინად და ბეტა-ენდორფინებად; (ბ) სიმპათიკური სტიმულაციის და კორტიზოლის/კორტიკოსტერონის ლოკალური ეფექტების (ენზიმების სპეციფიური "up-" რეგულაცია) შედეგად, ადრენალურ მედულაში პროდუცირდება ეპინეფრინი და ნორეპინეფრინი - მონამინები, რომლებიც დოფამინთან და სეროტონინთან ერთად, უმნიშვნელოვანეს როლს ასრულებენ სტრეს-ღერძის რეგულაციაში (Goldstein, McEvens 2002; Goldstein 2012; Moriak et al. 2012; Shao et al. 2012). მაგალითად, კატექოლამინები პოზიტიური უკუკავშირით მოქმედებენ ჰიპოფიზზე და იწვევენ პროოპიომელანოკორტინის შემდგომ დაშლას კორტიკოტროპინად და ბეტა-ენდორფინებად. მრავალი მონაცემი მიუთითებს, რომ კატექოლამინები ასრულებენ უმნიშვნელოვანეს როლს სტრესით გამიწვეული ენდოკრინული და იმუნური ცვლილებების განვითარებაში (Chrousos 2009; Goldstein 2012).

სტრეს-ფაქტორების გარდა, ჰიპოთალამუსიდან კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონის ჭარბ სეკრეციას იწვევს გადაჭარბებული ფიზიკური აქტივობა, რიგი დაავადებები, სისხლში კორტიზოლის/კორტიკოსტერონის მაღალი დონე და ძილ-ღვიძილის ციკლის (ცირკადული რითმი) მოშლა (ადამიანში აბნორმალურად შემცირებული ცირკადული კორტიზოლის ციკლი ასოცირდება ქრონიკული დაღლის სინდრომთან, ინსომნიასთან და გამოფიტვასთან). თავის მხრივ, სტრეს-ღერძის ჭარბი აქტივაცია ასოცირდება ხასიათის დარღვევებთან, ფუნქციურ დაავადებებთან, შფოთვის ტიპის რეაქციებთან, ბიპოლარულ დარღვევებთან, ინსომნიასთან, პოსტ-ტრავმული სტრესით გამოწვეულ ალტერაციებთან, პერსონალობის დეფიციტთან, დეპრესიებთან, ორგანიზმის გამოფიტვასთან, ქრონიკული დაღლის სინდრომთან, ფიბრომიალგიასთან, ნაწლავის გაღიზიანების სინდრომთან, ალკოჰოლიზმთან და სხვ. ანტიდეპრესანტებთან, რომლებსაც ასეთი დარღვევების დროს სისტემატურად

ნიშნავენ, ხელი უნდა შეუწყონ სწორედ ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-ადრენალური ღერძის ფუნქციის გამართულ რეგულაციას (Janitzky et al. 2011; Bryan et al. 2012; Rona et al. 2012).

ადამიანის და ექსპერიმენტული ცხოველების შემთხვევაში, სტრესორის ბუნებაზე დამოკიდებულებით, განასხვავებენ "სოციალურ" და "ფიზიკურ" სტრესს. ორივე ტიპის სტრესისთვის დამასახიათებელია სტრეს-ღერძის ანალოგიური აქტივაცია, თუმცა ეს სხვადასხვა გზით ხდება. სტრესორები, რომლებიც სახიფათო არიან ორგანიზმის ფიზიკური ერთიანობისთვის ან დაკავშირებული არიან ძლიერ ტრავმასთან, არაკონტროლირებადი სტრესორებია. სწორედ არაკონტროლირებადი სტრესორები იწვევენ ორგანიზმში კორტიზოლის/კორტიკოსტერონის დონის სიჭარბეს: კორტიზოლის/კორტიკოსტერონის მაღალი დონე თითქმის ერთნაირია მთელი დღის განმავლობაში, განსხვავებით ნორმალური ორგანიზმისგან, რომელშიც კორტიზოლის/კორტიკოსტერონის დონის ცირკადული ცვლილებები ვლინდება. პათოლოგიური ცვლილებები ორგანიზმში ასევე სწორედ არაკონტროლირებადი სტრესორების გავლენით ვითარდება. თავის მხრივ, კონტროლირებადი სტრესორების შემთხვევაში, სტრეს-ჰორმონების გამოყოფა, სტრესის განვითარებიდან გარკვეული დროის გავლის შემდეგ, საფეხურებრივად მცირდება.

2.2. ნუშისებრი სხეული და სტრესი

იმ ლიმბურ სტრუქტურებს შორის, რომლებიც სტრეს-ფაქტორზე საპასუხოდ, ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-ადრენალური ღერძის აქტივაციაში და ორგანიზმის სტრეს-პასუხის ჩამოყალიბებაში მონაწილეობენ, ერთ-ერთი წამყვანი მნიშვნელობა ნუშისებრ სხეულს ენიჭება (Cook 2004; Flandreau et al. 2012; Pitts et al. 2009, 2011; Simms et al. 2012). კერძოდ, ნუშისებრი სხეული კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონის გავრცელების იმ შიდა წრის ნაწილია, რომელიც, სტრესის დროს, შესაბამისი ნეიროენდოკრინული, ავტონომიური და ქცევითი ცვლილებების განვითარებას განაპირობებს. მაგალითად, ცნობილია ნუშისებრი სხეულის

უმნიშვნელოვანესი როლი ემოციური "ეროუზალის", და სხვა აფექტური პასუხების, მათ შორის, შფოთვის ფორმირებაში - მდგომარეობების, რომლებიც სტრესის დროს, განსაკუთრებით ხშირად ვლინდება (Gutierrez-Mariscal et al. 2012; Simms et al. 2012). სტრეს-პასუხის ორგანიზაციაში ნუშისებრი სხეულის ასეთ როლს, პირველ რიგში, განსაზღვრავს აღნიშნულ სტრუქტურაში არსებული, კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორის შემცველი მრავალრიცხოვანი ნეირონები, რომლებიც ნერვული ღერძის მრავალ უბნებში პროეცირდება (Hsu et al. 1998; Marcinkiewz et al. 2009; Wang et al. 2010; Iwasaki-Sekino et al. 2009). გარდა მაგისა, ნუშისებრი სხეული ცენტრალური ნერვული სისტემის ერთ-ერთი იმ სტრუქტურათაგანია, სადაც განსაკუთრებით დიდი რაოდენობით ექსპრესირდებიან კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორის დამაკავშირებელი ცილები და რეცეპტორები (Zucker et al. 2002; Shekar et al. 2005; Tran et al. 2012). ნაჩვენებია, რომ ნუშისებრ სხეულში კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორის ეგზოგენური აპლიკაცია იწვევს მისი ბირთვების აქტივაციას და შფოთვის ტიპის ქცევას (Sandi et al. 2008) სტრეს-ფაქტორის/ფაქტორების გავლენით. სწორედ ნუშისებრი სხეულის ბირთვების აქტივაცია განიხილება, როგორც სუბსტრატი, აფექტურ ქცევაში მიმდინარე დარღვევების და შფოთვის პასუხების განვითარებისთვის (Shekar et al. 2005; Martin 2009). კერძოდ, ჰიპოთიზირებულია შემდეგი სქემა: *ნუშისებრი სხეულის ლატერალურ დანაყოფში შემოდის შიშთან დაკავშირებული სენსორული ინფორმაცია, რომელიც, სათანადო გადამუშავების შედეგად, გადაეცემა ნუშისებრი სხეულის ცენტრალურ ბირთვს, ეს უკანასკნელი კი, პროეცირდება შიშთან დაკავშირებული რეაქციების ფორმირებაში ჩართულ თავის ტვინის სხვა უბნებში, მათ შორის, ჰიპოთალამუსში. თავის მხრივ, ჰიპოთალამუსში "შიშის მასივნილირებელი" იმპულსები ააქტიურებენ, როგორც სიმპათიკურ ნერვულ სისტემას, ასევე ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-ადრენალური ღერძის მამოძღვლებელ სისტემებს (Chrousos, Harris 1998, Chrousos et al. 2012; Martin 2009).* აღსანიშნავია, რომ სხვადასხვა სტრეს-ფაქტორებით გამოწვეული ნუშისებრი ბირთვების აქტივაცია პრევენცირდება ორგანიზმში კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორის ანტაგონისტების შეყვანით: ასეთ ცხოველებში მნიშვნელოვნად მცირდება ან სრულიად ქრება შფოთვის ტიპის რეაქციები (Sandi et al. 2008). ამგვარად, ნუშისებრი სხეული კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორის შემცველი ნეირონების მთავარი ექსტრაჰიპოთალამური წყაროა და სტრესული მდგომარეობების დროს,

აღნიშნული ფაქტორის გამოყოფა ნუშისებრი ბირთვის ნეირონებიდანაც ხდება. შესაბამისად, კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორის ლოკალური რეცეპტორები ლოკალური ადრენოკორტიკოტროპული ფაქტორითაც აქტივირდებიან. (Seidel et al. 2011; Beckerman et al. 2012; Gafford et al. 2012). ნუშისებრი სხეულის კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორების შემცველი ნეირონების მოდულაცია შესაძლებელია ასევე უშუალოდ ცირკულირებადი გლუკოკორტიკოიდების საშუალებითაც: ეს უკანასკნელები უშუალოდ მოქმედებენ გლუკოკორტიკოიდების რეცეპტორებზე, რომლებიც საკმაოდ დიდი რაოდენობით ექსპრესირდებიან ნუშისებრი სხეულის კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორის შემცველ ნეირონებზე (Honkaniemi et al. 1992; Sarabdjitsingh et al. 2012). უახლესი მონაცემების თანახმად, ნუშისებრი სხეული ასევე შეიცავს გონადური სტეროიდული ჰორმონების რეცეპტორებს. მართალია, ისინი არ აღინიშნებიან კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორის შემცველ ნეირონებზე, მაგრამ კონცენტრირდებიან ასეთი ნეირონების უშუალო სიახლოეს, სავარაუდოდ, იმ უჯრედებზე, რომლებიც ჩართული არიან ცენტრალურ ავტონომიურ და ნეიროენდოკრინულ წრეებში (Cooke 2006; Monje et al. 2011; Rasia-Filho et al. 2012 a,b). მამრების და მდედრების ნუშისებრი სხეულში სტეროიდული რეცეპტორების განაწილება მსგავსია. შესაბამისად, ვარაუდობენ რომ ორივე სქესის ნუშისებრი სხეულის ბირთვებზე სტეროიდული გავლენა ანალოგიური უნდა იყოს (Cooke 2006; Rasia-Filho et al. 2012 a,b). აღნიშნული რეცეპტორების ნუშისებრი სხეულში მაღალი შემცველობის საფუძველზე, გამოითქვა მოსაზრება, რომ ნუშისებრი სხეული მოდულაციურ გავლენას უნდა ახდენდეს იმ გონადურ და ადრენალურ სტეროიდებზე, რომლებიც შფოთვის (ანქსიოგენურ) სტიმულების გავლენით აღმოცენებულ ქცევით, ავტონომიურ და ნეიროენდოკრინულ პასუხებში მონაწილეობენ (Cavanaugh, Lonstein 2010; De Jesús-Burgos et al. 2012);

შფოთვის გარდა, ნუშისებრი სხეულის ბირთვების კრიტიკული მნიშვნელობა ასევე დადასტურდა სტრესით ინდუცირებული რიგი სხვა ქცევითი დარღვევების - აფექტური ქცევის, სხვადასხვა ტიპის პანიკური მდგომარეობების ან პოსტტრავმული სტრესისთვის დამახასიათებელი სხვა პათოლოგიების მიმართებაშიც (Volker Neufebauer 2007; Sarabdjitsingh et al. 2012; Djordjevic et al. 2012).

სტრესთან დაკავშირებით, აღსანიშნავია ნუშისებრი სხეულის კიდევ ერთი უმნიშვნელოვანესი თავისებურება: აღნიშნული სტრუქტურა, კერძოდ კი, მისი ცენტრალური ბირთვი, შფოთვის, შიშის და სხვა ტიპის აფექტური ქცევის გენერაციაში კრიტიკული მონაწილეობის გარდა, ჩართულია ასევე სენსორული ინფორმაციის - განსაკუთრებით კი, ნოციცეპტური ინფორმაციის აფექტურ (ემოციურ) გადამუშავებაში (Ikeda et al. 2007; Neuhebauer 2007; Minami 2012). ნუშისებრი სხეულის ასეთ ფუნქციას ასევე უკავშირებენ ცენტრალურ ბირთვში სტრეს-ჰორმონის - კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონის შემცველი ნეირონების და აღნიშნული ჰორმონის რეცეპტორების კონცენტრირებას. მაგალითად, თუ ადრე ნაჩვენები იყო, რომ ცენტრალურ ბირთვში ლოკალიზებული კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონი აქტიურად მონაწილეობს შფოთვის ტიპის ქცევაში და ზრდის მგრძობელობას ვისცერალური და სომატური სტიმულების მიმართ (Neuhebauer 2008), უახლესი კვლევებიდან ნათელი ხდება, რომ აღნიშნულ ბირთვში ამ ჰორმონის დონის ზრდა გავლენას ახდენს ასევე იმ ძირითადი რეცეპტორების და იონური არხების ექსპრესიაზე, რომლებიც, როგორც შფოთვის რეაქციებში, ასევე ტკივილის გადამუშავებაში მონაწილეობენ (Guangchen et al. 2010; Liu et al. 2011; Onozawa et al. 2011).

ზევით მოყვანილი მონაცემები მხოლოდ მცირე ნაწილია იმ მაგალითებისა, რომლებიც ნუშისებრი სხეულის სტრეს-რეაქციის ფორმირებაში მონაწილეობაზე მიუთითებენ. ამგვარად, გასაგებია ის დიდი ინტერესი, რომელსაც სხვადასხვა მიმართულებების სტრესის მკვლევარები ნუშისებრი სხეულის მიმართ ავლენენ.

2.3. ჰიპოკინეზია და ჰიპოკინეტური სტრესი: გავლენა ორგანიზმზე

ჰიპოკინეზია (ბერძნული: *hypo* - შემცირება, უკმარისობა; *kinesis* - მოძრაობა) - მცირე (არასაკმარისი) მოტორული აქტივობით გამოწვეული ორგანიზმის განსაკუთრებული მდგომარეობაა; რიგ შემთხვევებში ის ასოცირდება ჰიპოდინამიასთან (ბერძნული: *hypo* - შემცირება, უკმარისობა; *dinamis* - ძალა) - ხანგრძლივი ჰიპოკინეზიის შედეგად, ორგანიზმში განვითარებული ნეგატიური, სპეციფიური მორფო-

ფუნქციური ცვლილებების კომპლექსთან. ამ ცვლილებებს შორისაა: კუნთების ატროფია, გულ-სისხლძარღვთა სისტემის დეტენირება, ორთოსტატური მდგრადობის შემცირება, წყლის და მარილის ბალანსის და სისხლის მიმოქცევის სისტემის დარღვევები, ძვლოვანი ქსოვილის დემინერალიზაცია და სხვ. ამასთანავე, მცირდება ორგანიზმის ყველა ორგანოს და სისტემების ფუნქციური აქტივობა, ზიანდება მათი დამაკავშირებელი რეგულატორული მექანიზმები, ქვეითდება რეზისტენტობა სხვადასხვა არასასურველი ფაქტორების მიმართ, მცირდება იმ აფერენტული ინფორმაციის ინტენსიობა და მოცულობა, რომელიც აუცილებელია კუნთების სწორი შეკუმშვისთვის, ირღვევა მოძრაობების კოორდინაცია, მცირდება კუნთების ტონუსი (ტურგორი), ორგანიზმის გამძლეობა და ძალის მაჩვენებლები, არტერიული და ვენური სისხლძარღვების ტონუსი, სისხლის წნევა, მნიშვნელოვნად ფერხდება ქსოვილებში ჟანბადის მიწოდება (ვითარდება ჰიპოქსია), იცვლება მეტაბოლური პროცესების ინტენსიობა. ვინაიდან მცირდება ორგანიზმის დამცველობითი ძალები, ორგანიზმი მალე იღლება, ირღვევა მისი ფიზიკური და შემოქმედებითი შრომისუნარიანობა. ამგვარად, იქმნება მდგომარეობა, რომელიც ორგანიზმის სიცოცხლისუნარიანობისთვის შეიძლება "ავარიული" აღმოჩნდეს (Sviridkina et al., 2012; Ushakov, Shtenberg 2012).

ხანგრძლივი (ქრონიკული) ჰიპოკინეტური სტრესის შემთხვევაში, ორგანიზმზე სხვადასხვა ფაქტორები მოქმედებენ, რომელთაგან წამყვანი მნიშვნელობა „საკუთრივ ჰიპოკინეტურს“ და სტრეს-ფაქტორებს ენიჭება. ჰიპოკინეტური სტრესის დროს, ორგანიზმში მრავალრიცხოვანი და მრავალფეროვანი ცვლილებების გავნითარებას, ძირითადად, სწორედ ორი ფაქტორი განაპირობებს. სხვა სტრესორების გამოყენების მსგავსად, ამ შემთხვევაშიც, სტრეს-რეაქციის განვითარების მთავარი მანიშნებელი სისხლის პლაზმაში კორტიზოლის (ადამიანში) ან კორტიკოსტერონის (რიგ ექსპერიმენტულ ცხოველებში) და ადრენოკორტიკოტროპული ჰორმონის დონის სპეციფიური ცვლილებებია.

აღსანიშნავია, რომ ჰიპოკინეზიის მდგომარეობას სტრესი ყოველთვის თან არ ახლავს. ექსპერიმენტის პირობებში, ჰიპოკინეტური სტრესი, ძირითადად, ისეთ ცხოველებში ვითარდება, რომელთა ნორმალური ცხოვრების ნირი აქტიურ მოძრაობასთან და

ჯოგური ტიპის ყოფასთან ასოცირდება და რომელთა გადაყვანა ჰიპოკინეზიის პირობებში უცაბედად ხდება. რიგ შემთხვევებში ჰიპოკინეტურ ფაქტორს შეიძლება თან ახლდეს სოციალური იზოლაციის ფაქტორიც, რომელიც ასეთი ტიპის ცხოველებისთვის სტრესულ ფაქტორს თავადაც წარმოადგენს. ჯოგური ტიპის ყოფა და მაღალი მოტორული აქტივობა ზრდასრული ვირთაგვებისთვისაა დამახასიათებელი. ამიტომ ჰიპოკინეტური სტრესის მოდელირებისთვის განსაკუთრებით ხშირად ზრდასრულ ვირთაგვებს იყენებენ. როგორც ზევით აღინიშნა, ასეთი ცხოველების მოულოდნელი იზოლაცია და ჰიპოკინეზიის პირობებში ასევე მოულოდნელი გადაყვანა იწვევს, არა მარტო მათი აქტივობის მაქსიმალურ შემცირებას, არამედ თავისივე სახეობის სხვა წარმომადგენლებთან კავშირის შეწყვეტას, რამაც ძლიერი სტრესული ფაქტორის როლი უნდა შეასრულოს. შედეგად, ჰიპოკინეზიასთან ასოცირებული ცვლილებების განვითარებასთან პარალელურად, ორგანიზმში აქტივირდება სტრეს-ლერძი და ვლინდება სტრეს-რეაქცია. მრავალრიცხოვანი მონაცემების თანახმად, ჰიპოკინეტური სტრესის საწყის ეტაპებზე (რამოდენიმე დღის განმავლობაში) ორგანიზმში ცვლილებების განვითარებაში წამყვან როლს სტრეს-ფაქტორი ასრულებს, ხოლო რამოდენიმე დღის/კვირის შემდეგ, მძლავრდება უშუალოდ ჰიპოკინეტური ფაქტორით გამოწვეული ალტერაციები. თავის მხრივ, აღნიშნული ორი წამყვანი ფაქტორის გარდა, ჰიპოკინეტური სტრესის დროს, ორგანიზმში განვითარებულ ცვლილებებს გარკვეულწილად განაპირობებენ რიგი სხვა ფაქტორებიც, როგორცაა ორგანიზმის გამოცდილება სტრესის მიმართ ან სახეობის სხვა კონკრეტული მახასიათებლები (McDougal et al. 2000; Grey et al. 2010).

როგორც ზევით აღინიშნა, ჰიპოკინეზია სტრეს-ლერძის აქტივაციასთან ყოველთვის არ ასოცირდება. ეს კარგად ვლინდება ახალგაზრდა ცხოველებში, რომელთა ცენტრალური ნერვული სისტემა განსაკუთრებით მაღალპლასტიურია. განსაკუთრებით კი მაშინ, როდესაც ცხოველების მოტორული აქტივობის შემცირება თანდათან, და არა უცაბედად, ხდება. ასეთი ცხოველების სისხლის პლაზმაში სტრეს-ლერძის აქტივაციის მთავარი მაჩვენებლების - ადრენოკორტიკოტროპული ჰორმონის და კორტიკოსტერონის დონე, ძირითადად, ნორმალურია, რაც იმის მანიშნებელია, რომ მათ ორგანიზმში სტრეს-რეაქცია არ ვითარდება (Cheresharov et al. 1982; Bokhorov

et al. 1984; Cheresharov, Konstantinov 1984). ამგვარად, განვითარებულ ცვლილებებს მეტწილად „საკუთრივ“ ჰიპოკინეტური ფაქტორი უნდა განაპირობებდეს (Bokhorov et al. 1984; Cheresharov, Konstantinov 1984).

რიგი ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, ჰიპოკინეტური სტრესი და ჰიპოკინეზიის ისეთი ფორმა, რომელსაც თან არ ახლავს სტრეს-დერძის აქტივაცია, ცენტრალური ნერვული სისტემის აღნაგობაში განსხვავებულ სტრუქტურულ ცვლილებებს იწვევენ. პირველ რიგში: ჰიპოკინეტური სტრესის დროს, განსაკუთრებით გამოხატული ალტერაციები აღწერილია რიგი ლიმბური წარმონაქმნის - ნუშისებრი სხეულის, ჰიპოკამპის და ცინგულარული ქერქის ნეირონებში.; ამასთანავე, ნეირონების ცვლილებები გაცილებით ნაკლებია მოტორიკასთან დაკავშირებულ სტრუქტურებში (Zhvania 1996, Zhvania, Kakabadze, 1996). ამის საწინააღმდეგოდ, თუ მოტორული აქტივობის შემცირებას სტრეს-რეაქცია არ ახლავს, ძირითადი სტრუქტურული მოდიფიკაციები მეტწილად სწორედ მოტორულ და ექსტრაპირამიდულ წარმონაქმნებში ვლინდება (Zhvania 1996). ასეთი მონაცემები კი იძლევიან მყარ საფუძველს დაშვებისთვის, რომ აღნიშნული ორი ექსპერიმენტული ზემოქმედება ჰიპოკინეზიის ორი განსხვავებული მოდელია.

აღსანიშნავია, რომ ჰიპოკინეტური სტრესით გამოწვეული სტრუქტურული ალტერაციები მხოლოდ ერთეულ შრომებშია აღწერილი.

2.4. ხანგრძლივი ჰიპოკინეტური სტრესი და ნუშისებრი სხეული: სტრუქტურული ცვლილებები

როგორც აღინიშნა, ხანგრძლივი ჰიპოკინეტური სტრესი სტრუქტურულ ალტერაციებს, ძირითადად, თავის ტვინის ლიმბურ წარმონაქმნებში იწვევს. ასეთ წარმონაქმნებს ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური და ბაზალური ბირთვები განეკუთვნება. ლიტერატურაში აღწერილია ის მრავალფეროვანი ულტრასტრუქტურული ალტერაციები, რომლებსაც 90- და 120-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესი აღნიშნული ბირთვების ნეირონებში იწვევს. მათ შორისაა: ქრომატოლიზი - ძირითადად, პერიფერიული ან კეროვანი. იშვიათ შემთხვევებში ის

ციტოპლაზმის დიდ ტერიტორიაზე ვრცელდება, რაც სრულად გამორიცხავს ასეთ ნეირონებში რეპარაციული პროცესების განვითარების შესაძლებლობას; აღინიშნება ასევე მიტოქონდრიების ვაკუოლიზაცია ან მიტოქონდრიული კრისტების ნაწილობრივი დესტრუქცია და ციტოპლაზმაში სხვადასხვა ზომის მიელინის/მემბრანისმაგვარი ჩანართების და/ან ასევე სხვადასხვა ზომის ვაკუოლების გამოჩენა (Zhvania 1996). ასეთი ალტერაციები, შესაბამისად, უჯრედებში ენერგეტიკული პროცესების და/ან ლიპიდური ან წყლის მეტაბოლიზმის დარღვევებზე მიუთითებენ. ნეირონების მეორე ნაწილში აღწერილია შედარებით ზედაპირული ცვლილებები, მაგალითად, ციტოპლაზმური ცისტერნების ზომიერი გაფართოებები და/ან მიტოქონდრიების კრისტების უმნიშვნელო დარღვევები, რაც ამ უჯრედებში რეპარაციული/კომპენსატორული პროცესების განვითარების შესაძლებლობაზე მიანიშნებს. აღსანიშნავია ასევე გლიის აქტივაცია, რაც ორივე ბირთვში სატელიტური გლიური უჯრედების რაოდენობის სარმწუნო მატებაში და ნეირონსა და გლიურ სატელიტს შორის, კონტაქტის ზონის ზრდაში ვლინდება (Zhvania, Kostenko 1996). და ბოლოს: 90- და 120 დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის შედეგად, ნუშისებრი სხეულის ორივე ბირთვულ კომპლექსში რიგი ბოჭკოების დემიელინიზაცია აღინიშნა (Zhvania, Kakabadze 1996).

ამგვარად, ზემოთ მოყვანილი ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, ხანგრძლივი ჰიპოკინეტური სტრესი ნუშისებრი სხეულის რიგ ნეირონებში მნიშვნელოვან დარღვევებს იწვევს. ასეთი ნეირონების ნაწილი აღდგენას არ უნდა ექვემდებარებოდეს, სხვა უჯრედებში კი, რეპარაციული პროცესების განვითარების ნიშნებია. ნეირონების ასეთი ალტერაციები ნეირონთაშორისი კომუნიკაციების და შესაბამისად, აღნიშული ბირთვის ნეირონულ წრეებში განვითარებულ დარღვევებთან უნდა ასოცირდებოდეს. ამასთანავე, არ არის ცნობილი, ახდენს თუ არა ჰიპოკინეტური სტრესი ეფექტს, ნეირონების პარალელურად, ასევე სინაფსების აღნაგობაზე - ფუნქციურ ერთეულებზე, რომლებიც უშუალოდ განაპირობებენ ნეირონთაშორის კომუნიკაციებს. .

2. 5. სტრესი და ცვლილებები სინაფსებში

მრავალრიცხოვან შრომებში ნაჩვენებია, რომ სტრეს-ფაქტორებზე საპასუხოდ, სტრეს-პასუხის ორგანიზაციაში ჩართული თავის ტვინის რიგი წარმონაქმნების სინაფსური პლასტიურობის ცვლილებები (Christoffel et al. 2004; Chen et al. 2009, 2010 a,b; Sarabdjitsingh et al. 2012). მაგალითად, ნაჩვენებია, რომ სტრესის დროს, ლიმბურ წარმონაქმნებში, მათ შორის, ნუშისებრი სხეულის ბირთვებში, სინაფსური პლასტიურობის ცვლილებები დიდწილად დამოკიდებულია გლუკოკორტიკოიდების და ბეტა-ადრენერგულ აქტივობაზე (Cooke 2006; Sarabdjitsingh et al. 2012). ამასთანავე, ერთეულია მონაცემები, სადაც აღწერილია სტრეს-პასუხის ორგანიზაციაში ჩართულ სტრუქტურებში სტრესის შედეგად განვითარებული სინაფსების სტრუქტურული ალტერაციები. მაგალითად, ერთ-ერთ შრომაში შესწავლილია ქრონიკული სტრესის არაერთგვაროვანი ეფექტი ჰიპოკამპის დენდრიტული ხის აღნაგობაზე: ზოგიერთი ნეირონის დენდრიტული ხე ფართოდ იტოტება, იგივე დანაყოფის სხვა ნეირონების დენდრიტები კი, გაცილებით მცირე ტერიტორიაზე ვრცელდებიან. ასეთი ცვლილებები არაპირდაპირ მიანიშნებენ იმ არაერთგვაროვან ალტერაციებზე, რომლებიც სტრესზე საპასუხოდ, სინაფსურ ტრანსმისიაში ვითარდებიან. თუმცა სინაფსების აღნაგობა კვლევაში აღწერილი არ არის (Krugers et al. 2010). კიდევ ერთი კვლევის თანახმად, ქრონიკული (21-დღიანი) სტრესის შედეგად, ჰიპოკამპის პრესინაფსურ ტერმინალებში იცვლება სინაფსური ვეზიკულების გადანაწილება, კერძოდ, იზრდება უშუალოდ აქტიურ ზონასთან კონცენტრირებული სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობა, რაც ასევე, ნეიროტრანსმისიაში მიმდინარე ცვლილებებთან უნდა იყოს დაკავშირებული (Magarinos et al. 2005; Treccani et al. 2011). მაგრამ, როგორც აღინიშნა ასეთი ტიპის მონაცემები ძალიან მცირეა. ამიტომ სინაფსების აღნაგობაზე სტრესის შესაძლო ეფექტის შესწავლა კვლავ აქტუალურ საკითხად რჩება. ამასთანავე, მაღალინფორმაციული უნდა იყოს არა მარტო სინაფსის კომპონენტებში გამოხატული დარღვევების გამოვლენა (მათი არსებობის შემთხვევაში), არამედ ასევე უფრო ნატიფი შესაძლო ცვლილებების, როგორცაა მაგალითად, ვეზიკულების შესაძლო გადანაწილება ან ნეიროტრანსმისიაში უშუალოდ მონაწილე სინაფსური ზონების (აქტიური ზონა, პოროსომა) აღნაგობის

შესწავლა. უკანასკნელ წლებში ექსპერიმენტული ან პათოლოგიური პირობებით გამოწვეულ სინაფსების აღნაგობის ასეთი ტიპის ნატიფ ცვლილებების გამოვლენას სულ უფრო და უფრო დიდ მნიშვნელობას ანიჭებენ.

2.6. სინაფსური ვეზიკულების ფრაქციები (პრესინაფსურ

ტერმინალებში ვეზიკულების ლოკალიზაციის და ნეიროტრანსმისიაში მონაწილეობის მიხედვით)

ქიმიური სინაფსის უმნიშვნელოვანესი სტრუქტურული მახასიათებელი პრესინაფსურ ტერმინალში სინაფსური ვეზიკულების არსებობაა. ცნობილია, რომ ვეზიკულები მონაწილეობენ სინაფსური გადაცემის ისეთ ციკლში, რომელიც, სინაფსის ხანგრძლივი აქტივაციის შემთხვევაში, მათ განმეორებით გამოყენებას ითვალისწინებს (Rizzoli, J. Betz 2005; Südhof, T. C. 2005). პრესინაფსურ ტერმინალებში სინაფსურ ვეზიკულებს განსხვავებული ლოკალიზაცია გააჩნიათ. კერძოდ, მოსვენების მდგომარეობაში მყოფი ტიპური სინაფსის პრესინაფსურ მემბრანასთან დაკავშირებულია სინაფსური ვეზიკულების მხოლოდ 1-2%. დანარჩენი ვეზიკულები პრესინაფსური მემბრანასგან მოშორებით, სხვადასხვა სიდიდის კლასტერებს - დაჯგუფებებს/გაერთიანებებს/ფრაქციებს ჰქმნიან. ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპის პრეპარატებზე, ყველა აგრანულარული სინაფსური ვეზიკულა (ძუძუმწოვრების ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში სინაფსების ყველაზე გავრცელებულ ტიპებში - ასიმეტრიულ აქსო-დენდრიტულ სინაფსებში, ვეზიკულების აბსოლუტურ უმრავლესობას სწორედ ასეთი ფორმები შეადგენენ) ერთმანეთის მსგავსია და "მოსვენებულ" პრესინაფსურ ტერმინალში სხვადასხვა ბიოქიმიური მახასიათებლების მქონე ვეზიკულების ერთმანეთისგან განსხვავება თითქმის შეუძლებელია. ამგვარად, სინაფსურ მემბრანასთან უშუალოდ დაკავშირებული ვეზიკულების განსაკუთრებით მცირერიცხოვანი პოპულაციის გამოკლებით, სხვა სინაფსური ვეზიკულები, ერთი შეხედვით, ჰომოგენურ პოპულაციას ჰქმნიან, მაგრამ ასეთ ჰომოგენურ პოპულაციაშიც განსხვავებული მახასიათებლების სინაფსურ ვეზიკულებს გამოჰყოფენ. აღმოჩნდა ასევე, რომ

განსხვავებული ლოკალიზაციის სინაფსური ვეზიკულები სინაფსურ ტრანსმისიაშიც სხვადასხვაგვარად მონაწილეობენ (განხილულია ქვევით).

პრესინაფსურ ტერმინალებში, ლოკალიზაციის მიხედვით, სინაფსური ვეზიკულების სხვადასხვა გაერთიანებების/ფრაქციების აღსანიშნავად, სხვადასხვა ავტორები განსხვავებულ ტერმინებს იყენებენ, მათ შორის: სეკრეტის (ნეიროტრანსმიტერის) განსაკუთრებით ჩქარა გამოყოფი ვეზიკულები, სარეზერვო ვეზიკულები, რელაქტანტური ვეზიკულები, მოსვენების მდგომარეობაში მყოფი ვეზიკულები და სხვ. ამასთანავე, როგორც ზევით (თავი: შესავალი) აღვნიშნე, კვლევების აბსოლუტურ უმრავლესობაში, განვითარების სხვადასხვა საფეხურზე მყოფი ცხოველების ნერვული სისტემის პრეპარატებზე (ვირთაგვას ჰიპოკამპი, დროზოფილას ლარვას, ბაყაყის, კალიქსის ნერვ-კუნთოვანი კავშირები, ოქროს თევზის ბიპოლარული ნეირონის სინაფსი და სხვ.) აღწერილია სინაფსური ვეზიკულების სამი ძირითადი ფრაქცია: (1) ვეზიკულები, რომელთა გამოყოფა განსაკუთრებით სწრაფად და მარტივად ხდება - ადვილად "გამომყოფი" ვეზიკულები [(readily releasable pool (RRP)], (2) რეციკლირებადი ვეზიკულების ფრაქცია (ReP) და (3) სარეზერვო ვეზიკულების ფრაქცია (RSP) (სურ.1). ვინაიდან უმნიშვნელო განსხვავების მიუხედავად, სამივე ფრაქცია განსხვავებული ფილოგენეზის ნერვულ სისტემაში გამოვლინდა, გამოითქვა მოსაზრება, რომ სინაფსური ვეზიკულების ამგვარი გაერთიანებები უნივერსალურ ხასიათს ატარებს (Harris, Sultan, 1995; Schikorski, Stevens, 1997).

სინაფსური ვეზიკულების სხვადასხვა ფრაქციების კვლევა 20-ე საუკუნის 60-იან წლებში იწყება (Birks, MacIntosh 1961), კერძოდ, ასეთი ტიპის ერთ-ერთ პირველ შრომაში, კატის სიმპათიკური განგლიის სინაფსური ტერმინალების ელექტრონულ-მიკროსკოპული შესწავლისას, დაშვებული იქნა პრესინაფსში ვეზიკულებში ტრანსმიტერის შენახვის ორი ტიპი: (ა) ვეზიკულების ფრაქცია, საიდანაც ტრანსმიტერის გამოყოფა დაბალი სიხშირის სტიმულაციის შემთხვევაშიც კი, ძალიან ჩქარა ხდება და რომელიც, შესაბამისად, ჩქარა და ადვილად უნდა გამოიფიტოს და (ბ) ვეზიკულების ფრაქცია, საიდანაც ტრანსმიტერის გამოყოფა მალე არ ხდება; ამისთვის აუცილებელია უფრო მაღალი სიხშირის სტიმულაცია. ასეთი ტიპის

ვეზიკულები თავისებურ სარეზერვო გაერთიანებას ჰქმნიან. მოგვიანებით ვეზიკულების მსგავსი განაწილება ადამიანის ნეკნთაშორის ნერვ-კუნთოვან დაკავშირებაში აღწერეს (Elmqvist, Quastel 1965). ამასთანავე, ვინაიდან მაღალსიხშირიანი სტიმულაციის შემთხვევაში, პასუხის ამპლიტუდა ძალიან ჩქარა ქრებოდა, გამოითქვა მოსაზრება, რომ სტიმულები იწვევენ ქვანტას გამოყოფას ნეიროტრანსმიტერების ისეთი მარაგიდან (ფრაქციიდან), საიდანაც მათი შემცველი ვეზიკულების მობილიზაცია განსაკუთრებით ჩქარა და მარტივად ხდება. ამ მარაგს მობილიზაციური რეზერვი ეწოდა. თავის მხრივ, პოსტსინაფსური პასუხის ჩქარ დახშობას უკავშირებდნენ აღნიშნული რეზერვის სიმცირეს და იმ ფაქტს, რომ ინტენსიური სტიმულაციის პირობებში მობილიზაციური რეზერვის შევსება ჩქარა ვერ ხერხდება. ზევით მითითებული ავტორების მიერ აღწერილი "მობილიზაციური რეზერვი" შეესაბამება Birks, Macintosh (1961)-ის მიერ აღწერილ სინაფსური ვეზიკულების ისეთ ფრაქციას, საიდანაც მათი გამოყოფა განსაკუთრებით მარტივად და ჩქარა ხდება. ამასთანავე, დაშვებული იქნა, რომ დანარჩენი ქვანტა არსებობს სინაფსური ვეზიკულების ისეთ ფრაქციაში, საიდანაც მათი მობილიზაცია და გამოყოფა სწრაფად ვერ ხერხდება. ასეთი დაშვების დამტკიცება ადრეულ შრომებში ვერ მოხერხდა. ამასთანავე, შედეგების ასახსნელად გამოითქვა სხვადასხვა მოსაზრებები, კერძოდ, დასახელდა ინტრაცელულარული კალციუმის კონცენტრირების ცვლილებები, "სავსე" ვეზიკულების შიგთავსის ნაწილობრივი გამოყოფა, "ნახევრადსავსე" ვეზიკულების შიგთავსის სრული გამოყოფა, პოსტსინაფსური რეცეპტორების დესენსიტიზაცია ან/და სატურაცია და სხვ. მაგრამ არც ერთი მათგანი სინაფსური ტრანსმიტის დროს მიღებული პასუხების სრულფასოვანი ახსნისთვის ვერ გამოდგა. შემდგომში, "გამოკლების" მეთოდით, თანდათან დამკვიდრდა იდეა პრესინაფსურ ტერმინალებში ეგზოციტოზის განსხვავებული უნარის მქონე სინაფსური ვეზიკულების შემცველი სხვადასხვა გაერთიანებების/ფრაქციების არსებობის შესახებ. კერძოდ, ტერმინოლოგიების ვარიაციების მიუხედავად, მოდელების უმრავლესობაზე, პრესინაფსურ ტერმინალებში, ძირითადად, გამოყოფილი იქნა ზევით ჩამოთვლილი შემდეგი სამი ფრაქცია: (1) ტრანსმიტერის ადვილად გამომყოფი, ერთეული ან მცირერიცხოვანი ვეზიკულების შემცველი ფრაქცია (readily releasable pool – RRP). მცირე სტიმულაციაზე საპასუხოდაც კი, ამ ფრაქციის ვეზიკულები ძალიან სწრაფად

მობილიზებიდან და ნეიროტრანსმიტერს ასევე ძალიან სწრაფად გამოჰყოფენ; (2) *სარეზერვო* - გაცილებით უფრო მრავალრიცხოვანი ვეზიკულების შემცველი ფრაქცია. ტერმინალების უმრავლესობაში ამ ფრაქციაში გაერთიანებულია ვეზიკულების საერთო რაოდენობის 80-90%. ტრანსმიტერის გამოყოფა ამ ფრაქციიდან ძალიან ნელა ხდება და მხოლოდ ინტენსიურ და გახანგრძლივებულ სტიმულაციაზე საპასუხოდ; (3) ვეზიკულების მესამე, *რეციკლირებული ვეზიკულების* ფრაქცია. მისი არსებობა უკავშირდება მოსაზრებას, რომლის თანახმად, პირველ ფრაქციაში შემავალი ანუ პრესინაფსურ მემბრანასთან შერწყმული ყველა ვეზიკულა მობილიზაციისთვის თანაბრად მზად არ უნდა იყოს. შესაბამისად, ზოგიერთ ვეზიკულას ზევით ჩამოთვლილ ორ ფრაქციას შორის, შუა (გარდამავალი) პოზიცია უნდა ჰქონდეს (*Rettingh, Neher 2002*). ასეთი ვეზიკულებიდან სეკრეტის (ნეიროტრანსმიტერის) გამოყოფა გაცილებით ნელა ხდება, ვიდრე პირველი (RRP) გაერთიანების ვეზიკულებიდან, ამასთანავე, უფრო სწრაფად, ვიდრე სარეზერვო ვეზიკულებიდან. აღნიშნული სამი ფრაქციიდან ვეზიკულების გამოყოფას სამი სხვადასხვა კინეტიკური ფაზა შეესაბამება: ძალიან სწრაფი - თითქმის მომენტალური, შედარებით ნელი - გახანგრძლივებული და ხანგრძლივი - პროლონგირებული(სურ. 1).

როგორც ზევით აღვნიშნე, ცალკეულ ფრაქციებში გაერთიანებული ვეზიკულების ძირითადი მახასიათებლები სხვადასხვა ცხოველებში მსგავსია. ქვევით მოყვანილია ზოგიერთი ლიტერატურული მონაცემები, რომლებიც ამ ფრაქციების თავისებურებებს განსაკუთრებით კარგად ასახავენ.

სწრაფად "გამომყოფი" ვეზიკულები (*readily releasable pool - RRP*), ასეთი ვეზიკულები პრესინაფსური ვეზიკულების საერთო რაოდენობის მხოლოდ 1-2%-ს შეადგენენ. პრესინაფსურ მემბრანასთან ისინი თითქმის შერწყმული არიან. სტიმულაციაზე საპასუხოდ, პირველ რიგში, სწორედ ეს ვეზიკულები რეაგირებენ და ტრანსმიტერს განსაკუთრებით სწრაფად გამოყოფენ (ზოგიერთ შემთხვევაში < 1 წმ). ასევე მხოლოდ რამოდენიმე წამია საჭირო ასეთი ვეზიკულების რეციკლირებისთვის და მათი შერწყმისთვის რეციკლირებული ვეზიკულების ფრაქციასთან (ფრაქციების

შერევა). ამასთანავე, თუ პრესინაფსური ტერმინალი "მოსვენების მდგომარეობაშია", ასეთი ვეზიკულები მობილური არ არიან.

უკვე შედარებით ადრეულ შრომებში, ფილოგენეზურად განსხვავებული ნერვული სისტემის პრეპარატებზე გამოვლინდა, რომ აღნიშნული ფრაქციის გამოფიტვა ხდება: მაღალი სიხშირის მხოლოდ რამოდენიმე (5-15) იმპულსზე საპასუხოდ - წამზე უფრო ჩქარა ან რამოდენიმე წამში (Schneggenburger et al. 1999; Delgado et al. 2000; Richards et al. 2003), დეპოლარაზიის შემთხვევაში - რამოდენიმე მილისეკუნდში (Mennerick, Matthews, 1996; Neves, Lagnado, 1999), ჰიპერტონულ შოკზე (არაფიზიოლოგიური სტიმული) საპასუხოდ - 1 წმ-ში (Rosenmund, Stevens, 1996). ასევე ნაჩვენებია იყო, რომ სხვადასხვა ტიპის სტიმულების კომპლექსი, როგორცაა მაგალითად, მაღალსიხშირიანი სტიმულაცია და ჰიპერტონული შოკი (Rosenmund, Stevens, 1996), მაღალსიხშირიანი სტიმულაცია და კალციუმის ფლემ-ფოტოლიზი (Schneggenburger et al. 1999) ან მაღალსიხშირიანი სტიმულაცია და დეპოლარაზაცია (Wu, L. G. & Borst, J. G, 1999), სწორედ აღნიშნული ფრაქციის ვეზიკულებზე მოქმედებენ და ტრანსმიტერის გამოყოფას სწორედ ამ ფრაქციის ვეზიკულებიდან იწვევენ. ამასთანავე, ფრაქციის დეტალური ანალიზის შედეგად, ნათელი გახდა, რომ ფრაქციაში შემავალი ყველა სინაფსური ვეზიკულა ჰომოგენური არ არის ანუ ყველა ვეზიკულა ერთი სიჩქარით არ გამოიყოფა. მაგალითად, კალიქსის აღნიშნულ ფრაქციაში აღწერილი იყო ორი, ჩქარი და ნელი კომპონენტები, რომლებსაც აღდგენის განსხვავებული კინეტიკა ახასიათებთ (Sakaba, Neher, 2001). ანალოგიურად: ჰიპოკამპის ანათლებზე ნაჩვენებია იქნა, რომ ყველა ვეზიკულა, რომელიც გამოიყოფა ძალიან მცირე სტიმულებზე საპასუხოდ (50 ჰც), გამოყოფის პარამეტრების მიხედვით, მსგავსი არ არის: აქტიურ ზონაში საშუალოდ ორი ვეზიკულა შეიძლება აღინიშნებოდეს, მაგრამ მყისიერი გამოყოფისთვის მზად მხოლოდ ერთი ვეზიკულა შეიძლება იყოს (Hanse, Gustafsson, 2001 a, b; Hanse, Gustafsson, 2002).

რეციკლირებული ვეზიკულები (ReP) პრესინაფსური ვეზიკულების საერთო რაოდენობის 10-20%-ს შეადგენენ. პრესინაფსურ ტერმინალებში ისინი გაფანტული არიან. ზომიერ (ფიზიოლოგიურ) სტიმულებზე საპასუხოდ, რეციკლირებული ვეზიკულების გამოყოფა საკმაოდ სწრაფად ხდება, თუმცა პირველ ფრაქციასთან შედარებით, მაინც გაცილებით ნელა. სტიმულაციის ფიზიოლოგიური სიხშირეები

ასევე განაპირობებენ ამ ფრაქციის მუდმივ და სწრაფ (რამოდენიმე წამში) რეციკლირებას (Delgado et al. 2000). ამგვარად, ის სწრაფად ივსება ახლად რეციკლირებული ვეზიკულებით (Delgado et al. 2000; Rizzoli, Betz, 2003). გამონაკლისი - ოქროს თევზის ბიპოლარული ნერვული ტერმინალია, სადაც ახალი ვეზიკულების რეციკლირება მხოლოდ სტიმულაციის შედეგად - სარეზერვო ფრაქციის მობილიზების გარეშე ვერ მოხდა (Heidelberg et al, 1994; von Gersdorff, Matthews, 1999). თუმცა აღსანიშნავია, რომ ასეთი კვლევები ჩატარებული იყო ისეთი ძლიერი სტიმულაციის პირობებში, როგორცაა ხანგრძლივი დეპოლარიზაცია ან კალციუმის "uncaging". ამ ფრაქციის კიდევ ერთი მნიშვნელოვანი თავისებურებაა - სხვა ფრაქციასთან, კერძოდ, სარეზერვო ვეზიკულებთან ნელი შერევა. ამასთანავე, „მოსვენებულ“ პრესინაფსურ ტერმინალში რეციკლირებული ვეზიკულების მობილობა მაღალია.

სარეზერვო ფრაქცია (RSP) სინაფსური ვეზიკულების დეპოა. აქ კონცენტრირებულია ვეზიკულების საერთო რაოდენობის 80-90%-მდე. პრესინაფსურ ტერმინალებში ასეთი ვეზიკულები გაფანტულია ან ჰქმნიან კლასტერებს. სარეზერვო ფრაქციიდან ვეზიკულების გამოყოფა ხდება რამოდენიმე ათეულ წამში ან წუთში და მხოლოდ ინტენსიური სტიმულაციაზე საპასუხოდ. მაგალითად, ბაყაყის ნერვ-კუნთოვანი დაკავშირებიდან აღნიშნული ვეზიკულების გამოყოფისთვის სტიმულაციის სიხშირე 5-10 Hz ნაკლები არ უნდა იყოს (Richards et al 1973; Heuser, Reese, 1973), დროზოფილას ლარვიდან - მინიმუმ 30 Hz, ხოლო ჰელდის კალიქსში (de Lange et al. 2003) და ჰიპოკამპის ბუტონებში (Takei et al. 1996) ასეთი პროცესი კალიუმის მაღალი კონცენტრაციის ხანგრძლივი აპლიკაციის შედეგად აღწერეს. არ არის ზუსტად ცნობილი, თუ რა იწვევს სარეზერვო ფრაქციის ვეზიკულების გამოყოფას და რომელი მოლეკულური მექანიზმი/მექანიზმები მონაწილეობს ამ პროცესში. ამასთანავე, არის მონაცემები, რომ ვეზიკულების სარეზერვო ფრაქციის მობილიზაცია და მასში შემავალი ვეზიკულების გამოყოფის ტრიგერი რეციკლირებული ვეზიკულების ფრაქციის სრული გამოფიტვაა (Kuromi, Kidokoro, 1999, 2002). ერთ-ერთი მაგალითი, რომელიც ასეთი შეხედულების სასარგებლოდ მეტყველებს: დროზოფილას ისეთ მუტანტში, რომელშიც ვეზიკულების რეფორმირება მხოლოდ ოთახის ტემპერატურაზე ხდება, სტიმულაციის შედეგად, ვეზიკულების ციკლირება

მხოლოდ რეციკლირებული ვეზიკულების ფრაქციაში ხდება. ამასთანავე, თუ ეს პროცესი პრევენცირდებოდა უფრო მაღალი ტემპერატურით, ვეზიკულები სარეზერვო ფრაქციიდან გამოიყოფოდნენ (Kidokoro, 1999).

სარეზერვო ფრაქციის სხვა მახასიათებლებია: ფრაქციაში შემავალი ვეზიკულების ნელი რეციკლირება - საჭიროებს წუთებს; ნელია ასევე ამ ვეზიკულების სხვა ფრაქციების ვეზიკულებთან შერევა; მცირეა მათი მობილობა მოსვენების მდგომარეობაში მყოფ სინაფსურ ტერმინალებში (გამონაკლისი - ბადურას ბიპოლარული უჯრედებია).

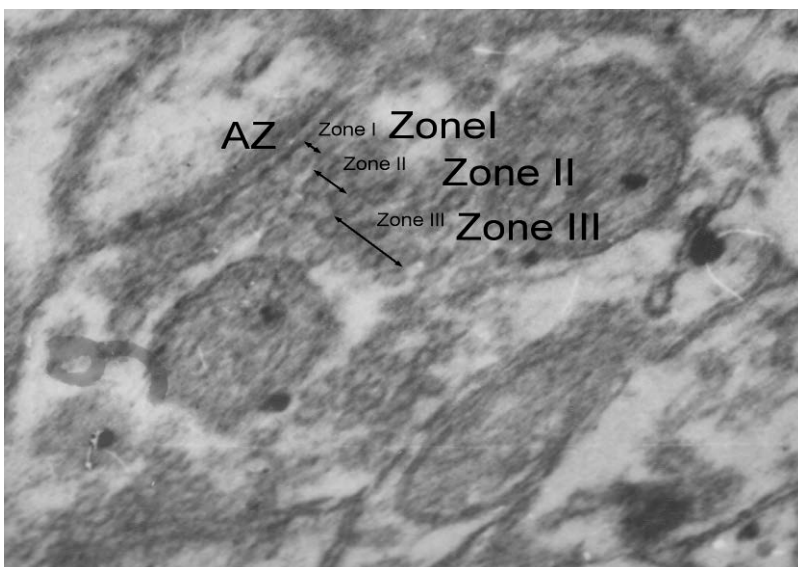
ამასთანავე, რიგი ავტორები იზიარებენ აზრს, რომ სინაფსური ვეზიკულების ორი უკანასკნელი (სარეზერვო და რეციკლირებული) ფრაქცია ანატომიურად მკაცრად სეგრეგირებული არ არის: ორივე ფრაქცია ნაწილობრივად შერეულია.

ამგვარად, ლიტერატურულ მონაცემებზე დაყრდნობით, სულ უფრო მყარდება შეხედულება, რომ რაც უფრო დაშორებულია სინაფსური ვეზიკულების ფრაქცია პრესინაფსური მემბრანიდან, მით უფრო ნელა უნდა მიმდინარეობდეს მასში შემავალი ვეზიკულების გამოყოფა - თუმცა არ არსებობს ზუსტი მონაცემები, რომლებიც ადასტურებენ ან უარყოფენ ასეთ მოსაზრებას.

ასეთი შეხედულების თანახმად, პირველი ფრაქციის - RRP-ს ვეზიკულები, რომლებიც ეგზოციტოზის უნარს უშუალოდ სტიმულაციის შემდეგ ავლენენ, პრესინაფსურ მემბრანაზე ან მასთან უშუალო სიახლოვეს უნდა იყვნენ. თავის მხრივ, სხვა ფრაქციების (განსხვავებული ლოკალიზაციის) სინაფსური ვეზიკულების გამოყოფისთვის განმეორებითი სტიმულაციაა საჭირო. ამგვარად, ამ ფრაქციების ვეზიკულები უფრო "ზარმაცები" უნდა იყვნენ. პირველ რიგში, საჭიროა მათი ტრანსპორტირება პრესინაფსური ტერმინალის ნებისმიერი ადგილიდან აქტიური ზონისკენ, რაც დიდი ენერჯის ხარჯვასთან უნდა იყოს დაკავშირებული. იგივე შეხედულების თანახმად, როდესაც ძლიერ სტიმულზე [როგორცაა, მაგალითად, კალციუმის uncaging (Heidlberger et al. 1994) ან დეპოლარიზაცია (Sakaba, Neher, 2001; Felmi et al. 2003 a, b)] საპასუხოდ, RRP ფრაქცია რამოდენიმე მილისეკუნდში სრულად გამოიფიტება, რეციკლირებადი ფრაქციის სინაფსური ვეზიკულები აქტიურ ზონასთან, და შესაბამისად, ვოლტაჟ-დაჭიმვრულ არხებთან ძალიან ახლოს უნდა აღმოჩნდნენ (Ceccarelli, Hurbut, 1980, Neher 1998). ამგვარად, ასეთ ვეზიკულებს უნდა ჰქონდეთ SNARE ცილების ისეთი კონფიგურაციები, რომლებიც ხელს შეუწყობენ მათ

შერწყმას სინაფსურ მემბრანასთან და ტრანსმიტერის/ტრანსმიტერების გამოყოფას (Jahn et al. 2003). აქტიური ზონის "მანქანა" კომპლექსურად უნდა ურთიერთმოქმედებდეს მასთან მორფოლოგიურად შეპირაპირებულ სინაფსურ ვეზიკულებთან და ხელს უნდა უწყობდეს ასეთი ვეზიკულების დაკავშირებას კალციუმის არხებთან (Catterall, 1999), რაც სტიმულაციაზე საპასუხოდ, ამ ვეზიკულებიდან ნეიროტრანსმიტერის სწრაფი გამოყოფის აუცილებელ პირობას წარმოადგენს. კიდევ ერთხელ მინდა აღვნიშნო, რომ სინაფსური ვეზიკულების პრესინაფსურ მემბრანასთან ტრანსპორტირების და პრესინაფსურ მემბრანასთან მათი შეპირაპირების მექანიზმი საბოლოოდ დადგენილი არ არის.

რიგი ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, სხვადასხვა ექსპერიმენტული/პათოლოგიური პირობები სინაფსური ვეზიკულების გადანაწილებაში გარკვეულ ცვლილებებს იწვევენ. ასეთი ცვლილებები აღწერილია იმ ერთეულ შრომებშიც, რომლებშიც განხილულია მწვავე და ქრონიკული სტრესის ეფექტი ჰიპოკამპის სინაფსების აღნაგობაზე (Magarinos et al. 1997; Treccani et al. 2011). მაგალითად, მწვავე სტრესის შედეგად, აღწერილია პრესინაფსურ მემბრანასთან შეპირაპირებული ვეზიკულების რაოდენობის სარწმუნო მატება (Treccani et al. 2011). ასეთი ტიპის ცვლილებები ასოცირებული უნდა იყვნენ სინაფსურ ტრანსმისიაში სტრესით გამოწვეულ ალტერაციებთან.



სურ. 1. სხვადასხვა ლოკალიზაციის მქონე სინაფსური ვეზიკულების ფრაქციები: ზონა 1 - RRP - ადვილად გამომყოფი ვეზიკულების ფრაქცია; ზონა 2 - ReP - რეციკლირებადი ვეზიკულების ფრაქცია; ზონა 3 - RSP - სარეზერვო ვეზიკულების ფრაქცია. AZ - სინაფსის აქტიური ზონა

2.7. ნეიროპოროსომა - ნეიროტრანსმისიის უნივერსალური მანქანა

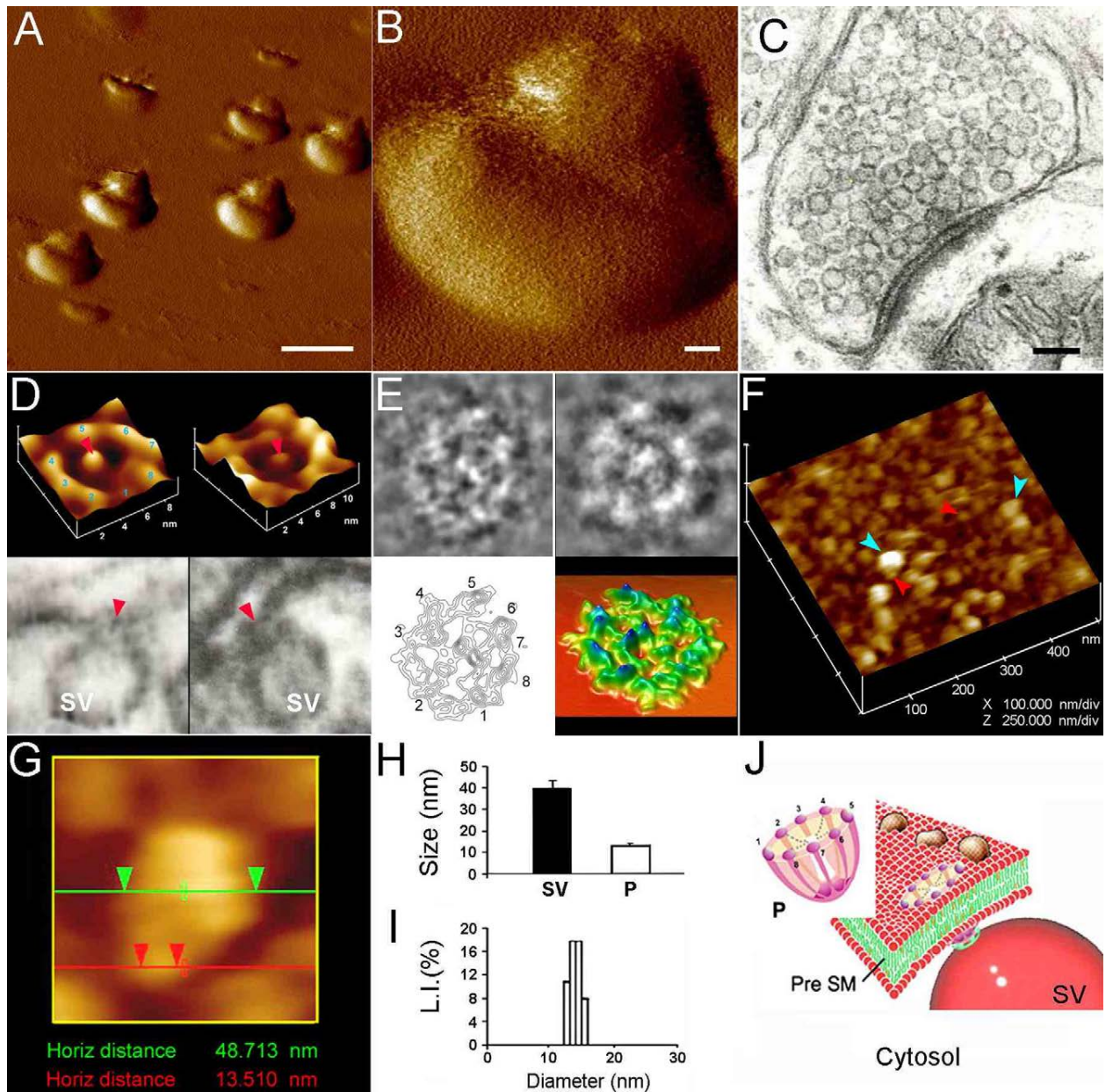
სინაფსურ გადაცემასთან უშუალოდ დაკავშირებულია ნეირონის პლაზმურ მემბრანაში არსებული, პერმანენტული სუპრამოლეკულური ლიპოპროტეინული სტრუქტურა - პოროსომა. ის აღინიშნება ყველა ტიპის სეკრეტორულ უჯრედში (ეგზოკრინულ, ენდოკრინულ, ნეიროენდოკრინულ უჯრედებში და ასტროციტებში) და წარმოადგენს სეკრეტორული უჯრედის პლაზმური მემბრანის იმ ადგილს, რომელსაც სეკრეციის პროცესში, სეკრეტის გამოყოფის მიზნით, ტრანზიტულად ერწყმიან მემბრანა-შემოსადვრული სეკრეტორული ვეზიკულები (Schneider et al., 1997; Jeremic et al., 2003; Siksou et al., 2007; Jena 2007-2009, Jena et al. 2003). შესაბამისად, ნეირონული პოროსომა - ნეიროპოროსომა - ნეირონის პლაზმური მემბრანას ის საიტია, საოდანაც ნეიროტრანსმისიის პროცესში, სინაფსური ვეზიკულები "ნეიროსეკრეტს" - ნეიროტრანსმიტერს, უჯრედის გარეთ გამოჰყოფენ. ნეიროპოროსომას ასეთი როლი საბოლოოდ დადგინდა მაშინ, როცა მოხდა მისი იზოლაცია, პლაზმურ მემბრანაში რეკონსტრუირება და სპეციალური ელექტრომოწყობილობის საშუალებით, ნეიროტრანსმისიის პროცესში მისი ფუნქციის დეტალური აღწერა (Cho et al. 2004). ვინაიდან პოროსომა ყველა ტიპის სეკრეტორულ უჯრედშია, დაშვებული იქნა რომ იგი უჯრედის უნივერსალურ სეკრეტორულ მანქანას წარმოადგენს (Allison. Doktyez, 2006; Anderson, 2006; Jena, 2007; Paknikar, Jeremic, 2007). შემდეგ ეტაპზე მოხდა პოროსომას ცილოვანი კომპლექსის სამ-განზომილებიანი კარტირება. შედეგად აღმოჩნდა, რომ პოროსომას ცილოვანი კომპლექსი და კომპლექსში შემავალი ცილების განლაგება ყველა სეკრეტორულ უჯრედში მსგავსია (Cho et al., 2008), და, ამგვარად, კიდევ ერთხელ დადასტურდა პოროსომას, როგორც სეკრეტორული მანქანის, უნივერსალობა.

ამჟამად ცნობილია, რომ სხვადასხვა სეკრეტორულ უჯრედებში პოროსომა, და, შესაბამისად, ნეიროპოროსომა, შედგება ქოლესტეროლისგან (Cho et al. 2007; Paknikar 2007) და რიგი სხვა ცილებისან, როგორცაა SNAP_23/25, სინტაქსინი, სინაპტოტაგმინი, ATPაზა და NSF. გარდა ამისა, მის შემადგენლობაშია ასევე ციტოჩონჩხის ცილები - აქტინი, ალფა ფოდრინი, და ვიმენტინი, კალციუმის არხები $\beta 3$ და $\alpha 1c$, ქლორიდის იონური არხები CIC2, CIC3 და მათი იზოფორმები (Cho et al. 2004; Jena et al. 2003; Jeremic et al. 2003). ინტეგრალურ როლს ამ კომპლექსში ქოლესტეროლი ასრულებს. კერძოდ, სწორედ ქოლესტეროლი განაპირობებს პოროსომას ბიომოლეკულურ ინტეგრირებას, მისი სტაბილობის შენარჩუნებას და შემადგენელ ცილებს შორის, ინტრამოლეკულურ ურთიერთმოქმედებებს (Cho et al., 2007; Wheatley 2007). პოროსომას კომპლექსის ფუძეში t-SNAREs და კალციუმის არხებია (Jena et al., 2003; Cho et al., 2005). სეკრეტის გამოყოფის პროცესში, კერძოდ, პოროსომას „დახურვა-გახსნაში“ - მარეგულირებელ როლს აქტინი ასრულებს (Schneider et al., 1997; Jena et al., 2003; Cho et al. 2010). ნეიროპოროსომას მორფოლოგიური კონტური კარგად გამოვლინდა ელექტრონულ-მიკროსკოპულ დონეზე. კერძოდ, ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპით, < 10 ნმ რეზოლუციის პირობებში, პოროსომა აღწერილი იქნა, როგორც პრესინაფსურ მემბრანაზე არსებული 12-17 ნმ სიდიდის პერმანენტული შესქელება, რომელსაც, სეკრეტის (ნეიროტრანსმიტერის) გამოყოფის პროცესში, ნაწილობრივად ერწყმის 40-50 ნმ დიამეტრის მქონე სინაფსური ვეზიკულები (Cho et al. 2004; Siksou et al. 2007; Okuneva et al. 2012 a,b; Japaridze et al. 2012). ნეიროპოროსომას და მასთან შერწყმული სინაფსური ვეზიკულების ასეთი ზომები დადასტურდა ერთეულ, ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპის გამოყენებით შესრულებულ შრომებში (Cho et al. 2004; Jena 2009, 2010).

ნეიროპოროსომას კიდევ ერთი უმნიშვნელოვანრესი მახასიათებელი - მისი სხვადასხვა კონფორმაციული მდგომარეობებია. კერძოდ, ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპის ულტრამალალი გარჩევითობის პირობებში, ვირთაგვას თავის ტვინისგან იზოლირებულ სინაპტოსომას პრეპარატებზე, პოროსომას სამი - ღია, ნაწილობრივად ღია და დახურული კონფორმაციები აღწერეს (Cho et al., 2010). აღმოჩნდა, რომ პოროსომას სამივე კონფორმაცია უშუალოდ უკავშირდება

პოროსომას ე.წ. "საცობის" მდებარეობას, რომელიც, თავის მხრივ, უშუალოდ განსაზღვრავს ნეირონტრანსმისიის პროცესს. კერძოდ, "საცობი" - პოროსომას სუბსტრუქტურა - მოქმედებს, როგორც პოროსომას "კარი", ის რეტრაქციულია, როდესაც პოროსომა "ღიაა" და, შესაბამისად, მასთან შერწყმული სინაფსური ვეზიკულადან ნეიროსეკრეტი/ნეიროტრანსმიტერი გამოიყოფა. ამასთანავე, როდესაც პოროსომა „ღია“ მდგომარეობიდან „დახურულ“ სტატუსში გადადის, მისი „კარი“ საწინააღმდეგო (გარე) პოზიციას იკავებს და ნეირონიდან ტრანსმიტერის გამოყოფა ვეღარ ხდება (სურ. 2).

პოროსომას საცობის ფუნქციობასთან დაკავშირებული საკითხები დაწვრილებით განხილულია რიგ ექსპერიმენტულ და თეორიული ხასიათის სტატიებში (Jena et al., 2009).



სურ. 2. ნერვული ტერმინალის პრესინაფსურ მემბრანაზე განლაგებული ნეირონული პოროსომული კომპლექსის სტრუქტურა და ორგანიზაცია: ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპით მიღებული, ბუფერულ ხსნარში მოთავსებული, ვირთაგვას თავის ტვინიდან იზოლირებული სინაპტოსომა დაბალი გარჩევითობით (Bar = 1 μ m) (A) და მაღალი გარჩევითობით (Bar = 100 nm) (B) მიღებული სურათები; (C) ელექტრონული მიკროსკოპით მიღებული სინაპტოსომა სურათი (Bar = 100 nm). (D) ნეირონული პოროსომული კომპლექსის სტრუქტურა (ზედა მარცხენა) და PC:PS მემბრანაში რეკონსტრუირებული კომპლექსი (ზედა მარჯვენა). ქვედა პანელებზე - ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპით მიღებულ ორ სურათზე ასახულია

სინაფსური ვეზიკულები (SV), რომლებიც ერწყმიან ცენტრალური საცობის შემვლელ (წითელი ისარი) თასის ფორმის პოროსომას. (E) ელექტრონული მიკროსკოპით, ელექტრონული სიმკვრივის განმსაზღვრით და 3D კონტურების კარტირებით ნანოდონეზე მიღებული, პოროსომას კომპლექსის სტრუქტურა და მასში შემავალი ცილების ასამბლირება. (F) იზოლირებული სინაპტოსომას "inside-out" მემბრანას პრეპარატის ატომურ-ალოვან-მიკროსკოპული სურათი: პოროსომას (აღნიშნულია წითელი ისრით) ერწყმიან სინაფსური ვეზიკულები (აღნიშნულია წითელი ისრით). (G) მაღალი გარჩევითობის ატომურ-ალოვან-მიკროსკოპული სურათი: პრესინაფსური მემბრანას ციტოპლაზმური კომპონენტის მხრიდან პოროსომას სინაფსური ვეზიკულები ერწყმიან. (H) ატომურ-ალოვანი მიკროსკოპით მიღებული პოროსომების ($n = 15$) ($P, 13.05 \pm 0.91$) და პრესინაფსური მემბრანას ციტოპლაზმურ კომპონენტში სინაფსური ვეზიკულების გაზომვები ($SV, 40.15 \pm 3.14$). (I) იმუნოიზოლირებული ნეირონული პოროსომას კომპლექსის ფოტონ-კორელაცია-სპექტროსკოპიით (PCS) მიღებული სურათი: ასახულია პოროსომას კომპლექსის ზომა, რომელიც მერყეობს 12-16 ნმ ფარგლებში. (J) პრესინაფსური მემბრანას ნეირონული პოროსომას სქემატური გამოსახულება; ასახავს 8 პერიფერიულ "გამონაზარდს" (ridges), რომლებიც უკავშირდებიან ცენტრალურ საცობს (კოლაჟი პროფ. ჯენას ლაბორატორიის შრომებიდან. Cell Biol. Int. 2004, 28:699–708; Cell Biol. Int. 2010, 34:1129–1132; J. Microscopy 2008, 232:106–111] (გამოყენებულია პროფ. ჯენას ნებართვით).

აღსანიშნავია, რომ უკანასკნელ პერიოდამდე ნეიროპოროსომას მხოლოდ ვირთაგვას ტვინში იკვლევდნენ. მხოლოდ რამოდენიმე თვის წინ, ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპის გამოყენებით, ნეიროპოროსომა ჩვენ ასევე ძაღლის და კატის ტვინში ავლწერეთ (Okuneva et al. 2012; Japaridze et al. 2012; გამოუქვეყნებელი მასალა). ვირთაგვას, კატის და ძაღლის ნეიროპოროსომას რიგი სტრუქტურული პარამეტრების (სიღრმე და დიამეტრი) შედარებითი რაოდენობრივი ანალიზის შედეგად, ნათელი გახდა, რომ სამივე ძუძუმწოვარში პოროსომას მსგავსი აღნაგობა - კერძოდ, 12-17 ნმ დიამეტრის მქონე, თასისმაგვარი ფორმა - გააჩნია. ასევე სამივე ძუძუმწოვარში, რიგ შემთხვევებში ვლინდებოდა ნეიროტრანსმიტერის გამოყოფის პროცესში, პოროსომას ფუძესთან შერწყმული 40-50 ნმ დიამეტრის სინაფსური

ვეზიკულები. გარდა ამისა, სამივე ცხოველში გამოვლინდა ნეიროპოროსომას "საცობი" - "კარი", რომლის პოზიცია პოროსომას სამ განსხვავებულ კონფორმაციულ მდგომარეობას - ღია, ნახევრადღია და დახურულს - ასახავს (აღწერილია ზევით). ამგვარად. ჩვენი მონაცემებით კიდევ ერთხელ დადასტურდა პოროსომას/ნეიროპოროსომას თასისმაგვარი ფორმა, მისი ზომები და სხვადასხვა კონფორმაციული მდგომარეობები. გარდა ამისა, იმ ფაქტით, რომ პოროსომას ძირითადი სტრუქტურული მახასიათებლები სხვადასხვა ძუძუმწოვრებში მსგავსია, კიდევ ერთხელ დასტურდება პოროსომას უნივერსალურ ბუნებას.

ვინაიდან პოროსომა უჯრედის სეკრეტორული მანქანაა, შესაძლებელია, რომ სეკრეციის პროცესში მის აღნაგობაში გარკვეული ალტერაციები განვითარდნენ. ასევე, სავარაუდოა, რომ პოროსომას სტრუქტურულ მოდიფიკაციებს გამოიწვევს ისეთი ექსპერიმენტული/პათოლოგიური პირობები, რომლებიც ნეიროტრანსმისიის პროცესზე გამოხატულ გავლენას ახდენენ. მაგრამ ასეთი ტიპის კვლევები ლიტერატურაში ცნობილი არ არის. ამის ერთ-ერთი მთავარი მიზეზი ის უნდა იყოს, რომ პოროსომას საფუძვლიანი კვლევა მხოლოდ უკანასკნელ ათწლეულში დაიწყო და საწყის ეტაპებზე ძირითადი ამოცანები "ნორმალური" პოროსომას აღნაგობის აღწერა, მისი ფუნქციის ზუსტი დადგენა, ქიმიური შემადგენლობის გამოვლენა და პოროსომას "მუშაობის" პრინციპების შესწავლა იყო. ამასთანავე, აღსანიშნავია, რომ 2012 წელს გამოქვეყნდა ელექტრონული მიკროსკოპის დონეზე შესრულებული შრომა, რომელშიც, პანკრეასის აცინარულ უჯრედზე, აღწერილია სეკრეციის პროცესის სხვადასხვა სტადიებზე პოროსომას ფორმის განსხვავებული ცვლილებები (Elshennawy, 2012). ასეთი მონაცემები კიდევ ერთხელ მეტყველებენ ზემოთმოყვანილი შეხედულების სასარგებლოდ, რომლის თანახმად, ისეთი ექსპერიმენტული/პათოლოგიური პირობები, რომლებიც სეკრეტორული პროცესის (ნეირონის შემთხვევაში - ნეიროტრანსმიტერის გამოყოფის) ცვლილებებს იწვევენ, გარკვეულ ეფექტს პოროსომას აღნაგობაზეც მოახდენენ. როგორც აღინიშნა, არც ერთ სეკრეტორულ უჯრედში ეს საკითხი შესწავლილი არ არის.

კვლევის მიზანი და ამოცანები:

როგორც ზევით აღინიშნა, ჩემი კვლევის მთავარი მიზანი იყო იმ შესაძლო ცვლილებების გამოვლენა, რომლებსაც ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი სტრეს-პასუხის ორგანიზაციაში ჩართული ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი ლიმბური წარმონაქმნის, ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის სინაფსების აღნაგობაში უნდა იწვევდეს. კერძოდ, მაინტერესებდა, იწვევს თუ არა აღნიშნული პათოლოგიური მდგომარეობა სინაფსების ულტრასტრუქტურის (ა) გამოხატულ დარღვევებს ან/და (ბ) მათ უფრო ნატიფ ალტერაციებს, როგორცაა სინაფსური ვეზიკულების სხვადასხვა გაერთიანებებში/ფრაქციებში (ლოკალიზაციის მიხედვით) გადანაწილება და ნეიროტრანსმისიასთან უშუალოდ დაკავშირებული სინაფსური უბნების - აქტიური ზონის ან/და პოროსომას (ნეიროტრანსმისიის ბოლო სტადია/სტრუქტურა) მორფომეტრიული ცვლილებები. ყოველი ასეთი ასეთი ალტერაცია უნდა ასახავდეს ექსპერიმენტული პირობების (ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი) ეფექტს ნეიროტრანსმისიაზე.

ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპია ასეთი ნატიფი ალტერაციების გამოვლენის საუკეთესო საშუალებაა.

ქრონიკული სტრესის მოდელად გამოყენებული იყო 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესი; კვლევის ობიექტად - ზრდასრული ვირთაგვა. შესწავლილი იყო ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის აქსო-დენდრიტული სინაფსები. კვლევის ძირითადი მეთოდი - ელექტრონული მიკროსკოპიაა. გარდა ამისა, ერთ-ერთი საკითხის შესწავლისას, გამოვიყენე ასევე ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპი (აღწერილია ქვევით).

კვლევის მიზნიდან გამომდინარე, უნდა გამომეკვლია:

- იწვევს თუ არა 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესი ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის აქსო-დენდრიტულ სინაფსებში გამოხატულ ულტრასტრუქტურულ დარღვევებს;

- იწვევს თუ არა 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესი ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის აქსო-დენდრიტულ სინაფსებში სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობრივ ცვლილებებს და/ან სხვადასხვა ლოკალიზაციის ფრაქციებში მათ გადანაწილებას. ამ მიზნით პრესინაფსურ ტერმინალებში მოვახდინე სინაფსური ვეზიკულების საერთო რაოდენობის და ცალკეულ ფრაქციებში გაერთიანებული ვეზიკულების რაოდენობრივი ანალიზი;
- ვლინდება თუ არა 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის აქსო-დენდრიტული სინაფსების აქტიურ ზონაზე. ამ მიზნით გაზომილი იქნა სინაფსების აქტიური ზონის სიგრძე;
- იწვევს თუ არა 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესი ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის პოროსომას აღნაგობაში. ამ მიზნით ჩატარებული იქნა ნეიროპოროსომას ძირითადი პარამეტრების - სიღრმის და დიამეტრის რაოდენობრივი ანალიზი.

3. მასალა და მეთოდები

სინაფსების ანალიზი ჩატარებული იყო ი. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრის (ყოფილი ი. ბერიტაშვილის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი) ნეიროანატომიის ლაბორატორიის ბაზაზე არსებულ მასალაზე. გამოყენებული მასალა ადრე დამუშავებული არ იყო.

ჩემი კვლევის ძირითადი ნაწილი მოიცავდა ლაბორატორიაში არსებულ, ნორმალური და ექსპერიმენტული ცხოველების ტვინიდან ელექტრონული მიკროსკოპით მიღებული სურათების აღწერას: ექსპერიმენტულ მასალაზე აქსო-დენდრიტული სინაფსების შესაძლო თვისობრივი ცვლილებების გამოვლენას და სინაფსური ვეზიკულების, აქტიური ზონის და პოროსომების მთავარი მახასიათებლების მორფომეტრულ ანალიზს.

კვლევის მეორე, მცირე ნაწილი - სინაპტოსომას და პოროსომას აღწერა ატომურ-მალოვანი მიკროსკოპის გამოყენებით - შევასრულე ვეინის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ნანობიოლოგიის ცენტრში.

ქვევით მოყვანილ სამ ქვეთავში (3.1, 3.2 და 3.3) აღწერილია ექსპერიმენტის დიზაინი და ელექტრონულ-მიკროსკოპული კვლევისთვის მასალის აღების და სპეციალური დამუშავების დეტალები (შესრულებულია ი. ბერიტაშვილის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტის თანამშრომელბის მიერ).

3.1. ცხოველები

ცდები ჩატარებული იყო ვისტარის ხაზის ზრდასრულ მამრ ვირთაგვებზე (P 85-95, წონა ექსპერიმენტის დაწყებამდე - 280-300 გ).

3.2. ექსპერიმენტული დიზაინი

ექსპერიმენტული ცხოველები (7 ვირთაგვა) 90 დღის განმავლობაში ინდივიდუალურად იმყოფებოდნენ 25 სმ X 20 სმ X 25 სმ ზომის პლექსიგლასის ყუთებში - პირობებში, რომლებიც მაქსიმალურად ზღუდავენ ცხოველთა გადაადგილებას და სხვა სახის მოტორულ აქტივობას. მთელი ექსპერიმენტის განმავლობაში ყუთები მოთავსებული იყო ნორმალურ კონტროლირებად გარემოში (ტემპერატურა - 20-22 C, ტენიანობა - 55-60%, სინათლე - 07.30-დან 19.30-მდე). საკვები და წყალი ცხოველებს მიეწოდებოდათ შეუზღუდავად; დროულად ხდებოდა ჰიგიენური პირობების დაცვა. ექსპერიმენტული პროცედურის პროტოკოლი დამტკიცებული იყო ი. ბერიტაშვილის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტის ცხოველებზე მუშაობის სპეციალური კომისიის მიერ.

საკონტროლო ცხოველები (იგივე ასაკის და წონის 5 ვირთაგვა) იმყოფებოდნენ ვივარიუმის ჩვეულებრივ პირობებში. მათი მოტორიკა შეზღუდული არ იყო.

3.3. ცხოველების პერფუზია; მასალის მომზადება ელექტრონულ-მიკროსკოპული კვლევისთვის; ელექტრონული მიკროსკოპია

ექსპერიმენტული და საკონტროლო ცხოველების პერფუზია ხდებოდა ინტრაკარდიალურად, პენტობარბიტალის (100 მგ/კგ) ინტრაპერიტონიული ინექციის ქვეშ. პერფუზიისთვის გამოყენებული იყო, თავდაპირველად, 0,9%-იანი ჰეპარიზინირებული ფიზიოლოგიური ხსნარი, შემდეგ კი, 500 მლ 4%-იანი პარაფორმალდეჰიდის და 0.1 M ფოსფატურ ბუფერზე დამზადებული 2.5%-იანი გლუტარალდეჰიდის ხსნარი (pH 7.4, პერიფერიული წნევა - 120 mm Hg). თავის ტვინის ქალაქიდან ექსტირპაციის შემდეგ, 24 საათით თავსდებოდა იგივე პერფუზატში - ფიქსატორში. შემდეგ ეტაპზე მზადდებოდა ფიქსირებული თავის ტვინის, მარჯვენა ჰემისფეროს ნუშისებრი სხეულის 400 მიკრონის სისქის კორონალური ანათლები. 0.1 M გაყინულ ფოსფატურ ბუფერში მათი გარეცხვის შემდეგ პოსტფიქსაციისათვის ისინი თავსდებოდნენ ორი საათით გაყინულ 0.1 M ფოსფატურ ბუფერზე დამზადებულ 1%-იან ოსმიუმის ტეტროქსიდში. შემდეგ, ანათლები ირეცხებოდნენ 0.1 M ფოსფატურ ბუფერში და ოპტიკური მიკროსკოპით Leica MM AF, ხდებოდა ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის იდენტიფიკაცია. ბირთვი იზოლირდებოდა და აღმავალ სპირტებში და აცეტონში დეჰიდრატაციის შემდეგ, ნაჭრები ყალიბდებოდა არალდიტში. ტრიმერირებული ბლოკებიდან, რეიხერტის (Reichert) და ლკბ-ს (LKB) ულტრატომებზე, მიიღებოდა 70-75 ნმ სისქის ანათლები. აღებული იყო ყოველი მე-20-ე ანათალი, რათა მაქსიმალურად ყოფილიყო შემცირებული ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებით, სხვადასხვა ბადეებზე ერთი და იგივე პრესინაფსური ტერმინალის დათვალიერების ალბათობა. ანათლები თავსდებოდნენ 200-დანაყოფიან სპილენძის ბადეებზე და ხდებოდა მათი შეღებვა ურანილ-აცეტატით და ტყვიის ციტრატით, ხოლო შემდეგ, შეღებილი პრეპარატების დათვალიერება JEM 100C (JEOL, Japan), Hitachi (იაპონია) და TESLA BS 340 (ჩეხეთი) ტრანსმისიულ ელექტრონულ მიკროსკოპებში. ყოველ კონკრეტულ შემთხვევაში (ექსპერიმენტული და საკონტროლო ცხოველები) შესწავლილი იყო 115 ანათალი.

ელექტრონოგრაფებთან ჩემი უშუალო მუშაობა ამ ეტაპიდან დაიწყო. კერძოდ, როგორც აღვნიშნე, იმისთვის რომ გამომევლინა 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის შესაძლო ეფექტი ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის სინაფსების აღნაგობაზე, ნორმალური და ექსპერიმენტული ტვინიდან მიღებულ ელექტრონოგრაფებზე აღვწერე (ა) აქსო-დენდრიტული ასიმეტრიული სინაფსების

(ნუშისებრი სხეულის ცენტრალურ ბირთვში სინაფსების განსაკუთრებით გავრცელებული ტიპი) სტრუქტურული კომპონენტების აღნაგობის ცვლილებები; (2) ნორმალური აღნაგობის აქსო-დენდრიტული სინაფსების პრესინაფსურ ტერმინალებში ჩავატარე არსებული ვეზიკულების რაოდენობრივი ანალიზი (ფრაქციების მიხედვით და საერთო რიცხვი) და გავზომე სინაფსების აქტიური ზონა; (3) მოვახდინე ნეიროპოროსომას სტრუქტურული პარამეტრების - დიამეტრის და სიღრმის - მორფომეტრიული ანალიზი. გარდა ამისა, იმისთვის, რომ კიდევ ერთხელ დამეზუსტებინა ერთეულ ლიტერატურულ შრომებში აღწერილი ნეიროპოროსომას ზომები (ელექტრონოგრამებზე მათი ზუსტი იდენტიფიცირების მიზნით), ნორმალური ვირთაგვას ტვინიდან მიღებულ სინაპტოსომების პრეპარატებზე, ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპის გამოყენებით, კიდევ ერთხელ აღვწერე ნეიროპოროსომას ძირითადი სტრუქტურული პარამეტრები.

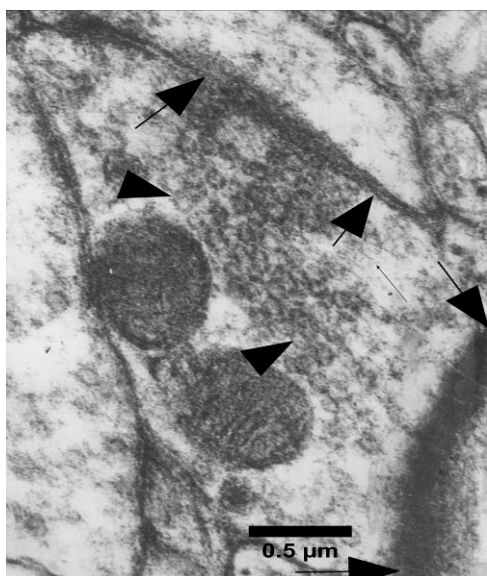
3.4. ელექტრონოგრამებზე სინაფსური ვეზიკულების და აქტიური ზონის ანალიზი

ელექტრონული მიკროსკოპით მიღებული სურათების სკანირებას ვახდენდი 600 dpi-ის გარჩევითობით. სურათების კონტრასტს ვარეგულირებდი Adobe Photoshop CS3 (v.10.0.1) ან Image J კომპიუტერული პროგრამის მეშვეობით. ანალიზის ჩატარებისას, ვითვალისწინებდი სურათის გადაღების (x15 000, x20 000, x30 000) და სურათის დაბეჭდვის პროცესში გამოყენებულ გადიდებებს (x2,5; x3,5).

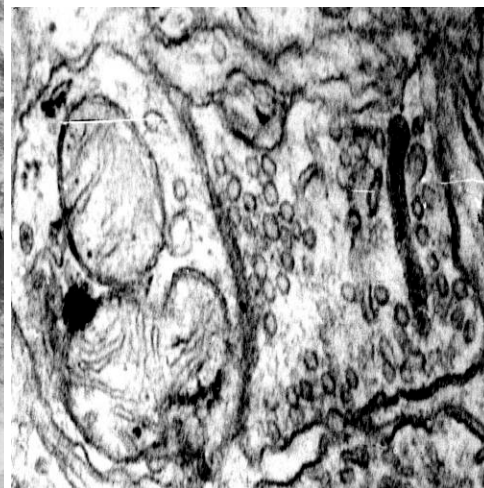
მორფომეტრიულ ანალიზს ვატარებდი კომპიუტერული პროგრამის Image J-ს საშუალებით. განხილული იყო მხოლოდ ის პრესინაფსური ტერმინალები, რომლებიც ჰქმნიდნენ სხვადასხვა სისქის დენდრიტებთან, მათ შორის, დენდრიტულ ხორკლებთან ასიმეტრიულ კავშირებს კარგად გამოხატული პოსტსინაფსური შემკვრივებით და შეიცავდნენ ტიპიურ (40-50 ნმ დიამეტრის მქონე) სფერულ ვეზიკულებს. ყველა ასეთ სინაფსს შენარჩუნებული ჰქონდა ნორმალური აღნაგობა.

საკონტროლო (N) და ექსპერიმენტული (P) საკონტროლო ცხოველების ელექტრონოგრამებზე ვანგარიშობდი აქსო-დენდრიტული სინაფსების (სურ.3) პრესინაფსურ ტერმინალებში სინაფსური ვეზიკულების საერთო რაოდენობას,

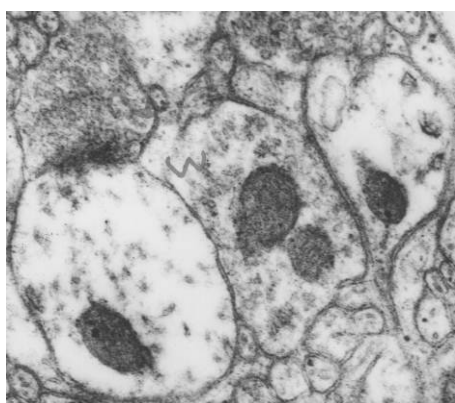
ცალკეულ ფრაქციებში გაერთიანებული ვეზიკულების რაოდენობას და სინაფსის აქტიური ზონის სიგრძეს.



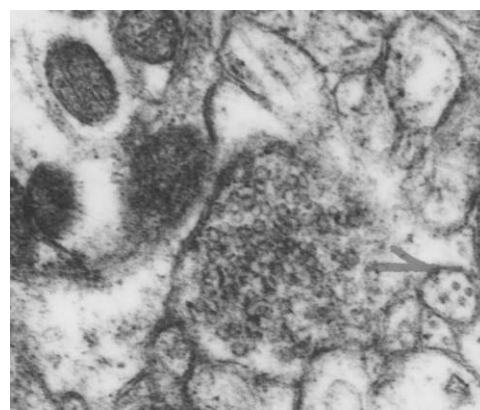
ა.



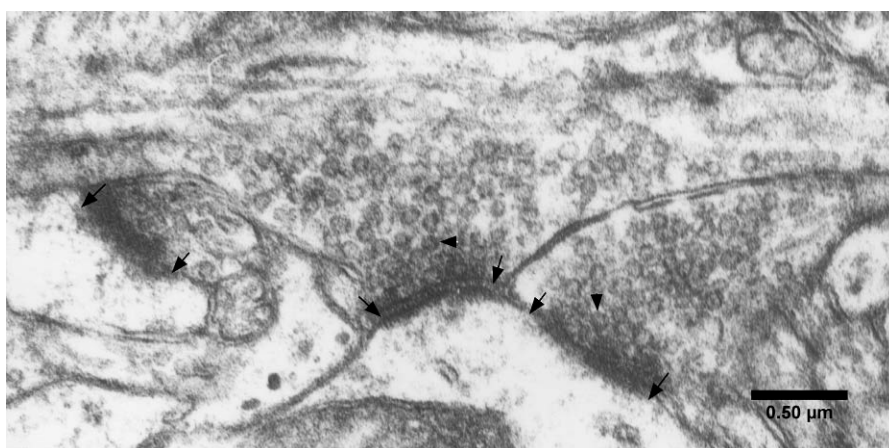
ბ.



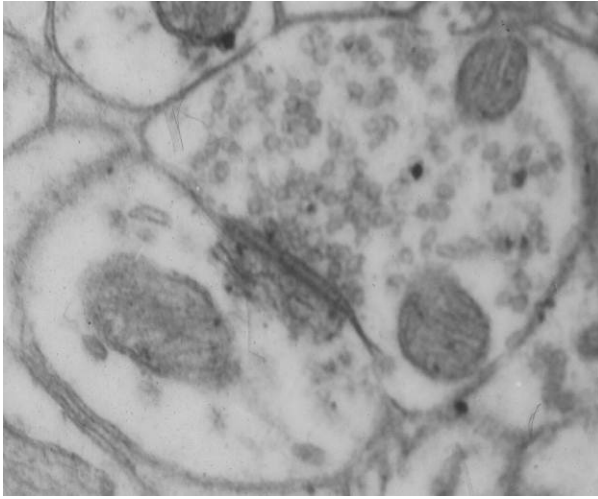
გ.



დ.

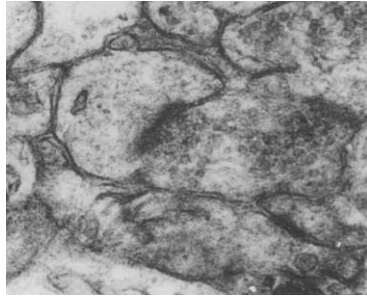
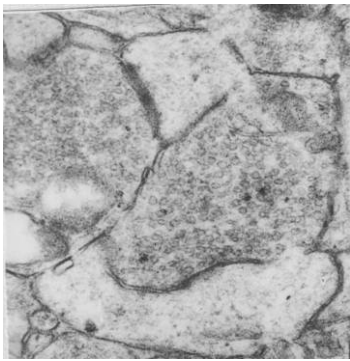


ე.



ვ.

ზ.



თ.

ი.

სურ. 3. მორფომეტრული ანალიზისთვის გამოყენებული ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის აქსო-დენდრიტული სინაფსების ნიმუშები. შავი ისრებით აღნიშნულია პრესინაფსურ ბუტონში აქტიური ზონის საზღვრები, ისრის თავებით – ვეზიკულები. 90 დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესი. ა, ბ, გ, დ – მასშტაბი -0.5მკმ; ე, ვ, ზ,თ, ი – მასშტაბი 0.025 მკმ.

ამგვარად, ჩატარებული იყო შემდეგი გაზომვები:

- აქსო – დენდრიტული სინაფსის აქტიური ზონის პერიმეტრი (Active Zone Length; შესაბამისად: N AZ Length და P AZ Length);
- აქსო – დენდრიტული სინაფსის პრესინაფსურ ბუტონში ვეზიკულების საერთო რაოდენობა (შესაბამისად: N n Tot და P n Tot);
- აქსო – დენდრიტული სინაფსის პრესინაფსურ ბუტონის (პრეტერმინალის) სხვადასხვა ზონებში/ფრაქციებში გაერთიანებული ვეზიკულების რაოდენობა. ამ მიზნით, ყოველ ბუტონში პირობითად გამოვყავი ვეზიკულების სხვადასხვა ფრაქციების შემცველი სამი ზონა: (ა) ზონა 1 - უშუალოდ პრესინაფსურ მემბრანასთან ან მასთან თითქმის შერწყმული ვეზიკულები; (ბ) ზონა 2 - ვეზიკულები, რომლებიც

განლაგებული იყვნენ აქტიური ზონისგან 100-150 ნმ-ის დაშორებით; (გ) ფრაქცია 3 - სხვა დანარჩენი ვეზიკულები (სურ. 1) (შესაბამისად: N n Z1, N n Z II, N n Z III და P n Z1, P n Z II, P n Z III)

- აქსო – დენდრიტული სინაფსის პრესინაფსური ბუტონის პროფილის ფართობი ნორმასა და პათოლოგიაში (შესაბამისად N S და P S);
- აქსო – დენდრიტული სინაფსის პრესინაფსურ ბუტონში ვეზიკულების რაოდენობა ფართობის ერთეულზე ნორმასა და პათოლოგიაში (შესაბამისად: N n/S და P n/S);
- აქსო – დენდრიტული სინაფსის აქტიურ ზონასთან შეპირაპირებული ვეზიკულების რაოდენობა აქტიური ზონის ერთეულ სიგრძეზე ნორმასა და პათოლოგიაში (NDock/Len, PDock/Len).

მორფომეტრიული ანალიზის ჩატარებისას, ვხელმძღვანელობდი Fox-ის მიერ მოწოდებული "გაიდლაინის" რიგი წესებით, რომელთა თანახმად: (ა) ვარიაბელობის მინიმიზაციის მიზნით, ყველა გაზომვას ახდენს ერთი პიროვნება; (ბ) ყოველი ბადის (ელექტრონომიკროგრამას) იდენტირობა ვლინდება მხოლოდ სრული მასალის შეგროვების შემდეგ; (გ) მონაცემების რაოდენობრივი და სტატისტიკური ანალიზის დროს, შემსრულებლისთვის არ არის ცნობილი ნიმუშის გენოტიპი (Fox 1988). სულ შეფასებული იყო 620 სინაფსი: 320 სინაფსი ოთხი ექსპერიმენტული ცხოველიდან და 300 "აქტიური" სინაფსი სამი საკონტროლო ცხოველიდან.

3.4.1. მონაცემების რაოდენობრივი სტატისტიკური ანალიზი

მონაცემების რაოდენობრივ სტატისტიკურ ანალიზს თავდაპირველად ვახდენდი ერთ ფაქტორული/ცალმხრივი დისპერსიული ანალიზის (One – way) ANOVA-ს საშუალებით. კერძოდ, ამ სტატისტიკური მეთოდის გამოყენებით, უნდა გამომეველინა, ახდენს თუ არა ექსპერიმენტული პირობები (90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესი) ეფექტს პრესინაფსურ ტერმინალებში არსებული (ა) სინაფსური ვეზიკულების საერთო რაოდენობაზე; (ბ) ვეზიკულების რიცხვზე სხვადასხვა ფრაქციებში (ზონები I, II, III); (გ) სინაფსების აქტიური ზონის სიგრძეზე; (4) პრესინაფსური ტერმინალის ბუტონის ფართობზე; (5) პრესინაფსური ბუტონის

ფართობის ერთეულზე ვეზიკულების რიცხვზე. ჯგუფებს შორის სტატისტიკური განსხვავების გამოსავლენად, ვიყენებდი two sample t -ტესტს. განსხვავება ითვლებოდა სარწმუნოდ, თუ $p \leq 0.05$.

3.5. პოროსომას ანალიზი

3.5.1. პოროსომას აღწერა თავის ტვინიდან იზოლირებულ სინაპტოსომურ პრეპარატებზე: ატომურ-ძალოვან-მიკროსკოპული კვლევა

როგორც ზევით აღვნიშნე, ნორმალურ თავის ტვინში ნეიროპოროსომა აღწერილია მხოლოდ ერთეულ შრომებში (თავი: 2.7). კიდევ ერთხელ რომ დავრწმუნებულიყავი პოროსომას ზომებში, რათა სწორედ მომეხდინა მისი იდენტიფიცირება ელექტრონომიკროგრაფებზე, მოვახდინე ნეიროპოროსომას პარამეტრების ანალიზი ნორმალური (საკონტროლო) ვირთაგვას თავის ტვინიდან იზოლირებულ სინაპტოსომურ პრეპარატებზე, ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპის გამოყენებით. კვლევის ეს ნაწილი შესრულდა ვეინის სახელმწიფო უნივერსიტეტის (დეტროიტი, აშშ) ნანობიოლოგიის ცენტრში.

ქვევით აღწერილია ჩემს მიერ გამოყენებული კვლევის მეთოდოლოგია.

3.5.1.1. სინაპტოსომების, სინაფსური მემბრანას და სინაფსური ვეზიკულების იზოლაცია

სინაპტოსომები მზადდებოდა კონვენციური მეთოდით (Cho et al. 2004, 2007). კერძოდ, საკონტროლო ვირთაგვებიდან იზოლირებული თავის ტვინი თავსდებოდა საქაროზას გაყინულ ბუფერულ ხსნარში (5 mM HEPES pH 7.4, 0.32 M საქაროზა), რომელსაც დამატებული ჰქონდა პროტეაზას მაინჰიბირებელი კოკტეილი (Sigma-Aldrich). ტვინის ჰომოგენიზაცია ხდებოდა ტეფლონის მინის ჰომოგენიზატორში (8e10 strokes). ჰომოგენატი ცენტრიფუგირდებოდა 3 წთ-ის განმავლობაში (2500 გ),

ხოლო მიღებული სუპერნატანტის ფრაქცია - 15 წთ-ის განმავლობაში (14500 გ). "ნალექი" (pellet) რესუსპენდირდებოდა ბუფერული საქაროზას ხნარში და თავსდებოდა 3-10-23% პერკოლის გრადიენტზე. ხსნარი ცენტრიფუგირდებოდა 6 წუთის განმავლობაში (28000g) და გამდიდრებული სინაპტოსომური ფრაქცია გროვდებოდა 10-23% პერკოლის გრადიენტზე (ინტერფეისზე). სინაფსური ვეზიკულების და სინაპტოსომური მემბრანას იზოლაციის მიზნით (Thoidis et al., 1998), იზოლირებული სინაპტოსომები თავსდებოდა (nine volimes) გაყინულ H₂O-ში (სინაპტოსომების ჰიპოტონური "ლიზისი" სინაფსური ვეზიკულების გამოსაყოფად), შემდეგ ხდებოდა მათი სწრაფი ჰომოგენიზაცია დაუნსის (Dounce) ჰომოგენიზატორში და 30-წუთიანი ინკუბაცია ყინულში. მიღებული ჰომოგენატი ისევ ცენტრიფუგირდებოდა 20 წთ-ის განმავლობაში, 25500 გ სიჩქარეზე. ატომურ-ძალოვან-მიკროსკოპული კვლევისთვის ვიყენებდი ნალექის სახით გამოყოფილ, გამდიდრებულ სინაპტოსომურ ფრაქციას.

3.5.1.2. პოროსომას ატომურ-ძალოვან მიკროსკოპული შესწავლა

PBS, pH 7.5-ში მოთავსებულ იზოლირებულ სინაპტოსომებს ვსწავლობდი ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპის გამოყენებით (BioScope III, Digital Instruments, Santa Barbara, CA), "ტეპინგის" მეთოდით, სითხეში. გამოყენებული იყო სილიკონის ნიტრიტისგან დამზადებული თიპები, რომელთა დაჭიმულობის მუდმივა იყო 0.06 N/m, ხოლო გამოსახულების მიღების ძალა- 200 pN. მაღალი რეზოლუციის გამოსახულებების მისაღებად, გამოყენებული იყო გაძლიერება 300-500 pN. გამოსახულებები მიიღებოდა 1.98 Hz წრფივ სიხშირეზე. თითო სურათზე 512 მწკრივია. სხვა პარამეტრებია: ჯამური გაძლიერება -2,0; პროპორციული გაძლიერება - 1,0; ამპლიტუდას საწყისი წერტილი - 0.12-0.28 V, მოდების სიხშირე - 7.76-8.12 KHz). პოროსომას ტოპოგრაფიის ანალიზი ხდებოდა კომპიუტერული პროგრამა NanoScope IIIa, ვერსია 4.43r8 საშუალებით (Digital Instruments).

3.5.2. პოროსომას ულტრასტრუქტურა: ელექტრონულ-მიკროსკოპული კვლევა

პოროსომას იდენტიფიცირებას ვახდენდი საკონტროლო და ექსპერიმენტული ცხოველების ტვინიდან, დიდ გადიდებაზე ($\times 50,000$) გადაღებულ, მაღალი გარჩევითობის ელექტრონომიკროგრაფებზე. იმისთვის, რომ გამომეკლინა, იცვლება თუ არა პოროსომას აღნაგობა ექსპერიმენტული პირობების (90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესი) გავლენით, კომპიუტერული პროგრამა Image J (ვერსია 1.44)-ს საშუალებით, ვზომავდი პოროსომას დიამეტრს და სიღრმეს. სულ გაანალიზებული იყო 196 სინაფსური ტერმინალი: 96 - ექსპერიმენტული ვირთაგვებიდან და 100 - საკონტროლო ვირთაგვებიდან.

3.5.2.1 პოროსომას პარამეტრების სტატისტიკური ანალიზი

ექსპერიმენტული და საკონტროლო ვირთაგვების ელექტრონულ-მიკროსკოპულ მასალაზე მიღებული პოროსომას რაოდენობრივი მონაცემები (პოროსომას დიამეტრი და სიღრმე) ფასდებოდა ცალმხრივი/ერთფაქტორიანი წრფივი ანალიზით (“one-way ANOVA”) მეშვეობით. განსხვავება ამ ორ ჯგუფს (კონტროლი და ექსპერიმენტი) შორის, ითვლებოდა სარწმუნოდ, თუ $p < 0.05$. სარწმუნო ეფექტის გამოვლენის შემთხვევაში ვახდენდი შედარებას t -ტესტის საშუალებით. შედეგები წარმოდგენილია, როგორც \pm სტანდარტული შეცდომა (SE).

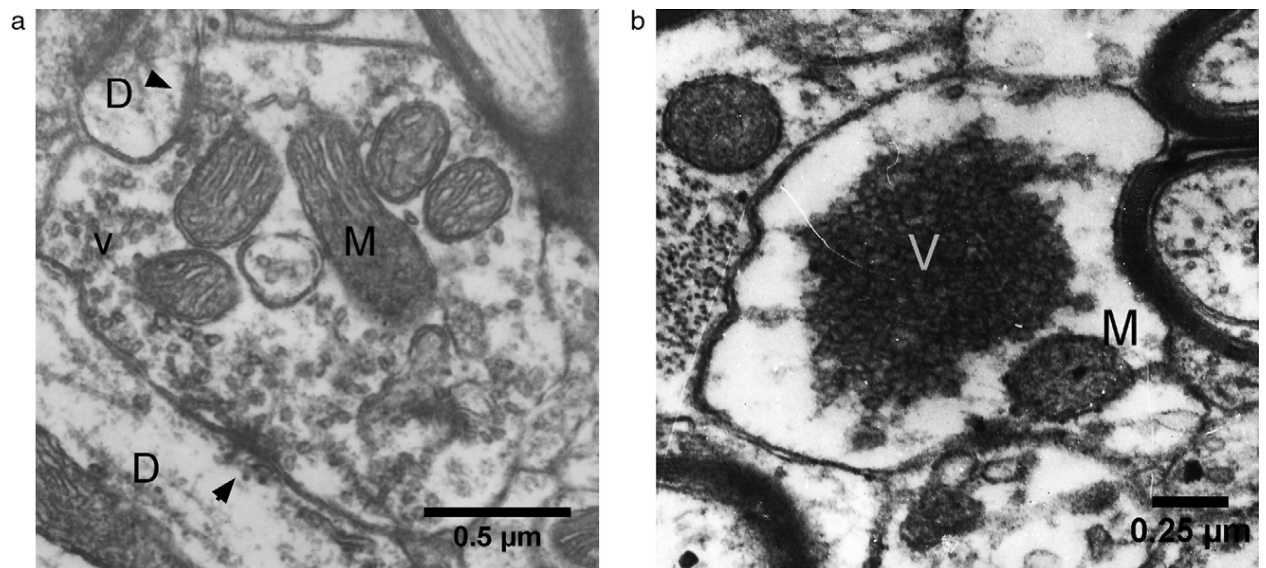
4. შედეგები

4.1. ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის სინაფსების ულტრასტრუქტურული ცვლილებები

4.1.1. პრესინაფსური ტერმინალები

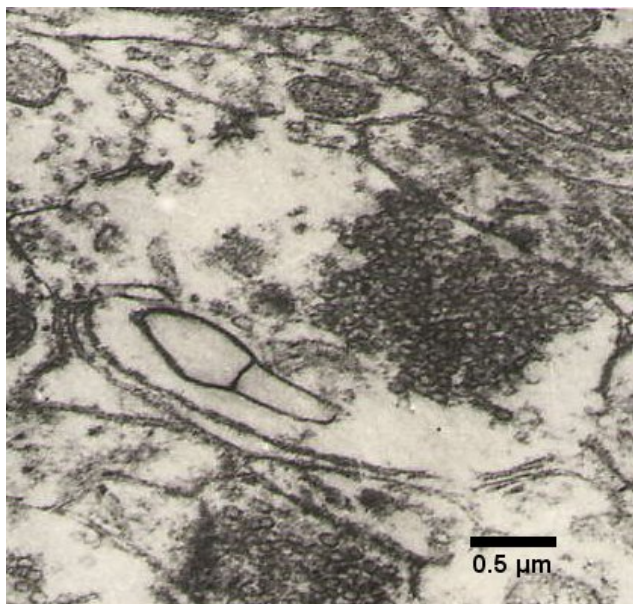
ექსპერიმენტული ვირთაგვების ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის აქსო-დენდრიტული სინაფსების პრესინაფსური ტერმინალების ნაწილში (15%-მდე) გამოვლინდა გამოხატული პათოლოგიური ცვლილებები. განსაკუთრებით აღსანიშნავია სინაფსური ვეზიკულების აგლუტინაცია და/ან სხვადასხვა ზომის ოსმიოფილური ჩანართები და/ან მემბრანისმაგვარი ან მიელინისმაგვარი ჩანართების გამოჩენა (სურ. 4 b, 5 a,b). ზოგიერთ ტერმინალში ასეთი ჩანართები რამოდენიმე იყო ან ისინი ტერმინალის საკმაოდ დიდ ტერიტორიას იკავებენ. რიგ ტერმინალებში ასეთი ცვლილებების პარალელურად, აღინიშნა პრესინაფსური მიტოქონდრიების დარღვევები: კრისტების დესტრუქცია ან მიტოქონდრიების ვაკუოლიზაცია. ასეთ ტერმინალებში სინაფსური ვეზიკულები, ძირითადად, მცირერიცხოვანი ან ერთეულიც კი იყო; ხშირად - აქტიური ზონისგან მოშორებით. ყველა ასეთ ტერმინალში ადგილი უნდა ჰქონდეს ნორმალური სინაფსური ტრანსმისიის პროცესის დარღვევებს (განხილულია ქვევით: თავი 5).

საკონტროლო ცხოველების ტვინში პრესინაფსური ტერმინალების ასეთი დარღვევები არ აღინიშნა (სურ. 3 a).



სურ. 4. ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის პრესინაფსური ტერმინალები. a - საკონტროლო ცხოველი: ნორმალური აღნაგობის პრესინაფსური ტერმინალი ჰქმნის ორ აქსო-დენდრიტულ სინაფსს პოსტსინაფსური მემბრანის განსხვავებული

ოსმიოფილით (აღნიშნულია ისრებით). b – 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი: პრესინაფსურ ტერმინალში აღინიშნება სინაფსური ვეზიკულების აგლუტინაცია.



a

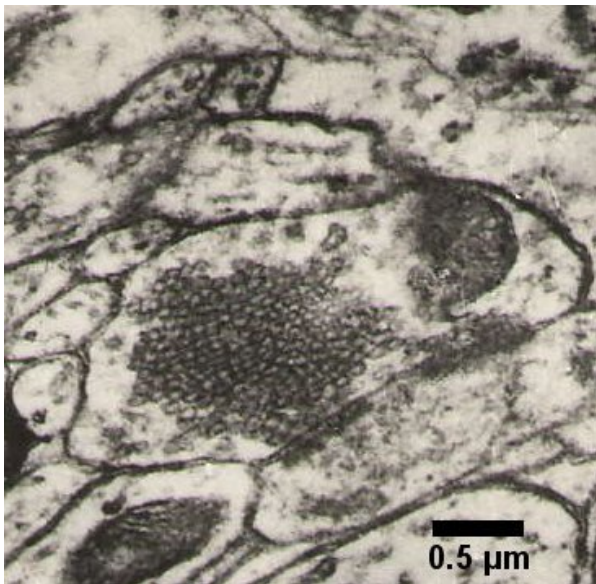


b

სურ. 5. ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვი: 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი: a - პრესინაფსურ ტერმინალში მიელინმაგვარი ჩანართები და

აგლუტინირებული სინაფსური ვეზიკულებია. სინაფსის აქტიური ზონის ოსმიოფილია სუსტად გამოხატულია. b - პრესინაფსურ ტერმინალში დიდი ზომის მიელინისმაგვარი ჩანართი და აგლუტინირებული ვეზიკულებია.

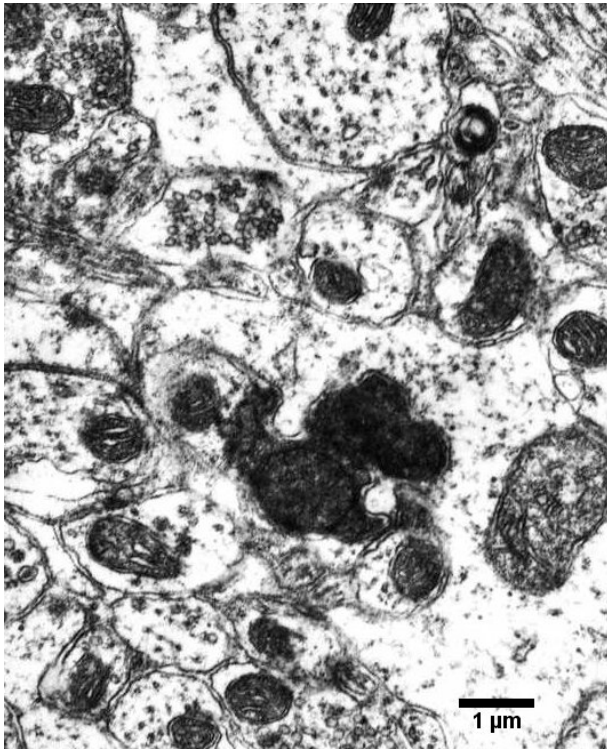
რიგ შემთხვევებში მიტოქონდრიის/მიტოქონდრიების დესტრუქცია აღინიშნა პრესინაფსურ ტერმინალებში სხვა პათოლოგიური ცვლილებების გარეშე. კერძოდ, ადგილი ჰქონდა კრისტების დესტრუქციას; ზოგიერთ მიტოქონდრიებში იყო მხოლოდ ერთეული მოკლე კრისტებები. ერთეულ შემთხვევებში გამოვლინდა თითქმის სრულად ვაკუოლიზირებული მიტოქონდრიები, კრისტების ნარჩენებით (სურ. 6). ასეთ ტერმინალებშიც სინაფსური ვეზიკულები ერთეულია და მცირერიცხოვანი; აქტიური ზონისგან ისინი, ძირითადად, დაშორებული არიან.



სურ. 6. ნუმისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვი. 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი: პრესინაფსურ ტერმინალში დესტრუქტურირებული მიტოქონდრიაა.

ექსპერიმენტულ მასალაში ასევე აღინიშნებოდა ერთეული მადალოსმიოფილური უფორმო „სხეულები“, სრულად ან ნაწილობრივად გარშემორტყმული ასტროგლიის პროლიფერირებული გამონაზარდებით. ზოგიერთ ასეთ „სხეულში“ ძალიან მუქი (მადალოსმიოფილური) ფონის მიუხედავად, მაინც შესაძლებელი იყო სინაფსური ვეზიკულების გარჩევა (სურ. 7). არსებული მონაცემების თანახმად, ასეთი ტიპის

„სხეულები“ უნდა წარმოადგენდნენ მუქი დეგენერაციის ბოლო სტადიებზე მყოფ, სრულ სინაფსურ ტერმინალებს.

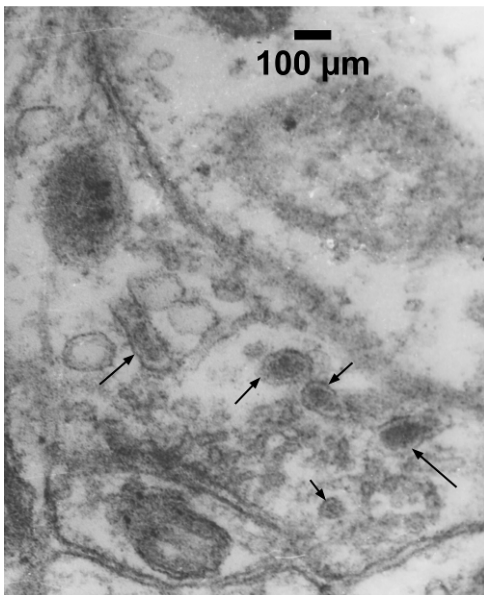


სურ. 7. ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვი. 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი: მაღალოსმიოფილური დეგენერირებული "პრესინაფსური ტერმინალი" ნაწილობრივად გარშემორტყმული გლიური გამონაზარდებით

ასეთი მკვეთრად გამოხატული პათოლოგიური სტრუქტურული ალტერაციების პარალელურად, რიგ აქსო-დენდრიტულ სინაფსში გამოვლინდა ზომიერი სტრუქტურული ალტერაციები, როგორცაა პრესინაფსური მიტოქონდრიების ზედაპირული ცვლილებები (მათი ზომიერი გაჯირჯვება და/ან რიგი კრისტას ნაწილობრივი დესტრუქცია) და/ან ნორმალური ულტრასტრუქტურის მქონე პრესინაფსში ერთეული მცირე ზომის ოსმიოფილური ან მიელინისმგავარი ჩანართების არსებობა (სურ. 8).

4.1.2. გრანულარული ვეზიკულების შემცვლელი სინაფსები

საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით, ექსპერიმენტულ ცხოველებში გაცილებით ხშირი იყო პრესინაფსური ტერმინალები გრანულარული (მკვრივი გულის შემცვლელი) სინაფსური ვეზიკულებით. კერძოდ, საკონტროლო ცხოველების ტვინში ასეთი ტერმინალები საერთო რაოდენობის 2%-ს შეადგენდნენ. ამასთანავე, ექსპერიმენტულ ტვინში მათი რიცხვი სინაფსების საერთო რაოდენობის უკვე 7%-ს აღწევდა. ამასთანავე, გრანულარული ვეზიკულები (სურ. 8) აღინიშნებოდნენ, როგორც ნორმალური, ასევე პათოლოგიური აღნაგობის (მაგალითად, სინაფსური ვეზიკულების აგლუტინაციით ან მემბრანა/მიელინისმაგვარი ჩანართებით) პრესინაფსურ ტერმინალებში. აქტიურ ზონასთან ისინი იშვიათად კონცენტრირდებოდნენ. ვეზიკულები ასეთ ტერმინალებში, ძირითადად, მცირერიცხოვანი იყო.



სურ. 8. ნუმისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვი. 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი: ნორმალური აღნაგობის პრესინაფსურ ტერმინალში აღინიშნება სხვადასხვა ზომის გრანულარული ვეზიკულები (ისრები). მასშტაბი – 100მკმ.

4.1.3. სხვა ცვლილებები

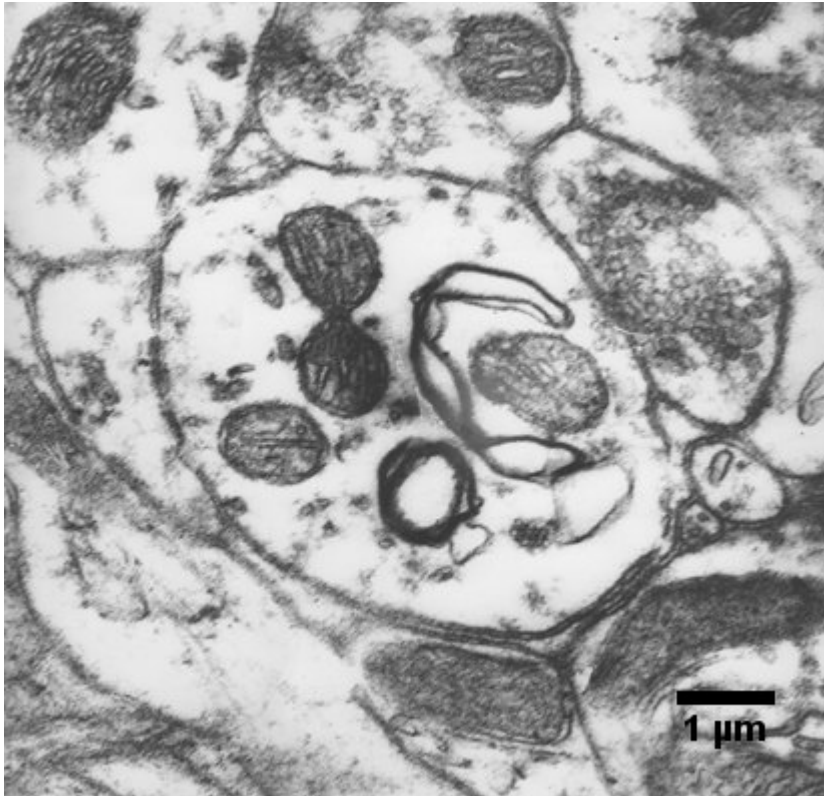
საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით, ექსპერიმენტულ ტვინში გაცილებით ხშირი იყო ნორმალური და პათოლოგიური აღნაგობის (აღწერილია ზევით) პრესინაფსური ტერმინალები ერთეული სინაფსური ვეზიკულებით. რიგ ტერმინალებში ისინი აღინიშნებოდნენ აქტიური ზონის უშუალო სიახლოვეს, სხვა ტერმინალებში კი, პირიქით - აქტიური ზონისგან მნიშვნელოვანი დაშორებით (სურ. 9).



სურ. 9. ნუმისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვი. 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი: ნორმალური აღნაგობის პრესინაფსურ ტერმინალებში აღინიშნება ერთეული სინაფსური ვეზიკულები. მასშტაბი – 1 მკმ.

ექსპერიმენტულ მასალაში, განსხვავებით საკონტროლოსაგან, ასევე გამოვლინდა მცირერიცხოვანი სინაფსური ტერმინალები შერეული - სფერული და ოვალური - სინაფსური ვეზიკულებით.

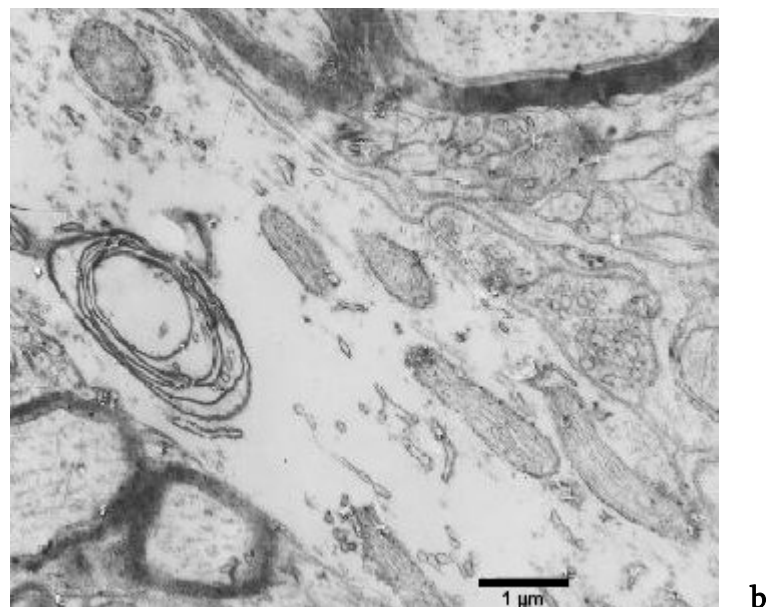
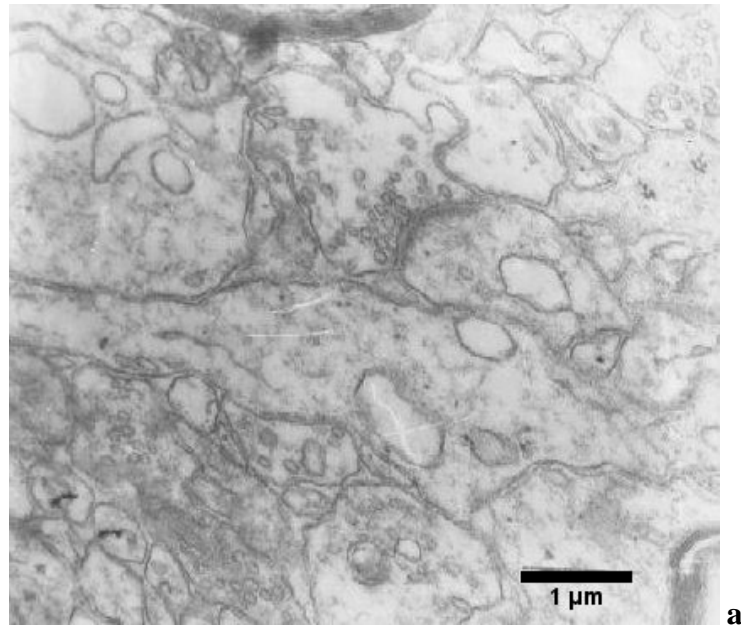
გარდა ამისა, ექსპერიმენტულ მასალაში სინაფსების მცირე რაოდენობაში (5%-მდე) ოსმიოფილური და მიელინისმაგვარი ჩანართები ვლინდებოდა პოსტსინაფსურ უბანშიც (სურ. 10). ასეთ სინაფსებში აქტიური ზონა, ძირითადად, მოკლეა.



სურ. 10. ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვი. 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი: აქსო-დენდრიტული სინაფსის პოსტსინაფსურ უბანში სხვადასხვა ზომის მიელინის და მემბრანისმაგვარი ჩანართები. სინაფსის აქტიური ზონა მოკლეა და თითქმის სიმეტრიული. მასშტაბი – 1მკმ.

და ბოლოს: საინტერესოდ მივიჩნეე კვლევისას გამოვლენილი კიდევ რამდენიმე ფაქტი: (ა) ექსპერიმენტულ მასალაში საკმაოდ ხშირად აღინიშნა თითქმის სიმეტრიული სინაფსები დენდრიტების წვრილ ტოტებზე და ხორკლებზე (სურ. 10) - სინაფსური ფორმები, რომლებიც საკონტროლო მასალაში გაცილებით იშვიათი იყო; (ბ) ექსპერიმენტულ მასალაში ხშირი იყო დენდრიტები მკვეთრად შეცვლილი ულტრასტრუქტურით. მაგალითად, აღინიშნებოდა დენდრიტების მსხვილი ტოტები

დენდრიტული მილაკების მკვეთრად შემცირებული რაოდენობით ან ასეთი მილაკების გარეშე. სხვა დენდრიტებში გამოვლინდა სხვადასხვა ზომის მემბრანისმაგვარი ჩანართები ან ვაკუოლები (სურ. 11 a,b); (დ) საკონტროლო მასალაში აღინიშნა მრავალგვარი დენდრიტული ხორკლები. თავის მხრივ, ექსპერიმენტულ მასალაში ჭარბობდნენ მოკლე და განიერი (stubby) ხორკლები. ასეთი სინაფსური ფორმების რაოდენობრივი ანალიზი ჩატარებული არ იყო.



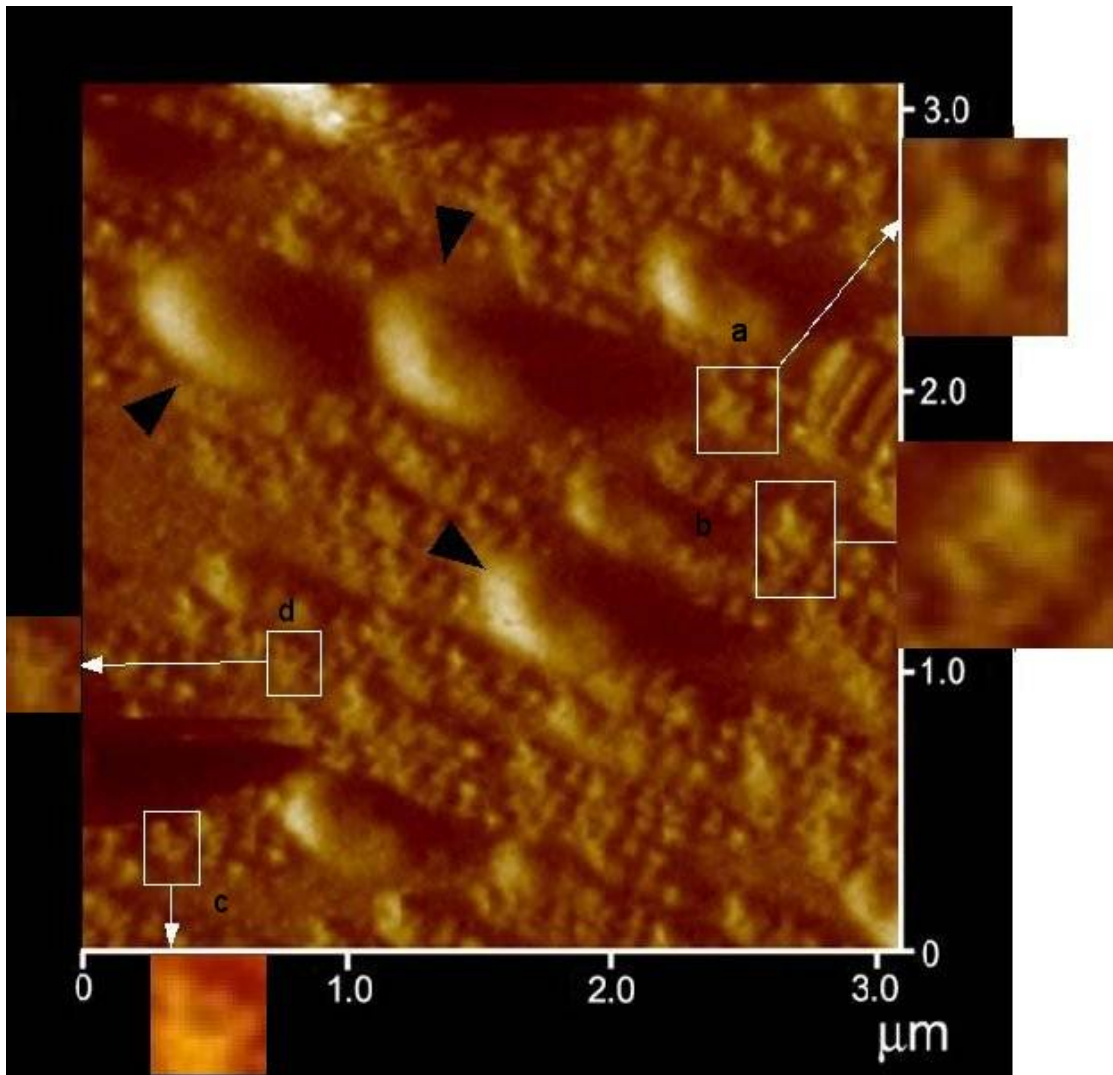
სურ. 11. ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვი. 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი - ცვლილებები დენდრიტებში. a - სხვადასხვა სიდიდის დენდრიტებში მემბრანის ან ვაკუოლისმაგვარი ჩანართებია; b – მსხვილ დენდრიტში დიდი ზომის მიელინისმაგვარი ჩანართია; ლოკალურად გამქრალია დენდრიტული მილაკები. მასშტაბი – 1მკმ.

4.2. 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი პოროსომას აღნაგობაზე

4.2.1. პოროსომა ატომურ-ძალოვან მიკროსკოპში

ზევით აღვნიშნე, რომ ნეიროპოროსომა აღწერილია მხოლოდ ერთეული ავტორების მიერ (Cho et al. 2004; Japaridze et al. 2008). მათ მიერ მიღებული ატომურ-ძალოვან-მიკროსკოპული და ელექტრონულ-მიკროსკოპული (ორივე მეთოდი ნანომეტრული სტრუქტურების ზუსტი გაზომვის საშუალებას იძლევა) მონაცემების თანახმად, ნეიროპოროსომას დიამეტრი 12-17 ნმ-ის ფარგლებში მერყეობს. ნეიროპოროსომას ასეთი ზომები დადასტურდა ჩვენს ელექტრონულ-მიკროსკოპულ კვლევაშიც, რომელშიც სხვადასხვა ძუძუმწოვრების „ნორმალურ“ ტვინში აღწერეთ ნეიროპოროსომას სტრუქტურული პარამეტრები (Okuneva et al. 2012; Japaridze et al. 2012).

ჩემი სადისერტაციო სამუშაოს ფარგლებში, ელექტრონულ-მიკროსკოპულ კვლევამდე, კიდევ ერთხელ შევისწავლე ნეიროპოროსომა (სინაფტოსომურ მასალაზე) ატომურ-ძალოვან მიკროსკოპში. სინაფტოსომური ფრაქციის ნიმუშების სკანირების შედეგად მიღებულ გამოსახულებაზე (სურ. 12) გამოვლინდა მთლიანი, 500-700 ნმ-ის ზომის სინაფტოსომები და მათი მემბრანული ფრაგმენტები. მემბრანული ფრაგმენტების შიდა ზედაპირზე (insight-out) კი – პოროსომას სამ-განზომილებიანი გამოსახულება. რიგ შემთხვევებში პოროსომასთან შერწყმული იყო 40-50 დიამეტრის მქონე სინაფტური ვეზიკულები (სურ. 13 a,b). პოროსომას დიამეტრი შეადგენდა 8-14 ნმ-ს.

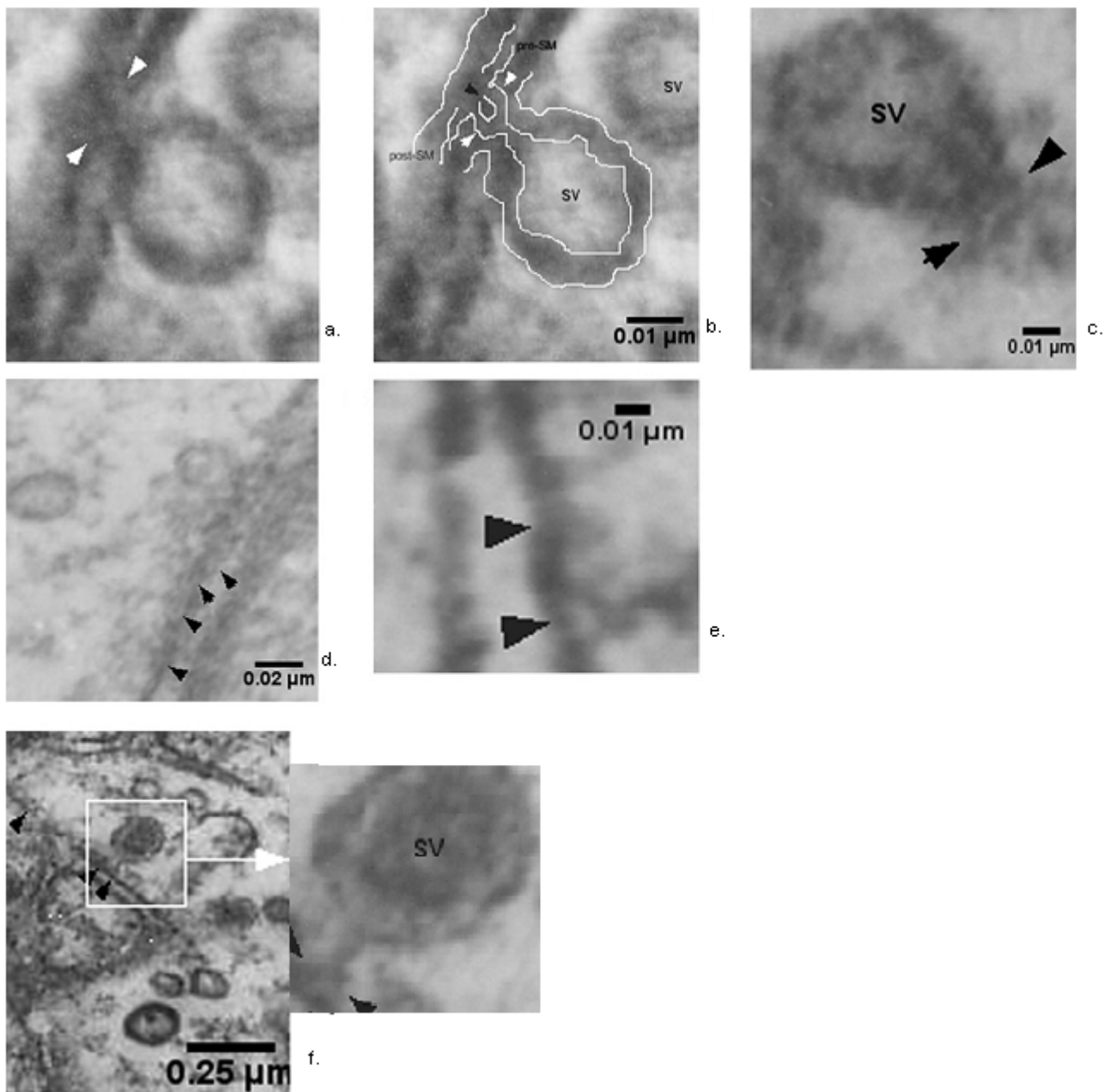


სურ. 12. ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპით მიღებული საკონტროლო ვირთაგვას თავის ტვინიდან იზოლირებული სინაპტოსომას პრეპარატი; ფონი წარმოადგენს სინაფტოსომური მემბრანების ფრაგმენტების შიდა ზედაპირს (inside-out), რომელზედაც განლაგებულია ვეზიკულა-შეპირაპირებული (a,b) და უვეზიკულო პოროსომა (c,d); შავი ისრებით აღნიშნულია სინაფტოსომები.

ამგვარად, "ნორმალურ" ტვინში, ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპის გამოყენებით, კიდევ ერთხელ დადასტურდა პრესინაფსურ მემბრანაზე არსებული ნეიროპოროსომას ზომები (დიამეტრი 12-15 ნმ).

4.2.2. ნეიროპოროსომა ელექტრონულ მიკროსკოპში

ძალიან მცირე ზომის გამო, ნეიროპოროსომა ელექტრონულ მიკროფოტოგრამებზე ძნელად ვლინდებოდა. ნეიროპოროსომას გამოვლენა ასევე რთულდებოდა პრესინაფსური მემბრანას ცილების მაღალი კონცენტრაციების გამო. შედეგად, ნორმალური (საკონტროლო) ვირთაგვას ტვინში შევისწავლე 196 აქსო-დენდრიტული ასიმეტრიული კონტაქტი და ავლწერე მხოლოდ 28 პოროსომა, ხოლო ექსპერიმენტული ცხოველების ტვინში 96 აქსო-დენდრიტული ასიმეტრიულ სინაფსში გამოვლინდა მხოლოდ 29 პოროსომა (Okuneva et al. 2012), როგორც საკონტროლო, ასევე ექსპერიმენტულ მასალაზე, კარგად ჩანდა ნეიროპოროსომას თასისმაგვარი ფორმა. ასევე ორივე მასალაში აღინიშნებოდნენ ნეიროპოროსომები, როგორც მათთან შეპირაპირებული 50-80 ნმ დიამეტრის მქონე სინაფსური ვეზიკულებით (სურ. 13 a, b, c,f), ასევე სინაფსური ვეზიკულების გარეშე (სურ. 13 d,e). გარდა ამისა, ორივე მასალაზე ნეიროპოროსომები გამოვლინდა სამ სხვადასახვა - "ღია", "ნახევრადღია" და "დახურულ" კონფორმაციულ მდგომარეობებში. ზოგიერთ მათგანში კარგად ჩანდა პოროსომას „კარი“ - საცობი, რომელიც, როგორც ზევით აღინიშნა, განსაზღვრავს პოროსომას კონფორმაციას და უმნიშვნელოვანეს როლს ასრულებს სეკრეტის/ნეიროტრანსმიტერის გამოყოფაში (თავი: ლიტერატურის მიმოხილვა; ქვეთავი: პოროსომა - უჯრედის სეკრეტორული მანქანა). საცობი განსაკუთრებით გამოხატულია პოროსომებში, შეპირაპირებული სინაფსური ვეზიკულებით (სურ. 13 a, b, c).



სურ. 13. "ნორმალური" (a-d) და "ჰიპოკინეტური" ვირთაგვას (e-f) ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის ელექტრონული მიკროგრაფები:

(a)– პრესინაფსურ მემბრანაზე არსებული, 10-17 ნმ დიამეტრის მქონე თასისმაგვარი ფორმის პოროსომა, მასთან შერწყმული 50-80 ნმ დიამეტრის სინაფსური ვეზიკულით (აღნიშნულია თეთრი ისრით); (b) - პოროსომა (თეთრი ისარი) კარგად გამოხატული ცენტრალური საცობით (მუქი ისარი); პოროსომა ღია მდგომარეობაშია; (c) - პოროსომასთან შეპირაპირებული სინაფსური ვეზიკულა (შავი ისარი) და (d) - პოროსომა სინაფსური ვეზიკულას გარეშე (შავი ისარი).

(e) - ნეირონული პოროსომა სინაფსური ვეზიკულას გარეშე; (f) - პრესინაფსური ტერმინალი პოლიმორფული (ელიფსოიდური და გრანულარული) სინაფსური ვეზიკულებით (ნეირონული პოროსომა; მარჯვნივ - მაღალ გადიდებაზე: პოროსომა (შავი ისარი) მასთან შერწყმული 80-100 ნმ დიამეტრის მქონე გრანულარული ვეზიკულით. მასშტაბი: a,b,c,e -0.01 მკმ; d, f - 0.25 მკმ.

4.2.2.1. პოროსომას ძირითადი პარამეტრების - სიღრმის და დიამეტრის რაოდენობრივი მონაცემების ანალიზი

ერთ-ფაქტორული/ცალმხრივი დისპერსიული ანალიზის (one-way ANOVA)-ს მონაცემების მიხედვით, 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესი არ ახდენს ეფექტს ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის პოროსომას პარამეტრებზე: დიამეტრის შემთხვევაში, $F(3,252) = 0.02$, ($p > 0.05$), ხოლო სიღრმის შემთხვევაში - $F(3,252) = 2.92$, ($p > 0.05$) (ცხრილი 1). ნეიროპოროსომას დიამეტრის და სიღრმის მონაცემები საკონტროლო და ექსპერიმენტულ ცხოველებში მსგავსი იყო. კერძოდ, ორივე შემთხვევაში ნეიროპოროსომას დიამეტრი მერყეობდა 12-16 ნმ-ის ფარგლებში, ხოლო სიღრმე - 5-20 ნმ-ის ფარგლებში (ცხრილი 1). ამგვარად, როგორც საკონტროლო, ასევე ექსპერიმენტულ მასალაზე გამოვლინდა პოროსომას სტრუქტურული პარამეტრების გამოხატული ჰეტეროგენურობა. პირველ რიგში, ეს პოროსომას სიღრმეს ეხებოდა.

ცხრილი 1: ნორმალური და "ჰიპოკინეტური" თავის ტვინის ნეირონული პოროსომას დიამეტრის და სიღრმის რაოდენობრივი მონაცემები და ერთ-ფაქტორული/ცალმხრივი დისპერსიული ანალიზის (One-way ANOVA) შედეგები. F - ერთ-ფაქტორული დისპერსიული ანალიზის ვარიანზლობა; p - ალბათობა.

ნეირონის პოროსომული კომპლექსის ზომები (ნმ)				
#	დიამეტრი (კონტროლი)	დიამეტრი (ექსპერიმენტი)	სიღრმე (კონტროლი)	სიღრმე (ექსპერიმენტი)
1	17	16	15	9
2	16	17	15	9
3	12	18	12	6
4	14	16	11	6
5	18	12	12	6
6	13	11	9	6
7	9	10	7	6
8	10	11	8	9
9	13	13	14	9
10	14	12	8	8
11	19	13	19	9

12	19	14	15	9
13	7	14	14	15
14	9	14	9	10
15	15	14	11	10
16	15	10	14	17
17	17	16	11	11
18	12	17	7	14
19	14	18	21	14
20	17	16	19	13
21	15	16	16	13
22	15	17	15	18
23	18	18	21	11
24	17	16	14	10
25	17	16	10	14
26	17	17	9	14
27	19	18	11	13
28	15	16	14	14
29				20
საშუალომ სიდიდე	14.75	12.89	14.86	11.14
ერთ-ფაქტორული დისპერსიული ანალიზი (One-way ANOVA)				
ნეირონის პოროსომული კომპლექსის ზომები	F_(3,252)		P	
პოროსომის სიღრმე	2.92		0.093	
პოროსომის დიამეტრი	0.02		0.890	

4.2.2.2. პოროსომების ჰეტეროგენურობა ნორმალურ და ექსპერიმენტულ თავის ტვინში

შემდეგ ეტაპზე, გავითვალისწინე რა საკონტროლო და ექსპერიმენტულ მასალაში გამოვლენილი პოროსომას ზომების ჰეტეროგენურობის ფაქტი, შევადგინე ჰისტოგრამები, რომლებიც ასახავენ ორივე მასალაში სიღრმის და დიამეტრის მიხედვით ნეიროპოროსომების პროცენტულ შემცველობას და მათ განაწილებას. კერძოდ, მაინტერესებდა, იცვლება თუ არა ნეიროპოროსომების ჰეტეროგენურობა ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესის გავლენით. ამ მიზნით, როგორც საკონტროლო, ასევე ექსპერიმენტულ მასალაში, პოროსომები დავაჯგუფე ინტერვალების მიხედვით, რომელთა ზომა 5 ნმ–ია.

4.2.2.2.1. საკონტროლო ცხოველები:

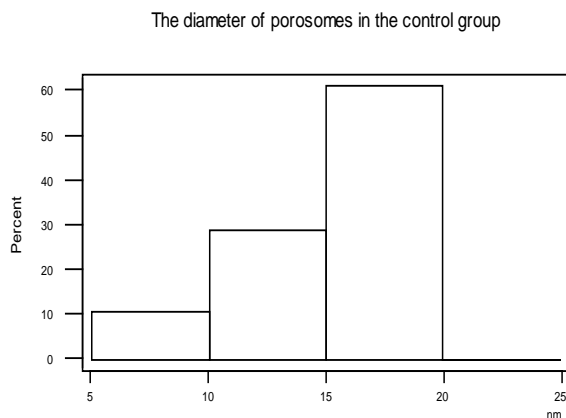
საკონტროლო ცხოველებში, დიამეტრის მიხედვით, ნეიროპოროსომები განაწილდნენ სამ ჯგუფად, ხოლო სიღრმის მიხედვით - ოთხ ჯგუფად (სურ. 15).

პოროსომების ჰეტეროგენურობა დიამეტრის მიხედვით:

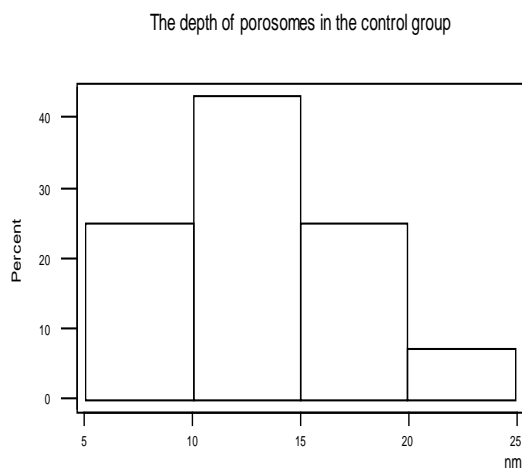
პირველ დანაყოფში (დიამეტრი-5-10 ნმ) გაერთიანებული პოროსომები საერთო რაოდენობის 10%-ს შეადგენდა, მეორე დანაყოფში (დიამეტრი-10-15 ნმ) - 30%-ს, მესამე დანაყოფში (დიამეტრი -15-20 ნმ) - 60% (სურ.14 ა).

პოროსომების ჰეტეროგენურობა სიღრმის მიხედვით:

სიღრმის მიხედვით პოროსომები განაწილდნენ შემდეგნაირად: პირველ ჯგუფში (5-10 ნმ) – 25 %, მეორე ჯგუფში (10-15 ნმ) – 45%; მესამე ჯგუფში (15-20 ნმ) – 25 %, მეოთხე ჯგუფში (20-25 ნმ) – 5 % (სურ. 14 ბ).



ა.



ბ.

სურ. 14. ნეირონის პოროსომული კომპლექსის პროცენტული განაწილება დიამეტრის (ა) და სიღრმის (ბ) მიხედვით ნორმაში. აბსცისათა ღერძზე აღნიშნულია პოროსომების პროცენტული რაოდენობა, ორდინატათა ღერძზე – პოროსომის დიამეტრის და სიღრმის მნიშვნელობა ნანომეტრებში.

4.2.2.2. ექსპერიმენტული ცხოველები:

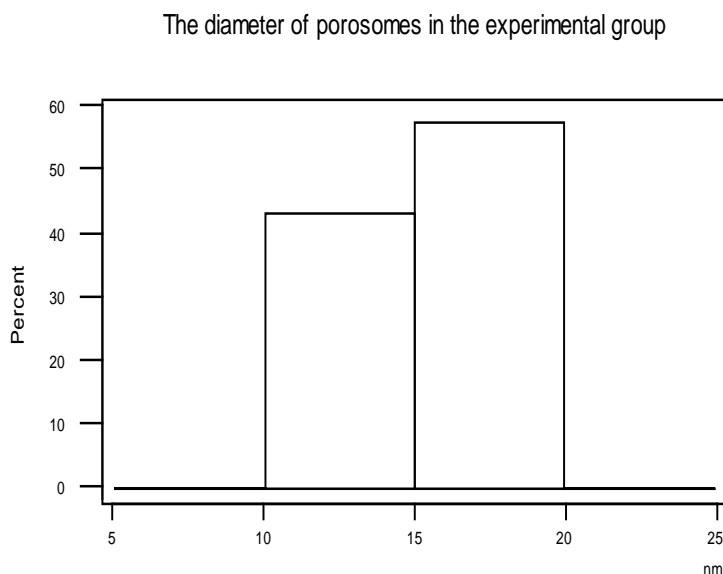
90-დღიანი სტრესის შემდეგ დიამეტრის მიხედვით, ნეიროპოროსომები გადანაწილდნენ ორ ჯგუფად, ხოლო სიღრმის მიხედვით - ოთხ ჯგუფად (სურ. 16).

პოროსომების ჰეტეროგენურობა დიამეტრის მიხედვით:

სტრესის ზემოქმედების შედეგად პოროსომები დიამეტრის მიხედვით ასე განაწილდნენ: 1) 45% პირველ ინტერვალში (დიამეტრი-10-15 ნმ); 2) 55% მეორე ინტერვალში (დიამეტრი-15-20 ნმ). ამგვარად, 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის შედეგად, მატულობს იმ პოროსომების პროცენტული შემცველობა, რომელთა დიამეტრია 10-დან 15 ნმ-მდე (სურ 15. ა) .

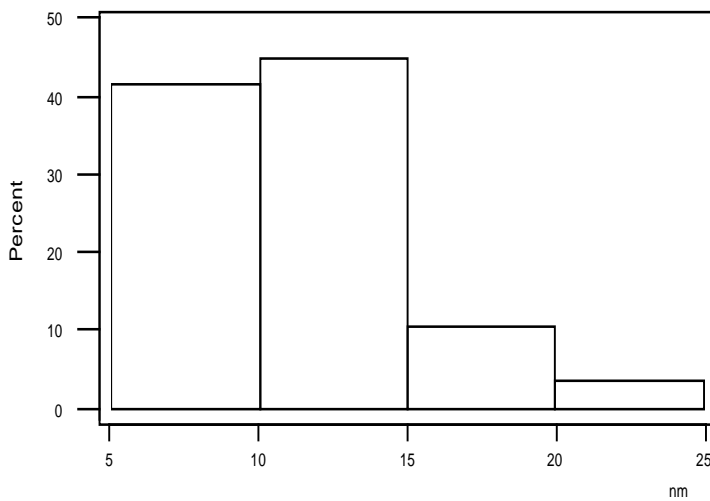
პოროსომების ჰეტეროგენურობა სიღრმის მიხედვით:

90 დღიანი სტრესის შემდეგ პოროსომები სიღრმის მიხედვით ოთხ ჯგუფად განაწილდნენ: 1) 40% (სიღრმე-5-10ნმ); 2)45% (სიღრმე-10-15ნმ); 3)10% (სიღრმე-15-20ნმ); 4)5% (სიღრმე-20-25ნმ) (სურ.15 ბ). მაშასადამე, მატულობს პოროსომების



ა.

The depth of porosomes in the experimental group



ბ.

სურ. 15. ნეირონის პოროსომული კომპლექსის პროცენტული განაწილება დიამეტრის (ა) და სიღრმის (ბ) მიხედვით 90-დღიანი სტრესის შემდეგ. აბსცისათა ღერძზე აღნიშნულია პოროსომების პროცენტული რაოდენობა, ორდინატათა ღერძზე – პოროსომის დიამეტრის და სიღრმის მნიშვნელობა ნანომეტრებში.

რაოდენობა პირველ ჯგუფში (სიღრმე 5–10ნმ) და მცირდება მათო პროცენტული შემცველობა მესამე და მეოთხე ჯგუფში.

ამგვარად, კვლევის მონაცემები მიუთითებენ, რომ საკონტროლო და პათოლოგიურ („ჰიპოკინეტურ“) თავის ტვინში ნეიროპოროსომების სტრუქტურული პარამეტრები - დიამეტრი და სიღრმე - ჰეტეროგენურია. აღსანიშნავია, რომ ნეიროპოროსომას კომპლექსის მაღალი დინამიურობის მიუხედავად, დიამეტრის და სიღრმის რაოდენობრივი მონაცემების ფლუქტუაციების საზღვრები საკონტროლო და ექსპერიმენტულ მასალაში მსგავსია: ორივე შემთხვევაში პოროსომას დიამეტრი მერყეობს 12-16 ნმ-ის საზღვრებში, ხოლო სიღრმე - 5-20 ნმ. ასეთი მონაცემები ნაწილობრივ კორელირებენ ადრეულ ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპული და ფოტონ-კორელაციური სპექტროსკოპული კვლევების შედეგებთან (Cho et al. 2004, Cho et al. 2007), რომელთა თანახმად, ნეიროპოროსომას დიამეტრი, ძირითადად, 12-15 ნმ-ია. რაც შეეხება პოროსომას მეორე რიცხობრივ პარამეტრს - სიღრმეს, ამ

საკითხის ირგვლივ მონაცემები არ მოიპოვება, ვინაიდან მისი შესწავლა პირველად ჩემს კვლევაში დაიწყო.

ამასთანავე, მიღებული მონაცემები მიუთითებენ, რომ ქრონიკული (90-დღიანი) ჰიპოკინეტური სტრესი ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის ნეიროპოროსომას ძირითად სტრუქტურულ პარამეტრებზე გავლენას არ ახდენს.

4.2. 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობაზე და ლოკალიზაციის მიხედვით, მათ გადანაწილებაზე

ერთ-ფაქტორული/ცალმხრივი დისპერსიული ანალიზის (one-way ANOVA) მიხედვით, ცდის პირობები სტატისტიკურად სარწმუნო ზეგავლენას ახდენენ შემდეგ მაჩვენებლებზე: აქტიური ზონის სიგრძე ($F_{(2, 158)} = 11.35, p < 0.01$); ვეზიკულების რაოდენობა ZI – ში ($F_{(2, 158)} = 38.78, p < 0.001$), ZII - ში ($F_{(2, 158)} = 10.18, p < 0.001$), ZIII - ში ($F_{(2, 158)} = 7.93, p < 0.001$), მთელ პრესინაფსურ ბუტონში ($F_{(2, 158)} = 14.04, p < 0.0005$), შეპირაპირებული ვეზიკულების რაოდენობა აქტიური ზონის ერთეულ სიგრძეზე ($F_{(2, 158)} = 32.56, p < 0.0005$). ცდის პირობების ზეგავლენით, სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ იცვლება მხოლოდ ვეზიკულების რაოდენობა ფართობის ერთეულზე ($n/S \text{ nm}^2$) ($F_{(2, 158)} = 0.18, p > 0.05$) (ცხრილი 2).

ცხრილი 2. ერთ-ფაქტორული/ცალმხრივი დისპერსიული ანალიზის შედეგები (one – way ANOVA). ვირთაგვას თავის ტვინის ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის პრესინაფსური პროფილის სხვადასხვა მორფომეტრული მახასიათებლები ნორმასა და 90-დღიანი ჰიპოკინეტიკური სტრესის შემდეგ. F - დისპერსიული კოეფიციენტი; P - ალბათობა.

#	მორფომეტრული პარამეტრები	F (2, 158)	P
1.	აქტიური ზონის სიგრძე (L ნმ)	11.35	0.001

2.	ვეზიკულების რაოდენობა (n):		
	Z I	38.78	0.000
	Z II	10.18	0.002
	Z III	7.93	0.007
	n total	14.04	0.000
3.	S ნმ ² (პრესინაფსური პროფილის ფართობი)	17.97	0.000
4.	ვეზიკულების რაოდენობა ფართობის ერთეულზე n/S ნმ ²	0.18	0.677
5.	შეპირაპირებული ვეზიკულების რაოდენობა აქტიური ზონის ერთეულ სიგრძეზე Z I / L ნმ	32.56	0.000

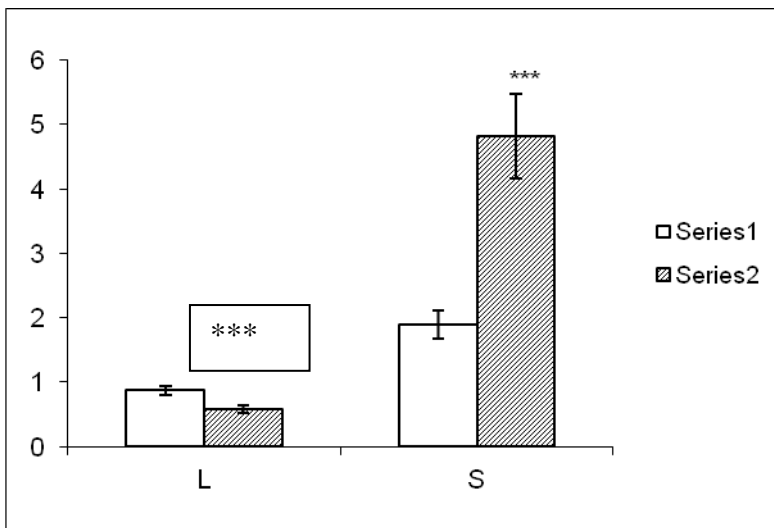
აქტიური ზონის სიგრძე (*N AZ Length, P AZ Length*). აქტიური ზონის სიგრძის საშუალო მაჩვენებელი საკონტროლო მასალაში 0.870 ± 0.069 ნმ-ს შეადგენს, ექსპერიმენტულ მასალაში კი - 0.580 ± 0.051 ნმ-ს. 2-ცვლადიანი *t* - ტესტის მიხედვით, ექსპერიმენტულ ცხოველებში, საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით, ის 26%-ით ნაკლებია ($p < 0.01$) (ცხრილი 3, სურ.16). პროცენტული ჰისტოგრამის მიხედვით (სურ. 17), მისი სიდიდე მერყეობს ნორმაში: 0.25–0.75 ნმ, 0.75 – 1.25 ნმ და 1.25–1.5 ნმ -

ცხრილი 3. 2-ცვლადიანი *t* - ტესტის ანალიზის შედეგები. ვირთაგვას თავის ტვინის ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის პრესინაფსური პროფილის სხვადასხვა მორფომეტრული მახასიათებელი ნორმასა და 90-დღიანი ჰიპოკინეტიკური სტრესის შემდეგ. P - ალბათობა.

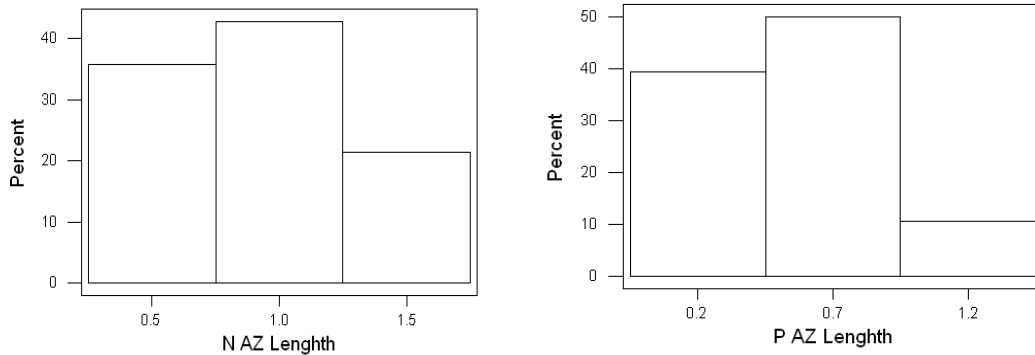
#	მორფომეტრული პარამეტრები	კონტროლი საშუალო ± სტანდარტული შეცდომა (Mean ± SE)	90 დღიანი ჰიპოკინეტიკური სტრესი (საშუალო ± სტანდარტული შეცდომა, Mean ± SE)
1.	აქტიური ზონის სიგრძე (L ნმ)	0.870 ± 0.069	0.580 ± 0.051
	<i>P</i>	0.001	
2.	ვეზიკულების რაოდენობა (n):		

	Z I	2.86±0.31	5.71 ± 0.34
	<i>P</i>	0.000	
	Z II	10.43± 1.5	17.82± 1.8
	<i>P</i>	0.002	
	Z III	36.1 ± 4.4	54.1 ± 4.6
	<i>P</i>	0.007	
	n total	49.4 ± 4.9	77.0± 5.5
	<i>P</i>	0.000	
3.	S ნმ ² (პრესინაფსური პროფილის ფართობი)	1.89± 0.22	4.82±0.65
	<i>P</i>	0.000	
4.	ვეზიკულების რაოდენობა ფართობის ერთეულზე n/S ნმ ²	37.7± 7.7	43.5±12
	<i>P</i>	0.677	
5.	შეპირაპირებული ვეზიკულების რაოდენობა აქტიური ზონის ერთეულ სიგრძეზე Z I / L ნმ	3.99± 0.50	11.39±1.2
	<i>P</i>	0.000	

ინტერვალებში, ხოლო ექსპერიმენტში - 0.1–0.45 ნმ. 0.45–0.95 ნმ და 0.95–1.45 ნმ ინტერვალებში. ექსპერიმენტულ ცხოველებში აქტიური ზონის სიგრძის საშუალო მაჩვენებლის სიდიდის შემცირება უკავშირდება იმ სინაფსების რაოდენობის მატებას, რომელთა აქტიური ზონის სიგრძე 0.2 – 0.95 ნმ-ის ფარგლებში მერყეობს.

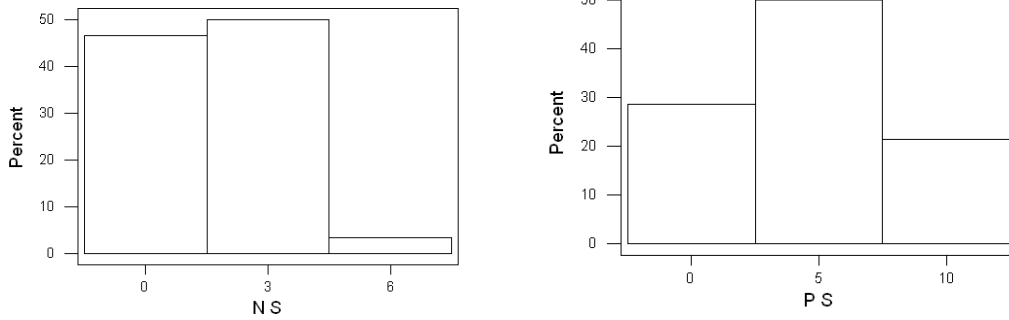


სურ. 16. აქტიური ზონის სიგრძე (L) და პრესინაფსური დაბოლოების ფართობი (S) ნუშისებრი სხეულის ცენტრალურ ბირთვში. *** - $p < 0.01$. Series 1 - კონტროლი, Series 2 – 90 დღიანი ჰიპოკინეტიკური სტრესი.



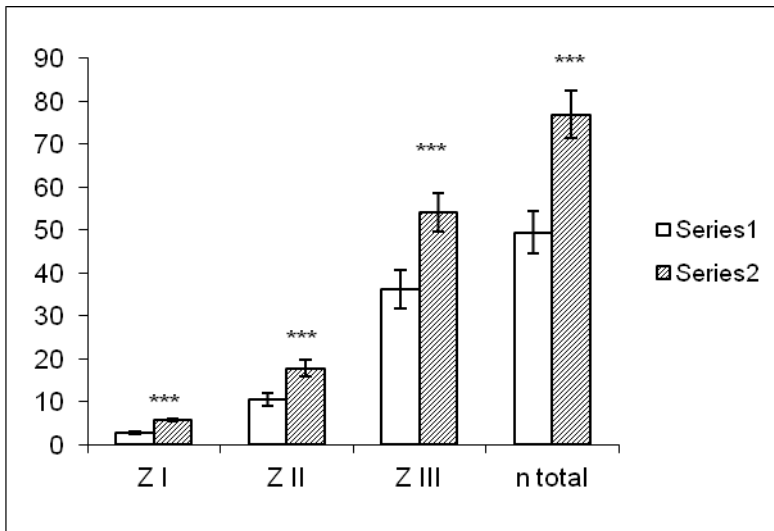
სურ.17 . აქტიური ზონის სიგრძე ნორმასა (N AZ Length) და 90–დღიანი სტრესის შემდეგ (P AZ Length). აბსცისათა ღერძზე – აქტიური ზონის სიგრძე (ნმ); ორდინატა ღერძზე – აქტიური ზონის შემცველობა პროცენტებში.

პრესინაფსური პროფილის / ბუტონის ფართობი (NS, PS). პრესინაფსური პროფილის ფართობის საშუალო მაჩვენებელი საკონტროლო ცხოველებში 1.89 ± 0.22 ნმ²-ს შეადგენს, ხოლო ექსპერიმენტულ ცხოველებში – 4.82 ± 0.65 ნმ²-ს. ამგვარად, „ჰიპოკინეტიკური ტვინში“ ის თითქმის 2.5–ჯერ აღემატება პრესინაფსური ბუტონის ფართობის სიდიდეს საკონტროლო ცხოველებში ($p < 0.0001$) (ცხრილი 3, სურ. 16). პროცენტული ჰისტოგრამის მიხედვით (სურ. 18), მისი სიდიდე მერყეობს: ნორმაში – 0.614–1.5 ნმ² 1.5 – 4.5 ნმ², 4.5–7.5 ნმ² ინტერვალებში, ხოლო ექსპერიმენტში – 0.235–2.5 ნმ², 2.5–7.5 ნმ², 7.5 – 11 ნმ² ინტერვალებში. ექსპერიმენტულ ცხოველებში პრესინაფსის ფართობის საშუალო მაჩვენებლის სიდიდის მატება უკავშირდება იმ სინაფსების რაოდენობის მატებას, რომელთა პრესინაფსური ბუტონის ფართობი 7.5 ნმ² – დან 11 ნმ²–ფარგლებში მერყეობს.

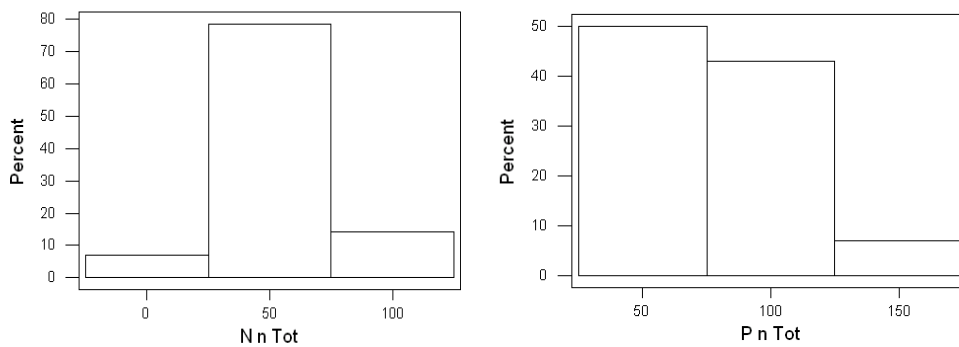


სურ.18 . პრესინაფსური პროფილის / ბუტონის ფართობი ნორმასა (NS) და 90-დღიანი სტრესის შემდეგ (PS). აბსცისათა ღერძზე – ფართობი (ნმ²); ორდინატთა ღერძზე – ბუტონების რაოდენობა პროცენტებში.

სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობა (NnTot, PnTot; NnZI, NnZII, NnZIII, PnZI, PnZII, PnZIII). ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის სინაფსებში სინაფსური ვეზიკულების საერთო/ჯამური რაოდენობა შეადგენდა: საკონტროლო ცხოველებში - 49.36 ± 4.9 -ს, ხოლო ექსპერიმენტულ ცხოველებში - 77.0 ± 5.5 -ს. პრესინაფსურ ბუტონში საშუალო საკონტროლო მაჩვენებელი ექსპერიმენტული ცხოველების მაჩვენებელს 12.2%-ით ჭარბობს ($p < 0.0005$) (ცხრილი 3, სურ.19). ჰისტოგრამის მიხედვით (სურ. 20), ვეზიკულების რაოდენობა მერყეობს: ნორმაში - 14–დან 119 – მდე, ექსპერიმენტში - 37–დან 146–მდე. ვეზიკულების საერთო რაოდენობის საშუალო მაჩვენებლის მატება განპირობებულია ექსპერიმენტული ცხოველების ნუშისებრ სხეულის ცენტრალურ ბირთვში იმ სინაფსების პროცენტული შემცველობის მატებით, სადაც ვეზიკულების რაოდენობა მერყეობს 25–დან 125–მდე.

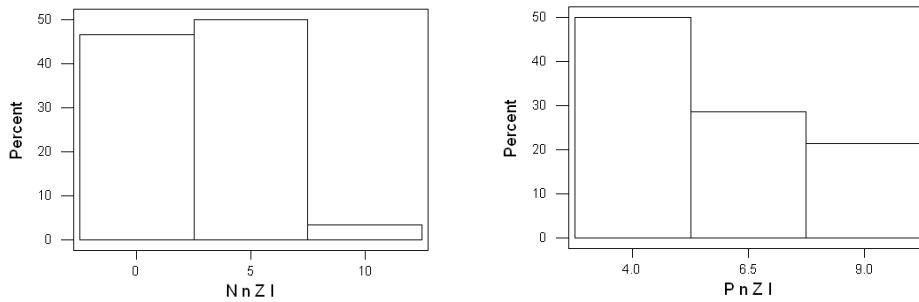


სურ. 19. ვეზიკულების რაოდენობა პრესინაფსური ბუტონის სხვადასხვა ზონებში (Z I, Z II, Z III) და მთელ ბუტონში. *** - $p < 0.01$. Series 1 - კონტროლი, Series 2 - 90 დღიანი ჰიპოკინეტიკური სტრესი.



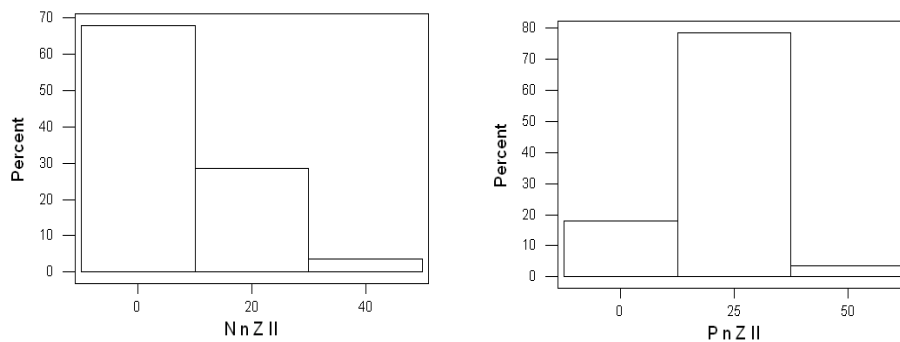
სურ. 20 . სინაფსური ვეზიკულების საერთო რაოდენობა ნორმასა (N Tot) და 90-დღიანი სტრესის შემდეგ (P Tot). აბსცისათა ღერძზე – ვეზიკულების რაოდენობა; ორდინატთა ღერძზე – სინაფსური ბუტონის რაოდენობა პროცენტებში.

ZI-ში ვეზიკულების (შეპირაპირებული) რაოდენობა ნორმაში ტოლია 2.86 ± 0.31 , ხოლო სტრესის ზემოქმედების შედეგად, ხდება 5.71 ± 0.34 . ამგვარად, ნორმასა და ექსპერიმენტს შორის განსხვავება 9.6%-ით ($p < 0.001$) (ცხრილი 3, სურ.19). ჰისტოგრამის მიხედვით (სურ.21), ვეზიკულების რაოდენობა მერყეობს ნორმაში 1 – დან 9– მდე, ხოლო პათოლოგიაში 3–დან 9–მდე. ამ ზონაში ვეზიკულების რაოდენობის საშუალო მაჩვენებლის მატება განპირობებულია ექსპერიმენტული ცხოველების იმ სინაფსების პროცენტული შემცველობის მატებით, სადაც ვეზიკულების რაოდენობა მერყეობს 2–დან 8.25–მდე.



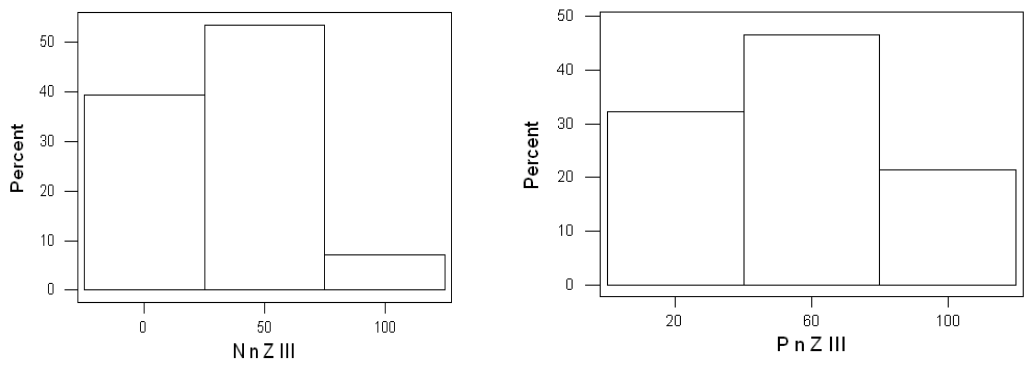
სურ. 21 . შეპირაპირებული ვეზიკულების რაოდენობა ნორმასა (NnZI) და 90–დღიანი სტრესის შემდეგ (PnZI). აბსცისათა ღერძზე – ვეზიკულების რაოდენობა; ორდინატთა ღერძზე – სინაფსური ტერმინალების რაოდენობა პროცენტებში.

ZII - ში ვეზიკულების (რეციკლირებადი) რაოდენობა ნორმაში 10.43 ± 1.5 -ს შეადგენს, ხოლო ექსპერიმენტულ მასალაში - 17.82 ± 1.8 -ს. განსხვავება ნორმასა და ექსპერიმენტს შორის, 20%-ია ($p < 0.001$) (ცხრილი 3, სურ.19). ჰისტოგრამის მიხედვით (სურ.22), ვეზიკულების რაოდენობა მერყეობს: ნორმაში - 3–დან 42–მდე, ექსპერიმენტულ მასალაში - 5–დან 56–მდე. ექსპერიმენტულ მასალაში ამ ზონაში ვეზიკულების რაოდენობის საშუალო მაჩვენებლის მატება განპირობებულია იმ სინაფსების პროცენტული შემცველობის მატებით, სადაც ვეზიკულების რაოდენობა მერყეობს 12–დან 37–მდე. (სურ.21).



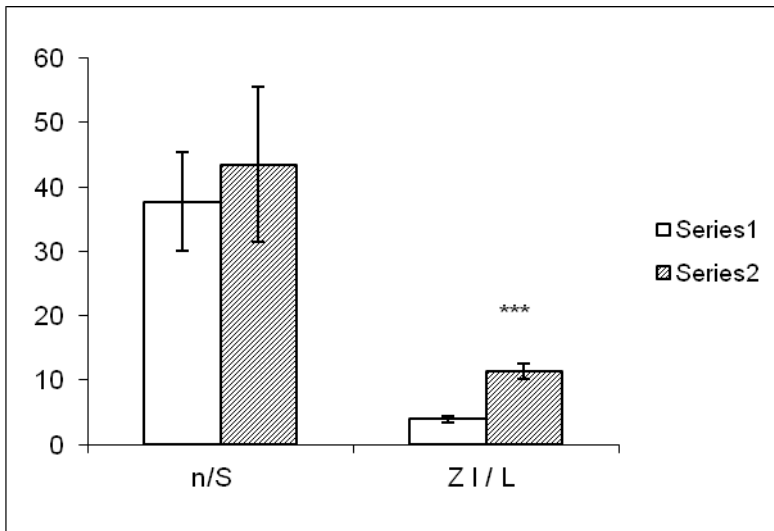
სურ.22 . რეციკლირებადი ვეზიკულების რაოდენობა ნორმასა (NnZII) და 90–დღიანი სტრესის შემდეგ (PnZII). აბსცისათა ღერძზე – ვეზიკულების რაოდენობა; ორდინატთა ღერძზე – პრესინაფსური ბუტონების რაოდენობა პროცენტებში.

ZIII ზონაში ვეზიკულების (სათადარიგო/სარეზერვო) რაოდენობა ნორმაში ტოლია 36.1 ± 4.4 , ხოლო სტრესის ზემოქმედებით ხდება 54.1 ± 4.6 . განსხვავება ნორმასა და ექსპერიმენტს შორის, 45%-ია ($p < 0.01$) (ცხრილი 3, სურ.19). ჰისტოგრამის მიხედვით (სურ.23), ვეზიკულების რაოდენობა მერყეობს ნორმაში - 8–102-ს ფარგლებში, ხოლო პათოლოგიაში - 15–103-ს ფარგლებში. ამ ზონაში ვეზიკულების რაოდენობის საშუალო მაჩვენებლის მატება განპირობებულია ექსპერიმენტული ცხოველების იმ სინაფსების პროცენტული შემცველობის მატებით, სადაც ვეზიკულების რაოდენობა მერყეობს 20–დან 105–მდე.



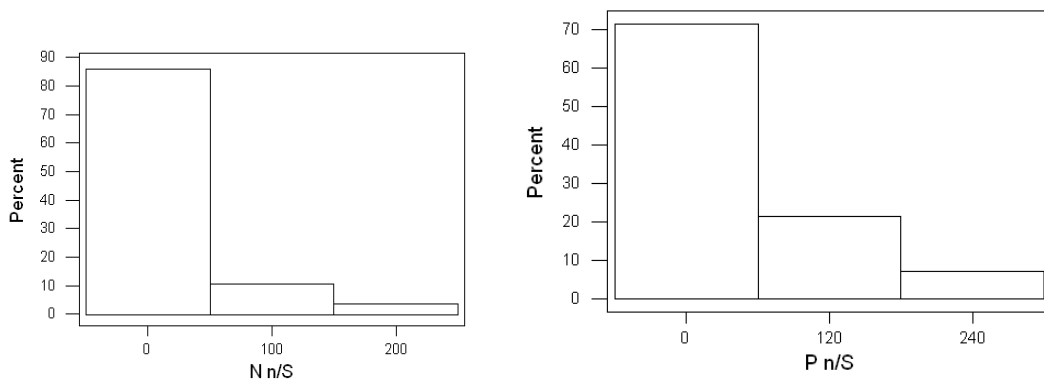
სურ.23 . სათადარიგო სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობა ნორმასა (NnZIII) და 90–დღიანი სტრესის შემდეგ (PnZIII). აბსცისათა ღერძზე – ვეზიკულების რაოდენობა; ორდინატთა ღერძზე – პრესინაფსური ბუტონების რაოდენობა პროცენტებში.

ვეზიკულების რაოდენობა ფართობის ერთეულზე (N n/S, Pn/S). ვეზიკულების რაოდენობა ფართობის ერთეულზე ნორმის პირობებში 37.7 ± 7.7 -ია, ხოლო ჰიპოკინეტურ ტვინში ვლინდება მხოლოდ ტენდენცია მისი ზრდისკენ: განსხვავება ნორმასა და ექსპერიმენტს შორის, სარწმუნო არ არის ($p > 0.677$) (ცხრილი 3, სურ. 24). ჰისტოგრამაზე განაწილება თითქმის ერთნაირია (სურ.25).



სურ. 24. ვეზიკულების რაოდენობა პრესინაფსური ბუტონის პროფილის ერთეულ ფართობსა (n/S) და აქტიური ზონის ერთეულ სიგრძეზე (Z I/L). *** - $p < 0.01$. Series 1 - კონტროლი, Series 2 – 90 დღიანი ჰიპოკინეტიკური სტრესი.

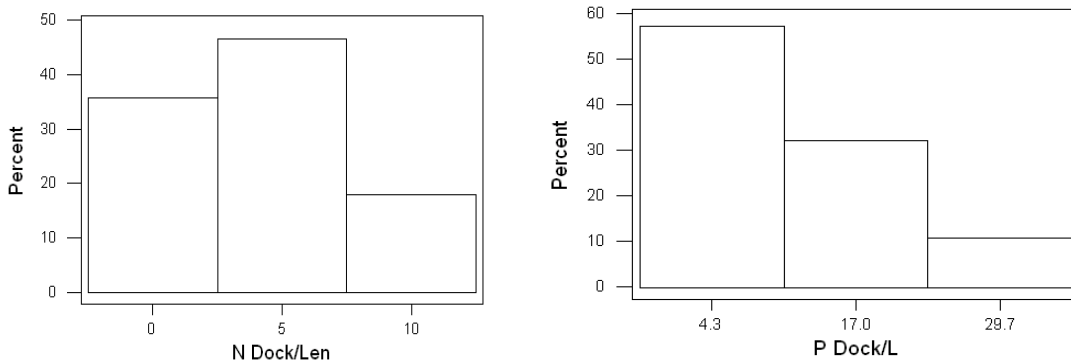
ტენდენცია მატებისკენ პათოლოგიაში განპირობებულია იმ სინაფსების უმნიშვნელო პროცენტული ზრდით, სადაც ცვლადის მნიშვნელობა მერყეობს 60–დან 180-მდე. (სურ. 25).



სურ.25 . ვეზიკულების რაოდენობა ფართობის ერთეულზე ნორმასა (Nn/S) და 90–დღიანი სტრესის შემდეგ (Pn/S). აბსცისათა ღერძზე – ვეზიკულების რაოდენობა ფართობის ერთეულზე; ორდინატთა ღერძზე – პრესინაფსური ბუტონების რაოდენობა პროცენტებში.

შეპირაპირებული ვეზიკულების რაოდენობა აქტიური ზონის ერთეულ სიგრძეზე (NDock/Len, PDock/Len). შეპირაპირებული ვეზიკულების რაოდენობა აქტიური ზონის ერთეულ სიგრძეზე ნორმის პირობებში 3.99 ± 0.50 -ს შეადგენს, ხოლო

ექსპერიმენტის ზეგავლენით მისი სიდიდე 11.39 ± 1.2 -ს აღწევს. საკონტროლო მასალასთან შედარებით, ექსპერიმენტულ მასალაში ეს სიდიდე 140%-ით მატულობს ($p < 0.0005$) (ცხრილი 3, სურ. 24). ექსპერიმენტში ვეზიკულების რაოდენობის მატება უკავშირდება იმ სინაფსების პროცენტული შემცველობის გაზრდას, სადაც ვეზიკულების რაოდენობა მერყეობს 4–დან 29–მდე; ნორმაში ვეზიკულები მერყეობენ მხოლოდ 1–დან 9–მდე (სურ. 26).



სურ.26 . შეპირაპირებული ვეზიკულების რაოდენობა აქტიური ზონის ერთეულ სიგრძეზე (NDock/Len, PDock/Len). აბსცისათა ღერძზე – ვეზიკულების რაოდენობა აქტიური ზონის ერთეულ სიგრძეზე; ორდინატთა ღერძზე – პრესინაფსური ბუტონების რაოდენობა.

ამგვარად, 90-დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესი გავლენას ახდენს ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის ამაგზნებელი, აქსო-დენდრიტული სინაფსების (სურ. 26) რიგ მორფომეტრულ მახასიათებლებზე. კერძოდ, სტრესის ზემოქმედებით მატულობს იმ პრესინაფსური დაბოლოებების რაოდენობა, სადაც აქტიური ზონის სიგრძის საშუალო მაჩვენებელი კონტროლთან შედარებით, დაკლებულია. ამავე დროს, იზრდება იმ სინაფსების რაოდენობა, სადაც გაზრდილია პრესინაფსის ფართობი, სინაფსური ვეზიკულების ჯამური რაოდენობა და სინაფსური ვეზიკულების რიცხვი პირველ, მეორე და მესამე ზონებში. მაშასადამე, სინაფსურ ბუტონებში იზრდება შეპირაპირებული, რეციკლირებადი და სათადარიგო ვეზიკულების რიცხვი. ამასთანავე, ექსპერიმენტში ფართობის ერთეულზე ვეზიკულების რაოდენობის მატება მხოლოდ ტენდენციის ხასიათს ატარებს. თავის მხრივ, აქტიური ზონის ერთეულ სიგრძეზე შეპირაპირებული ვეზიკულების რაოდენობა საგრძნობლად არის მომატებული.

5. მონაცემების განსჯა

ჩემს მიერ მიღებული კვლევის შედეგები შემდეგია:

- ქრონიკული (90-დღიანი) ჰიპოკინეტური სტრესი გავლენას ახდენს ვირთაგვას ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის რიგი აქსო-დენდრიტული სინაფსების ულტრასტრუქტურაზე. ზოგიერთ მათგანში ვითარდება მნიშვნელოვანი დარღვევები, რომლებიც ამ სინაფსებში სინაფსური გადაცემის ცვლილებებზე მიუთითებენ;
- ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპის გამოყენებით, საკონტროლო მასალაზე კიდევ ერთხელ იქნა აღწერილი ნეიროპოროსომა და დადასტურდა მისი რაოდენობრივი პარამეტრები (ლიტერატურაში აღწერილია მხოლოდ ერთ შრომაში);
- ელექტრონული მიკროსკოპის გამოყენებით, პირველად იქნა მიღებული პოროსომას ერთ-ერთი სტრუქტურული პარამეტრის - სიღრმის რაოდენობრივი მონაცემები;
- შესწავლილი იქნა ქრონიკული (90-დღიანი) ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტი უჯრედის უნივერსალური სეკრეტორული მანქანის, პოროსომას ძირითად სტრუქტურულ პარამეტრებზე: დიამეტრსა და სიღრმეზე. აღმოჩნდა, რომ აღნიშნული ექსპერიმენტული მდგომარეობის გავლენით პოროსომას აღნაგობა არ იცვლება. მართალია, როგორც საკონტროლო, ასევე ექსპერიმენტულ მასალაზე გამოვლინდა პოროსომას სტრუქტურული ჰეტეროგენურობა, მაგრამ ასეთი ჰეტეროგენურობა ორივე შემთხვევაში მსგავსია;
- ქრონიკული (90-დღიანი) ჰიპოკინეტური სტრესი გავლენას ახდენს ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის "ნორმალური" აღნაგობის მქონე რიგი აქსო-დენდრიტული სინაფსების პრეტერმინალების სტრუქტურული

კომპონენტების (ვეზიკულები, აქტიური ზონა, პრეტერმინალის ფართობი) რაოდენობრივ მახასიათებლებზე. კერძოდ, პრესინაფსურ ტერმინალებში სარწმუნოდ იზრდება სინაფსური ვეზიკულების საერთო რაოდენობა და სხვადასხვა ზონებში გაერთიანებული სინაფსური ვეზიკულების (პრესინაფსურ მემბრანასთან შეპირაპირებული, რეციკლირებადი და სარეზერვო) რიცხვი; სასრწმუნოდ მცირდება აქტიური ზონის სიგრძე; სასრწმუნოდ და მნიშვნელოვნად იზრდება აქტიური ზონის ერთეულ სიგრძესთან შეპირაპირებული სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობა; სასრწმუნოდ იზრდება პრესინაფსური ტერმინალის ფართობი;

- წარმოდგენილ კვლევაში პირველად შესწავლილია პათოლოგიური პირობების (ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესის) გავლენა უჯრედის სეკრეტორული მანქანის - პოროსომას აღნაგობაზე. განსასჯელად სწორედ აღნიშნული მონაცემებია გამოტანილი.

5.1. ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვი და სტრესი

ცნობილია ის უმნიშვნელოვანესი როლი, რომელსაც ნუშისებრი სხეულის სხვადასხვა დანაყოფები სტრესის გამომწვევ ავერსიულ სტიმულზე/სტიმულებზე საპასუხოდ, ორგანიზმის რეაქციის "ორკესტრირებასა" და მოდულაციაში ასრულებენ (Beretta, 2005; Carrasco and Van de Kar, 2003; Carter et 1967 al., 2004). სტრესის (და შფოთვის დარღვევების) დომინანტური მოდელების შემთხვევებში მისი მონაწილეობა კრიტიკულია. იღებს რა სხვადასხვა სენსორული მოდალობის ინფორმაციას, ნუშისებრი სხეული პროეცირდება თავის ტვინის სხვა ქერქვეშა უბნებში და გავლენას ახდენს სტრესით ინდუცირებულ ორგანიზმის რიგ ფუნქციებზე, კერძოდ, ქცევაზე და ისეთ ფიზიოლოგიურ ეფექტებზე, როგორცაა სტრეს-ჰორმონების გამოყოფა, წნევის ცვლილება ან შიშის ექსპრესია. ასეთ პასუხებში მონაწილეობს ნუშისებრი სხეულის ორივე მთავარი დანაყოფი: ცენტრალური და ლატერალური ბირთვები (Campeau, Davis 1995; Dong et al. 2007; Agasandian et al. 2008).

როგორც აღინიშნა თავში: ლიტერატურის მიმოხილვა - ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის ასეთი ფუნქცია დიდწილად განპირობებულია აღნიშნულ ბირთვში კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორის შემცველი მრავალრიცხოვანი ნეირონების არსებობით და კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონის რეცეპტორების მაღალი კონცენტრაციით. არის მონაცემები, რომ ნუშისებრი სხეულის ცენტრალურ ბირთვში კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორის ჭარბი ექსპრესია იწვევს იგივე ჰორმონის და ვაზოპრესინის ექსპრესიის ზრდას ჰიპოთალამუსის პარავენტრიკულურ ბირთვში, რაც, თავის მხრივ, უნდა განაპირობებდეს ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-ადრენალური ღერძის - სტრეს-ღერძის დამატებით აქტივაციას და მის დეზინჰიბიციას (Flandreau et al. 2012; Keen-Reenehart et al. 2009). ამ ფაქტს კლინიკაში დიდ მნიშვნელობას ანიჭებენ, ვინაიდან ცნობილი გახდა, რომ მოჭარბებული შფოთვა და ხასიათის მნიშვნელოვანი დარღვევები, მათ შორის, დეპრესიები და პოსტტრავმატული სტრესით გამოწვეული პათოლოგიები, აღნიშნული ღერძის სწორედ ისეთ დისფუნქციასთან ასოცირდება, რომელსაც თან ახლავს ჰიპოთალამუსის პარავენტრიკულურ ბირთვში და ნუშისებრი სხეულის ცენტრალურ ბირთვში კორტიკოტროპინის გამომყოფი ჰორმონის ჭარბი ექსპრესია. შესაბამისად, გამოითქვა ვარაუდი, რომ ადამიანში ჰიპოთალამო-ჰიპოფიზ-ადრენალური ღერძის ჰიპერაქტივაცია შესაძლებელია იყოს მეორადი სტრეს-ფაქტორით გამოწვეული ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორის შემცველი ნეირონების აქტივაციის მიმართ (Niedfeld et al. 2012).

არის ურთიერთგამომრიცხავი შეხედულებები იმის თაობაზე, ახდენს თუ არა გავლენას სქესობრივი განსხვავება ცენტრალურ ნუშისებრ ბირთვში სხვადასხვა სტრესორებზე საპასუხოდ, CRF mRNA ექსპრესიაზე (Iwasaki-Sekino et al. 2009). ამიტომ, შესაძლო ეფექტის გამორიცხვის მიზნით, სადისერტაციო კვლევაში მხოლოდ ერთი სქესის - მამრი ზრდასრული ვირთაგვები გამოვიყენე.

ჰიპოკინეტური სტრესი სტრეს-ფაქტორით გამოწვეული ერთ-ერთი ისეთი მდგომარეობაა, რომელიც ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის ნეირონების აღნაგობაში ნატიფ ცვლილებებს იწვევს. კერძოდ, როგორც ზევით აღვნიშნე (თავი:

”ლიტერატურის მიმოხილვა”), ადრეულ ელექტრონულ-მიკროსკოპულ შრომებში აღწერილია ის პათოლოგიური ალტერაციები, რომლებიც ქრონიკული (90- და 120-დღიანი) ჰიპოკინეტური სტრესის გავლენით, აღნიშნული ბირთვის ნეირონებში ვითარდებიან. ასეთი ალტერაციების ნაწილი (ციტოპლაზმის გამოხატული ქრომატოლიზი, უჯრედული ორგანელების - ენდოპლაზმური ბადის და მიტოქონდრიების სტრუქტურული დარღვევები, ციტოპლაზმაში დიდი ზომის ვაკუოლების და მიელინის და მემბრანისმაგვარი ჩანართების არსებობა) უჯრედებში მიმდინარე მნიშვნელოვანი მეტაბოლური დარღვევების მანიშნებელია; შესაბამისად, ასეთი უჯრედების სტრუქტურის სრული აღდგენა ხშირ შემთხვევებში საეჭვო ან შეუძლებელია (Zhvania 1996 a,b). ამასთანავე, ნეირონების მეორე ნაწილში მხოლოდ ზედაპირული ულტრასტრუქტურული ალტერაციებია (მაგ. ორგანელების უმნიშვნელო ცვლილებები და/ან ციტოპლაზმის მცირე ტერიტორიის კეროვანი ან პერიფერიული ქრომატოლიზი). ასეთ უჯრედებში რეპარაციული პროცესების განვითარების მაღალი ალბათობაა (Zhvania 1996). აღსანიშნავია, რომ გარკვეულწილად, ანალოგიური ცვლილებები (მკვეთრად და ზედაპირულად გამოხატული) აღწერილია ასევე სხვა ლიმბურ წარმონაქმნებში: კერძოდ, ნუშისებერი სხეულის ლატერალურ ბირთვში, ჰიპოკამპში და ცინგულარულ (ლიმბურ ასოციაციურ) ქერქში (Zhvania, 1996; Zhvaniya, Bliadze, 1991; Zhvaniya, Kakabadze, 1996). თავის ტვინის ლიმბური სტრუქტურების ნეირონებში სტრესით გამოწვეული გამოხატული დარღვევების განვითარება გასაგები ხდება, თუ გავითვალისწინებთ იმ უმნიშვნელოვანეს როლს, რომელსაც რეტიკულო-ლიმბური კომპლექსი, და კერძოდ, ლიმბური წარმონაქმნები სტრეს-დერმის აქტივაციაში ასრულებენ (Chrousos 1996, 2000, 2012). ამასთანავე, საინტერესოა შემდეგი ზევით მოყვანილი ლიტერატურული მონაცემები: ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის ნეირონების ულტრასტრუქტურა გაცილებით შენარჩუნებულია ჰიპოკინეზიის ისეთი ფორმის დროს, რომელსაც თან არ ახლავს სტრეს-დერმის აქტივაცია [ასეთი ცხოველების სისხლის პლაზმაში ადრენოკორტიკოტროპული ჰორმონის ნორმალური დონეა (Zhvania 1991, 1996)]. ამის საწინააღმდეგოდ. აღნიშნული ფორმის დროს, მნიშვნელოვანი დარღვევები, ძირითადად, ვითარდება არა ლიმბურ, არამედ მოძრაობასთან უშუალოდ დაკავშირებულ, თავის ტვინის მოტორულ და ექსტრაპირამიდულ წარმონაქმნებში. ასეთი მონაცემების ანალიზი იძლევა

საფუძველს დაშვებისთვის, რომ ჩემს მიერ გამოყენებული ექსპერიმენტული მოდელის დროს, ჭარბობს სტრეს-ფაქტორის ეფექტი, მაშინ, როდესაც ჰიპოკინეზის მეორე მოდელის დროს, უფრო მნიშვნელოვანი უნდა იყოს „საკუთრივ ჰიპოკინეტური“ ფაქტორის როლი.

ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესის დროს, ნუშისებრი სხეულის რიგ ნეირონებში ასეთი გამოხატული დარღვევების განვითარება შესაბამის სინაფსებში ნეიროტრანსმისიის და, ამგვარად, რიგი ნეირონული კომუნიკაციების დარღვევებთან უნდა ასოცირდებოდეს. იქიდან გამომდინარე, რომ ნეირონული კომუნიკაციების სტრუქტურული და ფუნქციური ერთეული სინაფსია, განსაკუთრებით საინტერესოდ ჩავთვალე ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესის გავლენით, ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის სინაფსებში შესაძლო ცვლილებების გამოვლენა.

5.2. ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი და ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის სინაფსების ულტრასტრუქტურა

ჩემი კვლევის პირველ თავში აღვწერე ის ულტრასტრუქტურული დარღვევები, რომლებსაც ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის ზოგიერთ აქსო-დენდრიტულ ასიმეტრიულ სინაფსში იწვევს -სინაფსურ ფორმებში, რომლებიც აღნიშნულ სტრუქტურაში, ისევე, როგორც ძუძუმწოვრების ცენტრალური ნერვული სისტემის წარმონაქმნების აბსოლუტურ უმრავლესობაში განსაკუთრებით გავრცელებულია.

ჩემს მიერ რიგ სინაფსებში აღწერილი იყო *გამოხატული ულტრასტრუქტურული ალტერაციები*, რომელთა ნაწილი - მაგ. სინაფსური ვეზიკულების აგლუტინაცია, პრესინაფსურ ტერმინალებში საკმაოდ დიდი ზომის მემბრანა- ან მიეილინისმაგვარი ჩანართების გამოჩენა ან პრესინაფსური მიტოქონდრიების მნიშვნელოვანი დესტრუქცია - მნიშვნელოვანი ლოკალური მეტაბოლური და ენერგეტიკული პროცესების დარღვევის სარწმუნო ნიშანია. ყოველი ასეთი ალტერაცია მიანიშნებს

კონკრეტული სინაფსის სტრუქტურული სტაბილობის დარღვევაზე და შესაბამისად, ასეთ სინაფსში ნეიროტრანსმისიის პროცესის მოშლაზე. ცხადია, რეპარაციას დაუქვემდებარებელია გლიური გამონაზარდებით სრულად ან თითქმის სრულად შემოსაზღვრული უფორმო მაღალოსმიოფილური „სხეულები“; ასეთი „სხეულები“, რომლებშიც მუქი ფონის გამო, ძნელად ვლინდებოდნენ სინაფსური ვეზიკულები, ლიტერატურაში განიხილებიან, როგორც მუქი დეგენერაციის ბოლო სტადიაზე მყოფი, სრულად გადაგვარებული სინაფსური ტერმინალების ნარჩენები.

მთლიანობაში ასეთი ულტრასტრუქტურული სურათი ნათელი დასტურია იმისა, რომ ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესის შედეგად, ცენტრალური ნუშისებრი ბირთვის რიგ ნეირონულ წრეებში შემავალ უჯრედებს შორის, დარღვეულია სწორი კომუნიკაციები, ინფორმაციის სწორი გადაცემა და, შესაბამისად, ადგილი აქვს ასეთი ნეირონული წრეების დეზინტეგრაციას.

ამასთანავე აღსანიშნავია შემდეგი ლიტერატურული მონაცემები: ჰიპოკინეზიის ისეთი ფორმა, რომლის დროსაც ექსპერიმენტული ვირთაგვების სისხლის პლაზმაში სტრეს-ჰორმონის - კორტიკოტროპინის გამომყოფი ფაქტორის დონე ნორმის ფარგლებშია (და შესაბამისად, ასეთი გავლენის დროს, გაცილებით ჭარბობს „საკუთრივ“ ჰიპოკინეტური ფაქტორის ეფექტი), ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის სინაფსებში (ისევე, როგორც რიგ სხვა ლიმბურ წარმონაქმნებში), ძირითადად, უმნიშვნელო ცვლილებებია გამოვლინდა, ამასთანავე, გაცილებით უფრო დარღვეული იყო მოტორული და ექსტრაპირამიდული სინაფსების ულტრასტრუქტურა (Zhvania 1996). ჰიპოკინეზიის აღნიშნული ფორმის დროს, ლიმბურ და მოტორულ/ექსტრაპირამიდულ წარმონაქმნებში ანალოგიურად „გადანაწილდნენ“ დაზიანებული ნეირონებიც. ასეთი მონაცემები კი, კიდევ ერთხელ მაძლევენ მყარ საფუძველს დაშვებისთვის, რომ ჩემს მიერ აღნიშნულ კვლევაში გამოყენებული ექსპერიმენტული მოდელის შემთხვევაში, სტრუქტურული ალტერაციების განვითარებაში უმნიშვნელოვანეს როლს სწორედ სტრეს-ფაქტორი ასრულებს.

ჩემს ექსპერიმენტულ მასალაში ასევე გამოვლინდა *გრანულარული სინაფსური ვეზიკულების შემცველი პრესინაფსური ტერმინალების რაოდენობის შედარებითი*

მომრავლება. ნორმალურ თავის ტვინში ასეთი ვეზიკულები განსაკუთრებით მრავალრიცხოვანია ავტონომიურ განგლიებში და იმ უბნებში, სადაც კატექოლამინების აქტივობა განსაკუთრებით მაღალია. ძირითადად, მათ განიხილავენ, როგორც კატექოლამინების - ნორადრენალინის, დოპამინის ან 5-ჰიდროქსიტრიპტამინის შემცველებს. „ნორმალურ“ პრეტერმინალებში ისინი, მეტწილად, განსაკუთრებით გავრცელებული ტიპის, სფერულ ვეზიკულებთან ერთად აღინიშნებიან. ექსპერიმენტში გრანულარული ვეზიკულების შემცველი პრესინაფსური ტერმინალების მატება კატექოლამინების აქტივაციასთან უნდა იყოს დაკავშირებული. აღსანიშნავია, რომ სტრესის ერთ-ერთი მთავარი მახასიათებელი თავის ტვინის სტრუქტურებში კატექოლამინების აქტივაციაა. უფრო მეტიც, არის ვარაუდი, რომ სწორედ კატექოლამინები ასრულებენ ერთ-ერთ წამყვან როლს სტრესის დროს, რიგი ენდოკრინული და იმუნური პროცესების განვითარებაში (Cannon, 1939; Goldstein 2003. 2012; Goldstein, Even 2002; Chrousos 2009, Morilak. 2005; Ranabir, Reetu 2011). ნუშისებრ სხეულში სტრესზე საპასუხოდ კატექოლამინების, კერძოდ, ნორეპინეფრინის დონის მომატება და მისი გავლენა აღნიშნული სტრუქტურის ქერქული და ქერქქვემა აფერენტების აქტივობის ბალანსზე აღწერილია ერთ-ერთ უახლეს შრომაში (Johnson et al. 2011). ზემოთქმულის გათვალისწინებით, ვვარაუდობ, რომ ჩემს ექსპერიმენტულ მასალაში გრანულარული ვეზიკულების შემცველი პრესინაფსური ტერმინალების შედარებითი მომრავლება სწორედ სტრესისთვის დამახასიათებელ კატექოლამინების აქტივაციასთან არის დაკავშირებული.

აღსანიშნავია ასევე ექსპერიმენტულ მასალაში *მცირერიცხოვანი შერეული - სფერული და მცირე ზომის ოვალური სინაფსური ვეზიკულების შემცველი პრესინაფსური ტერმინალების არსებობა:* საკონტროლო მასალაში ასეთი ტიპის ტერმინალები ერთეული იყო. კვლევაში გამოყენებული მეთოდი არ მამღვეს საშუალებას გამოვთქვა კონკრეტული მოსაზრება იმაზე, თუ რას შეიცავენ ან რატომ ვლინდებიან ჰიპოკინეტური სტრესის გავლენით, სტრეს-პასუხის ორგანიზაციაში ჩართული ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი ლიმბური წარმონაქმნის რიგ პრესინაფსურ ტერმინალებში ასეთი შერეული ვეზიკულები. სავარაუდოდ, ასეთ ტერმინალებში ადგილი აქვს ნეიროტრანსმიტერის/ნეიროტრანსმიტერების ცვლილებას/გადანაწილებას. მაგრამ კონკრეტული მსჯელობისთვის აუცილებელია

კვლევის დამატებითი მეთოდების - იმუნოციტოქიმიური ელექტრონული მიკროსკოპის, მოლეკულური ბიოლოგიის, ელექტროფიზიოლოგიის და სხვათა გამოყენება.

ასევე ჰიპოკინეტური სტრესის ეფექტან უნდა იყოს დაკავშირებული ექსპერიმენტულ მასალაში შედარებით ხშირად ისეთი სინაფსური ფორმების გამოჩენა, როგორცაა ნორმისთვის უჩვეულო, სინაფსური მემბრანის შეცვლილი სიმკვრივე (თითქმის სიმეტრიული კონტაქტები წვრილ დენდრიტებზე ან სინაფსები პუნქტიური, მაღალოსმიოფილური ზონით) და სინაფსები ერთეული, მათ შორის, აქტიური ზონისგან მოშორებით განლაგებული, სინაფსური ვეზიკულებით.

გენეტიკური დარღვევების, ადიქციური ნივთიერებების მოხმარების, დაბერების, ვირუსული ინფექციების და მრავალი სხვა მიზეზების შედეგად, განვითარებული ნეირონული კომუნიკაციების ალტერაციები თითქმის ყოველთვის საფუძვლად უდევს სხვადასხვა ფსიქიატრიული და ნევროლოგიური დარღვევების, მათ შორის, მენტალური ჩამორჩენის, შიზოფრენიის, პარკინსონის დაავადების, აუტიზმის, ალცჰაიმერის დაავადების, კომპულსიური ქცევის ან ადიქციის განვითარებას. ყოველი მათგანისთვის დამახასიათებელია ისეთი ულტრასტრუქტურული ცვლილებები, როგორცაა სინაფსური კონტაქტის აბნორმალური სიმკვრივე (მომატებული ან პირიქით, თითქმის სიმეტრიული ოსმიოფილია), დენდრიტული ხორკლების მორფოლოგიური ცვლილებები, “აქტიური სინაფსების“ რაოდენობის შემცირება ან ერთეული ვეზიკულების შემცვლელი პრესინაფსური ტერმინალების სარწმუნო მატება, რასაც აბერანტულ სინაფსურ სიგნალირებას და პლასტიურობას უკავშირებენ. ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესის შედეგად, ნუშისებრი სხეულის ცენტრალურ ბირთვში ჩემს მიერ გამოვლენილი ანალოგიური ულტრასტრუქტურული ცვლილებები საფუძველს მაძლევენ დაშვებისთვის, რომ აღნიშნულ სინაფსებში ქრონიკულ ჰიპოკინეტურ სტრესზე საპასუხოდ, ასევე ადგილი აქვს სინაფსური სიგნალირების აბერაციას და სინაფსური პლასტიურობის დარღვევებს.

ასევე ნეირონების კომუნიკაციების და სინაფსური პლასტიურობის ცვლილებებთან უნდა იყოს დაკავშირებული ექსპერიმენტულ მასალაში მოკლე და განიერი (stubby) ხორკლების მოჭარბება (საკონტროლო მასალაში შედარებით თანაბარია ხორკლების სხვადასხვა ფორმები) და რიგი დენდრიტების ულტრასტრუქტურის ცვლილებები:

პათოლოგიური გაფართოებები და/ან დენდრიტული მილაკების კეროვანი გაქრობა ან მათი რაოდენობის მნიშვნელოვანი შემცირება.

მწვავე სტრესით გამოწვეული დენდრიტების და დენდრიტული ხორკლების მრავალგვარი ალტერაციები აღწერილია რიგ შრომებში (Magarinos et al. 1997; Sousa et al. 2000; Goldwater et al. 2009). ამასთანავე, ეფექტი ურთიერთსაწინააღმდეგოა არა მარტო თავის ტვინის სხვადასხვა უბნებში, არამედ ერთსა და იმავე უბანში. მაგალითად, ჰიპოკამპის დანაყოფებში, სხვადასხვა ავტორების მიერ, გამოვლინდა ხორკლების რაოდენობის მატება (Sunanda et al, 1995), რიგი დენდრიტების ატროფია და ხორკლების გაქრობა (Sandi et al. 2003), ხორკლების განლაგების უცვლელი სიმკვრივე (Magarinos et al. 1996) და აქსო-ხორკლოვანი სინაფსების პოსტსინაფსური მემბრანას სიმკვრივის ზრდა (Donohue et al. 2006). თავის მხრივ, ნუშისებრ სხეულში, ქრონიკული სტრესის შედეგად, აღწერილია დენდრიტების სიგრძის და ხორკლების განლაგების სიმკვრივის სარწმუნო მატება, რაც სტრესით გამოწვეული შფოთვის ხანგრძლივ ფასილიტაციასთან ასოცირდება (Vyas et al. 2004). ამასთანავე, თუ მხედველობაში მივიღებთ ერთ-ერთ უახლოეს შეხედულებას, რომლის თანახმად, სხვადასხვა ფორმის ხორკლებს განსხვავებული ფუნქცია უნდა ჰქონდეთ, ყურადსაღები უნდა იყოს არა მარტო ხორკლების განლაგების სიმკვრივის, არამედ მათი ფორმის შესაძლო ცვლილებაც. აღსანიშნავია, რომ ქრონიკული სტრესის შედეგად, მოკლე (stubby) ხორკლების რაოდენობის თითქმის გაორმაგება აღწერილია კიდევ ერთ ლიმბურ სტრუქტურაში: აკუმბეალურ ბირთვში (Alcantara-Gonsales et al. 2010). ასევე: სტრესით გამოწვეული დიდი ზომის „სოკოსმაგვარი“ (გრძელ ვიწრო ფეხზე სპეციფიური გაფართოებით) ხორკლების რაოდენობის სარწმუნო შემცირება, მოკლე და ვიწრო ხორკლების რიცხვის სარწმუნო ზრდის პარალელურად, აღწერილია პრეფრონტალურ ქერქში (Radley et al. 2008). ასეთი ტიპის მონაცემების საფუძველზე გამოითქვა მოსაზრება, რომ ექსპერიმენტული/პათოლოგიური პირობების გავლენით, ხორკლების მორფოლოგიის მოდიფიკაციებს უჯვრედის ფიზიოლოგიაზე მნიშვნელოვანი ეფექტი უნდა ჰქონდეთ იმ შემთხვევაშიც კი თუ ხორკლების რაოდენობრივი ცვლილებები არ აღინიშნება (Christoffel et al. 2011).

ცნობილია, რომ ცენტრალური ნერვული სისტემის განვითარების საწყის სტადიებზე თავის ტვინში ჭარბობენ მოკლე (Stubby) და განიერი ხორკლები. მათ განიხილავენ,

როგორც ხორკლების პლასტიურ ფორმებს. ამის საპირისპიროდ, სოკოსმაგვარი ხორკლები გრძელ და ვიწრო ფეხზე უფრო სტაბილურია, ხოლო მათზე არსებული სინაფსები - უფრო „მყარი“ და „ძლიერი“. თავის მხრივ, მოკლე და განიერი (Stubby) ხორკლები მშობელ დედნრიტებთან მყარად არიან დაკავშირებული (Petra et al. 2005; Schmidt and Eilers, 2009). ვარაუდობენ, რომ სხვა სახის ხორკლებთან შედარებით, ასეთი ხორკლების რაოდენობრივი ცვლილებები ნეირონების აგზნებაზე უფრო დიდ ეფექტს უნდა ახდენდნენ (Noguchi et al. 2005). ნუმისებრ სხეულში ასეთი ტიპის ხორკლებზე, ძირითადად, სპეციფიური ქერქული აფერენტებია (Humeau et al. 2005). შესაბამისად, შესაძლებელია დაშვება, რომ, ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი, ახდენს რა გავლენას ნუმისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის ხორკლების მორფოლოგიაზე, იმავდროულად მოქმედებს (აძლიერებს) აღნიშნული ბირთვის ამაგზნებელ სინაფსებს, თუმცა ასეთი ალტერაციების შესაძლო მნიშვნელობა გაურკვეველი რჩება. არ არის გამორიცხული, რომ ქრონიკული სტრესის შედეგად, სინაფსების ამგვარი გამოხატული რემოდელირება წარმოადგენს უჯრედულ საფუძველს - ან უშუალოდ უკავშირდება - სტრესისთვის დამახასიათებელი შფოთვის ტიპის დარღვევების განვითარებისთვის.

5.3. ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი და ნეიროპოროსომას აღნაგობა

უჯრედის სეკრეცია ცოცხალი უჯრედის ფუნდამენტური პროცესია. ის ასრულებს ცენტრალურ როლს უჯრედის დაყოფაში, ევზოკრინულ და ენდოკრინულ ფუნქციებში, და ნეიროტრანსმიტერის გამოყოფაში. ვეზიკულების გამოყოფის კლასიკური მექანიზმი გულისხმობს მემბრანით შემოსაზღვრული სინაფსური ვეზიკულების უჯრედის პლაზმურ მემბრანასთან შერწყმას და მის ინკორპორაციას პრესინაფსურ მემბრანაში. შემდეგ მემბრანას ბიძრე რეციკლირდება და მონაწილეობს უჯრედის მემბრანადან ვეზიკულას/ვეზიკულების ხელახალ შექმნაში (Dresbach et al. 2001). მაგრამ უკანასკნელ ათწლეულში სხვადასხვა ტიპის სეკრეტორულ უჯრედებში [პანკრეასის აცინარული უჯრედი (Schneider et al., 1997; Cho et al., 2002c; Jena et al., 2003; Jeremic et al., 2003; Elshennawy, 2011); ჰიპოფიზის

ზრდის ჰორმონის გამომყოფი უჯრედი (Cho et al., 2002b); ადრენალური ქრომოფინური უჯრედი (Cho et al., 2002); ენდოკრინული პანკრეასის ბეტა-უჯრედები (Jena, 2004); ნეირონი (Cho et al., 2004, 2008; Siksou et al., 2007); ასტროციტები (Lee et al., 2009)] პრესინაფსურ მემბრანაზე აღწერილი იქნა ახალი სტრუქტურა - „პოროსომა“, რომელიც უშუალოდ მონაწილეობს სეკრეციის პროცესში და აფასილიტერებს მას. პოროსომას ფუნქციობის მექანიზმი გულისხმობს ვეზიკულას და მემბრანას უშუალო დაკავშირებას და მათ შორის მყარი აქტიური კონტაქტის (ანსამბლის) შექმნას, რამაც უნდა განაპირობოს სეკრეტორული ვეზიკულას მემბრანასთან შერწყმა, მისგან სეკრეტის გამოყოფა, შემდეგ კი, ვეზიკულას გადაადგილება უკან, უჯრედისკენ. სეკრეტორული ვეზიკულას უჯრედული მემბრანას სპეციალიზირებულ ადგილთან - პოროსომასთან ნაწილობრივად შერწყმის სასარგებლოდ, რიგი მონაცემები მეტყველებს. მაგალითად: (ა) ეგზოციტოზის შედეგად, წინააღმდეგობის ცვლილებები გაცილებით უფრო მცირეა, ვიდრე ეს იქნებოდა ვეზიკულას სრული შერწყმის მექანიზმის შემთხვევაში (Albillos et al., 1997); (ბ) ვეზიკულების რიცხვი ეგზოციტოზამდე და მის შემდეგ, მხოლოდ უმნიშვნელოდ იცვლება (Ceccarelli et al., 1973; Cho et al., 2002a; Lee et al., 2004). უახლესი ტექნიკების, პირველ რიგში, ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპის გამოყენებით - 5-8 ანგსტრემის გარჩევადობის პირობებში - პოროსომას კომპლექსში იდენტიფიცირებულია ვეზიკულების შერწყმის ძირითადი ცილები „target“-SNAREs და ვეზიკულური SNARE, რომლებიც წამყვან როლს ასრულებენ 8-12 ცილისგან შემდგარი, სხვადასხვა კონფორმაციული მდგომარეობების მქონე, მყარი ტრანსმემბრანული კომპლექსის შექმნაში (Jena et al., 2003; Cho et al., 2004, 2010; Ramakrishnan et al., 2009), პოროსომას კომპლექსის კონფორმაციული მდგომარეობა („ღია“ - “დახურული“) განსაზღვრავს, მიმდინარეობს თუ არა მასში დროის კონკრეტულ მონაკვეთში ტრანსმისიის აპროცესი (Schneider et al., 1997). ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპის დონეზე, კარგად ვლინდება პოროსომას აღნაგობა და მისი სხვადასხვა კონფორმაციული მდგომარეობები (Cho et al., 2008).

აღსანიშნავია, რომ აღნაგობასა და შემადგენლობაში ძირეული მსგავსების მიუხედავად, სხვადასხვა ტიპის სეკრეტორულ უჯრედებში პოროსომას ზომები განსხვავებულია. კერძოდ, ნეირონული პოროსომა გაცილებით მცირეა, ვიდრე

პოროსომა ეგზოკრინულ პანკრეასში ან სხვა ნეიროენდოკრინულ უჯრედში. ამგვარად, მართალია, ბუნებამ შექმნა პოროსომა, როგორც უნივერსალური სეკრეტორული მანქანა, მაგრამ განსხვავებული ტიპის (ნელი და ჩქარი) სეკრეტორულ უჯრედში მისი აწყობა აღნიშნულ უჯრედებში მიმდინარე სეკრეტორული პროცესის შესაბამისად მოხდა (ცნობილია, რომ სხვადასხვა სეკრეტორულ უჯრედებში სეკრეციის პროცესი სპეციფიური ეფექტურობით და სიჩქარით მიმდინარეობს). აღიარებულია ასევე ფაქტი, რომ მცირე ზომის ვეზიკულები ერწყმიან მემბრანას გაცილებით უფრო ეფექტურად, ვიდრე დიდი ზომის ვეზიკულები (Ohki, 1984; Wilschut et al., 1981), ამასთანავე, უჯრედის პლაზმურ მემბრანასთან ვეზიკულას შერწყმის პოტენცია და ტრანსმისიის ეფექტურობა განსაზღვრული უნდა იყოს სეკრეტორული ვეზიკულას და პოროსომას ფუძის სტრუქტურული პარამეტრებით. ამასთან შესაბამისობაშია ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპის გამოყენებით მიღებული შემდეგი მონაცემები: (ა) ჩქარ სეკრეტორულ უჯრედში - ნეირონში, ჩქარი და ეფექტური ნეიროტრანსმისიის პროცესში მცირე ზომის სინაფსური ვეზიკულა (დიამეტრი: 40-50 ნმ) 2-4 ნმ-ის დიამეტრის პოროსომას ფუძეს ერწყმის; (ბ) ეგზოკრინულ პანკრეასში, რომელშიც სეკრეციის პროცესი ნელა მიმდინარეობს, დიდი ზომის სეკრეტორული ვეზიკულები (დიამეტრი: 1000 ნმ) 20-30 დიამეტრის მქონე პოროსომას ფუძეს უკავშირდება (Cho et al. 2010; Drecsher et al. 2011).

ჩვენს კვლევამდე ნეიროპოროსომა და მისი სტრუქტურული პარამეტრები აღწერილი იყო მხოლოდ ერთეულ შრომებში და მხოლოდ ნორმალურ თავის ტვინში (Cho et al. 2004, 2010; Japaridze et al. 2012; Okuneva et al. 2012). თავდაპირველად, ნეირონული პოროსომას 8-10 ნმ-ის დიამეტრის ფარგლებში გამოვლინდა ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპის გამოყენებით (Cho et al. 2004). შემდგომში, ელექტრონული მიკროსკოპის დონეზე, სხვადასხვა ძუძუმწოვრების თავის ტვინში (კატა, ძაღლი, ვირთაგვა) პოროსომას კომპლექსის დიამეტრის ფლუქტუაციის უფრო ფართო საზღვრები - 8-18 ნმ - ვაჩვენეთ (Japaridze et al. 2012; Okuneva et al., 2012). აღსანიშნავია, რომ ანალოგიური ფლუქტუაციები აღინიშნებოდა, როგორც ძუძუმწოვრების სხვადასხვა სახეობებში, ასევე ერთი და იგივე სახეობის ფარგლებში.

წინა კვლევებისგან განსხვავებით, წარმოდგენილ ნაშრომში პირველად აღწერილია პათოლოგიური მდგომარეობის (ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესის) ეფექტი პოროსომას აღნაგობაზე. ამასთანავე, ნეიროპოროსომას აღნაგობის უფრო სრულყოფილი გაშუქებისთვის, წინამდებარე კვლევებისგან გამსხვავებით, ჩვენ არ შემოვიფარგლეთ აღნიშნული სტრუქტურის მხოლოდ დიამეტრის განსაზღვრით (Cho et al. 2004, 2010), არამედ გავზომეთ ასევე პოროსომას სიღრმე. აღსანიშნავია, რომ როგორც საკონტროლო, ასევე ექსპერიმენტულ მასალაში, გამოვლინდა ნეიროპოროსომას ორივე მთავარი სტრუქტურული პარამეტრის - დიამეტრის და სიღრმის ჰეტეროგენურობა, ამასთანავე, განსაკუთრებით გამოხატული პოროსომას სიღრმის ფლუქტუაციები იყო. აღსანიშნავია ასევე, რომ პოროსომას ორივე სტრუქტურული პარამეტრის ჰეტეროგენურობა ნორმასა და ექსპერიმენტში ერთსა და იმავე ფარგლებში ფლუქტუირებდა (დიამეტრი: 12-16 ნმ; სიღრმე - 5-20 ნმ), რაც ნათლად მიუთითებს, რომ ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი ეფექტს პოროსომას აღნიშნულ პარამეტრებზე არ ახდენს. არის გარკვეული საფუძველი დაშვებისთვის, რომ ასეთი ჰეტეროგენურობა უშუალოდ ტრანსმისიის პროცესს უკავშირდება.

კარგად ცნობილია, რომ ერთსა და იმავე უჯრედში შეიძლება არსებობდეს სხვადასხვა „კარგოს“ შემცველი სეკრეტორული ვეზიკულები. ექსპერიმენტული/პათოლოგიური პირობების გავლენით, უჯრედში „კარგოს“ შემცველობა შესაძლებელია შეიცვალოს (მაგალითად, წარმოდგენილ კვლევაში, ექსპერიმენტულ მასალაში ჩვენ ავღწერეთ შერეული ტიპის და გრანულარული სინაფსური ვეზიკულების შემცველი პრესინაფსური ტერმინალების მომრავლება. ლიტერატურული მონაცემების გათვალისწინებით, ჩვენ ვვარაუდობთ, რომ ასეთ ვეზიკულებში წარმოდგენილია კატექოლამინები, რომელთა აქტივაცია სტრესის ერთ-ერთი მთავარი მახასიათებელია). თავის მხრივ, ამ ფაქტმა შეიძლება განაპირობოს ერთსა და იმავე სინაფსში ან ერთი და იგივე სტრუქტურის სხვადასხვა სინაფსებში განსხვავებული ზომის პოროსომების არსებობა ანუ პოროსომას ზომა მისადაგებული უნდა იყოს სხვადასხვა კარგოს უფრო ეფექტურ ტრანსმისიასთან. სხვა ფაქტორი, რომელიც ასევე შეიძლება განაპირობებდეს ნეიროპოროსომების სტრუქტურულ ჰეტეროგენურობას, მათი მაღალდინამიური აღნაგობაა, რაც კარგად ვლინდება აღნიშნული სტრუქტურის ატომურ-მალოვანი მიკროსკოპში შესწავლის,

მისი ელექტრონული სიმკვირვის განსაზღვრის და სამ-განზომილებიანი კარტირების შემთხვევებში (Cho et al. 2010; Dresher et al. 2011). ჰეტეროგენურობას ასევე შეიძლება განსაზღვრავდეს პოროსომების სხვადასხვა კონფორმაციული მდგომარეობები - ღია, ნახევრადღია და დახურული - რომლებსაც, როგორც ზევით აღინიშნა, პოროსომას „კარი“ - მისი ცენტრალური საცობი განსაზღვრავს. ცხადია, ყოველი ასეთი დაშვების დამტკიცება/უარყოფა დამატებით კვლევებს საჭიროებს. ჩემი შედეგები არ გამორიცხავენ შესაძლებლობას, რომ პოროსომული კომპლექსის ძირითადი სტრუქტურული პარამეტრების ცვლილებებს გამოიწვევს უფრო ხანგრძლივი ჰიპოკინეტური სტრესი (ასეთი მასალა უკვე დამუშავების პროცესშია) ან ქრონიკული სტრესის სხვა მოდელი.

და ბოლოს: სავარაუდოა, რომ ექსპერიმენტული/პათოლოგიური პირობები იწვევენ ცვლილებებს პოროსომული კომპლექსის არა აღნაგობაში, არამედ მის ბიომოლეკულურ შემადგენლობაში. ამ შემთხვევაში კი, საკონტროლო და ექსპერიმენტული ცხოველებიდან გამოყოფილ იმუნოოზოლოირებულ ნეირონულ პოროსომებზე უნდა ჩატარდეს პროტეომიკების, ასევე ლიპიდომიკების ბიოქიმიური ანალიზი.

ამგვარად, მონაცემები მიუთითებენ, რომ იმ მნიშვნელოვანი დარღვევების მიუხედავად, რომლებსაც ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის აქსო-დენდრიტული სინაფსების ნაწილში იწვევს, შენარჩუნებული აღნაგობის სინაფსებში უცვლელი რჩება ნეირონტრანსმისიის უკანასკნელი სტადია/სტრუქტურას - პოროსომას ორი მთავარი მორფოლოგიური პარამეტრი: დიამეტრი და სიღრმე.

5.4. ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესი და ცვლილებები სინაფსურ ვეზიკულებში

ჩვენი კვლევის თანახმად, 90 დღიანი ჰიპოკინეტური სტრესის შედეგად, ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის იმ აქსო-დენდრიტული სინაფსების ნაწილი, რომლებსაც ერთი

შეხედვით შენარჩუნებული ჰკონდათ ნორმალური აღნაგობა (ულტრასტრუქტურის გამოკვეთილი პათოლოგია არ აღენიშნებათ), გამოვლინდა რიგი პრესინაფსური სპეციალიზაციების მორფომეტრული ცვლილებები, როგორცაა: აქტიური ზონის სარწმუნო შემცირება, პრესინაფსური ბუტონის პროფილის ფართობის სარწმუნო მატება, სინაფსური ვეზიკულების საერთო რაოდენობის და ცალკეულ ფრაქციებში გაერთიანებული ვეზიკულების (შეპირაპირებული, რეციკლირებადი და სათადარიგო) რაოდენობის სარწმუნო ზრდა, აქტიური ზონის ერთეულ სიგრძეზე შეპირაპირებული ვეზიკულების სარწმუნო მატება და ტენდენცია პრესინაფსის ფართობის ერთეულზე ვეზიკულების რაოდენობის მატებისკენ.

უკანასკნელ პერიოდში პრესინაფსური სპეციალიზაციების ალტერაციებს დიდ მნიშვნელობას ანიჭებენ და მათ ნეიროტრანსმისიის ცვლილებებს უკავშირებენ. აღსანიშნავია, რომ ასეთი ალტერაციები ვლინდებიან, როგორც ნორმაში, ასევე სხვადასხვა ექსპერიმენტული ან პათოლოგიური მდგომარეობების დროს. მაგალითად, სინაფსური სპეციალიზაციების – აქტიური ზონის, პოსტსინაფსური ტერმინალის, პოსტსინაფსური სიმკვრივის, სინაფსური ვეზიკულების საერთო რაოდენობის და ტრანსმისიისთვის მზად მყოფი ვეზიკულების ფრაქციის რაოდენობის ცვლილებები იმ ვიტრო პირობებში, ყოველგვარი ფარმაკოლოგიური ზემოქმედებების გარეშე, აღწერილია უკვე შედარებით ადრეულ შრომებში (Dobrunz LE, Stevens CF 1997; Murthy V, et all 2001). აღსანიშნავია გარკვეული კორელაცია რიგი სინაფსური სტრუქტურული კომპონენტების რაოდენობრივ მახასიათებლებს შორის, რაც ხშირად ვლინდება “ნორმალურ” მასალაში. მაგალითად, ტრანსმისიისთვის მზადმყოფი (აქტიურ ზონასთან შეპირაპირებული) ვეზიკულების რაოდენობა, ძირითადად, პოზიტურად კორელირებს აქტიური ზონის სიგრძესთან (Schikorski T, Stevens CF 1997, 2001). როგორც აღვნიშნე, ასეთი კორელაციის არსებობა ნეიროტრანსმისიის გააქტიურებას ან ნეიროტრანსმისიაში მიმდინარე სხვა სახის ალტერაციებს უნდა უკავშირდებოდეს.

ამასთანავე, თითქმის ანალოგიური ტიპის ცვლილებები აღწერილია სხვადასხვა პათოლოგიური მდგომარეობების დროს. მაგალითად, აუტოიმუნური დაავადების, ლამბერტ-იტონის მიასტენური სინდრომის დროს, მცირდება ნერვ-კუნთოვანო

ონაფსების აქტიური ზონების რაოდენობა და მცირდება მათი ზომა (Kim, Neher 1988). ასევე: აქტიური ზონის ზომის შემცირებას, სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობის დაკლებასთან პარალელურად, იწვევს ამილოიდის პრეკურსორი ცილა (Yang et al. 2005).

აღსანიშნავია, რომ პრესინაფსური სპეციალიზაციების არაერთგვაროვანი ცვლილებები დამახასიათებელია სტრესის სხვადასხვა ფორმებისთვისაც. მაგალითად: (ა) მწვავე “foot-shock” სტრესის დროს, ჰიპოკამპში, პრეფრონტალურ ქერქში და ფრონტალურ ქერქში, აღწერილია გლუტამატის გამოყოფის რეგულაციის ზრდა და ამის პარალელურად, სინაპტოსომებში შეპირაპირებული სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობის სარწმუნო მატება (Olijslagers et al., 2008; Musazzi, et al 2010; Treccani et al., 2011); (ბ) ქრონიკული შემზღუდავი (Chronic Restraint) სტრესის დროს, ჰიპოკამპის CA3 ველის მოლეკულური შრის აქსო-ხორკლოვან სინაფსებში აღინიშნა ხორკლის პოსტსინაფსური სიმკვრივის და მოცულობის ზრდა ხორკლის ზედაპირის ფართობთან მიმართებაში (Donohue et al., 2006). ჰიპოკამპის ხავსისებრი ბოჭკოების და CA3 ველის ნეირონების აპიკალური დენდრიტების დამაკავშირებელ სინაფსებში მცირდება ტრანსმისიისთვის მზადმყოფი ვეზიკულების რაოდენობა და იცვლება მათი განლაგება პრესინაფსურ ტერმინალებში: თუ ნორმაში ვეზიკულები მეტ-ნაკლებად თანაბრად არიან განაწილებული მთელ პრეტერმინალის მთელ ფართობზე, სტრესის პირობებში ისინი, ძირითადად, თავს იყრიდნენ აქტიურ ზონასთან; პარალელურად, მნიშვნელოვნად იზრდება პრესინაფსში მიტოქონდრიების მიერ დაკავებული მიტოქონდრიების ფართობი, რაც პრეტერმინალის მიერ ენერჯის ინტენსიურ მოხმარებაზე მიუთითებს (Magarinos et al; 1997). ავტორები აქტიური ზონის ზომის ცვლილებების თანხვედრას შეპირაპირებული სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობასთან, ნეიროტრანსმისიის გააქტიურებას ან დათრგუნვას უკავშირებენ.

თავში ”ლიტერატურის მიმოხილვა” დაწვრილებით აღწერილი მაქვს, რომ პრესინაფსურ ბუტონში სინაფსური ვეზიკულების სხვადასხვა ფუნქციურ კატეგორიებში გაერთიანება ეფუძნება არა მარტო მათ განსხვავებულ ლოკალიზაციას, არამედ ასევე გამოყოფის ალბათობის სხვადასხვა მახასიათებლებს (Denker A, Rizzoli S, 2010). სერიული ელექტრონული მიკროგრაფების სამგანზომილებიანი რეკონსტრუქციის და ფლუორესცენტული

მონიშვნის მეთოდების გამოყენებით, სინაფსური ვეზიკულების ასეთი განაწილება დაშვებულია, როგორც ადრეულ, ასევე უახლეს შრომებშია აღწერილი (Shepherd G, Harris K 1998; Richards et al., 2003; Chicurel Harris, 1989; Schikorski, Stevens, 2001; Branco et al., 2010; Rizzoli, 2004).

“ჰიპოკინეტურ ტვინში” მე ავლწერე სინაფსური ვეზიკულების, როგორც საერთო რაოდენობის, ასევე ცალკეულ ფრაქციებში გაერთიანებული სინაფსური ვეზიკულების სარწმუნო მატება.

როგორც აღინიშნა, სტრესის უმნიშვნელოვანესი მახასიათებელი კორტიკოსტერონის დონის გაზრდაა, რაც ნუმისებრი სხეულის ცენტრალურ ბირთვში იწვევს ჰიპერაგზნების მატებას და ამაგზნებელი ამინომჟავას – გლუტამატის ჭარბ გამოყოფას, რასაც მწვავე და ქრონიკული სტრესის დროს განვითარებულ ცვლილებებში ერთ-ერთი წამყვანი მნიშვნელობა ენიჭება (Tran et al., 2012). არ არის გამორიცხული, რომ ჩემს მიერ აღწერილი სხვადასხვა ფრაქციების ვეზიკულების რაოდენობის მატება, ნაწილობრივად მაინც, სწორედ გლუტამატის სიჭარბეს უკავშირდება. აღსანიშნავია, რომ მწვავე “foot-shock” სტრესის დროს, აღწერილია ცირკულირებადი კორტიკოტროპინის დონის ზრდა, რაც გლუკოკორტიკოიდების რეცეპტორების სტიმულაციასთან და სინაფსურ მემბრანაში პრესინაფსური შ დ -ს აკუმულაციასთან ასოცირდება (Musazzi et al., 2010). ეს უკანასკნელი კი სინაფსური ტრანსმისიის აქტივაციის პირდაპირი მანიშნებელია (Magarinos et al; 1997). სინაფსური ვეზიკულების აქტიურ ზონასთან აკუმულირება სწორედ ამ ფაქტით შეიძლება აიხსნას.

არ არის ზუსტად დადგენილი, თუ რა მექანიზმი განაპირობებს სინაფსური ვეზიკულების გადანაწილებას სხვადასხვა კლასტერებში/ფრაქციებში ან კლასტერებიდან მათ გამონთავისუფლებას. ამ საკითხთან დაკავშირებით, მხოლოდ სხვადასხვა შეხედულებები არსებობს. ერთ-ერთი მათგანია: ნერვული დაბოლოებიდან ტრანსმიტერის გამოყოფაში საკვანძო როლს პრესინაფსურ კომპარტამენტში არსებული და სინაფსურ ვეზიკულებთან ასოცირებული ფოსფოპროტეინები ასრულებენ. კერძოდ, სინაფსინ I დეფოსფორილირებულ მდგომარეობაში უზრუნველყოფს სათადარიგო ვეზიკულების დაკავშირებას (მიმაგრებას) პრესინაფსური ბუტონის ციტოჩონჩხთან. უჯრედის აქტივაციის შემდეგ, Ca^{2+} /კალმოდულინ-დამოკიდებული პროტეინკინაზა II იწვევს სინაფსინ I

ფოსფორილაციას და სათადარიგო ვეზიკულების გამონთავისუფლებას, რაც შესაძლებელს ხდის მათ მონაწილეობას ნეიროტრანსმისიაში, რასაც წინ უსწრებდეს ასეთი ვეზიკულების აკუმულაციას ორესინაფსურე მემბრანასთან (Llinas et al., 1985; Greengard et al., 1993; Ceccaldi et al., 1995; Pieribone et al 1996).

აღსანიშნავია, რომ ლიტერატურული მონაცემების მიხედვით, როგორც ნორმაში, ასევე პათოლოგიაში, პრესინაფსური სპეციალიზაციების ცვლილებები ერთმანეთთან კორელაციაშია. მაგალითად, შეპირაპირებული ვეზიკულების რაოდენობის ზრდა აქტიური ზონის სიგრძის მატებასთან ასოცირდება. ამასთანავე, ჩვენს მასალაზე შეპირაპირებული ვეზიკულების რაოდენობა მატულობდა აქტიური ზონის სიგრძის სარწმუნო შემცირების ფონზე. ჩემი კვლევის ფარგლებში ასეთი შედეგების ახსნა რთულია. კატეგორიული მსჯელობის საშუალებას არც არსებული ლიტერატურული მონაცემები მაძლევენ (აღსანიშნავია, რომ ნეიტრანსმისიის პროცესში ვეზიკულების რაოდენობის და აქტიური ზონის სიგრძის კორელაცია გაშუქებულია მხოლოდ ერთეულ შრომებში, რაც ასევე არ უწყობს ხელს სათანადო დასკვნის გამოტანას).

სინაფსის აქტიური ზონა უაღრესად ორგანიზებული, ცილების მრავალი ჯგუფებისგან შემდგარი, სუბუჯრედული სტრუქტურაა (Munc13s, RIMs, ELKS proteins, Piccolo და Bassoon, liprins-alpha). აღნიშნული ცილები პრესინაფსურ პლაზმურ მემბრანასთან ჰქმნიან აქტიური ზონის ციტომატრიქსს და კალციუმის არხებს, რომელთა ფუნქცია ნეიროტრანსმისიაში უმნიშვნელოვანესია. კერძოდ, ციტომატრიქსის ცილები მონაწილეობას იღებენ სინაფსური ვეზიკულების შეპირაპირებაში, პრაიმინგსა და სინაფსურ პლასტიურობაში (Fejtova, Gundelfinger 2006); მათი მონაწილეობა ასევე აუცილებელია აქტიური ზონის განვითარებასა და მისი უზრინველყოფისთვის (Nishimune, 2012). ვინაიდან აქტიური ზონა არ არის სტაბილური და მისი ციტომატრიქსის ზომა სწრაფ ცვლილებებს განიცდის, ვარაუდობენ, რომ ასეთი ცვლილებები სინაფსურ ტრანსმისიაზე მნიშვნელოვან გავლენას ახდენენ (Matz et al., 2010). სინაფსის ეფექტურობის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი მახასიათებელი – სინაფსში ნეიროტრანსმიტერის გამოყოფის ალბათობა (release probability) – კორელაციაშია აქტიური ზონის ციტომატრიქსის იმ მოცულობა/რაოდენობასთან, რომელიც უშუალოდ აქტიურ ზონასთან არის

განლაგებული. ყველაზე მარტივი მოდელი, რომელიც ასახავს ვეზიკულების ტრანსმისიისთვის მზადყოფი ვეზიკულების ფრაქციის (RRP) ზომის, გამოყოფის ალბათობის და აქტიური ზონის ციტომატრიქსის ურთიერთდამოკიდებულებას, გულისხმობს, რომ ასეთი ფრაქციის ზომა და მასში შემავალი ვეზიკულების გამოყოფის ალბათობა კორელაციაშია ციტომატრიქსის რაოდენობასთან, რაც განსაზღვრავს ნეიროტრანსმისიის პარამეტრებს (Murthy et al.2001). ჩემს შემთხვევაში აქტიური ზონის და სინაფსური ვეზიკულების მორფომეტრიული მახასიათებლების რაიმე სახის კორელაციაზე საუბარი ზედმეტია, ვინაიდან არ იყო განსაზღვრული არც კორელაციის კოეფიციენტი და არც აქტიური ზონის მოცულობა. ამიტომ შემიძლია მხოლოდ ვივარაუდო, რომ აქტიური ზონის სიგრძის ცვლილებები დაკავშირებულია ციტომატრიქსის შესაძლო ალტერაციებთან. აღნიშნულ კვლევაში მხოლოდ ფაქტის კონსტატაციით (შეპირაპირებული სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობის მომატება აქტიური ზონის სიგრძის შემცირების ფონზე ხდება) შემოვიფარგლე. ამასთანავე, ცალკე კვლევის საგანია, თუ როგორ და რატომ ხდება აქტიური ზონის შემცირება ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის სინაფსებში 90–დღიანი ქრონიკული სტრესის გავლენით. იმის გათვალისწინებით, რომ აქტიური ზონის ცვლილებები ერთ-ერთი გავლენით მთავარი მექანიზმი უნდა იყოს ტრანსმისიის ალბათობის და სინაფსური ძალის სინაფს–სპეციფიურ რეგულაციაში, მისი შემდგომი შესწავლა სხვადასხვა მიდგომებით უმნიშვნელოვანესია. ამასთანავე არ არის გამორიცხული, რომ ნეიროტრანსმისიის პროცესში წამყვანი მნიშვნელობა, შეპირაპირებული სინაფსური ვეზიკულების რაოდენობის პარალელურად, ენიჭება არა აქტიური ზონის სიგრძეს, არამედ აქტიური ზონის მოცულობის მატებას, მით უფრო, რომ ჩემს მასალაში (თავი “სინაფსების ულტრასტრუქტურული ცვლილებები) ავლწერე სინაფსური მემბრანების ოსმიოფილის გამოკვეთილი და არაერთგვაროვანი ცვლილებები: როგორც მატება, ასევე შემცირება. აქვე მინდა კიდევ ერთხელ გავიხსენო ზევით მოყვანილი ლიტერატურული მონაცემები, რომელთა თანახმად, ცენტრალური ნერვული სისტემის სხვადასხვა დაავადებების და დარღვევების დროს, სინაფსურ ტრანსმისიაში მიმდინარე ცვლილებების პარალელურად, აღწერილია სინაფსური ზონის ოსმიოფილის (და არა სიგრძის) სარწმუნო მატება.

ზემოთ მოყვანილი შედეგებიდან გამომდინარე, ქრონიკული ჰიპოკინეტური სტრესის საპასუხოდ, ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის პრესინაფსური ტერმინალის – უნიკალური ფუნქციის და სტრუქტურის მქონე მიკროანატომიური ერთეულის ხტრუქტურული კომპონენტები გამოხატულ პლასტიურობას ავლენენ. ანალოგიური პლასტიურობა ნაჩვენებია სხვა პათოლოგიების დროსაც. თუ რა მექანიზმები უდევს საფუძვლად ასეთ პლასტიურობას, დღესდღეობით ზუსტად ცნობილი არ არის. ამ ეტაპზე მეცნიერები, ძირითადად, მხოლოდ ფაქტების შეგროვებით და მოსაზრებების გამოთქმით იფარგლებიან. მაგრამ ბუნებრივია, ყოველ კონკრეტულ შემთხვევაში გათვალისწინებული უნდა იყოს საკვლევი სტრუქტურის კავშირები, მისი ციტოარქიტექტონიკა, მათი მოლეკულური, ბიოქიმიური და სხვა მახასიათებლები და აღნიშნულ მახასიათებლებზე სხვადასხვა ფაქტორების – ჩვენს შემთხვევაში, სტრეს-ფაქტორის – შესაძლო გავლენა.

Abstract

The effect of chronic hypokinetic stress on the structure of synapses in the rat central nucleus of amygdala was investigated. Adult male Wistar rats (90-95 days old) were used. Experimental rats were kept for 90 days in individual Plexiglas cages. Cage dimensions of 25 x 20 x 25 centimeters allowed movements to be restricted in all directions without food and hindering food and water consumption. Five, age-matched control rats were kept in ordinary vivarium conditions. After 90 days animals were perfused, the brains were removed from skull and after conventional procedures were examined under electron microscopes JEM 100 C (JEOL Japan), HF 3 300 (Hitachi, Japan) and TESLA BS 500 (Czechoslovakia). *In the first series of studies* I described qualitative alterations of synapses. Specifically, in experimental brain several significant pathological alterations, like agglutination of synaptic vesicles, the presence of myelin- or membrane-like bodies in pre-and postsynaptic regions, the destruction of presynaptic mitochondria, synapses with single synaptic vesicles, located predominantly at the distance from active zone were found. In such synapses abnormal synaptic transmission should take place. In addition, dark bodies partly engulfed with astroglial processes, which could be considered as remains of degenerated presynaptic terminals were observed. Moreover synaptic terminals with granular vesicles, which could be considered as catecholaminergic, were described.

In the second series the main structural parameters of porosome – its diameter and depth – were measured. First, for to confirm the quantitative parameters of porosome I performed atomic force microscopic analysis of porosome in normal brain.

Morphometric analysis point out the heterogeneity of porosome dimensions in normal and pathological brain but this heterogeneity remain unchanged in pathological states. In this study I point out to different causes that may provoke such heterogeneity. Besides, these studies demonstrate for the first time that despite alterations in the presynaptic terminal structure and synaptic transmission provoked by chronic hypokinetic stress in the limbic region, the gross morphology of porosome is unaffected. These results do not however rule out possible changes composition of the porosome complex following stress. Furthermore, longer period of stress may elicit changes in the neuronal porosome complex, which remains to be established. Therefore, we plan to carry out stress studies for longer duration, and do

determine both morphometric and biochemical changes that may occur in neuronal porosomes following stress. Biochemical assays involving both proteomics and lipidomics will be carried out using immunisolated neuronal porosome complexes obtained from control and experimental animals following stress.

In the third series of studies the effect of chronic stress on the number of synaptic vesicles, area of presynaptic terminals, localization of vesicles in different fractions and length of active zone were investigated. The significant increase of total number of synaptic vesicles, the number of vesicles in different zones (vesicles that differ by localization and properties of transmission), the increase of area of presynaptic terminals and the decrease of the length of active zone were identified. In all such synapses alterations in synaptic transmission could take place. In my research I discuss different possibilities, causes and possible results of such changes.

In total, such modifications could be considered as a structural bases for a number of disorders of emotional character that are developed in the organism as a result of chronic stress.

აბსტრაქტი

ჩვენს მიერ გამოკვლეული იყო ქრონიკული ჰიპოკინეზიის გავლენა ვირთაგვების ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური ბირთვის აქსო-დენდრიტული სინაფსების სტრუქტურაზე. საცდელ ობიექტად გამოვიყენეთ Wistar-ის ტიპის მამრი ვირთაგვები (90-95 დღე). საცდელი ცხოველები მოთავსებული იყო 25 x 20 x 25 ზომების მქონე პლექსიგლასის ცალკეულ გალიებში, სადაც ცხოველის მოძრაობა შეზღუდული იყო ყველა მიმართულებით. საკვები და წყალი მიეწოდებოდათ შეუფერხებლად. საკონტროლო ცხოველები იმყოფებოდნენ ჩვეულებრივ ვივარიულ პირობებში. 90 დღიანი სტრესის შემდეგ ცხოველების თავის ტვინი შესწავლილი იყო ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპიის მეთოდით.

კვლევების პირველ სერიაში აღწერილ იქნა სინაფსების პათოლოგიური ცვლილებები: სინაფსური ვეზიკულების აგლუტინაცია, პრე - და პოსტსინაპსში მიელინის და მემბრანული ჩანართების არსებობა, პრესინაფსებში მიტოქონდრიის დესტრუქცია, პრესინაფსური ტერმინალების გადაგვარება, გრანულარული ვეზიკულების შემცველი სინაფსური ტერმინალები, რომლებიც განიხილება როგორც კატექოლამინერგული.

კვლევების მეორე სერიაში გაზომილი იქნა პოროსომის ძირითადი სტრუქტურული პარამეტრები - დიამეტრი და სიღრმე. ნორმალურ ტვინში პოროსომების რაოდენობრივი პარამეტრების სიდიდის დასადასტურებლად, გამოყენებული იყო ატომურ - ძალოვანი მიკროსკოპია. მორფომეტრული ანალიზის შედეგად აღწერილ იქნა პოროსომების ზომების მსგავსი ჰეტეროგენულობა ნორმასა და პათოლოგიის დროს, თუმცა სავსებით მოსალოდნელია მათ შორის ცვლილებების არსებობა გამოვლინდეს უფრო ხანგრძლივი სტრესის პირობებში. ასეთი ტიპის კვლევები სხვადასხვა მეთოდების გამოყენებით (მორფომეტრია, პროტეომიკი და ლიპიდომიკი) დაგეგმილია მომავალში, ექსპერიმენტულ და საკონტროლო ცხოველებიდან მიღებულ იმუნოიზოლირებულ ნეირონულ პოროსომებზე.

კვლევების მესამე სერიაში შესწავლილ იქნა ქრონიკული სტრესის ზეგავლენა პრესინაპსში ვეზიკულების საერთო რაოდენობაზე, პრესინაპსური ტერმინალის ფართობზე, ვეზიკულების რიცხვზე ცალკეულ ფრაქციებში და აქტიური ზონის

სიგრძეზე. კვლევების შედეგად დადგენილი იყო სინაფსური ვეზიკულების მომატება მთელ პრესინაფსურ ტერმინალსა და ცალკეულ ფრაქციებში, პრესინაფსური ტერმინალების ფართობის ზრდა, აქტიური ზონის სიგრძის შემცირება. დისერტაციაში განხილული იქნა აღნიშნული ცვლილებების შესაძლო მექანიზმები, მიზეზები და მოსალოდნელი შედეგები. არ არის გამორიცხული, რომ აღნიშნული ცვლილებები უკავშირდებოდეს ქრონიკული სტრესის დროს, ორგანიზმის ემოციური ხასიათის დარღვევებს.

6. გამოყენებული ლიტერატურა:

A

- Agassandian K, Cassell MD. Colocalization of caldesmon and calponin with cortical afferents, metabotropic glutamate and neurotrophic receptors in the lateral and central nuclei of the amygdala. *Brain Res.* 2008, 1226, 39-55.
- Albillos A, Dernick G, Horstmann H, Almers W, Alvarez de Toledo G, Lindau M. The exocytotic event in chromaffin cells revealed by patch amperometry. *Nature* 1997, 389, 509-512.
- Alcantara-Gonzales F, Juarez I, Solis O, Martinez-Tellez I, Camacho-Albergo I, Maskiah E, Mena R, Flores G. Enhanced dendritic spine number of neurons of the prefrontal cortex, hippocampus, and nucleus accumbens in old rats after chronic donepezil administration. *Synapse*, 2010. 64, 10, 786-793.
- Allison DP, Doktyez MJ. Cell Secretion Studies by Force Microscopy, *J. Cell Mol. Med.*, 2006, vol. 10, pp. 847-856.
- Anderson, LL, Cell Secretion Finally Sees the Light, *J. Cell Mol. Med.*, 2006, vol. 10, pp. 270-272.
- Armario A. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis: what can it tell us about stressors? *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2006, 5, 5, 485-501.

B

- Beckerman MA, Van kemoen TA, Justice NJ, Milner TA, Glass MJ. Corticotropin-releasing factor in the mouse central nucleus of the amygdala: ultrastructural distribution in NMDA-NR1 receptor subunit expressing neurons as well as projection neurons to the bed nucleus of the stria terminalis *Exp. Neurol.* 2012, 239 C, 12-132
- Beetz A, Uvnas-Moberg K, Julius H, Kotrschal K. Psychosocial and psychophysiological effects of human-animal interactions: the possible role of oxytocin. *Front Psychol.* 2012, 3, 234, Epub 2012 Jul 9
- Beretta S. Cortico-amygdala circuits: role in the conditioned stress response. *Stress* 2005, 8, 4, 221-232.
- Birks R, MacIntosh FC. Acetylcholine metabolism of a sympathetic ganglion. *Canad. J. Biochem. Physiol.* 1961, 39, 787-827.
- Bokhorov VO, Cheresarov L, Lazarov I. Effect of prolonged hypo- or hyperkinesia on the cAMP content in the liver, brain and muscles. *Vet Med Nauki* 1984, 21, 3 86-90.
- Branco T, Marra V, Staras K: Examining size-strength relationships at hippocampal synapses using an ultrastructural measurement of synaptic release probability. *J Struct Biol* 2010, 172:203-210. 72.
- Bruijnzeel AW, Ford J, Rogers JA, Scheick S, Ji Y, Bishnoi M, Alexander JC. Blockade of CRF1 receptors in the central nucleus of the amygdala attenuates the dysphoria associated with nicotine withdrawal in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2012, 101, 1, 62-68.
- Bryan CJ, Clemans TA, Hernandez AM, David Rudd M. Loss of consciousness, depression, posttraumatic stress disorder and suicide risk among deployed military personnel with mild traumatic brain injury. *J. head Trauma Rehabil* 2012 Oct 16 (Epub ahead of print)

C

- Campeau S, Davis M. Involvement of the Central Nucleus and Basolateral Complex of the Amygdala in Fear Conditioning Measured with Fear-Potentiated Startle in Rats Trained Concurrently with Auditory and Visual Conditioned Stimuli. *The Journal of Neuroscience*, 1995, 15, 3, 2301-2311.
- Cannon WB. *The Wisdom of the body*. New York, W.W. Norton, 1939.
- Carrasco J, Márquez C, Nadal R, Tobeña A, Fernández-Teruel A, Armario A. Characterization of central and peripheral components of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in the inbred Roman rat strains. *Psychoneuroendocrinology* 2008, 33, 4, 437-445.
- Carasco GA, Van der Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. *European Journal of Pharmacology* 2003, 453, 235-272.
- Carter RN, Pinnock SB, Herbert J. 2004. Does the amygdala modulate adaptation to repeated stress? *Neuroscience* 126 (9), 9-19.
- Carter RN, Pinnock SB, Herbert J. 2004. Does the amygdala modulate adaptation to repeated stress? *Neuroscience* 126 (9), 9-19.
- Cavanaugh BL, Lonstein IS. Androgenic and oestrogenic influences on tyrosine hydroxylase-immunoreactive cells of the medial amygdala and bed nucleus of the stria terminalis. *J. Neuroendocrinology* 2010, 22, 4, 217-225.
- Ceccaldi, P. E., Grohovaz, F., Benfenati, F., Chiergatti, E., Greengard, P. & Valtorta, F. Dephosphorylated synapsin I anchors synaptic vesicles to actin cytoskeleton: an analysis by videomicroscopy. (1995) *J. Cell Biol.* 128, 905-912;
- Ceccarelli B, Hurlbut WP, Mauro A. Turnover of transmitter and synaptic vesicles at the frog neuromuscular junction. *J. Cell Biol.* 1973, 57, 499-524.
- Chen Y, Brunson KL, Adelman G, Bender RA, Frotscher M, Baram TZ. Releasing hormone: pre- and postsynaptic location and release by stress. *Mol Psychiatry* 2009, 14, 1, 37-50.
- Chen Y, Brunson KL, Adelman G, Bender RA, Frotscher M, Baram TZ. Hippocampal corticotropin releasing hormone: pre- and postsynaptic location and release by stress. *Proc. Natl. Acad Sci USA* 2010, 107, 29, 13123-13128.
- Chen, Z-H., Lee, J-S., Shin, L., Cho, W-J., Jena, B. P. (2011) Involvement of β -adrenergic receptor in synaptic vesicle swelling and implication in neurotransmitter release. *J. Cell. Mol. Med.* 15(3):572-576.
- Chen Y, Rex ChS, Rice CJ, Dube CM, Gall ChM, Lynch G, Baram TZ. Correlated memory defects and hippocampal dendritic spine loss after acute stress involve corticotropin-releasing hormone signaling. *J. Neuroendocrinology* 2010, 22, 2, 92-101.
- Cheresharov L. Konstantinov N. Changes in the elastic fibers of the skin in rats after long-term motor loading and immobilization. *Vet Med Nauki* 1984, 21, 3, 86-90.
- Cheresharov L, Piperova L, Lazarov I. Lipid composition of the brain in rats after prolonged hypokinesia. *Vet. Med. Nauki*, 1982, 19, 8, 88-91.
- Cheresharov L., Toshkova S, Bozhjov S, Lazarov I. Ultrastructural changes in the reorptive epithelial cells of the small intestine in rats during increased motor activity and immobilization. *Vet. Med. Nauki* 1982, 18, 6, 65-75.
- Chicurel ME, Harris KM: Serial electron microscopy of CA3 dendritic spines synapsing with mossy fibers of rat hippocampus. *Soc Neurosci Abs* 1989, 15:25668
- Cho, W.J., Jeremic, A., Rognlien, K.T., Zhvania, M.G., Lazrshvili, I., Tamar, B., and Jena, B.P., Structure, Isolation, Composition and Reconstitution of the Neuronal Fusion Pore, *Cell Biol. Int.*, 2004, vol. 28, pp. 699-708.
- Cho WJ, Lee J-S, Jena BP. Conformational states of the neuronal porosome complex. *Cell Biol Inetrnaational* 2010, 34, 1129-1132.
- Cho WJ, Lee J-S, Ren G, Zhang L, Shin L, Manke CW, Potoff J, Kotaria N, Zhvania MG, Jena BP. Membrane-directed molecular assembly of the neuronal SNARE complex. *J Cell Mol Med* 2011, 15:31-37.

- Cho WJ, Shin L, Ren G, Jena BP Structure of membrane-associated neuronal SNARE complex: Implication in neurotransmitter release. *J Cell Mol Med* 2009;13:4161-65.
- Choi DC, Furay AR, Evanson NK, Ostrander MM, Ulrich-lai YM, Herman JP. Bed nucleus of the stria terminalis subregions differentially regulate hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: implication of limbic inputs. *Neurosci.* 2007, 27, 8, 2025-2034.
- Christoffel DJ, Golden SA, Russo S. Structural and synaptic plasticity in stress-related disorders. *Neuroscience* 2004, 126, 3 533-540.
- Christoffel DJ, Golden SA, Russo S. Structural and synaptic plasticity in stress-related disorders. *Rev. Neurosci.* 2011, 22, 5, 535-549.
- Chrousos GP, Harris AG. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis suppression and inhaled corticosteroid therapy. 1. General principles. *Neuroimmunomodulation.* 1998, 5, 6 277-287.
- Chrousos GP, Harris AG. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis suppression and inhaled corticosteroid therapy. II. Review of the literature. *Neuroimmunomodulation* 1998, 5, 6, 288-308.
- Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nature Reviews Endocrinology* 2009, 5, 374-381.
- Chrousos GP, Licinio J, Gold PW. In memoriam: Wylie Walker Vale, Jr. *Mol Psychiatry* 2012, 17, 11, 1052-1053.
- Clarke GL, Chen J, Nishimune H. *Front Mol Neurosci.* 2012;5:12. doi: 10.3389/fnmol.2012. Presynaptic Active Zone Density during Development and Synaptic Plasticity.
- Cook CJ. Stress induces CRF release in the paraventricular nucleus and both CRF and GABA release in the amygdala. *Physiol. Behav.* 2004, 82, 751-762.
- Cooke BM. Steroid-dependent plasticity in the medial amygdala. *Neuroscience* 2006, 138, 6, 887-105.

D

- Davis M, Rainnie D and Casell M. 1994. Neurotransmission in the rat amygdala related to fear and anxiety. *Trends Neurosc.* 17:208-214;
- De Jesus-Burgos M, Torres-Llenza V, Perez-Acevedo NL. Activation of amygdalar metabotropic glutamate receptors modulates anxiety and risk assessment behaviors in ovariectomized estradiol-treated female rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2012, 1101, 3, 369-378.
- Delgado R, Maureira C., Oliva C., Kidokoro Y, Labarca P. Size of vesicle pools, rates of mobilization, and recycling at neuromuscular synapses of a *Drosophila* mutant, shibire. *Neuron* 2000, 28, 941-953.
- Denker A, Rizzoli SO: Synaptic vesicle pools: an update. *Front Synaptic Neurosci* 2010, 2:135.
- Djordjevic A, Djordjevic J, Elakovic I, Adzic M, Matic C, Radojic MB. Effects of fluoxetine on plasticity and apoptosis evoked by chronic stress in rat prefrontal cortex. *Eur. J. Pharmacol.* 2012, Oct 15; 693(1-3):37-44. doi: 10.1016/j.ejphar.2012.07.042. Epub 2012 Aug 21.
- Dobrunz LE, Stevens CF (1997) Heterogeneity of release probability, facilitation, and depletion at central synapses. *Neuron* 18:995-1008;
- Dong YL, Fukazawa Y, Wang W, Kamasawa N, Shigemoto R. Differential postsynaptic compartments in the laterocapsular division of the central nucleus of amygdala for afferents from the parabrachial nucleus and the basolateral nucleus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology* 2010, 518, 23, 4771-4791.
- Donohue HS, Gabbott PL, Davies HA, Rodríguez JJ, Cordero MI, Sandi C, Medvedev NI, Popov VI, Colyer FM, Peddie CJ, Stewart MG. Chronic restraint stress induces changes in synapse morphology in stratum lacunosum-moleculare CA1 rat hippocampus: a stereological and three-dimensional ultrastructural study. *Neuroscience*, 2006, 140, 2, 597-606.

- Dresbach T, Qualmann B, Kessels MM, Garner CC, Gundelfinger ED. The presynaptic cytomatrix of brain synapses. *Cell Mol Life Sci* 2010, 58, 994-116.

E

- Elmqvist D, Quastel DM, A Quantitative study of endplate potentials in isolated human muscle. *J. Physiol.* 1965, 178, 505-529

F

- Fejtova A, Gundelfinger ED, Molecular organization and assembly of the presynaptic active zone of neurotransmitter release. *Results Probl Cell Differ.* 2006;43:49-68.
- Felmi F, Neher E, Schneggenburger R. Probing the intracellular calcium sensitivity of transmitter release during synaptic facilitation. *Neuron* 2003, 37, 801-811.
- Felmi F, Neher E. Schneggenburger R. The timing of phasic transmitter release is Ca²⁺-dependent and lacks a direct influence of presynaptic membrane potential. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2003, 100, 15200-15205.
- Flandreau HI, Ressler KJ, Owens MJ, Nemeroff CB. Chronic overexpression of corticotropin-releasing factor from the central amygdala produces HPA axis hyperactivity and behavioral anxiety associated with gene-expression changes in the hippocampus and paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Psychoneuroendocrinology* 2012, 37, 1, 27-38.
- Fox GQ. A morphometric analysis of synaptic vesicle distribution. *Brain Res.* 1988, 475, 1, 103-117.

G

- Gafford GM, Gun JD, Flandreau EI, Hazra R, Rainnie DG, Ressler KJ. Cell-type specific depletion of GABA(A) alpha 1 in corticotropin-releasing factor-containing neurons enhances anxiety and disrupts fear extinction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2012, 109, 40, 16330-16335.
- Ghizoni DM, Pavanati KC, Arent AM, Machado C, Faria NS, Pinto CM, Gasparotto OC, Goncalves S, Dafre AL. Alterations in glutathione levels of brain structures caused by acute restraint stress and by nitric oxide synthase inhibition but not by intraspecific agonistic interaction. *Behave. Brain Res.* 2006, 166, 1, 71-77.
- Goldshtein DS. Catecholamines and stress. *Endocrine Regulations*, 2003, 37, 69-80.
- Goldstein DS. Stress, allostatic load, catecholamines, and other neurotransmitters in neurodegenerative diseases. *Cell Mol Neurobiol.* 2012 32, 5, 661-667.
- Goldstein DS, McEwen B. Allostasis, homeostats and the nature of stress. *Stress* 2002, 5, 1, 55-58.
- Goldwater DS, Pavlides C, Hanter RG, Bloss EB, Hof OP, McEwen BS, Morrison JH. Structural and functional alterations to rat medial prefrontal cortex following chronic restraint stress and recovery. *Neuroscience*, 2009, 164, 2, 798-808.
- Gray TS, Bingham EW. The amygdala: corticotropin-releasing factor, steroids and stress. *Crit. Rev. Neurobiol.* 1996, 10, 2, 155-168.
- Gray M, Bingham B, Viau V. A comparison of two repeated restraint stress. Paradigm n hypothalamic-pituitary-adrenal axis habituation, gonadal status and central neuropeptide expression in adult male rats. *Neuroscience*, 2004, 126, 3, 533-540.

- Guanhchen Ji, Neugebauer V. Reactive oxygen species are involved in Group 1 mGluR-mediated facilitation of nociceptive processing in amygdala neurons. *J. Neurophysiol.* 2010, 104, 1 218-229.
- Guttierrez-Mariscal M, Sanchez E, Garcia-Vazquez A, Rebolledo-Solleiro D, Charli JL, Joseph-Bravo P. Acute response of hypophysiotropic thyrotropin releasing hormone neurons and thyrotropin release to behavioral paradigms producing varying intensities of stress and physical activity. *Regul. Pept.* 2012, 179, 1-3, 61-70.

H

- Hanse E, Gustafsson B. Vesicle release probability and pre-primed pool at glutamatergic synapses in area CA1 of the rat neonatal hippocampus. *J. Physiol. (Lond.)* 2001, 531, 481-493.
- Hanse E, Gustafsson B. Paired-pulse plasticity at the single release site level: an experimental and computational study. *J. Neurosci.* 2001, 21, 8362-8369.
- Hanse, E, Gustafsson B. Release dependence to a paired stimulus at a synaptic release site with a small variable pool of immediately releasable vesicles. *J. Neurosci.* 2002, 22, 4381-4387.
- Harris, K. M. & Sultan, P. Variation in the number, location and size of synaptic vesicles provides an anatomical basis for the nonuniform probability of release at hippocampal A1 synapses. *Neuropharmacology* 1995, 34, 1387-1395.
- Heidelberger R, Heinemann C, Neher E, Matthews G. Calcium dependence of the rate of exocytosis in a synaptic terminal. *Nature* 1994. 371, 513-515.
- Herman JP, Ostander MM, Mueller NK, Figueiredo H. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2005, 29, 8, 1201-1213
- Heuser JE, Reese TS. Evidence for recycling of synaptic vesicle membrane during transmitter release at the frog neuromuscular junction. *J. Cell Biol.* 1973, 57, 315-344.
- Honkaniemi J, Peltro_Huikko M, Rechartd L, Isola J, Lammi A, Fuxe K, Gustafsson JA, Wikstrom AC, Hokfelt T. Colocalization of peptide and glucocorticoid receptor immunoreactivities in rat central amygdaloid nucleus. *Neuroendocrinology* 1992, 55, 4, 451-459.
- Hsu DT, Chen FL, Takahashi LK, Kalin NH. Rapid stress-induced elevation in corticotropin-releasing hormone mRNA in rat central amygdala nucleus and hypothalamic paraventricular nucleus: an in situ hybridization analysis. *Brain Res.* 1998, 788, 1, 305-310.
- Humeau Y., Herry C., Kemp N., Shaban H., Fourcaudot E., Bissiere S., Luthi A. (2005). Dendritic spine heterogeneity determines afferent-specific Hebbian plasticity in the amygdala. *Neuron* 45, 119-131.

I

- Imaki T, Shibasaki T, Chikada N, Harada S, Naruse M, Demura H. Different expression of immediate-early genes in the rat paraventricular nucleus induced by stress relation to corticotrophin-releasing factor gene transcription. *Endocr. J.* 1996, 43, 6, 629-638.

- Iwasaki-Sekino M, Mano-Otagiri A, Ohata H, Yamauchi N, Shibasaki T. Gender differences in corticotropin and corticosterone secretion and corticotropin-releasing factor mRNA expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and the central nucleus of the amygdala in response to footshock stress or psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrinology* 2009, 34, 2, 226-237

J

- Janitzky K, Schwegler H, Krober A, Roskoden T, Yaagawa Y, Linke R. Species-relevant inescapable stress differentially influences memory consolidation and retrieval of mice in a spatial radial arm maze. *Behav. Brain Res.* 2011, 219, 1, 142-148.
- Japaridze N, Okuneva V, Qsovreli M, Surmava A, Lordkipanidze TG, Kiladze MT, Zhvania MG. Hypokinetis stress and neuronal orosome complex in the rat brain: the electron microscopic study. *Micron* 2012.
- Jena, B.P., Porosome: The Universal Molecular Machinery for Cell Secretion, *Mol. Cells.*, 2008, vol. 26, pp. 517–529.
- Jena BP. Porosome: the secretory portal oin cells. *Biochemistry* 2009, 48, 19, 4009-4018.
- Jena BP. Secretory vesicles transiently dock and fuse at the porosome to discharge contents during cell secretion. *Cell Biol Int.* 2009, 34, 1, 3-12.
- Jena BP. 2010
- Jena BP. 2011
- Jena BP. 2012
- Jena BP, Cho SJ, Jeremic A, Stromer MH, Abu-Hamdah R. Structure and composition of the fusion pore. *Biophys J* 2003; 84:1-7.
- Jeremic A. Cell secretion: an update. *J. Cell Mol Med.* 2008, 12, 4, 1151-1154.
- Jeremic A, Kelly M, Cho SJ, Stromer MH, Jena BP. Reconstituted Fusion Pore, *Biophys. J.*, 2003, vol. 85, pp. 2035–2043.
- Johnson LR, Hou M, prager EM, LeDox JE. Regulation of the fear etwork by mediators of stress: norepinephrine alters the balance between cortical and subcortical afferent excitation of the lateral amygdala. *Front Behav Neurosci.* 2011; 5: 23

K

- Keen-Rhinehart E, Michopoulos V, Toufexis DJ, Martin EI, Nair H, Ressler KJ, Davis M. Continuous expression of corticotropin-releasong factor in the central nucleus of amygdala emulates the dysregulation of the stress and reproductive axes.
- Kim Y. I., Neher E., 1988, IgG from patients with Lambert-Eaton syndrome blocks voltage-dependent calcium channels. *Science* 239, 405–408. doi: 10.1126/science.2447652.
- Kolik LG, Gudasheva TA, Seredenin SB. Role of cholecystokinin System in anxyolytic activity of dipeptide GB-115. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2012, 153, 6, 851-854.
- Krugers HJ, Lucassen PJ, Karst H, Joels M. Chronic stress effects on hippocampal structure and synaptic function: relevance for depression and normalization by anti-glucocorticoid treatment. *Front Synaptic Neurosci.* 2010, 12, 2, 24.
- Kumsta R, Heinrichs M. Oxytocin, stress and social behavior: neurogenetics of the human oxytocin system. *Current Opinion in Neurobiology* 2012, Oct 3. doi:pii: S0959-4388(12),146-148. 10.1016/j.conb.2012.09.004. [Epub ahead of print]
- Kunchulia M, Bolkvadze T, Zhvania M, Kotaria N, Kiladze M. Effects of oxytocin on behavior and memory of rats subjected to chronic restraint stress. *Georgian Med News* 2010, 187, 56-60.

- Kuromi Y, Kidoroko Y. Two distinct pools of synaptic vesicles in single presynaptic boutons in a temperature sensitive *Drosophila* mutant shibire. *Neuron* 1998, 20, 917-925.
- Kuromi H, Kidoroko Y. The optically determined size of exo/endo cycling vesicle pool correlates with the quantal content at the neuromuscular junction of *Drosophila* larvae. *J. Neurosci.* 1999, 19, 1557-1565.
- Kuromi H, Kidokoro Y. Tetanic stimulation recruits vesicles from reserve pool via a cAMP-mediated process in *Drosophila* synapses. *Neuron* 2000, 27, 133-143.
- Kuromi H, Kidokoro Y. Selective replenishment of two vesicle pools depends on the source of Ca²⁺ at the *Drosophila* synapse. *Neuron* 2002, 35, 333-343.

L

- Lee J-S, Cho W-J, Jeftiniya K, Jeftinija S, Jena BP. Porosome in astrocytes. *Journal of Cellular and Molecular Medicine.* 2009, 13, 365-372.
- Lee, J-S., Jeremic, A., Shin, L., Cho, WJ., Chen, X., Jena, B.P. (2012) Neuronal Porosome proteome: Molecular dynamics and architecture. *Journal of Proteomics* 75:3952-3962.
- Le Doux JE 2000. Emotion circuits in the brain. *Annu.Rev. Neurosci.* 23:155-184
- Lightman SL, Harbuz MS. Expression of corticotrophin-releasing factor mRNA in response to stress. *Ciba Found Symp.* 1993, 172, 173-187. discussion 187-198.
- Liu CC, Shi C-Q, Franaszczuk PJ, Crone D, Schretlen D, Ohara S, Lenz FA. Painful laser stimuli induce directed functional interactions within and between the human amygdala and hippocampus. *Neuroscience*, 2011, 31, 178, 208-217.
- Llinas, R., McGuinness, T. L., Leonard, C. S., Sugimori, M. & Greengard Intraterminal injection of synapsin I or calcium/calmodulin-dependent protein kinase II alters neurotransmitter release at the squid giant synapse., P. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 3035-3039;

M

- Magarinos AM, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *J. Neurosci.* 1996, 16, 10, 3534-3540.
- Magarinos AM, Verdugo JM, McEwen BS. Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997, 94, 14002-14008.
- Magarinos AM, Verdugo JM, McEwen BS. Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005, 29, 8, 1201-1213.
- Marcinkiewicz CA, Prado MM, Isaac SK, Marshall A, Rylkova D, Bruijnzeel AW. Corticotropin-releasing factor in the central nucleus of amygdala and the nucleus accumbens mediates the negative affective state of nicotine withdrawal in rats. *Neuropsychopharmacology* 2009, 34, 7, 1743-1752.
- Matz J, Gilyan A, Kolar A, McCarvi TL, and Stefan R. Krueger, Rapid structural alterations of the active zone lead to sustained changes in neurotransmitter release 8836-8841, *PNAS*, May 11, 2010, vol. 107, no. 19.
- McDougal SJ, Paull JRA, Widdop RE, Lawrence AJ. Restraint stress: differential cardiovascular responses in Wistar-Kyoto and spontaneously hypersensitive rats. *Hypertension*, 2000, 35, 1, Pt 1, 126-120.

- Milanese K, Sager JJ, Bai Q, Farrell TC, Cannon JR, Greenamyre JT, Burton EA. Hypokinesia and reduced dopamine levels in zebrafish lacking beta- and gamma 1- synucleins. *J. Biol. Chem.* 2012, 287, 5, 297-283.
- Minami M. Neuronal mechanisms underlying pain-induced negative emotions. *Vrain nerve* 2012, 64, 11, 1241-1247.
- Monje FJ, Kim EJ, Cabatic M, Lubec G, Herkner KR, Pollak DD. A role for glucocorticoid-signaling in depression-like behavior of gastrin-releasing peptide receptor knock-out mice. *Ann Med.* 2011, 43, 5, 389-402.
- Morilak DA, Barrera G, Echevarria DJ, Garcia AS, Hernandez A, Ma S, Petre CO. Role of brain norepinephrine in the behavioral response to stress. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005, 29, 8, 1214-1224.
- Musazzi L, Milanese M, Farisello P, Zappettini S, Tardito D, Barbier S, Bonifacinoz T, Mallei A, Baldelli P, Racagi G, Raiteri M, benfenati F, Bonnano G, Popoli M. Acute Stress Increases Depolarization-Evoked Glutamate Release in the Rat Prefrontal/Frontal Cortex: The Dampening Action of Antidepressants. 2010, *Plos One* 5, 1, e8566
- Murthy VN, Schikorski T, Stevens CF, Zhu Y (2001) Inactivity produces increases in neurotransmitter release and synapse size. *Neuron* 32:673–682).
- Myers B, Greenwood-Van Meerveld B. Elevated corticosterone in the amygdala leads to persistent increases in anxiety-like behavior and pain sensitivity. *Behavioural Brain Research* 2010;214:465–9;

N

- Nayanatara AK, Tripathi Y, Nagaraja HS, Jeganathan PS, Ramaswamy C, Ganaraja B, Asha Kamath. The involvement of amygdala nucleus in chronic stress induced changes on ingestive behavior of Wistar rats. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology.* 2011, 2, 3.
- Neher E. Vesicle pools and Ca²⁺ microdomains: new tools for understanding their roles in neurotransmitter release. *Neuron* 1998, 20, 389–399.
- Neugebauer V. The amygdala; diferent pains, different mechanisms. *Pain* 2007, 127, 1-2.
- Neumann ID, Landgraf R. Balance of brain oxytocin and vasopressin: implications for anxiety, depression, and social behaviors. *Trends Neurosci.* 2012, 35, 11, 649-659.
- Niedfeld I, Kirsch P, Schulze L, Herpertz SC, Bohus M, Schmahl C. Functional connectivity of pain-mediated affect regulation in briderline personality disorder. *PLoS One* 2012, 7, 3, e33292.
- Nishimune H. *Mol Neurobiol.* 2012 Feb;45(1):1-16 [Molecular mechanism of active zone organization at vertebrate neuromuscular junctions.](#)
- Noguchi KK, Nemmers B, Farber NB. Age has a similar influence on the susceptibility to NMDA antagonist-induced neurodegeneration in most brain regions. *Brain Res Dev Brain Res.* 2005, 158, 82–91.

O

- Olausson P, Kiraly DD, Gourley SL, Taylor JR. Persistent effect of prior chronic exposure to corticosterone on reward-related learning and motivation in rodents. *Psychopharmacology (Berl.)* 2012 Sep. 15 (Epub ahead of print).
- Olijslagers JE, de Kloet ER, Elgersma Y, van Woerden GM, Joe“ls M, et al. (2008) Rapid changes in hippocampal CA1 pyramidal cell function via pre- as well as postsynaptic membrane mineralocorticoid receptors. *Eur J Neurosci* 27: 2542–2550 *Front Neuroendocrinol* 29: 268–272. 12.
- Onozawa Km yagasaki Y, Izawa Y, Abe H, kawakami Y. Amydgala-prefrontal pathways and the dopamine system affect nociceptive responses in the prefrontal cortex. *BMC Neurosci.* 2011, 15, 12, 115.

P

- Paknikar KM, Jeremic A. Discovery of the Cell Secretion Machinery, *J. Biomed. Nanotechnol.*, 2007, vol. 3, pp. 218–222.
- Petrak LJ, Harris KM, Kirov SA. Synaptogenesis on mature hippocampal dendrites occurs via filopodia and immature spines during blocked synaptic transmission. *J. Comp. Neurol.* 2005, 484, 183–190.
- Pitkanen A. 2000, In the Amydala: A Functional Analysis J.P. Aggleton, Ed.:31-115. Oxford University Press, Oxford.
- Pitts MW, Takahashi LK. The central amygdala nucleus via corticotropin-releasing factor is necessary for time-limited consolidation processing but not storage of contextual fear memory. *Neurobiol. Larn. Mem.* 2011, 95, 1, 86-91.
- Pitts MW, Todorovic C, Blank T, Takahashi LK. The central nucleus of the amygdala and cortocotropin-releasing factor: insights into contextual fear memory. *The Journal of Neuroscience*, 2009, 29, 22, 7379-7388.
- Ponomarev I, Rau V, Eger EI, Harris RA, Fanselow MS. Amygdala transcriptome and cellular mechanisms underlying stress-enhanced fear learning in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology* 2010, 35, 6, 1402-1411.

Q

R

- Ranadir S, Reetu K. Stress and hormones. *Indian J. Endocrinol Metab.* 2011, 15, 1, 18-22.
- Ramakrishnan NA, Drescher MJ, RDrescher DG. Direct interaction of otoferlin with synaxin 1A, SNAP-25, and the L-type voltage-gated calcium channel Ca 1.3. *J. Biol Chem* 2009, 284, 1364-1372.
- Rasia-Filho AA, Dalpian F, menezes IC, Brusco J, Moreira JE, Cohen RS. Dendritic spine of the medial amygdala plasticity, density, shape and subcellular modulation by sex steroids. *Histol. Histopathol.* 2012, 27, 8, 985-1011.
- Rasia-Filho AA, Haas D, de Oliveira AP, de Castlhos J, Frey R, Stein D, Lazzari VM, Back F. Mophological and functional features of the sex steroid-responsive posterodorsal medial amygdala of adult rats. *Mini Rev Med Chem.* 2012, 12, 11, 1090-1106.
- Retting J, Neher E. Emerging roles of presynaptic proteins in Ca²⁺-triggered exocytosis. *Science* 2002, 298, 781–785.
- Richards DA, Betz GC, Rizzoli SO, Betz WJ. Synaptic vesicle pools at the frog neuromuscular junction. *Neuron* 2003, 39, 529–541.

- Richards DA, Guatimosim C, Betz, WJJ. Two endocytic recycling routes selectively fill two vesicle pools in frog motor nerve terminals. *Neuron* 2000, 27, 551–559.
- Rizzoli S.O., Betz W.J. Synaptic Vesicle Pools. *Neuroscience*, 2005, 6, 57-69.
- Rizzoli S.O, Betz W.J. The structural organization of the readily releasable pool of synaptic vesicles. *Science* 2004, 303:2037-2039
- Rona RJ, Jones M, Fear NT, Hull L, Murphy D, Machell L, Coker B, Iversen AC, Jones N, David AS, Greenberg N, Hotopf M, Wessely S. Mild traumatic brain injury in UK military personnel returning from Afghanistan and Iraq: cohort and cross-sectional analyses. *J. Head Trauma Rehabil.* 2012, 27, 1, 33-44.
- Royer S., Martina M and Pare D. 1999. An inhibitory interface gates impulse traffic between the input and output stations of the amygdale. *J.Neurosci.* 19:10575-10583

S

- Sakaba T, Neher E. Calmodulin mediates rapid recruitment of fast-releasing synaptic vesicles at a calyx-type synapse. *Neuron* 2001, 32, 1119–1131.
- Sah P. And Mikel Lopez de Armentia, Excitatory Synaptic Transmission in the lateral and central Amygdala, *Ann.N.Y. Acad. Sci.* 2003, 985:67-77;
- Sandi C, Cordero MI, Ugolini A, Varea E, Caberlotto L, Large CH. Chronic stress-induced alterations in amygdala responsiveness and behavior-modulation by trait anxiety and corticotropin-releasing factor systems. *Eur. J. Neurosci.* 2008, 28, 9, 1836-1848.
- Sandi C, Davies HA, Cordero MI, Rodriguez JJ, Popov VI, Stewart MG. Rapid reversal of stress induced loss of synapses in CA3 of rat hippocampus following water maze training. *Eur. J. Neurosci.* 2003, 11, 2448-2456.
- Sarabdjitsingh RA, Kofink D, Karst H, de Kloet ER, Joels M. Stress-induced enhancement of mouse amygdalar synaptic plasticity depends on glucocorticoid and beta-adrenergic activity. *PLoS One* 2012, 7, 8, e423.
- Sausa N, Lukoyanov NV, Madeira MD, Almeida OF, Paula-barbosa MM. Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral impairment. *Neuroscience*, 2000, 97, 253-266.
- Schikorski T, Stevens C. F. Quantitative ultrastructural analysis of hippocampal excitatory synapses. *J. Neurosci.* 1997, 17, 5858–5867.
- Schikorski T, Stevens CF. Morphological correlates of functionally defined synaptic vesicle population. *Nature Neurosci.* 2001, 4, 391-395.
- Schmidt HD, Duman RS. Peripheral BDNF produces antidepressant-like effects in cellular and behavioral models. *Neuropsychopharmacology.* 2010, 35, 2378–2391.
- Schneggenburger R., Meyer, AC, Neher E. Released fraction and total size of a pool of immediately available transmitter quanta at a calyx synapse. *Neuron* 1999, 23, 399–409.
- Schneider SW, Sritharan KC, Geibel JP, Oberleithner H, Jena BP. Surface dynamics in living acinar cells imaged by atomic force microscopy: identification of plasma membrane structures involved in exocytosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America* 1997, 94, 316-321.
- Seidel K, Poeggel G, Holetschka R, Helmeke C, Braun K. Paternal deprivation affects the development of corticotropin-releasing factor-expressing neurons in prefrontal cortex, amygdala and hippocampus of the biparental Octodon degus. *J. Neuroendocrinol.* 2011, 23, 11, 1166-1176.
- Shao Y, Redfors B, Ståhlman M, Täng MS, Miljanovic A, Möllmann H, Troidl C, Szardien S, Hamm C, Nef H, Borén J, Omerovic E. A mouse model reveals an important role for

- catecholamine-induced lipotoxicity in the pathogenesis of stress-induced cardiomyopathy. *Eur. J. Heart Fail* 2012. Epub ahead of print.
- Shekar A, Trutt W, Rannie D, Sajdyk T. Role of stress, corticotropin-releasing factor (CRF) and amygdala plasticity in chronic anxiety. *Stress* 2005, 8, 4, 209-219.
 - Shepard JD, Barron KW, Myers DA. Corticosterone delivery to the amygdala increases corticotropin-releasing factor mRNA in the central amygdaloid nucleus and anxiety-like behavior. *Brain Research* 2000;861:288–95;
 - Shepherd GM, Harris KM: Three-dimensional structure and composition of CA3 3 CA1 axons in rat hippocampal slices: implications for presynaptic connectivity and compartmentalization. *J Neurosci* 1998, 18:8300-8310.
 - Shin, L., Wang, S., Lee, J-S., Flack, A., Mao, G., Jena, B.P. (2011) Phosphatidylcholine inhibits membrane-associated SNARE complex disassembly. *J. Cell. Mol. Med.* 16(8):1701-1708.
 - Siksou L, Rostraing P, Lechaire JP, Boudier T, Ohtsuka T, Fejtova A, Kao HT, Greengarrd P, Gundelfinger ED, Triller A, Marty S. Three-dimensional architecture of presynaptic terminal cytomatrix. *Journal of Neuroscience* 2007, 27, 6868-6877.
 - Simms JA, Haass-Koffler CL, Bito-Onon J, Li R, Bartlett SE. Mifeprostone in the central nucleus of the amygdala reduces yohimbine stress-induced reinstatement of ethanol-seeking. *Neuropsychopharmacology* 2012, 37, 4, 906-918.
 - Solomon MB, Jones K, Packard BA, Herman JP. The medial amygdala modulates body weight but not neuroendocrine responses to chronic stress. *J. Neuroendocrinol.* 22, 1, 13-23.
 - Sosulina L., Meis S., Seifert G., Steinhäuser C., Pape (2006) Classification of projection neurons and interneurons in the rat lateral amygdala based upon cluster analysis. *Mol. Cell Neurosci.* 33: 57-67 *Molecular and Cellular Neurosciences*, 2006, vol.33,1:57-67,
 - Sucker RS, Regehr WG. Short-term synaptoc plasticity. *Annu rev. Rhysiol.* 2002, 64, 355-405.
 - Sudhof TC, The synaptic vesicle cycle. *Annu Rev Neurosci* 2004, 27:509–547;
 - Sunanda Rao MS, Raju TR. Effect of chronic restraint stress on dendritic spines and excrescences of hippocampal CA3 pyramidal neurons: a quantitative study. *Brain res.* 1995, 694, 1-2, 312-317.
 - Sviridkina NB, Shakova FM, Komissarova SV, Dubrovin IP, Turygina SA, Romanova GA, Baranov VM. Morphometric study of antiortostatic hypokiensia actio in the case of focal ischemic brain. *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* 2012 (in press)
 - Szklarczyk K, Korostynski M, Golda S, Solecki W, Przewlocki R. Genotype-dependent consequences of traumatic stress in four inbred mouse strains. *Genes Brain Behav.* 2012 Sep. 13, doi 10.1111/j.1601-183X.2012.00850.x. [Epub ahead of print].

T

- Takei K, Mundigi O, Daniell I, De Camilli P. The synaptic vesicle cycle: a single vesicle budding step involving clathrin and dynamin. *J. Cell Biol.* 1 1996, 133, 1237-1250.
- Thoidis G, Chen P, Pushkin AV, Vallega G, Leeman SE, Fine RE et al. Two distinct populations of synaptic-like vesicles from rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95, 183-188.
- Todorov A, Kovachev G, Petrov I, Aladshov E, Cheresarov L. Morphometric and histochemical studies of the limb skeleton of rats in hypokinesia. *Vet Med Nauk* 1982, 19, 6, 76-83.
- Toth ML, Melentijevic I, Shah L, Bhatia A, Lu K, Talwar A, Naji H, Ibanez-Ventoso C, Ghose P, Jevince A, Xue J, Herndon LA, Bhanot G, Rongo C, Hall DH, Driscoll M. Neurite sprouting

and synapse deterioration in the aging *Caenorhabditis elegans* nervous system. *Neurosci* 2012, 32, 26, 8778-8790.

- Tran L, Greenwood-Van Meerveld B. Altered expression of glucocorticoid receptor and corticotrophin-releasing factor in the central amygdala in response to elevated corticosterone. *Behav Brain Res* 2012, 234, 2, 380-385.
- Treccani G, Musazzi L, Milanese M, Fansello P, Mallei A, Perego C, Racagni G, Benfenati F, Bonanno G, Popoli M. Stress at the synapse: the synaptic action of acute behavioral stress and the protective effect of psychiatric drugs. *J. European Neuropsychopharmacology*, 2011, 21, S22-23
- Tringali G, Greco MC, Lisi L, Pozzoli G, Navarra P. Corticotropin modulates the expression and release of corticotrophin releasing hormone in rat brain. Comparison with somatostatin and octreotide. *Peptides* 2012, 34, 2, 353-359.

U

- Ushakov IB, Shtemberg AS. The problems of studying the effects of far long-duration space mission factors on the higher nervous activity in model experiments with animals. *Aviakosm Ekolog Med.* 2012, 46, 1, 5-16.

V

- Von Gersdorff H, Matthews G. Electrophysiology of synaptic vesicle cycling. *Annu. Rev. Physiol.* 1999, 61, 725-752.
- Vyas A, Pillai AG, Chattarji S, recovery after chronic stress fails to reverse amygdala neuronal hypertrophy and enhanced anxiety-like behavior. *Neuroscience*, 2004, 128, 4, 667-673.

W

- Wang S, Sritharan KC, Geibel JP, Oberleithner H, Jena BP. 3D organization and function of the cell: Golgi budding and vesicle biogenesis to docking at the porosome complex. *Histochem Cell Biol.* 2012, DOI 10.1007/s00418-012-0948-x.
- Wang S, Yan XB, Hofman MA, Swaab DE, Zhou JN. Increased expression in rats exposed to chronic unpredictable stress. *Neuropsychopharmacology* 2012, 37, 4, 906-918.
- Weatley DN. Pores for Thought: Further Landmarks in the Elucidation of the Mechanism of Secretion, *Cell Biol.Int.*, 2007, vol. 31, pp. 1297-1300.
- Weyhermüller A, Hallermann S, Wagner N, Eilers J. Rapid active zone remodeling during synaptic plasticity. *J. Neuroscience*, 2011, 31, 16, 6041-6052X.
- Wong CC, Schumann G. Integration of the circadian and stress systems: influence of neuropeptides and implications for alcohol consumption. *J. Neurol Transm.* 2012, 119, 10, 1111-1120.
- Wu, L. G. & Borst, J. G. The reduced release probability of releasable vesicles during recovery from short-term synaptic depression. 1999, *Neuron* 23, 821-832.

Y

- Yang G, Gong Y-D, Gong K, Jiang W-L, Kwon E, Wang P, Zheng H, Zhang X-F, Gan W-B, Zhao N-M, Reduced synaptic vesicle density and active zone size in mice lacking amyloid precursor protein (APP) and APP-like protein. *Neuroscience Letters* 384 (2005) 66-71
- Yuen EY, Liu W, Karatsoreos IN, Feng J, McEwen BS, et al. (2009) Acute Stress Enhances

Glutamatergic Transmission in Prefrontal Cortex and Facilitates Working Memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 14075–14079.

Z

- Zambello E, Jimenez-Vasquez PA, El Khoury A, Mathe AA, Caberlotto L. Acute stress differentially affects corticotropin-releasing hormone mRNA expression in the central amygdala of the “depressed” flinders sensitive line and the control flinders resistant line rats. *Prog. Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008, 32, 3, 651-661.
- Zhvania, M., 1996. The influence of hypokinesia on the synaptotectonic features of rat limbic and extrapyramidal structures. In: Teelken, A., Korp, J. (Eds.), *Neurochemistry: Cellular, Molecular and Clinical Aspects*.
- Zhvaniya, M.G., Bliadze, M.G., 1991. Influence of hypokinesia on the ultrastructure of the emotional structures of the rat cerebrum. *Neuroscience and Behavioural Physiology* 1, 59–64.
- Zhvaniya, M.G., Kakabadze, I.M., 1996. Ultrastructure of telencephalic myelinated fibers of the hypokinetic rat. *Neuroscience and Behavioral Physiology* 26 (3), 201–206.
- Zucker M, Aviv A, Shlef A, Weizman A., Rehavi M. Elevated platelet vesicular monoamine transporter density in untreated patients diagnosed with major depression. *Psychiatry Res.* 2002, 112, 3, 251-256.