საჯარო სამართლის იურიდიული პირი
მოლეკულური ბიოლოგიის და ბიოლოგიური ფიზიკის ინსტიტუტი

გვილია ირმა

ძილის რეგულაციის უჯრედული მექანიზმები: პრეოპტიკური უბნის ნეირონების როლი ძილის ჰომეოსტაზში

03.00.25 – უჯრედული ბიოლოგია

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორის
სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად

ნაშრომის სამეცნიერო კონსულტანტები – ბიოლოგიის მეცნიერებათა
დოქტორი, საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის
აკადემიკოსი, პროფესორი, თენგიზ ონიანი;

კალიფორნიის უნივერსიტეტის პროფესორი,
ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი, რონალდ შიმუსიაკი

კალიფორნიის უნივერსიტეტის პროფესორი,
ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი, დენის მაკჯინტი

თბილისი - 2006

სარჩევი

I. შესავალი.

1.1. ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგულაციის მექანიზმები: ნეიროფიზიოლოგია და ქიმიური ნეიროანატომია.

1.1.1. ღვიძილის სისტემები.

1.1.2. ძილის სისტემები.

1.1.3. რეზიუმე: ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგულაციის თანამედროვე კონცეფციები.

1.2. წინა ჰიპოთალამუსის როლი ძილის რეგულაციაში.

1.3. ძილის ჰომეოსტაზის შესწავლის გზები.

1.4. კვლევის მიზანი და ამოცანები.

1.5. ნაშრომის მეცნიერული სიახლე.

1.6. ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული ღირებულება.

II. ლიტერატურის მიმოხილვა.

2.1. პრეოპტიკური უბნის ნეირონების როლი ძილის რეგულაციაში: შესავალი.

2.2. ძილთან დაკავშირებული ნეირონული აქტივობა პრეოპტიკურ უბანში და ბაზალურ წინა ტვინში.

2.3. ჰიპოთალამუსის ძილ-აქტიური ნეირონების თერმოსენსიტიურობა.

2.4. ს-ფოს-ის ექსპრესია პრეოპტიკური უბნის ნეირონებში ძილის დროს.

2.5. შპობ-ის და ვლპოუ-ს ძილის მარეგულირებელი ნეირონების ნეიროქიმია.

2.6. ჰიპოთალამუსის და ტვინის ღეროს გამააქტივებელი სისტემების დაღმავალი მოდულაცია პრეოპტიკური უბნის ძილის ნეირონების მიერ.

2.7. ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზების მექანიზმი: აიწონა-დაიწონას პრინციპი.

2.8. პრეოპტიკურ უბანში ძილის მარეგულირებელი ნეირონების ფარმაკოლოგია.

2.9. რეზიუმე და პერსპექტივა.

III. ჩატარებული კვლევა .

3.1. კვლევის ზოგადი დახასიათება (შემადგენელი ნაწილები).

3.2. ვირთაგვის შუა პრეოპტიკური ბირთვის სხვადასხვა ნეირონული პოპულაცია აწარმოებს ს-ფოს ექსპრესიას ძილის დროს და მარილის ჰიპერტონული ხსნარის ან ანგიოტენზინ–II-ის საპასუხოდ.

3.2.1 შესავალი.

3.2.2. მასალა და მეთოდები.

3.2.3. შედეგები.

3.2.4. განხილვა.

3.2.5. რეზიუმე.

3.3. პრეოპტიკური უბნის ნეირონები და პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზური რეგულაცია.

3.3.1 შესავალი.

3.3.2. მასალა და მეთოდები.

3.3.3. შედეგები.

3.3.3.1 ექსპერიმენტი 1.

3.3.3.2. ექსპერიმენტი 2.

3.3.3.3 ექსპერიმენტი 3.

3.3.4. განხილვა.

3.3.5. რეზიუმე.

3.4. ძილის ჰომეოსტაზური რეგულაცია: პრეოპტიკური უბნის ნეირონების როლი.

3.4.1 შესავალი.

3.4.2. მასალა და მეთოდები.

3.4.3. შედეგები.

3.4.3.1. ექსპერიმენტი 1.

3.4.3.2. ექსპერიმენტი 2.

3.4.4 განხილვა.

3.4.5. რეზიუმე.

IV. ჩატარებული კვლევის რეზიუმე.

V. დასკვნები.

VI. გამოყენებული ლიტერატურა.

I. შესავალი

ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგულაციის მექანიზმები: ნეიროფიზიოლოგია და ქიმიური ნეიროანატომია

ძილის და ღვიძილის მონაცვლეობა ცენტრალური ნერვული სისტემის აქტივობის ფუნდამენტური ცვლილებების გზით ხორციელდება. ეს ცვლილებები როგორც ელექტროენცეფალოგრამულ (ეეგ), ისე ქცევით მაჩვენებლებზე აისახება. ცენტრალური ნერვული სისტემის გარკვეული უბნების გარკვეული ნეირონები, რომლებიც შეიცავენ სპეციფიურ ნეიროტრანსმიტერებს, განაპირობებენ ძილ-ღვიძილის ციკლის სხვადასხვა მდგომარეობის (ღვიძილი, ნელი ძილი და პარადოქსული ძილი) განვითარებას. ციკლის ფაზებზე პასუხისმგებელი ნეირონები ძილის და ღვიძილის მონაცვლეობის პროცესში აქტივობის რეციპროკულ ცვლილებებს გაივლიან.

ღვიძილის სისტემები და ნეიროტრანსმიტერები

ღვიძილის აღმოცენება დაკავშირებულია ტვინის ღეროს და წინა ტვინის ნეირონების გააქტივებასთან, რაც ერთის მხრივ ქერქულ აქტივაციას, ხოლო მეორეს მხრივ კი ქცევით გამოღვიძებას იწვევს. როგორც მორუცი და მეგუნმა აღმოაჩინეს (Moruzzi & Magoun, 1949), ღვიძილის აღმოცენება-შენარჩუნებაში გადამწყვეტ როლს რეტიკულური ფორმაციის ნეირონები **(სურათი 1)** თამაშობენ (Moruzzi, 1972; Sterman & Clemente, 1974; Hobson et al., 1975). შუა და უკანა ხიდის რეტიკულური ფორმაციის ნეირონები, რომლებსაც გააჩნიათ დაღმავალი პროექციები

ზურგის ტვინზე, პოსტურალური კუნთური ტონუსის აღმოცენებასა და ქცევით გამოღვიძებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ.

წინა ხიდის და შუა ტვინის რეტიკულური ფორმაციის ნეირონები ხელს უწყობენ ქერქულ აქტივობას 15-30 და 30-60 Hz-ის რანგში. ცხოველებსა და ადამიანებში ტვინის ღეროს წინა ნაწილის რეტიკულური ფორმაციის დაზიანება კომატოზურ მდგომარეობას (vonEconomo 1930; Bremer, 1935, 1936; Ranson, 1939; Nauta, 1946), ხოლო ელექტრული გაღიზიანება კი - სწრაფ ქერქულ აქტივობას და ღვიძილს იწვევს (Moruzzi & Magoun, 1949). ხიდის და შუა ტვინის რეტიკულური ფორმაციის ნეირონული განმუხტვები პიკს ღვიძილის დროს აღწევს (ონიანი, 1980, 1984, 1988). ეს უჯრედები დასაბამს აძლევენ იმ აღმავალ პროექციებს, რომელთა მეშვეობით წინა ტვინის გააქტივება ხდება (Moruzzi, 1972).

წინა ტვინზე რეტიკულური ნეირონების პროეცირება ორი ძირითადი მიმართულებით ხდება (იხ. სურათი 1). ისინი დორსალურად - თალამუსზე პროეცირდებიან და იწვევენ შუა ხაზის და თალამური ბირთვის გააქტივებას, რაც თავის მხრივ ქერქული უჯრედების გააქტივებას იწვევს. განსხვავებით იმ ნეირონებისაგან, რომლებიც თავიანთი ვრცელი პროექციებით სპეციფიურ სენსორულ გადამრთველ სისტემას წარმოადგენენ, ეს ბირთვები არასპეციფიურ, თალამოკორტიკალურ პროექციათა სისტემას ქმნიან. რეტიკულური

ფორმაციის ნეირონების მსგავსად, მათი ძლიერი განმუხტვა ღვიძილის დროს ხდება. რეტიკულური ნეირონების პროეცირების მეორე ძირითადი მიმართულებაა ვენტრალურად – ტვინის ღეროდან უკანა ჰიპოთალამუსს და ბაზალურ წინა ტვინზე. ქერქზე თავიანთი პროექციების მეშვეობით, უკანა ჰიპოთალამუსის ნეირონები აღმავალი რეტიკულური გამააქტივებელი სისტემისთვის გადამრთველ ფუნქციას ასრულებენ. ადამიანებში უკანა ჰიპოთალამუსის დაზიანება ღვიძილის მწვავე დეფიციტს და კომატოზურ მდგომარეობას იწვევს. ამ უბნის გაღიზიანება კი სიმპატიკური სისტემის მნიშვნელოვან გააქტივებას გამოიწვევს. აღნიშნული უბნის ნეირონების ძლიერი განმუხტვა ღვიძილის დროს ხდება (ონიანი, 1984, 1987, 1988). მისი აღმავალი პროექციები ტვინის ღეროდან ბაზალურ წინა ტვინში გადადიან. ამ უბნის დაზიანება ქერქული აქტივობის დაქვეითებას, მაგრამ არა მკვეთრ დეფიციტს იწვევს. წინა ტვინის ზოგიერთი ნეირონი აქტიურდება როგორც ღვიძილის, ისე პარადოქსული ძილის დროს (ონიანი, 1980). ბაზალური წინა ტვინის ნეირონები ცერებრალურ ქერქზე პროეცირდებიან და, შესაბამისად, ქერქულ აქტივობაზე ახდენენ გავლენას. გამააქტივებელი სისტემის ამ უბანში ქიმიურად სპეციფიური ნეირონების ჯგუფები არიან ლოკალიზებული (Jones 2005; Zeitzer & Mignot, 2005).

რეტიკულური ფორმაციის ნეირონების უმეტესი ნაწილი შეიცავს *გლუტამინს*, ცენტრალური ნერვული სისტემის ძირითად ამგზნებელ ნეიროტრანსმიტერს. გლუტამინი ასევე ჭარბი რაოდენობით არის

<u>აცეტილქოლინი</u> ბაზალური წინა ტვინის და პონტომეზენცეფალური სახურავის ნეირონების მიერ გამოიყოფა. ეს ქოლინერგული ნეირონები პროეცირდებიან თალამუსზე და იწვევენ თალამოკორტიკალური სპეციფიური და არასპეციფიური პროექციებით უჯრედების აგზნებას (Jouvet, 1972; Jones 2004, 2005; Zeitzer & Mignot, 2005). ისინი როგორც ღვიძილის, ისე პარადოქსული ძილის დროს განიმუხტებიან (მანჯავიძე, 1988). ქოლინერგული ნეირონების ერთი ჯგუფი ლოკალიზებულია წინა ტვინში და პროეცირდება ქერქსა და ჰიპოკამპზე. წინა ტვინის ქოლინერგული ნეირონები ღვიძილისა და პარადოქსული ძილის დროს განიმუხტებიან. ხიდის რეტიკულური ფორმაციის მუსკარინული (M2/M3) ქოლინერგული ნეირონები მნიშვნელოვან როლს უნდა ასრულებდნენ პარადოქსული ძილის რეგულაციაში; ცხოველების სხვადასხვა სახეობებში რეტიკულურ ფორმაციაში მათი აგონისტების ინექცია იწვევს პარადოქსული ძილს, ან პარადოქსული ძილისთვის დამახასიათებელ ატონიას. ქერქში გამოყოფილი აცეტილქოლინი ქერქული ნეირონების მაღალი სიხშირით გააქტივებას/განმუხტვას იწვევს. ალცჰეიმურის დაავადების დროს, რომელიც ხასიათდება სწრაფი

ნორადრენალინს შეიცავს ლურჯი ლაქა (Jones 2005; Zeitzer & Mignot, 2005). ეს ნორადრენერგული ნეირონები პროეცირდებიან ტვინის ღეროზე, წინა ტვინსა და ზურგის ტვინზე. ლურჯი ლაქის გაღიზიანება ქერქულ აქტივაციას იწვევს, თუმცა, ამ უბნის დაზიანებას არ მოყვება ქერქული აქტივობის ან ღვიძილის რედუქცია. მაშასადამე, ნორადრენერგული ნეირონები ასრულებენ ხელშემწყობ, მაგრამ არა გადამწყვეტ როლს ღვიძილის სისტემაში. ეს ნეირონები ღვიძილის დროს განიმუხტებიან, ნელი ძილის დროს ანელებენ აქტივობას და პარადოქსული ძილის დროს საერთოდ ჩუმდებიან (Aston-Jones, 1981). ითვლება, რომ ნორადრენერგული ნეირონები ჩართული არიან სიფხიზლის, კუნთური ტონუსის და დაყურადების მექანიზმებში. შესაძლოა, რომ თალამუსის ნეირონების ნორადრენალინით გამოწვეული აგზნება ღვიძილის დროს ამ ნეირონების დეპოლარიზაციას იწვევს და ხელს უშლის მათ პეისმეკერულ აქტივობას, რაც ნელი ძილის დროს ქერქულ სინქრონიზაციაზეა პასუხისმგებელი. ვარაუდობენ, რომ სხვადასხვა სტიმულანტების და ანტიდეპრესანტების გამოყენებით გამოწვეული ზოგიერთი ეფექტი (როგორიცაა სიფხიზლის დონის

<u>დოფამინს</u> ვენტრალური მეზენცეფალური სახურავის ნეირონები შეიცავენ, რომლებიც ბაზალურ განგლიასა და წინა ქერქზე პროეცირდებიან (Jones 2005; Zeitzer & Mignot, 2005). ამ უბნის დაზიანება სპონტანური მოძრაობების და დაყურადების უნარის დაკარგვასა და ღვიძილის მწვავე დეფიციტს იწვევს. თავდაპირველი მონაცემების თანახმად, ძილ-ღვიძილის ციკლის სხვადასხვა ფაზაში დოფამინის ნეირონების განმუხტვების სიხშირე არ იცვლება, თუმცა უკანასკნელი შრომები არ ადასტურებენ ამ შეხედულებას. დოფამინერგული ნეირონები უპირატესად ღვიძილისა და პარადოქსული ძილის დროს აქტიურდებიან (იხ. ქვევით). დოფამინის გამოყოფა ამფეტამინის ტიპის ნივთიერებების გამოყენებით იზრდება, რაც ამ ნივთიერებათა ღვიძილის ხელშემწყობ ფუნქციას უნდა ედოს საფუძვლად (Wisor et al., 2001). ღვიძილში დოფამინის დონის მომატება, შესაძლოა, კრიტიკული იყოს მეხსიერებისთვის. პარკინსონის დაავადების დროს, როდესაც დეგენერირებულია დოფამინერგული ნეირონები, აღინიშნება აკინეზია და მოძრაობების მკვეთრი შეზღუდვა. ფეხის უნებლიე მოძრაობების სინდრომი, ასევე, დაკავშირებული უნდა იყოს დოფამინის მეტაბოლიზმთან, ვინაიდან დოფამინის დონის აწევა ლევოდორა/კარბიდორას ან D2/D3 აგონისტების გამოყენების გზით კარგ სამკურნალო ეფექტს იძლევა.

ჰისტამინი. ეს მონოამინი იმუნური უჯრედების მიერ ინფიცირების საპასუხოდ გამოიყოფა და ნეირომოდულატორია (Krueger & Majde, 2003; Jones 2005; Zeitzer & Mignot, 2005). ტვინში ჰისტამინი პროდუცირდება უკანა ჰიპოთალამუსის (ტუბერომამილარული) ნეირონების მიერ, რომლებიც წინა ტვინზე დიფუზურად პროეცირდებიან. ამ უბნის დაზიანება ღვიძილის სისტემაში გარკვეულ დეფიციტს იწვევს. ჰისტამინერგული ნეირონები ღვიძილის დროს განიმუხტებიან და პარადოქსული ძილის დროს ჩუმდებიან. ანტიჰისტამინები ჰისტამინის H1 რეცეპტორს აბლოკირებენ და სედატიური ბუნების არიან.

და ბოლოს, *ორექსინები/ჰიპოკრეტინები*. ეს არის უკანასკნელ პერიოდში აღმოჩენილი ცილა, რომელიც ჭარბი რაოდენობით უკანა ლატერალურ ჰიპოთალამუსშია წარმოდგენილი. ორექსინი/ჰიპოკრეტინი განიხილება როგორც ღვიძილის რეგულირების ერთ-ერთი უმთავრესი კომპონენტი (Kilduff & Peyron, 2000; Saper et al, 2001). ორექსინ/ჰიპოკრეტინის ნეირონები ფართოდ პროეცირდებიან თავისა და ზურგის ტვინის უბნებზე. ისინი ინტენსიურად აინერვირებენ ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგულაციაში ჩართულ სტრუქტურებს, როგორიცაა ლურჯი ლაქა, ტუბერომამილარული ბირთვი, დორსალური ხვეული და სხვ. ცხოველებში ორექსინის/ჰიპოკრეტინის გენის ან მისი რეცეპტორების დაზიანება ნარკოლეფსიას იწვევს. ნარკოლეფსიის და კატაპლექსიის მქონე ადამიანებში კი ორექსინის გენის დეფიციტი აღინიშნება (Lin et al., 1999). ორექსინ/ჰიპოკრეტინის სისტემის ნორმალური ფუნქციონირება მნიშვნელოვანია ძილისა და ღვიძილის

მაშასადამე, ღვიძილის მდგომარეობის რეგულირება რამდენიმე სისტემის სინქრონული მოქმედების გზით ხდება. ერთი რომელიმე მათგანის დაზიანება არ იწვევს ღვიძილის სრულ დესტრუქციას, მაგრამ მის ცალკეულ მახასიათებლებზე გარკვეულ უარყოფით გავლენას ახდენს. მხოლოდ ძალიან ვრცელი დაზიანება, რომელიც მოიცავს ტვინის ღეროს წინა ნაწილის და უკანა დიენცეფალონის ნეირონების მასიურ პოპულაციას, იწვევს ღვიძილის სრულ რედუქციას და კომატოზურ მდგომარეობას.

ძილის ჩამრთველი სისტემები და ნეიროტრანსმიტერები

<u>ნელი ძილი</u> ტვინის ღეროსა და წინა ტვინის იმ უჯრედების აქტივობითაა განპირობებული, რომლებიც აინჰიბირებენ ღვიძილის გამომწვევ ნეირონებს, თრგუნავენ ქერქულ აქტივობასა და ქცევით გამოღვიძებას (Steriade & Hobson, 1976; Steriade et al., 1993; Szymusiak et al., 2001; Mignot et al., 2002; Pace-Schott & Hobson, 2002; McGinty et al, 2003, 2004). ამ ნეირონთა დიდი ნაწილი პარასიმპატიკური ნერვული სისტემის ცენტრალურ მაკონტროლებელ უბნებში, სოლიტარულ ტრაქტში და წინა ჰიპოთალამო-პრეოპტიკურ უბანშია ლოკალიზებული (Jones 2000, 2005) (**იხ. სურათი 2**). ცხოველებში სოლიტარული ტრაქტის ბირთვების დაზიანება ნელი ძილის რედუქციას იწვევს, ხოლო ამ უბნის დაბალსიხშიროვანი გაღიზიანება კი - ნელი ძილის გაზრდას. აღნიშნული ბირთვების ნეირონები ნელი ძილის დროს აქტიურდებიან.

ეს ნეირონები წინა ტვინის უბნებზე პროეცირდებიან და ძილის მომგვრელ სხვა სისტემებზე მასტიმულირებელ გავლენას ახდენენ. ძილის ხელშემწყობ ფუნქციას, შესაძლოა, შუა ტვინსა და რაფეს ბირთვში განლაგებული ნეირონებიც ასრულებენ, ვინაიდან მათი დაზიანება უძილობას იწვევს. რაფეს ბირთვი *სეროტონინერგულ* უჯრედებს შეიცავს. სეროტონინერგული ნეირონები მძლავრად არა ძილის, არამედ ღვიძილის დროს განიმუხტებიან (Steriade & Hobson, 1976; Trulson & Jacobs, 1979). მეორეს მხრივ, სეროტონინერგული ნეირონები სხვა ჯგუფის ნეირონებს (მათშორის ქოლინერგულ ნეირონებს) აინჰიბირებენ, რითაც ქერქული აქტივობის დაქვეითებას უწყობენ ხელს. ვინაიდან ეს ნეირონები აქტიური არიან მშვიდი ღვიძილის დროს, მათ შეიძლება ძილის დადგომის ხელშემწყობი ფუნქცია ჰქონდეთ (Jouvet, 1972). ვარაუდობენ, რომ სეროტონინი ასევე ღვიძილის დროს დაყურადების დონის მოდულაციაშია ჩართული. ანტიდეპრესანტები, რომლებიც სეროტონინის სპეციფიური უკუშეწოვის ინჰიბიციის გზით ფუნქციონირებენ, პარადოქსული ძილის და კატაპლექსიის შემცირებას იწვევენ.

განსხვავებით უკანა ჰიპოთალამუსის ნეირონებისაგან, რომლებიც სიმპათიკურ ნერვულ სისტემას აღაგზნებენ და აძლიერებენ გულის ცემას, სისხლის წნევას, სუნთქვასა და ტემპერატურას, წინა ჰიპოთალამუსისა და პრეოპტიკური უბნის ნეირონები ასტიმულირებენ პარასიმპათიკურ პასუხებს და აქვეითებენ გულის რიტმს, წნევას,

სუნთქვას და ტემპერატურას. მაშასადამე, პრეოპტიკური უბნის სტიმულაცია პარასიმპათიკურ პასუხებს და ძილს იწვევს (Sterman and Clemente, 1962; Benedek et al., 1982; Mendelson and Martin, 1992; Ticho and Radulovacki, 1991). პრეოპტიკური უბნის დაზიანება, ვენტროლატერალური პრეოპტიკური უბნის ნეირონების პატარა ჯგუფის ჩათვლით, უძილობას იწვევს (Nauta, 1946; McGinty and Sterman, 1968; Szymusiak and Satinoff, 1984; Szymusiak et al., 1991; John and Kumar, 1998; Lu et al., 2000). პრეოპტიკური უბნის ნეირონების უმრავლესობა მაღალი სიხშირით ძილის დროს განიმუხტება, უკანა ჰიპოთალამუსის ნეირონების რეციპროკულად (Findlay and Hayward, 1969; Kaitin, 1984; Szymusiak & McGinty, 1986, 1989; მანჯავიძე და სხვ 1987). ნეირონული აქტივობის მსგავსი ბუნებით (მაღალი აქტივობა ნელი ძილის დროს და დაბალი აქტივობა ღვიძილის დროს) მიმდებარე ბაზალური წინა ტვინის ნეირონებიც ხასიათდებიან (Zsymusiak et al., 1998). ზემოთქმულიდან გამომდინარე, ძილ-აქტიური ნეირონები პრეოპტიკურ უბანსა და ბაზალურ წინა ტვინში არიან ლოკალიზებული. ბაზალურ წინა ტვინში ეს უჯრედები ქოლინერგული უჯრედების მეზობლად არიან განლაგებული. პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური უჯრედები მაინჰიბირებელ ნეიროტრანსმიტერს – *გაემ-ს* შეიცავენ (Sherin et al., 1996, 1998; Gong et al., 2000, 2004). ეს გაემ-ერგული უჯრედები ინჰიბირდებიან ნორადრენალინის მიერ, რომელიც ლურჯ ლაქაში ღვიძილის დროს გამოიყოფა (Saper et al. 2001). პრეოპტიკური უბნის გაემ-ერგული ნეირონების გააქტივება იწყება თვლემის მდგომარეობაში, როცა

ნორადრენერგული ნეირონები ანელებენ აქტივობას. ძილ-აქტიური გაემ-ერგული ნეირონების ერთი ჯგუფი ბაზალური წინა ტვინიდან და პრეოპტიკური უბნიდან ცერებრალურ ქერქზე პროეცირდება და იწვევს ნელ-ტალღოვანი ძილის ეეგ-აქტივობას. გაემ-ერგული ნეირონების სხვა ჯგუფი თრგუნავს ლოკალურ, ღვიძილის-მომგვრელ ქოლინერგული ნეირონებს (Siegel, 2004). გარდა ამისა, გაემ-ერგული ნეირონების გარკვეული ჯგუფი კაუდალურად პროეცირდება და უკანა ჰიპოთალამუსის და ტვინის ღეროს გამააქტივებელ სისტემებში ორექსინებს/ჰიპოკრეტინებს, ჰისტამინებს, ან ნორადრენერგულ ნეირონებს აკავებს (Siegel, 2004). თალამუსის რეტიკულური ბირთვის გაემ-ერგული ნეირონები, რომლებიც თალამოკორტიკალურ სარელეო ბირთვებს აინერვირებენ, კრიტიკულ როლს ასრულებენ ნელი ძილის ეეგ-აქტივობის ფორმირებაში. ტვინის ღეროში ლოკალური გაემ-ერგული ნეირონები რეტიკულური ფორმაციის ნეირონების განმუხტვას თრგუნავენ (Xi et al., 1999; Saper et al., 2001).

გარკვეული გაემ-ერგული ნეირონების ჯგუფები ღვიძილის და სიმპათიკური სისტემების ნეირონების აქტივობის დათრგუნვის გზით ძილის განვითარებას უწყობენ ხელს (Nishino et al., 2004). ეს ხორციელდება გარკვეული აფერენტული შესავლების აქტივაციის ან სხვადასხვა ქიმიური მოდულატორების ინაქტივაციის გზით.

ბარბიტურატები, ალკოჰოლი, ბენზოდიაზეპინები, ზოლპიდემი და სხვა უძილობის საწინააღმდეგო მედიკამენტები გაემ-ის პოზიტიურ მოდულატორებს წარმოადგენენ.

მელატონინის სპეციფიური რეცეპტორები თერმორეგულაციაში ჩართულ უბნებში (ქერქი, მხედველობის ქიაზმა/ცირკადული პეისმეკერი და ჰიპოთალამუსი) არიან ლოკალიზებული. ეგზოგენური მელატონინი არის საკმაოდ პოპულარული საძილე საშუალება, რომელიც ხელმისაწვდომია როგორც ფიზიოლოგიურ (0.03 მგ), ისე ფარმაკოლოგიურ (1-10 მგ) დოზებში (Jones, 2005; Zeitzer & Mignot, 2005). მელატონინის ფიზიოლოგიური დოზა ხელს უწყობს ძილის დადგომის დროის დარეგულირებას დღე-ღამური რეჟიმის (მაგ. მოგზაურობის დროს) შეცვლის პირობებში. ფარმაკოლოგიური დოზები, შესაძლოა, არა-მელატონინერგული რეცეპტორების გზით მოქმედებენ.

ძილის გენერირებაში ასევე აქტიურად არის ჩართული *ადენოზინი* (Porkka-Heiskanen et al., 1997) - ადენოზინ ტრიფოსფატის (ადამიანის ძირითადი ენერგეტიკული ბლოკის) დაშლის პროდუქტი. ადენოზინის მიერ ნეირონული აქტივობის დათრგუნვა A1/A2 რეცეპტორების მეშვეობოთ ხორციელდება. ადენოზინის რეცეპტორებზე ზემოქმედების გზით (მაგ. კოფეინის გამოყენებისას) ადენოზინის მოქმედების ბლოკირება უძილობით გამოწვეული დაღლილობის შემსუბუქებას იწვევს. ვარაუდობენ (Zeitzer & Mignot, 2005), რომ ადენოზინი აცეტილქოლინერგული ნეირონების რეგულაციაში მნიშვნელოვან კომპონენტს წარმოადგენს და, რომ ის ასევე მჭიდრო კავშირშია დოფამინერგულ სისტემასთან. ბაზალურ წინა ტვინში ადენოზინის გამოყოფა ძილის დეპრივაციის პირობებში არის გაძლიერებული და, სავარაუდოდ, ეს ძილიანობის მომატებას უწყობს ხელს.

ძილის რეგულაციაში ჩართული სხვა ნეიროქიმიური ნივთიერებები, როგორიცაა ვაზოაქტიური პეპტიდი, პროლაქტინი, კორტისტანი, ნეიროპეპტიდ S, ზრდის ჰორმონი და ოპიოიდური პეპტიდები- ენკეფალინები, ენდორფინები და დინორფინი, ნაკლებად არიან შესწავლილი (Jones, 2005; Zeitzer & Mignot, 2005).

<u>პარადოქსული ძილი</u>: ჟუვეს მიერ (Jouvet et al. 1959) ძილის ამ ფაზის "პარადოქსულად" გამოცხადებას საფუძვლად ცენტრალური აგზნების და პერიფერიული ინჰიბიციის პარადოქსული შერწყმა უდევს; ქერქი აქტივირებულია, ხოლო კუნთური ტონუსი და ღვიძილის ქცევითი კომპონენტები კი - დათრგუნული. პარადოქსული ძილის დროს ცენტრალური გამააქტივებელი სისტემების უმეტესი ნაწილი (ტვინის ღეროს რეტიკულური ფორმაციის ჩათვლით) გააქტივებულია (Jones, 2004; Luppi et al., 2004). ძალზე მნიშვნელოვანია წინა ხიდის რეტიკულური ფორმაციის ნეირონების როლი; ამ უჯრედების დაზიანება პარადოქსული ძილის ელიმინაციას იწვევს. ის ნეირონები, რომლებიც ერთის მხრივ ქერქული აქტივობის სტიმულაციას და მეორეს მხრივ კუნთური ტონუსის დათრგუნვას იწვევენ, ხიდის სახურავში არიან ლოკალიზებული. ამ ნეირონების ერთი ჯგუფი პროეცირდება როგორც როსტრალურად - წინა ტვინზე, ისე კაუდალურად - ღეროს ქვედა ნაწილსა და ზურგის ტვინზე. სხვა ნეირონები კი ან ერთი ან მეორე მიმართულებით აგზავნიან პროექციებს. შუა ტვინის რეტიკულური ფორმაციის ის ნეირონები,

ტვინის ღეროს და წინა ტვინის ქოლინერგული ნეირონები (რომლებიც აცეტილქოლინს გამოყოფენ) მაქსიმალური სიმძლავრით პარადოქსული ძილის დროს განიმუხტებიან. მათი განმუხტვა ასტიმულირებს ქერქის გააქტივებას და ასევე შესაძლოა, ხელს უწყობს მოტორული ინჰიბიციის სისტემების ფუნქციონირებას. პონტომეზენცეფალური ქოლინერგული ნეირონები კრიტიკულ როლს უნდა თამაშობდნენ პარადოქსული ძილის გენერირებაში, ვინაიდან მათი დესტრუქცია ძილიდან ამ ფაზის გამოთიშვას იწვევს. ქოლინერგული აგონისტების ლოკალური ინექციის გზით ხიდის რეტიკულური ფორმაციის ნეირონების სტიმულირება პარადოქსული ძილის აღმოცენებას იწვევს. აცეტილქოლინი, შესაძლოა, ლოკალურ გაემ-ნეირონებზე მოქმედებდეს. ვარაუდობენ, რომ ტვინის ღეროს გაემ-ერგული ნეირონები პარადოქსული ძილის ჩართვაში კრიტიკულ როლს ასრულებენ. ისინი ლურჯი ლაქის ნორადრენერგულ ნეირონებს აინჰიბირებენ; ამ ნეირონთა გაჩუმება აუცილებელი პირობაა პარადოქსული ძილის ჩართვისთვის. სხვა გაემ-ერგული ნეირონები, შესაძლოა, ღვიძილის დროს ხიდში პარადოქსული ძილის-მაგენერირებელ ნეირონებს აინჰიბირებენ.

კიდევ ერთი მნიშვნელოვანი მაინჰიბირებელი ნეიროტრანსმიტერია *გლიცინი*, რომელიც სწრაფი ძილის დროს მოტორულ ნეირონებს

თრგუნავს (იწვევს ჰიპერპოლარიზაციას). გლიცინს ტვინის ღეროს და ზურგის ტვინის ნეირონები შეიცავენ.

პარადოქსული ძილის ჩართვა ცენტრალური გამააქტივებელი სისტემების აგზნებითა (რაც აუცილებლად მოიცავს ქოლინერგულ ნეირონებს) და ქცევით ღვიძილში ჩართული სისტემების (რაც აუცილებლად მოიცავს ნორადრენერგულ ნეირონებს) ინჰიბიციის გზით ხდება (McCarley, 2004).

რეზიუმე: ძილ-ღვიძილის რეგულაციის თანამედროვე კონცეფციები

♦ ღვიძილის მაკონტროლებელი ნეირონული სისტემები ტვინის ღეროს რეტიკულურ ფორმაციაში, თალამუსში, უკანა ჰიპოთალამუსსა და ბაზალურ წინა ტვინში არიან ლოკალიზებული.

♦ ღვიძილის რეგულაციაში ჩართული ნეიროტრანსმიტერებია: გლუტამინი, ნორადრენალინი, აცეტილქოლინი, დოფამინი, ჰისტამინი და ორექსინი/ჰიპოკრეტინი.

♦ ნელი ძილი აღმოცენდება ღვიძილის გამომწვევი სისტემების ინჰიბირების გზით, რაც ძირითადად ტვინის ღეროს, თალამუსის, პრეოპტიკური უბნისა და ბაზალური წინა ტვინის გაემ-ერგული უჯრედების გააქტივების შედეგად ხორციელდება.

♦ პარადოქსული ძილი ქოლინერგული ნეირონების აქტივაციისა და ნორადრენერგული (და სხვა ღვიძილის მასტიმულირებელი ნეირონების) ინჰიბირების გზით აღმოცენდება. ნეირონთა მეტი წილი გაემ-ის და/ან გლიცინის მეშვეობით .

წინა ჰიპოთალამუსის როლი ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგულაციაში

ჰიპოთალამუსის ნაწილი, რომელიც ვრცელდება საბოლოო ფირფიტისა და პრეოპტიკური უბნიდან უკანა ჰიპოთალამუსამდე და შუამდებარე/შუა ტვინის შეერთებამდე, ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგულაციის ასპექტში დიდი ხანია შესწავლის საგანია. ძილის და ღვიძილის კონტროლის ცენტრალური ორგანიზაციის ერთ-ერთი პირველი თანამედროვე კონცეფცია ფონ ეკონომოს (vonEconomo, 1930) ეკუთვნის. მან გამოთქვა მოსაზრება როსტრალურ ჰიპოთალამუსში ძილის ხელშემწყობი სტრუქტურების არსებობის შესახებ, რომლებიც უკანა ჰიპოთალამუსის ღვიძილის ხელშემწყობი სისტემების საწინააღმდეგოდ ფუნქციონირებენ. ფონ ეკონომოს ეს ფუნქციურ-ანატომიური მონახაზი ვირუსული ენცეფალიტით დაავადებულ პაციენტებში ძილისა და ცნობიერების დარღვევებს შორის არსებული ზუსტი კორელაციებიდან გამომდინარეობს, და ეყრდნობა ტვინის დაზიანებების ლოკალიზაციის შესახებ სიკვდილის შემდეგ პათოლოგოანატომიური გამოკვლევის მონაცემებს. ეს ბაზისური ორგანიზაციული გეგმა ძილ-ღვიძილის ციკლის მარეგულირებელი ჰიპოთალამური ნერვული სისტემების შესახებ ბევრჯერ იქნა დადასტურებული ტვინის ქსოვილის დესტრუქციის მზარდი სელექციური მეთოდების გამოყენებით. ვირთაგვებში ოპტიკური ქიაზმის წინა საზღვრის დონეზე ჰიპოთალამუსის გადაჭრამ ტოტალური უძილობა გამოიწვია (Nauta, 1946). ბილატერალურმა

დაზიანებამ ვირთაგვებსა (Szymusiak et al., 1984; John and Kumar, 1998; Asala et al., 1990) და კატებში (Szymusiak et al., 1991), რაც მოიცავდა პრეოპტიკური ჰიპოთალამუსის როგორც მედიალურ, ისე ლატერალურ უბნებს, ძილის ნაწილობრივი რედუქცია გამოიწვია. დარღვეული ძილის აღდგენა რამდენიმე კვირას საჭიროებდა. უფრო ფართო დიამეტრის ბილატერალურმა დაზიანებამ, რაც ბაზალურ წინა ტვინამდე ვრცელდებოდა, ძილის სრული ელიმინაცია გამოიწვია (McGinty and Sterman, 1968; Sallanon et al., 1986), ხოლო ზოგიერთ შემთხვევაში - ფატალური შედეგითაც კი დასრულდა. ამ მონაცემების თანახმად, პრეოპტიკური უბნის ქსოვილის დესტრუქციის ზომა განაპირობებს ძილის დარღვევის/უძილობის სიმძიმეს. ვირთაგვებში ვენტრო-ლატერალური პრეოპტიკური უბნის (ვლპოუ-ს) დაზიანებამ ნელი ძილის 40%-ით შემცირება გამოიწვია, რაც ძილის რეგულაციაში ვლპოუ-ს მნიშვნელოვან როლზე მიუთითებს (Lu et al., 2000). კატებში პრეოპტიკური უბნის დორსო-ლატერალური ნაწილის დაზიანებამ ნელი ძილის მნიშვნელოვანი დეფიციტი გამოიწვია (Schmidt et al., 2000). დღევანდელი თვალთახედვით, ძილის ხელშემწყობი სტრუქტურები განლაგებულია პრეოპტიკური უბნის მედიალურ და ლატერალურ ნაწილებში. პრეოპტიკური უბნის დაზიანება არამარტო ძილის საერთო მოცულობის შემცირებას იწვევს, არამედ მის გაზერელებასაც; ნელი ძილის ეეგ-აქტივობა ფონთან შედარებით მნიშვნელოვნად მცირდება (Sallanon et al., 1989; Szymusiak et al., 1986; Asala et al., 1990; Szymusiak et al., 1991; Lu et al., 2000), ანუ, ნელი ძილის ინტენსივობა/სიღრმე ქვეითდება.

წინა ჰიპოთალამუსის დაზიანების შემდგომი დეფიციტი დადასტურებულია ექსპერიმენტული მონაცემებით, რომელთა მიხედვით პრეოპტიკური უბნის ელექტრული, თერმული ან ქიმიური სტიმულაცია შეიძლება ძილის ხელშემწყობი იყოს (Sallanon et al., 1986; Sallanon et al., 1989; Lu et al., 2000; Schmidt et al., 2000).

პრეოპტიკური უბნის უჯრედების სელექციური ნეიროტოქსიური დაზიანება ასევე უძილობას იწვევს (John and Kumar, 1998; Sallanon et al., 1989; Szymusiak et al., 1991; Lu et al., 2000), რაც იმაზე მიუთითებს, რომ ლოკალური ნეირონები კრიტიკულ როლს თამაშობენ ძილის ნორმალურ განვითარებაში. პრეოპტიკური უბნის დაზიანების შემდგომ ჯანმრთელი პრეოპტიკური ქსოვილის გადანერგვამ დაზიანებულ უბანში გამოიწვია ძილის ნორმალური სტრუქტურის აღდგენა (John and Kumar, 1998). ეს მონაცემები ადასტურებენ ჰიპოთეზას იმის თაობაზე, რომ ძილის მარეგულირებელი მექანიზმები ლოკალიზებულია პრეოპტიკურ უბანში.

პრეოპტიკური უბნის დაზიანებას თან სდევს როგორც ნელი, ისე პარადოქსული ძილის მნიშვნელოვანი დარღვევები. პრეოპტიკური უბნის დაზიანების მქონე კატებში პენტობარბიტალების შეყვანა პარადოქსული ძილის მოცულობის გაზრდას იწვევს. აქედან გამომდინარე სავარაუდოა, რომ პარადოქსული ძილის დათრგუნვა ასეთ კატებში მეორადი ხასიათისაა (Lucas and Sterman, 1975). ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის დარღვევის ხარისხი პირდაპირ კორელირებს თერმორეგულაციის დარღვევასთან და როგორც ამ ფუნქციის დარღვევით გამოწვეული

მეორადი მოვლენა განიხილება (Szymusiak and Satinoff, 1984). ბოლოდროინდელი მონაცემებით, ვლპოუ-ს მედიალური და დორსალური უბნების დაზიანებას თან პარადოქსული ძილის მძიმე დარღვევები სდევს, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ სწრაფი ძილის და ნელი ძილის რეგულაციაში პრეოპტიკური უბნის სხვადასხვა სუბპოპულაციები არიან ჩართული (Lu et al., 2000).

პრეოპტიკური უბნისა და მისი მიმდებარე მაგნოცელულარული ბაზალური წინა ტვინის ნაწილების უნიკალური თვისება არის ისეთი ნეირონების არსებობა, რომელთა აქტივობა ღვიძილთან შედარებით ძილის დაწყებისა და მსვლელობის დროს იზრდება. პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური ნეირონები ფუნქციურად (ზოგ შემთხვევაში ანატომიურად) დამოუკიდებელ პოპულაციას წარმოადგენენ (იხ. ქვემოთ). ბუნებრივად მძინარე ცხოველებში ძილ-აქტიური ნეირონები იდენტიფიცირებულია ერთი- და მრავალარხიანი უჯრედული ჩანაწერებით და აგრეთვე, *c-fos* გენის ცილოვანი პროდუქტის არსებობით მძინარე ცხოველის პრეოპტიკური უბნის ნეირონებში. ნეირონები “ძილის აქტიური” განმუხტვებით იშვიათად აღირიცხება თავის ტვინის უმეტეს ნაწილში, მაგრამ შედარებით ჭარბი რაოდენობით შეიძლება ინახოს პრეოპტიკური უბნისა და ბაზალური წინა ტვინის გარკვეულ ნაწილებში. პრეოპტიკურ უბანში ძილ-აქტიური ნეირონების პროცენტულობა ვარირებს 23-32% ვირთაგვებში (Lincoln, 1969; Koyama et al., 1994; Osaka et al., 1994; Alam et al., 1997), 17-40% კატებში (Detari et al., 1984; Kaitin et al., 1984; Alam et al., 1995), 21%

ბოცვერში (Findlay and Hayward, 1969) და 33% კანგარო ვირთაგვებში (Glotzbach et al., 1984). კატების მაგნოცელულარულ ბაზალურ წინა ტვინში იდენტიფიცირებულია 24% ძილ-აქტიური ნეირონებისა (Szymusiak et al., 1986). ტვინის ამ რეგიონების ფუნქციური ჰეტეროგენურობიდან გამომდინარე, არ უნდა იყოს მოულოდნელი ის ფაქტი, რომ მათი უჯრედების მხოლოდ გარკვეული ნაწილი არის ჩართული ძილის რეგულაციაში. ცნობილია, რომ პრეოპტიკური უბანი შეიცავს უჯრედებს, რომლებიც ჩართული არიან ორგანიზმის თერმორეგულაციაში. პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური უჯრედების ფუნქციური ურთიერთობები ორგანიზმის თერმორეგულაციასთან კარგად არის შესწავლილი (იხ. ქვემოთ). შუა პრეოპტიკური ბირთვის ნეირონები, აგრეთვე, ორგანიზმის ჰიდრომინერალური ბალანსის რეგულაციაში არიან ჩართული. ფუნქციური კავშირები პრეოპტიკური უბნის ნეირონებს შორის, რომლებიც მონაწილეობენ ძილსა და ოსმორეგულაციაში, ცნობილი არაა და აქტიური მსჯელობის საგანია მკვლევართა შორის (იხ. ქვემოთ). ტვინის ამ რეგიონის ფუნქციური ჰეტეროგენურობიდან გამომდინარე, აუცილებელია ძილ-აქტიური ნეირონების ფუნქციური ურთიერთობის შესწავლა პრეოპტიკური უბნის სხვა ფუნქციური დატვირთვის მქონე უჯრედულ პოპულაციებთან.

ძილის ხელშემწყობი ნეიროქიმიური ნივთიერებების, ანუ ენდოგენური “ძილის ფაქტორების”, იდენტიფიკაცია წარმოადგენს ძილის კვლევის ძირითად მიმართულებას ბოლო 20 წლის განმავლობაში. პრეოპტიკური უბანი და მასთან მოსაზღვრე ტვინის

უბნები განიხილებიან როგორც “ძილის ფაქტორების” ძირითადი სამიზნეები. სხვადასხვა ნივთიერებათა მიკროინექცია პრეოპტიკურ უბანში ზრდის ნელი ძილის მოცულობას. ამ მეთოდის გამოყენებით ნაჩვენებ იქნა, რომ მედიალური პრეოპტიკური უბანი ძილის რეგულაციისთვის ზრდის ჰორმონის/GHRH (Zhang et al., 1999), პროსტაგლანდინ D2-ის (PGD2) (Ueno et al 1982), ბენზოდიაზეპინ ტრიაზოლამის (Mendelson et al., 1989) და ადენოზინის აგონისტების (Radulovacki et al., 1984) ეფექტურ სამიზნეს წარმოადგენს. ადენოზინის აგონისტების მკვეთრი ეფექტი მაგნოცელულარულ ბაზალურ წინა ტვინში იქნა ნაჩვენები (Portas and McCarley, 1994; Porkka-Heiskanen, 1997). პრეოპტიკური უბნის როსტრალურად და ვენტრალურად მდებარე სუბარახნოიდალური სივრცე განიხილება როგორც PGD2-სთვის ძილის ხელშემწყობი ყველაზე ეფექტური უბანი (Matsumura et al., 1994). PGD2 ძილის ნეირონებს ვლპოუ-ში ისევე ააქტივებს, როგორც პრეოპტიკური უბნის სხვა უბნებში (Scamel et al., 1998). მედიალური პრეოპტიკური უბნის დაზიანების ფონზე მე-3 პარკუჭში PGD2-ის ინექციამ ძილის მნიშვნელოვანი ზრდა არ გამოიწვია (Moraiaty et al., 1993). მე-3 და ლატერალურ პარკუჭებში მიკროინექციით გამოწვეული ძილის მომგვრელი ეფექტის გამომჟღავნების საფუძველზე რამდენიმე დამატებითი “ძილის ფაქტორი” იქნა იდენტიფიცირებული. ამ ნივთიერებათა შორის არიან ციტოკინები, ინტერლეიკინი-1 (IL-β), ტუმორ ნეკროზის ფაქტორი, მურამულ დიპეპტიდი (Krueger et al., 1990), გრანულოციტემაკროფაგის ფაქტორი (Kimura et al., 2000), დელტა ძილის

გამომწვევი პეპტიდები (Susik et al., 1987), კორტიკოსტატინი (de Lecea et al., 1996), ოქსიდირებული გლუტატიონი (Inoue et al., 1995), დესაცეტილ-Δ-მელანოციტ მასტიმულირებელი ჰორმონი (Chastrette et al., 1990), ინსულინი (Danquir et al., 1984), ცხიმი ოლეამიდი (Cravatt et al., 1995) და ვაზოაქტიური ცილა (Obal et al., 1986). დღესდღეისობით, უჯრედულ დონეზე ამ ნივთიერებათა სამიზნეები ნათლად არ არის გარკვეული.

ბოლოდროინდელი გამოკვლევებით ნავარაუდებია, რომ პრეოპტიკური უბნის ნეირონები მონაწილეობენ ძილის რეგულაციის ჰომეოსტაზურ ასპექტში და პოტენციალურ სამიზნეს წარმოადგენენ ისეთი ენდოგენური ძილის მომგვრელი ნივთიერებებისათვის, როგორიცაა ციტოკინები და ადენოზინი. ამრიგად, პრეოპტიკური უბნის ნეირონული აქტივაციის დამოკიდებულება ძილის ჰომეოსტაზურ მოწოლასა და ფაქტიურ ძილთან მოითხოვს დაზუსტებას და არსებულ ლიტერატურულ მონაცემებთან შეჯერებას.

ძილის ჰომეოსტაზის მექანიზმების შესწავლის გზები

ძილის ჰომეოსტაზის მექანიზმების კვლევის ძირითად მეთოდს ძილის გამოთიშვა (ანუ დეპრივაცია) წარმოადგენს. ძილის დეპრივაციის ეფექტების შესწავლა ძილის კვლევის ერთ-ერთ ყველაზე აქტუალურ მიმართულებად განიხილება ამ დარგის დაარსების დღიდან, და ამ ტიპის ექსპერიმენტები დღემდე უმნიშვნელოვანესი კომპონენტია ძილის ნეირობიოლოგიიის სხვადასხვა ასპექტების გამოკვლევაში. მიუხედავად ამისა, გადაუჭრელი რჩება კითხვა: ძილის დეპრივაციის რომელი

მეთოდები უნდა იყოს გამოყენებული ძილის ჰომეოსტაზის და ძილის ფუნქციის შესასწავლად. ამ ასპექტში ჩვენი დარგის პროგრესული განვითარება მოითხოვს არსებული ძილ-მადეპრივირებელი პროცედურების კრიტიკულ ანალიზს და ახალი, ოპტიმალურად ადექვატური პროცედურების შემუშავება-დანერგვას. დღესდღეობით არსებული ძილის ტოტალური დეპრივაციის ძირითადი პროცედურებია: 1. "ნაზი/მსუბუქი შეღვიძება" (gentle handling); 2. ახალი/უცნობი საგნის წარდგენა; 3. წყლის აუზის (disk-over-water) მეთოდი; 4. მოძრავი ტრედმილი; 5. იძულებითი გადაადგილება; 6. მბრუნავი ბარაბანი. პარადოქსული ძილის გამოთიშვის მეთოდებია: 1. პატარა პლატფორმის მეთოდი; 2. საქანელას მეთოდი; 3. წყლის აუზის მეთოდი; 4. ტრედმილი.

ძილის დეპრივაციის ადექვატური მეთოდის შერჩევისას ასევე გასათვალისწინებელია დეპრივაციის ხანგრძლივობა, ვინაიდან ძუძუმწოვრებში ძილის ხანგრძლივი გამოთიშვა ისეთი ნევროლოგიური ფუნქციების დარღვევას იწვევს, როგორიცაა მეხსიერება და დასწავლა, ყურადღების კონცენტრაცია, გუნებაგანწყობილება, აზროვნების სისხარტე, ჰორმონალური სეკრეცია და ა.შ. ძილის ხანგრძლივი დეპრივაცია ასევე ორგანიზმში ენერგეტიკული ბალანსის და სხვა პერიფერიული ფუნქციების დარღვევასაც იწვევს.

ძილის დეპრივაციას ორგანიზმში მისი შინაგანი მოთხოვნილების პროგრესული ზრდა მოჰყვება. ამ მოთხოვნილების დაუკმაყოფილებლობის შემთხვევაში (ძილის დეპრივაციის შემდგომი

გაგრძელება) ორგანიზმში შინაგანი კონფლიქტი წარმოიშობა. ეს გარემოება ყოველთვის სტრესულია, ანუ, ძილის დეპრივაცია ყოველთვის არის დაკავშირებული გარკვეულ სტრესთან. ძილის დეფიციტით გამოწვეული სტრესის მინიმალურ დონეზე შენარჩუნება დეპრივაციის მხოლოდ ადექვატური პროცედურების გამოყენების გზით არის შესაძლებელი.

ძილის დეპრივაციის ადექვატური ხანგრძლივობის შერჩევა კიდევ ერთი გარემოებიდან გამომდინარე არის მნიშვნელოვანი; ძილის ჰომეოსტაზი შეეხება იმ მექანიზმებს, რომლებიც აკონტროლებენ რაოდენობრივ ურთიერთობებს დაკარგული ძილსა (ძილის დეფიციტის) და აღდგენითი ძილის მოცულობას შორის. ძილის ჰომეოსტაზის მექანიზმი შესაძლოა, იყოს, ან არ იყოს შერწყმული ძილის ფუნქციების მექანიზმებთან. კვების მაგალითს თუ განვიხილავთ – ეს შერწყმა ნათლად ჩანს; სისხლში გლუკოზის დონის დაწევა და ჰორმონების (ლეპტინის და გრელინის) დონის შეცვლა პირდაპირ გავლენას ახდენს ჰიპოთალამუსის იმ ნერვულ მექანიზმებზე, რომლებიც ჩართავენ კვების ქცევას. მეორეს მხრივ, შიმშილის გრძნობა ბევრად ადრე ჩნდება, ვიდრე ორგანიზმში საკვების დეფიციტით გამოწვეული ცვლილებები. ანალოგიურ მაგალითს სიცივეში კანკალი წარმოადგენს; ჩვენ ვკანკალებთ არა იმიტომ, რომ ამით ჰიპოთერმიის ნორმალიზაციას შევძლებთ, არამედ იმისთვის, რომ მოვახდინოთ ჰიპოთერმიის პრევენცია. სავარაუდოა, რომ ჰომეოსტაზის მექანიზმები სწორედ ფუნქციური დეფიციტის პრევენციას ემსახურებიან. ასეთ შემთხვევაში,

ძილის ჰომეოსთაზური და ფუნქციური ცვლილებების მიმდინარეობა დროის სხვადასხვა მონაკვეთში მოხდება. გამომდინარე აქედან, ძილის ჰომეოსტაზის მექანიზმების შესწავლა მიზანშეწონილია ხანმოკლე დეპრივაციების პირობებში.

ძილის ხანმოკლე დეპრივაციების მსვლელობისას ძალზე მნიშვნელოვანია ძილის შინაგანი მოთხოვნილების/დრაივის დონის დინამიკის კონტროლი, რათა ნათელი იყოს ჰომეოსტაზური პროცესის გააქტივება. ამ გარემოებას, სამწუხაროდ, ნაკლები ყურადღება ექცევა მკვლევარების მხრიდან.

ძილის დადგომის პრევენცია მხოლოდ გარკვეული სტიმულის (ღვიძილის გამომწვევი ფაქტორის) წარდგენის გზით ხდება. ამიტომ, ძალზე მნიშვნელოვანია ამ ასპექტში ორი გარემოების გათვალისწინება: 1. ცხოველის წინასწარი ადაპტაცია "შეღვიძების" სტიმულისადმი; 2. ადექვატური კონტროლის წარმოება (საკონტროლო ჯგუფი). ამ ორი პირობის დაცვა აუცილებელია ძილის დეპრივაციის ეფექტების სწორი ინტერპრეტაციისთვის; რათა გამოირიცხოს ძილის დეფიციტის ეფექტების გადაფარვა/შენიღბვა შეღვიძების სტიმულის სტრეს-ეფექტით. სტიმულისადმი ცხოველის წინასწარი ადაპტაცია აუცილებელია ძილის დეპრივაციით გამოწვეული სტრესის მინიმუმადე დასაყვანად.

ზემოთ განხილული საკითხების გათვალისწინებით, ჩვენ ჩავატარეთ ინტენსიური კვლევა ძილის ტოტალური დეპრივაციის და პარადოქსული ძილის სელექციური გამოთიშვის ადექვატური მეთოდების შემუშავების მიმართულებით ვირთაგვებსა და ზღვის

გოჭებში (Darchia et al., 1995; Oniani et al., 1997a; Oniani et al., 1997b; Oniani et al., 1998; Gvilia et al., 2001). ჩვენ შევისწავლეთ ძილ-ღვიძილის რეგულაციის ნეიროფიზიოლოგიური მექანიზმები და ძილის ჰომეოსტაზის ფიზიოლოგიური კორელატები (Darchia et al., 1995; Oniani et al., 1997a; Oniani et al., 1997b; Oniani et al., 1998; Gvilia et al., 2001; Oniani et al., 1999; Gvilia et al., 1999); ძილის და სხვა ბიოლოგიური მოთხოვნილებების ურთიერთობები (Oniani et al., 1999) ვირთაგვებსა და კატებში. ჩატარებული ინტენსიური სამუშაოს შედეგებმა შესაძლებელი გახადა ძილის ტოტალური დეპრივაციის და პარადოქსული ძილის სელექციური დეპრივაციის ადექვატური მეთოდების შემუშავება. აღნიშნული მეთოდები წარმატებით იქნა გამოყენებული ძილის ჰომეოსტაზური მექანიზმების უჯრედულ დონეზე შესასწავლად (Gvilia et al., 2006a; Gvilia et al., 2006b). შემუშავებული ძილის დეპრივაციის მეთოდები, ასევე, გამოვიყენეთ ძილ-ღვიძილის ციკლის ჰომეოსტაზში და ორგანიზმის ოსმორეგულაციაში ჩართული ნეირონული ქსელების ანატომიურ-ფუნქციური ურთიერთობების შესასწავლად (Gvilia et al., 2005).

კვლევის მიზანი და ამოცანები

კვლევის ძირითად მიზანს წარმოადგენდა ჰიპოთალამუსის პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური უჯრედების ფუნქციურ-ანატომიური ურთიერთობების შესწავლა/ანალიზი ორგანიზმის ოსმორეგულაციასა და ძილის ჰომეოსტაზთან. დასახული იყო გაგვერკვია: 1. ხდება თუ არა შუა პრეოპტიკური ბირთვის (შპობ-ის)

ნეირონების ოსმოსურად ან ჰორმონულად გააქტივების მოდიფიკაცია ძილ-ღვიძილის მდგომარეობით; 2. არის თუ არა ოსმოსური სტიმულების/ცვლილებების საპასუხოდ აქტივირებადი შპობ-ის ნეირონების პოპულაცია იგივე, რაც ძილის დროს აქტივირებადი ნეირონების პოპულაცია; 3. დაკავშირებულია თუ არა შპობ-ის და ვენტროლატერალური პრეოპტიკური უბნის (ვლპოუ-ს) ძილ-აქტიური ნეირონების გააქტივება სწრაფი ძილის ჰომეოსტაზურ რეგულაციასთან; 4. განპირობებულია თუ არა პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური უჯრედების გააქტივება ძილის დრაივით/შინაგანი მოთხოვნილებით; 5. განპირობებულია თუ არა პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური ნეირონების გააქტივება ცირკადული (დღე-ღამური) რიტმით.

კვლევის მიზნის მისაღწევად დასახული იყო შემდეგი ამოცანები:

♦ შპობ-ში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის ექსპრესიის (ინტენსივობა და განაწილება) შესწავლა სისტემურად ნორმალური და ჰიპერტონული ხსნარის შეყვანის შემდეგ, როგორც სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში, ისე ძილის დეპრივაციის პირობებში;

♦ შპობ-ში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის ექსპრესიის შესწავლა ტვინის პარკუჭშიდა ანგიოტენზინ-II-ის და ფიზიოლოგიური ხსნარის ინექციის შემდეგ, როგორც სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში, ისე ძილის დეპრივაციის შემთხვევაში;

♦ შპობ-ის უჯრედებში *ს-ფოს*-იმუნორეაქტიულობის ნეიროტრანსმიტერული ფენოტიპის შესწავლა სისტემურად ნორმალური

და ჰიპერტონული ხსნარის შეყვანის და ტვინის პარკუჭშიდა ანგიოტენზინ-II-ის და ნორმალური ხსნარის ინექციის შემდეგ, როგორც სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში, ისე ძილის დეპრივაციის შემთხვევაში;

♦ შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონებში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის ექსპრესიის შესწავლა სპონტანური ძილის პირობებში ვირთაგვების ისეთ ჯგუფებში, სადაც გამოხატული იყო პარადოქსული ძილის მოცულობის მნიშვნელოვანი სხვაობა;

♦ შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონებში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის ექსპრესიის შესწავლა პარადოქსული ძილის არაფარმაკოლოგიური, სელექციური შეზღუდვის ფონზე;

♦ შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონებში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის ექსპრესიის შესწავლა პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზური გაზრდის/რებაუნდის პირობებში;

♦ შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონებში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის ნეიროტრანსმიტერული ფენოტიპის შესწავლა სპონტანური (სხვადასხვა მოცულობის) პარადოქსული ძილის, ძილის ამ ფაზის სელექციური შეზღუდვის და მისი ჰომეოსტაზური რებაუნდის პირობებში;

♦ შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონებში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის ექსპრესიის შესწავლა იმ საექსპერიმენტო პირობებში (სპონტანური ღვიძილი, სპონტანური ძილი და ძილის ტოტალური დეპრივაცია), რომლებიც განაცალკევებდნენ ძილის ჰომეოსტაზურ დრაივს/მოწოლას და ფაქტობრივი ძილის მოცულობას;

♦ შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონებში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის ექსპრესიის შესწავლა იმ საექსპერიმენტო პირობებში (სინათლეში ძილის დეპრივაცია და სიბნელეში ძილის დეპრივაცია), რომლებიც განაცალკევებდნენ ძილის მოწოლას და დღე-ღამის პერიოდს;

♦ შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონებში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის ნეიროქიმიური ბუნების შესწავლა იმ საექსპერიმენტო პირობებში (სპონტანური ღვიძილი, სპონტანური ძილი, სინათლეში ძილის დეპრივაცია და სიბნელეში ძილის დეპრივაცია), რომლებიც განაცალკევებდნენ ფაქტობრივი ძილის მოცულობას, ძილის მოწოლას და დღე-ღამის პერიოდს.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე: ნაშრომში პირველად იქნა ნაჩვენები, რომ შპობ-ის ნეირონების პოპულაცია, რომელიც აქტიურდება ოსმოსური და ჰორმონული სტიმულების საპასუხოდ, განსხვავდება ძილის დროს გააქტიურებული ნეირონების პოპულაციისაგან, რაც განამტკიცებს ჰიპოთეზას, რომ ორგანიზმის სითხის ჰომეოსტაზის და ძილ-ღვიძილის რეგულაციაში შპობ-ის სხვადასხვა სუბპოპულაციები არიან ჩართულნი. ნანახი იქნა, რომ თუ ძილთან დაკავშირებული *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობა ექსპრესირდება ძირითადად გაემ-ერგულ ნეირონებში, ოსმოსური და ჰორმონული სტიმულებით გამოწვეული *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობა აღინიშნება არა-გაემ-ერგულ (სავარაუდოთ გლუტამატერგულ) ნეირონებში. გარდა ამისა, პირველად იქნა დემონსტრირებული, რომ შპობ-ის ნეირონები პასუხობენ წყლის სმისა

და ოსმორეგულაციის ცენტრალური წრეების გააქტიურებაზე ძილის თუ ღვიძილის მდგომარეობისაგან დამოუკიდებლად; ჰიპერტონული ხსნარისა და ანგიოტენზინ-II-ის შეყვანა მნიშვნელოვნად ზრდის შპობ-ის ნეირონების *ს-ფოს* –იმუნორეაქტიულობას როგორც ღვიძილის, ისე ძილის მდგომარეობაში. ასევე პირველად იქნა აღწერილი, რომ პარკუჭში ანგიოტენზინ-II-ის შეყვანა მნიშვნელოვნად ცვლის ძილის არქიტექტურას, კერძოდ კი, თრგუნავს პარადოქსულ ძილს.

პირველად იქნა შესწავლილი პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური ნეირონების *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობა იმ საექსპერიმენტო პირობებში (სპონტანური ძილი პარადოქსული ძილის სხვა და სხვა მოცულობით, პარადოქსული ძილის სელექციური შეზღუდვა და პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზური გაზრდა/რებაუნდი შეზღუდვის შემდგომ), რომლებიც განაცალკევებდნენ პარადოქსული ძილის მოცულობას და მის ჰომეოსტაზურ მოწოლას უცვლელი ნელი ძილის პირობებში. ნანახი იქნა, რომ შპობ-ის და ვლპოუ-ის ნეირონების გარკვეული ჯგუფის აქტივაცია ძლიერად არის დაკავშირებული სწრაფი ძილის მოწოლის გაზრდასთან. სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში გამოვლინდა შპობ-ის და ვლპოუ-ს *ს-ფოს* და *ს-ფოს*/გმდ იმუნორეაქტიულობის დადებითი კორელაცია როგორც სწრაფი ძილის მოცულობასთან, ისე მის ჰომეოსტაზურ მოწოლასთან. ვირთაგვებში სწრაფი ძილის შეზღუდვის მიმდინარეობისას გამოვლინდა სწრაფი ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლის განსხვავებული ხარისხი, რაც განისაზღვრებოდა ნელი ძილიდან სწრაფ ძილში გადასვლის მცდელობათა რაოდენობით. ამ

ცხოველებში *ს-ფოს* და *ს-ფოს*/გმდ იმუნორეაქტიულობა დადებით კორელაციაში იყო სწრაფი ძილის დადგომის მცდელობათა რაოდენობასთან, ანუ სწრაფი ძილის მოწოლის ხარისხთან. ვირთაგვებში, რომლებსაც სწრაფი ძილის შეზღუდვის შემდეგ აღდგენითი ძილის შესაძლებლობა ეძლეოდათ, *ს-ფოს*-იმუნორეაქტიულობის ინტენსივობა დადებით კორელაციაში იყო როგორც სწრაფი ძილის მოცულობასთან, ისე მისი ჰომეოსტაზური მოწოლის დონესთან. მაშასადამე, საერთო ელემენტი, რომელიც შესწავლილ ექსპერიმენტულ პირობებში საფუძვლად უდევს შპობ-ისა და ვლპოუ-ს ნეირონულ აქტივაციას, იყო სწრაფი ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლის დონე. ამ შრომის მთავარი აღმოჩენა იყო ის, რომ სამ განსხვავებულ ექსპერიმენტულ პირობებში ნეირონების აქტივაცია შპობ-სა და ვლპოუ-ში მჭიდროდ იყო დაკავშირებული სწრაფი ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლის დონესთან, და არა ფაქტობრივი სწრაფი ძილის მოცულობასთან. ამ მონაცემებმა პირველად გახადა თვალსაჩინო, რომ პრეოპტიკური უბნის მთელი რიგი ნეირონების აქტივობა დაკავშირებულია სწრაფი ძილის შინაგან მოთხოვნილებასთან და რომ ეს უჯრედები, შესაძლებელია, შეადგენენ წინა ტვინის იმ ნაწილს, რომელიც სწრაფი ძილის ჰომეოსტაზის რეგულაციაში არის ჩართული. ასევე აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ მოცემულ შრომაში შემუშავებული პარადოქსული ძილის შეზღუდვის სელექციურ მეთოდი წარმოადგენს ძილის ამ ფაზის ჰომეოსტაზის

ცენტრალური მექანიზმების შესწავლის ახალ, ძალზე ეფექტურ მოდელს.

ეს კვლევა წარმოადგენს პირველ შრომას, სადაც შესწავლილ იქნა პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური ნეირონების *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობა იმ საექსპერიმენტო პირობებში (სპონტანური ღვიძილი, სპონტანური ძილი, ძილის ტოტალური დეპრივაცია და ძილის ჰომეოსტაზური რებაუნდი დეპრივაციის შემდგომ), რომლებიც განაცალკევებდნენ ძილის მოცულობას, ძილის მოწოლის დონეს და დღე-ღამის პერიოდს. ჩვენ პირველებმა მოვახსენეთ, რომ შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონები მაქსიმალურად ექსპრესირებენ *ს-ფოს-ს* ძილზე მაღალი ჰომეოსტაზური მოთხოვნილების სიტუაციაში, რომელსაც თან მინიმალური ფაქტობრივი ძილი ახლავს, ე.ი. ძილის დეპრივაციის საპასუხოდ ნათელ/მოსვენების პერიოდში. ამის საპირისპიროდ, ვლპოუ-ს გაემ-ერგული ნეირონები ამჟღავნებენ მაქსიმალურ *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობას აღდგენითი ძილისა და სინათლეში სპონტანური ძილის დროს, ე. ი. გაზრდილი ძილის მოცულობის პირობებში. პირველად იქნა გამოკვეთილი, რომ შპობ-ის გაემ-ერგული უჯრედები პროგრესულად აქტიურდებიან ძილის დრაივის ზრდის პარალელურად, ხოლო ვლპოუ-ს გაემ-ერგული უჯრედების აქტივაცია კი - უპირატესად ძილის მოცულობის გაზრდას უკავშირდება. პირველად იქნა დასაბუთებული, რომ შპობ-ის და ვლპოუ-ს გაემ-ერგული სუბპოპულაციები სხვადასხვა ფუნქციას ასრულებენ ძილის ჰომეოსტაზის რეგულაციაში. გამოიკვეთა, რომ შპობ-ის გაემ-ერგული

უჯრედები ხელს უწყობენ ძილის ჩართვას/დადგომას, ხოლო ვლპოუ-ს გაემ-ერგული ნეირონების ფუნქცია კი ძილის კონსოლიდაციასთან (ღრმა და უწყვეტი ძილის პატერნის უზრუნველყოფასთან) არის დაკავშირებული. პირველად იქნა მოხსებებული, რომ პრეოპტიკური უბნის ძილის-ხელშემწყობი ნეირონების აქტივობა არ განიცდის დღე-ღამურ მოდულაციას ძილის დრაივის დონის დამოუკიდებლად.

აღსანიშნავია, რომ მოცემულმა გამოკვლევამ დასაბამი დაუდო იმ ნეირონული სუბსტრატების შესწავლას, რომლებიც საფუძვლად უდევს ნელი ძილის და პარადოქსული ძილის რეგულაციის ჰომეოსტაზურ ასპექტებს. მოცემულ კვლევაში შემუშავებული ექსპერიმენტული მეთოდი წარმოადგენს პირველ წარმატებულ მოდელს ძილის ჰომეოსტაზური რეგულაციის უჯრედული მექანიზმების შესასწავლად.

ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული ღირებულება: კვლევის შედეგები აღრმავებენ ბაზისურ ცოდნას ძილ-ღვიძილის ნეირობიოლოგიაში. ეს არის მნიშვნელოვანი და დროული ნაშრომი ძილის და ორგანიზმის მეტაბოლიზმის ფუნქციური ურთიერთობების შესწავლის თვალსაზრისით. კერძოდ, გადაიჭრა შპობ-ის ფუნქციურ დანიშნულებასთან დაკავშირებული ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი, სადავო საკითხი. საბოლოოდ გაირკვა, რომ შპობ-ი აქტიურად მონაწილეობს როგორც ორგანიზმის ჰიდრომინერალური ბალანსის, ისე ძილის ჰომეოსტაზის რეგულაციაში. ნაშრომში ნათლად არის ნაჩვენები, რომ შპობ-ის ფუნქციური ჰეტეროგენურობა განპირობებულია ამ რეგიონის

უჯრედული ორგანიზაციის თავისებურებით; შპობ-ი წარმოდგენეს სხვადასხვა ბიოქიმიური ბუნების უჯრედების პოპულაციების ერთიანობას, რომლებიც თავიანთი ფუნქციური დამოუკიდებლობით ხასიათდებიან.

ნაშრომი აღრმავებს თეორიულ ცოდნას ძილ-ღვიძილის ციკლის ჰომეოსტაზური რეგულაციის უჯრედულ მექანიზმებზე. კერძოდ, იკვეთება ცენტრალური ნერვული სისტემის ის ნეირონული სუბსტრატები, რომლებიც აწარმოებენ ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლის აკუმულირებას და კოდირებას. ნაშრომიდან ნათლად ჩანს, რომ შპობ-ის და ვლპოუ-ს გაემ-ერგული უჯრედები ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლის რეგისტრირებას ახდენენ და როგორც ჩანს ენდოგენური ძილის მომგვრელი ნივთიერებებისათვის სწორედ ეს უჯრედები წარმოადგენენ სამიზნეს.

ამ აღმოჩენას თეორიულთან ერთად დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობა აქვს. დღევანდელ საზოგადოებაში, გაზრდილი ფიზიოლოგიური და სოციალურ-კულტურული სტრესული ფაქტორების ზეგავლენის ფონზე, პოპულაციის დიდი ნაწილი უჩივის სხვადასხვა სახის ძილის დარღვევებს (Darchia and Gvilia, 2003). ამავე დროს, სრულფასოვანი ძილი სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვანია ადამიანთა ცხოვრების ნორმალურად წარმართვისა და სრულყოფილი ფუნქციონირებისათვის. ხარისხიანი/ჯანმრთელი ძილი განპირობებულია ძილის და ღვიძილის სისტემებს შორის ჰომეოსტაზური ბალანსის არსებობით. ამ ბალანსის დარღვევა კი - ორივე სისტემის ნორმალურად

ფუნქციონირების მოშლას იწვევს. ძილის ჰომეოსტაზის უჯრედული მექანიზმების გარკვევა მნიშვნელოვნად შეუწყობს ხელს ახალი, ეფექტური თერაპიული მეთოდების შემუშავებას მკურნალობის უჯრედული სამიზნეების დაზუსტების გზით.

ძილის შინაგანი მოთხოვნილების/მოწოლის გაზრდა ადამიანებში ძილიანობის მომატებას იწვევს. ამ მწვავე ბიოლოგიური მოთხოვნილების დაუკმაყოფილება კი რეალურ საფრთხეს უქმნის როგორც ინდივიდის სიცოცხლეს, ისე საზოგადოებას. კერძოდ, ძილიანობის მომატება მკვეთრად აქვეითებს ღვიძილის ხარისხს; იწვევს სიფხიზლის დონის მკვეთრ დაცემას, ყურადღების გაფანტვას, აზროვნების შენელებას, პრობლემაზე კონცენტრირების უნარის დაქვეითებას, მიკრო-ძილების შემოჭრას ღვიძილის მდგომარეობაში და გუნება-განწყობილების გაუარესებას. უკანასკნელ პერიოდში კაცობრიობის ერთ-ერთი ყველაზე შემზარავი ტრაგედიის – ჩერნობილის სავარაუდო მიზეზად, სწორედ, იქ მომუშავე პერსონალის მომატებული ძილიანობა სახელდება. ღამის საათებში და გამთენიისას მომხდარი ავტოკატასტროფების ძალიან მაღალი პროცენტი საჭესთან მჯდომი პირების მომატებული ძილიანობით არის განპირობებული. ამრიგად, ძილის ჰომეოსტაზის მექანიზმების შესწავლა არის როგორც სამედიცინო, ისე საზოგადოებრივი პრობლემა.

ცნობილია, რომ პარადოქსული ძილი ჰომეოსტაზის პრინციპით რეგულირდება და მის გენერირებაზე პასუხისმგებელი უჯრედები, ტვინის ღეროში არიან ლოკალიზებული (იხ. ზევით). ასევე ცნობილია,

რომ ნელი ძილი, რომელიც ნორმალურ/ბუნებრივ პირობებში წინ უსწრებს პარადოქსულ ძილს, ჰიპოთალამუსის პრეოპტიკური უბნის ნეირონების მიერ კონტროლდება (იხ. ზევით). დღემდე გაუგებარი იყო, თუ როგორ აკონტროლებს ჰიპოთალამუსი პარადოქსულ ძილს, კერძოდ კი, მის ჩართვას. ჩვენი კვლევის შედეგები აჩვენებს, რომ პრეოპტიკური უბნის გარკვეული (არა-გაემ-ერგული ბუნების) უჯრედების პოპულაციები ახორციელებენ პარადოქსული ძილის მოთხოვნილების დონის შეფასებას და ხელს უწყობენ ძილის ამ ფაზის ჩართვა-განვითარებას. ამ საკითხის გარკვევას ფუნდამენტური ცოდნის გაღრმავებასთან ერთად დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობა აქვს. კერძოდ, პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზის უჯრედული მექანიზმების ცოდნა აუცილებელია იმ დაავადებების სამკურნალოდ, რომლებიც დაკავშირებული არიან პარადოქსული ძილის რეგულაციის მოშლასთან. ამ დაავადებათა რიცხვს მიეკუთვნებიან: შიზოფრენია, დეპრესია და ნარკოლეფსია. შიზოფრენიის ზოგიერთი სიმფტომი განიხილება როგორც სიზმრისეული (პარადოქსული) ძილის შემოჭრა ღვიძილში. დეპრესია დაკავშირებულია ღამის ძილის დროს პარადოქსული ძილის ჭარბ გამოხატულებასთან. ნარკოლეფსიის სამი ძირითადი სიმფტომი როგორიცაა კატაპლექსია, ჰალუცინაციები ძილის დადგომის პერიოდში და ორგანიზმის პარალიზირება ძილის დადგომისას ან გამოღვიძების პერიოდებში, განიხილება როგორც პარადოქსული ძილის პათოლოგიური ანალოგები. ამ დაავადებათა მკურნალობა შეზღუდულია პარადოქსული ძილის მაკონტროლებელი მექანიზმების

უცოდინრობის გამო. ერთ-ერთ კრიტიკულ, გადაუჭრელ საკითხს სწორედ პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზის ნეირონული სუბსტრატების გარკვევა წარმოადგენს. ამგვარად, პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზის შესწავლა უჯრედულ დონეზე, ძალზე მნიშვნელოვანია თანამედროვე მედიცინის განვითარებისთვის.

მოცემულ კვლევაში აპრობირებული ექსპერიმენტული პარადიგმი შეიძლება გამოყენებულ იქნას როგორც ძილ-ღვიძილის ციკლის ჰომეოსტაზის უჯრედული საფუძვლების ექსპერიმენტული გამოკვლევის ადექვატური მოდელი.

II. ლიტერატურის მიმოხილვა

პრეოპტიკური უბნის ნეირონების როლი ძილის რეგულაციაში: შესავალი

მას შემდეგ, რაც დადგინდა, რომ პრეოპტიკური/როსტრალური ჰიპოთალამუსის დაზიანებისას ქრონიკული უძილობა წარმოიქმნება, ამ სტრუქტურას ძილის ხელშემწყობი ფუნქცია მიაწერეს. შემდგომში განისაზღვრა, რომ პრეოპტიკური ჰიპოთალამუსის და მიმდებარე ბაზალური წინა ტვინის უნიკალური თვისებაა ისეთი ნეირონების არსებობა, რომლებიც აქტივირდებიან ძილის და არა ღვიძილის დროს. პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური ნეირონები იდენტიფიცირებული იყო ერთეული და მულტინეირონული რეგისტრაციითა და მძინარე ცხოველის ნეირონებში *ს-ფოს* გენის ცილოვანი პროდუქტის არსებობით. ძილ-აქტიური ნეორონები პრეოპტიკური უბნის მრავალ სუბრეგიონშია

ლოკალიზებული, განსაკუთრებული სიხშირით კი – ვენტროლატერალურ პრეოპტიკურ უბანში (ვლპოუ) და შუა პრეოპტიკურ ბირთვში (შპობ). ვლპოუ-ს ნეირონები შეიცავენ შემაკავებელ ნეირომოდულატორს – გალანინს და შემაკავებელ ნეიროტრანსმიტერს – ამინოერბოს მჟავას (გაემ-ს). შპობ-ის ძილ-აქტიური ნეირონების უმეტესობა გაემ-ს შეიცავს. ანატომიურმა გამოკვლევებმა უკანა და ლატერალური ჰიპოთალამუსისა და ტვინის ღეროს როსტრალური ნაწილის ღვიძილის მრავლობითი მარეგულირებელი სისტემისაკენ მიმავალი შპობ-ის და ვლპოუ-ის პროექციები გამოავლინა. საბოლოოდ ნაჩვენებია, რომ პრეოპტიკური უბნის ნეირონების ფუნქციონირება ღვიძილის მრავლობითი სისტემების შემაკავებელი მოდულაციის გზით ხელს უწყობს ძილის დაწყებასა და მის მიმდინარეობას.

ამ მიმოხილვაში წარმოდგენილია პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური ნეირონების ფიზიოლოგიისა და ანატომიის შესახებ არსებული ბოლოდროინდელი მონაცემები და აღწერილია ამ ნეირონების ანატომიური და ფუნქციური ურთიერთობები უკანა ჰიპოთალამუსსა და ტვინის ღეროში ლოკალიზებულ ღვიძილის მარეგულირებელ ნეირონებთან. ბოლოდროინდელი შრომები აჩვენებს, რომ ძილის აქტიური ნეირონები პრეოპტიკური უბნის მრავალ ადგილასაა ლოკალიზებული, ხოლო განსაკუთრებით მაღალი სიხშირით – ვლპოუ-სა და შპობ-ში გვხვდება. ძილ-აქტიური ნეირონები შეიძლება, აგრეთვე, ვიპოვოთ ვლპოუ-ს მედიალურ ნაწილში, კუდიან ბირთვში,

დორსოლატერალურ პრეოპტიკურ უბანსა და მიმდებარე წინა ტვინის ბაზალურ ნაწილში, სადაც ისინი სხვა ტიპის უჯრედებში არიან შერეული. პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური ნეირონები თავისი ბუნებით შემაკავებელია; ვლპოუ-ის ნეირონები შეიცავს შემაკავებელ ნეირომოდულატორს - გალანინს და შემაკავებელ ნეიროტრანსმიტერს – გაემ-ს. შპობ-ის ნეირონების უმრავლესობა, რომელიც ძილის დროს *ს-ფოს*-ის ექსპრესიით ხასიათდება, გაემ-ერგულია. ანატომიური გამოკვლევებით ნაჩვენებია ვლპოუ-ს და შპობ-ის პროექციები უკანა ჰიპოთალამუსსა და ტვინის ღეროში ლოკალიზებული მრავლობითი ღვიძილის მარეგულირებელი სისტემებისაკენ. ერთეული ნეირონების განმუხტვების ჩანაწერებით, *ს-ფოს* ცილის იმუნოჰისტოქიმიური შეღებვით, და ანატომიური კვლევების მონაცემებით, თვალსაჩინო ხდება ღვიძილის სისტემების შემაკავებელი მოდულაციის გზით პრეოპტიკური უბნის ნეირონების ხელშემწყობი როლი ნელი ძილის წარმოშობასა და ძილის სტაბილურ მიმდინარეობაში. ბოლოდროინდელი მონაცემების საფუძველზე ნავარაუდებია ამ ნეირონების მონაწილეობა ძილის ჰომეოსტაზურ რეგულაციასა და აგრეთვე, ტვინის ღეროში ნელი ძილის მაგენერირებელი ნეირონული წრეების მოდულაციაში (Gong et al., 2004).

ძილთან დაკავშირებული ნეირონული აქტივობა პრეოპტიკურ უბანში და ბაზალურ წინა ტვინში

მონაცემებმა იმის თაობაზე, რომ პრეოპტიკური და მისი მიმდებარე უბნების დაზიანებამ შეიძლება გამოიწვიოს უძილობა (Nauta, 1946; McGinty and Sterman, 1968; Szymusiak and Satinoff, 1984; Szymusiak et al., 1991; John and Kumar, 1998; Lu et al., 2000), ხოლო ამ უბნების გაღიზიანებამ – ძილი (Sterman and Clemente, 1962; Benedek et al., 1982; Mendelson and Martin, 1992; Ticho and Radulovacki, 1991), გამოიწვია პრეოპტიკურ უბანში ისეთი ნეირონების ძიება, რომელთა აქტივაცია ხდებოდა მხოლოდ ძილის დროს. ეს ძიება თანხვდა წამოჭრილ პერსპექტივას, რომ ტვინის მიერ ძილის რეგულაცია აქტიური პროცესია და რომ ძილის ხელშემწყობი ნეირონული სისტემების იდენტიფიცირება შესაძლებელია. ადრეულმა შრომებმა პრეოპტიკურ უბანში ისეთი ნეირონების არსებობა აჩვენა, რომელთა განმუხტვებიც სიფხიზლესთან შედარებით ძილის დროს ძლიერდება (Findlay and Hayward , 1969; Kaitin, 1984).

ნატურალური ღვიძილისა და ძილის დროს ლატერალურ პრეოპტიკურ უბანში და მიმდებარე ბაზალურ წინა ტვინში ნეირონული განმუხტვების სისტემატურმა გამოკვლევამ (Szymusiak and McGinty, 1986; Szymusiak and McGinty, 1989) დაადასტურა ისეთი ნეირონების არსებობა, რომელთა აქტივობა მჭიდროდ იყო დაკავშირებული ძილთან. მიკროელექტროდები თავსდებოდა ტვინის იმ უბნებში, რომელთა ელექტრული გაღიზიანება ყველაზე ეფექტურად იწვევდა ეეგ სინქრონიზაციას და ძილს (Sterman and Clemente, 1962).

რეგისტრირებულ 20 ძილ-აქტიურ ნეირონში აქტიური ღვიძილის დროს წარმოიქმნებოდა საშუალოდ 0,7±0,1 სპაიკი/წმ-ში, ხოლო სტაბილური ნელი ძილის დროს კი - 9,4±1,0 სპაიკი/წმ-ში. ეეგ ჩანაწერების თანახმად, ამ ნეირონების აქტივობა ძილის დაწყებამდე, სიფხიზლიდან ნელ ძილში გარდამავალ ფაზაში იზრდებოდა. განმუხტვათა სიხშირე უფრო მაღალი იყო სტაბილურ ძილში გარდამავალი თვლემის ან წყნარი სიფხიზლის დროს, ვიდრე აქტიურ სიფხიზლეში გარდამავალი წყნარი სიფხიზლის ეპიზოდებში (Szymusiak and McGinty, 1986; Szymusiak and McGinty, 1989).

ფაზური კომპონენტებით (პონტო-გენიკულო-ოქციპიტალური ტალღები, თვალის სწრაფი მოძრაობები და კუნთების ფაზური შეკუმშვები) მდიდარ სწრაფ ძილში, ძილ-აქტიური ნეირონების განმუხტვების დონე ისეთივე იყო, როგორც აქტიური ღვიძილის დროს, მაგრამ განმუხტვათა სიხშირე სწრაფი ძილის ტონურ/წყნარ ფაზაში ღვიძილისა და ნელი ძილის გარდამავალი ფაზების მონაცემებს შორის მერყეობდა. ქერქქვეშა თეთრ ნივთიერებასა და როსტრალური შუა ტვინის რეტიკულურ ფორმაციაში მოთავსებული გამღიზიანებელი ელექტროდების საშუალებით ხდებოდა ნეირონების ანტიდრომული აქტივაცია და ნაჩვენები იყო, რომ ზოგიერთი ნეირონი ძილთან დაკავშირებული აქტივაციით გრძელაქსონიან საპროექციო ნეირონებს მიეკუთვნებოდა (Szymusiak and McGinty, 1989).

პრეოპტიკური უბნის და ბაზალური წინა ტვინის შესწავლილ რეგიონებში ძილ-აქტიური ნეირონები აღრიცხული უჯრედების

მხოლოდ 20-25% შეადგენს. ყველაზე უფრო ხშირად გვხვდება ის ნეირონები, რომლებსაც ახასიათებს მაქსიმალური აქტივაცია ნელი და სწრაფი ზილის დროს და შესუსტებული განმუხტვები ღვიძილის დროს, გვხვდება ყველაზე უფრო ხშირად. პრეოპტიკური უბნის და ბაზალური წინა ტვინის მრავალ რეგიონში ძილ-აქტიური ნეირონები შერეული იყო ღვიძილის აქტიურ უჯრედებთან და შეადგენდა 10%-ს. ყველაზე დიდი რაოდენობით ძილ-აქტიური ნეირონები ვლპოუ-შია ნაპოვნი. ეს უბანი იდენტიფიცირებული იყო სტერმანისა და კლემენტის მიერ (1962) როგორც ერთ-ერთი ყველაზე მეტად პოტენციური ადგილი, რომლის ელექტრული სტიმულაცია კატებში ძილის ზრდას იწვევდა.

ჰიპოთალამუსის ძილ-აქტიური ნეირონების თერმოსენსიტიურობა

სხეულის ტემპერატურისა და ძილის კონტროლში ჩართული უჯრედული მექანიზმები როსტრალურ/პრეოპტიკურ ჰიპოთალამუსში იკვეთება. პრეოპტიკური უბნის მედიალური და ლატერალური ნაწილები კრიტიკულადაა ჩართული სხეულის ტემპერატურის რეგულაციაში. პრეოპტიკური უბნის დაზიანებებს თერმორეგულაციის ღრმა დარღვევების გამოწვევა შეუძლია, ხოლო როსტრალური ჰიპოთალამუსის ლოკალურ გათბობას ან გაცივებას მთელი სხეულის თერმორეგულატორული პასუხების გამოწვევა შეუძლია (Szymusiak and Satinoff, 1984). პრეოპტიკური უბანი, ტვინის სხვა უბნებთან შედარებით, ყველაზე დიდი რაოდენობით შეიცავს შინაგანად თერმოსენსიტიურ ნეირონებს. ნეირონები, რომლებიც აქტივობას ლოკალური გათბობის საპასუხოდ აძლიერებენ (სითბო-სენსიტიური ნეირონები) და ნეირონები, რომლებიც აქტივობას ლოკალური გაციების საპასუხოდ აძლიერებენ (სიცივე-სენსიტიური ნეირონები) ლოკალიზებული არიან მედიალურ და ლატერალურ პრეოპტიკურ უბანში (Boulant and Dean, 1986). პრეოპტიკური უბნის ზომიერი ლოკალური გათბობა ბევრ ისეთ თერმორეგულატორულ პასუხს იწვევს, რაც ნორმალურად თან სდევს ძილის დაწყებას: გაძლიერებულ სითბოს გაცემას, სხეულის ტემპერატურის დაქვეითებას და სხვა (Boulant, 1981). პრეოპტიკური უბნის დამატებით გათბობამ შეიძლება ძილის ქცევითი და ელექტროფიზიოლოგიური ნიშნები გამოიწვიოს და ძილის დროს

ნელტალღოვან ეეგ აქტივობას შეუწყოს ხელი (Benedek et al 1982; Roberts and Robinson, 1969). საბოლოოდ, ეს მონაცემები საფუძველს იძლევა ჰიპოთეზისთვის, რომ პრეოპტიკური უბნის ძილის მარეგულირებელი ნეირონები თერმოსენსიტიურია.

ეს ჰიპოთეზა ვირთაგვებსა და კატებში ღვიძილისა და ძილის დროს პრეოპტიკური უბნის თერმოსენსიტიური ნეირონების განმუხტვების რაოდენობრივი ანალიზით იქნა შეფასებული. პრეოპტიკური უბნის ლოკალური ტემპერატურის ცვლილება ქრონიკულად ჩანერგილი, წყლით პერფუზირებული ელექტროდებით ხდებოდა. მიკრომავთულების კონები მოთავსებული იყო თერმოდის თერმულ ველში, რათა შესაძლებელი ყოფილიყო ნეირონული პასუხების განსაზღვრა ლოკალური ტემპერატურის აწევასა და დაწევაზე. ნეირონის თერმოსენსიტიურობის დახასიათების შემდეგ სპონტანური ძილ-ღვიძილის 2-3 ციკლის განმავლობაში უჯრედის აქტივობა რაოდენობრივად იყო შეფასებული. აღმოჩნდა, რომ სითბო-სენსიტიური ნეირონების უმრავლესობა ძილთან კავშირში განიმუხტება, ხოლო სიცივე-სენსიტიური ნეირონების უმრავლესობა-აქტიური ღვიძილისთვის დამახასიათებელი პროფილით განიმუხტება (Alam et al., 1995; Alam et al., 1997). ნელი ძილის დროს, ღვიძილთან შედარებით, სითბო-სენსიტიურ ნეირონებში ძილთან დაკავშირებული აქტივაციით განმუხტვების სიხშირე, დაახლოებით, 50%-ით იზრდებოდა. დამატებით, ნელი ძილის დროს გაზრდილი იყო სითბო-სენსიტიური ნეირონების თერმო-სენსიტიურობა, ე.ი. ლოკალური ტემპერატურის

ერთი და იმავე სიდიდით გაზრდის შემთხვევაში, განმუხტვათა სიხშირე სითბო-სენსიტიურ ნეირონებში ნელი ძილის დროს უფრო მეტად იზრდებოდა, ვიდრე ღვიძილის დროს (Alam et al., 1996). ვინაიდან სითბო-სენსიტიური ნეირონების აქტივაცია სითბოს გაძლიერებულ გაცემასთან და სხეულის ტემპერატურის დაქვეითებასთან არის დაკავშირებული, ამ მონაცემებით შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ უჯრედული მექანიზმი, რომელიც საფუძვლად უდევს ძილის დასაწყისის ნორმალურად თანმდევ სხეულის ტემპერატურის დაქვეითებას; პრეოპტიკური უბნის სითბო-სენსიტიური ნეირონების თერმო-სენსიტიურობისა და ძილთან დაკავშირებული აქტივაციის გაძლიერებას. ის მონაცემები, რომ პრეოპტიკური უბნის ლოკალური გათბობა ხელს უწყობს ძილის დასაწყისს და ძილის დროს ნელტალღოვან ეეგ აქტივობას აძლიერებს, მიუთითებს, რომ ძილის დასაწყისისა და ძილის სიღრმის რეგულაციაში სითბო-სენსიტიური ნეირონები ფუნქციურ როლს ასრულებენ.

c-fos-ის ექსპრესია პრეოპტიკური უბნის ნეირონებში ძილის დროს

ჰიპოთალამუსის ძილის მარეგულირებელი ნეირონების ნეიროანატომიისა და ნეიროქიმიის დახასიათებაში მნიშვნელოვანი პროგრესი იქნა მიღწეული იმუნოშეღებვის მეთოდების გამოყენებით, რაც საშუალებას იძლევა გააქტივებული ნეირონების კარტირება მოხდეს უფრო ფართო მასშტაბით, ვიდრე ეს შესაძლებელია ერთეული ნეირონების ელექტროფიზიოლოგიით. აღმოჩნდა, რომ მყისიერი-

ადრეული გენის – *ს-ფოს*-ის ექსპრესია სხვადასხვა ნეირონების გაზრდილ აქტივობასთან არის კორელაციაში (Morgan and Curran, 1991). გამოკვლევები იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდების გამოყენებით, როდესაც აღინიშნება *ს-ფოს*-ის გენის ცილოვანი პროდუქტი, აჩვენებს სავარაუდო ძილის მარეგულირებელი ნეირონების ლოკალიზაციას ვლპოუ-სა და შპობ-ში (**სურათები 3 და 5,** შესაბამისად). შერინმა და თანაავტორებმა ვირთაგვების თავის ტვინში სპონტანური ძილ-ღვიძილის ქცევის დროს პირველად გამოიკვლიეს *ს-ფოს*-ის ექსპრესია, როგორც სინათლე/დასვენების, ისე სიბნელე/აქტიურ პერიოდებში (Sherin et al., 1996). *ს-ფოს* იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა იმ ცხოველების ვლპოუ-ში, რომლებიც პერფუზირებული იყვნენ ნათელი ციკლის დროს, გაცილებით მაღალი იყო იმ ცხოველებთან შედარებით, რომლებიც პერფუზირებული იყვნენ სიბნელის ციკლში. ამ ცხოველებში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა წინარე ძილის მოცულობასთან დადებით კორელაციაში იყო. ცირკადული ფაქტორების როლის განსაზღვრის მიზნით ვირთაგვებს სინათლის ციკლის დროს ძილის 9 ან 12 საათიანი დეპრივაცია უტარდებოდათ, რაც ნორმალური ძილ-ღვიძილის ქცევისა და ცირკადული ფაზის დისოცირების შესაძლებლობას იძლევა. ზოგიერთ ცხოველს ძილის დეპრივაციის შემდეგ მაშინვე უკეთდებოდა პერფუზია, ხოლო სხვებს – 45, 90 ან 180 წთ-იანი აღდგენითი ძილის შემდეგ. *ს-ფოს* იმუნორეაქტიული ნეირონების მნიშვნელოვანი რაოდენობა ვლპოუ-ში აღინიშნებოდა მხოლოდ იმ ცხოველებში, რომლებსაც მოკვლამდე აღდგენითი ძილის

საშუალება ეძლეოდათ და ამ ცხოველების ვლპოუ-ში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიული ნეირონების საშუალო რაოდენობა დადებით კორელაციაში იყო ძილის ხანგრძლივობასთან პერფუზიამდე ერთსაათიანი პერიოდის განმავლობაში.

სინათლის პერიოდში სიბნელის პერიოდთან შედარებით *ს-ფოს*-ის გაზრდილი ექსპრესია, *ს-ფოს*- იმუნორეაქტიული ნეირონების საშუალო რაოდენობასა და წინარე ძილის მოცულობას შორის დადებითი კორელაცია და *ს-ფოს*-იმუნორეაქტიული ნეირონების მნიშვნელოვანი ზრდა ძილის დეპრივაციის შემდეგ აღდგენითი ძილის დროს, იმ ჰიპოთეზის სასარგებლოდ მეტყველებს, რომ ვლპოუ არის ძილის ხელშემწყობი კრიტიკული უბანი. ვირთაგვები, პერფუზირებული ძილის დეპრივაციის შემდეგ (აღდგენითი ძილის გარეშე) არ ამჟღავნებდნენ *ს-ფოს* იმუნორეაქტიული ნეირონების გაზრდილ რაოდენობას ვლპოუ-ში; სავარაუდოა, რომ ამ ბირთვში *ს-ფოს-ის* აქტივაცია დამოკიდებულია მხოლოდ ფაქტობრივ ძილზე (მის მოცულობაზე) და ძილიანობასთან კავშირი არა აქვს.

მოგვიანებით, ვირთაგვას ვლპოუ-ში ძილისა და ღვიძილის დროს ნეირონულ განმუხტვათა პატერნები იქნა შესწავლილი (Szymusiak et al., 1998).

სურათი 3

კვლევის მიზანი იყო: 1. იმის განსაზღვრა, შეიძლება თუ არა, რომ ნეირონები, ძილთან დაკავშირებული განმუხტვებით, დიდი რაოდენობით იყოს ლოკალიზებული იმავე რეგიონში, სადაც ასე ჭარბად იყო წარმოდგენილი ნეირონები ძილთან დაკავშირებული *ს-ფოს* –იმუნორეაქტიულობით; 2. ვლპოუ-ს ნეირონების დახასიათება პარადოქსული და ნელი ძილის დროს, ვინაიდან *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის შესწავლას არ შეუძლია ასეთი განსხვავებების ახსნა.

აღმოჩნდა, რომ ძილის დროს ლატერალური პრეოპტიკური უბნის ვენტრალურ ნაწილში ნეირონების დაახლოებით 50% აძლიერებს განმუხტვებს შედარებით ღვიძილთან; ეს კი როსტრალური ჰიპოთალამუსის სხვა უბნებში ძილ-აქტიური ნეირონების ადრე ნანახზე უფრო მაღალი კონცენტრაცია იყო. ვლპოუ-ს ნეირონების უდიდესი ნაწილი გააქტივებული იყო როგორც ნელი, ისე პარადოქსული ძილის დროს. ვლპოუ-ს ძილთან დაკავშირებული ნეირონების განმუხტვების საშუალო სიჩქარეები ნელი და პარადოქსული ძილის დროს მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა. ვლპოუ-ის ნეირონების უმეტეს ნაწილში აქტივობა ღვიძილსა და ნელ-ძილს შორის გარდამავალ პერიოდში იზრდებოდა მყისიერად, რაც აჩვენებს, რომ ძილის ჩართვის თანმიმდევრულ ნერვულ პროცესებში ვლპოუ-ის ნეირონების აქტივაცია ხდება გვიან. ვლპოუ-ის ნეირონებში ასევე პროგრესულად იზრდებოდა

აქტივობა ზერელე ძილიდან ღრმა ძილში გადასვლისას **(სურათი 4)**. ძილის 12-16 საათიანი დეპრივაციის საპასუხოდ ვლპოუ-ის ნეირონების განმუხტვები იზრდებოდა აღდგენითი ძილის დროს, მაგრამ განმუხტვების სიჩქარე იძულებითი ღვიძილის დროს ისეთივე იყო, როგორც სპონტანური ღვიძილის დროს არადეპრივირებულ ვირთაგვებში.

ეს მონაცემები ეთანხმება იმას, რომ *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობა მატულობდა ძილდეპრივირებული ვირთაგვების ვლპოუ-ში მხოლოდ მაშინ, თუ ვირთაგვებს პერფუზიამდე აღდგენითი ძილის საშუალება ეძლეოდათ.

გონგმა და თანაავტორებმა დაადასტურეს ძილის აქტიური ნეირონების არსებობა ვლპოუ-ში და ასეთივე ნეირონების მეორე ჯგუფის იდენტიფიკაცია მოახდინეს შპობ-ში (Gong et al., 2000).

სინათლე/დასვენების პერიოდში *ს-ფოს* -ის ექსპრესია შესწავლილი იყო სპონტანური ძილის პირობებში და ხანმოკლე (2-საათიანი) ძილის დეპრივაციის დროს. ძილის დეპრივაცია ხორციელდებოდა მსუბუქი ჰენდლინგით. შპობ-სა და ვლპოუ-ში *ს-ფოს*-იმუნორეაქტიული ნეირონების მეტი რაოდენობა წარმოდგენილი იყო ვირთაგვებში, რომელთაც პერფუზიამდე 2 საათის განმავლობაში უპირატესად ეძინათ, იმ ვირთაგვებთან შედარებით, რომელთაც ამავე პერიოდში უპირატესად ეღვიძათ **(სურათი 5)**. *ს-ფოს* -იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა ორივე სტრუქტურაში – შპობ-სა და ვლპოუ-ში -

ცხოველის პერფუზიამდე 2 საათის განმავლობაში აღრიცხულ ძილის მთლიან დროსთან იყო დადებით კორელაციაში.

ს-ფოს იმუნორეაქტიულობასთან დაკავშირებული მონაცემების დასადასტურებლად არაანესთეზირებულ ვირთაგვებში ძილ-ღვიძილის ციკლის მიმდინარეობისას შპობ-ის ნეირონების განმუხტვები იქნა შეისწავლილი (Suntsova et al., 2002); აღრიცხულ ნეირონთა 76% ღვიძილთან შედარებით უფრო მაღალი სიჩქარით ნელი და სწრაფი ძილის დროს განიმუხტებოდა.

პოპულაციის 58% ღვიძილთან შედარებით ასევე გაზრდილი სიხშირით განიმუხტებოდა, როგორც ნელი-, ისე სწრაფი-ძილის დროს. ამ უჯრედების უმრავლესობაში ძილის დასაწყისისთვის განმუხტვების სისწრაფე გრადუალურად იზრდებოდა. აქტივობის პიკი აღირიცხებოდა ადრეული ნელი-ძილის ეპიზოდების განვითარებისას. ვლპოუ-ს ნეირონების საპირისპიროდ, რომელთა აქტივობა ინდივიდუალური ნელი-ძილის ეპიზოდების ადრეული პერიოდიდან გვიანისკენ იზრდებოდა, შპობ-ის ნეირონების განმუხტვები ღვიძილის შერევის გარეშე ნელი ძილის ეპიზოდების მიმდინარეობისას იკლებდა **(სურ. 6)**.

ძილთან დაკავშირებული შპობ-ის და ვლპოუ-ის ნეირონების აქტივობის შედარება ღვიძილიდან სტაბილურ ნელ ძილში გადასვლის ხელშესაწყობად შპობ-ის ნეირონების უფრო მნიშვნელოვან როლს აჩვენებს მაშინ, როცა ვლპოუ-ის ნეირონები უმეტესწილად ფუნქციონირებენ ძილის სტაბილურობისა და უწყვეტობის

უზრუნველსაყოფად. ამას ადასტურებს ცხოველებში ძილის ხანმოკლე შეზღუდვით შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ნეირონების *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის შემდგომი გამოკვლევა (იხ. ქვემოთ).

შპობ-ის და ვლპოუ-ის ძილის მარეგულირებელი ნეირონების ნეიროქიმია

პრეოპტიკური უბნის ძილის მარეგულირებელი ნეირონების ფუნქციური ორგანიზაცია ნაწილობრივ ცნობილია, რასაც საფუძვლად ამ უბნის ძილ-აქტიური ნეირონების ნეიროქიმიური ბუნების შესახებ არსებული მონაცემები უდევს. *ს-ფოს* იმუნოშეღებვის კომბინირებით "ინსიტუ" ჰიბრიდაციასთან გალანინისათვის, რომელიც შემაკავებელი ნეირომოდულატორია, ნაჩვენებ იქნა, რომ ვირთაგვებში, რომლებმაც პერფუზიამდე ბოლო საათის საშუალოდ 84% ძილში გაატარეს, ვლპოუ-ს ძილ-აქტიური ნეირონების დაახლოებით 80% ნეიროპეპტიდ გალანინის ექსპრესიით ხასიათდება; და პირიქით, დაახლოებით 52% გალანინ-ექსპრესიული ნეირონებისა ძილ-აქტიური ნეირონები იყო (Gaus et al., 2002). იგივე ჯგუფის წინანდელ შრომაში (Sherin et al., 1998) ნაჩვენებია, რომ გალანინი ვლპოუ-ს ნეირონებში თანალოკალიზებულია გაემ-თან. გონგმა და თანამშრომლებმა (Gong et al., 2004) შემდგომში შეისწავლეს შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ძილ-აქტიური ნეირონების ნეიროტრანსმიტერული ფენოტიპი. იმ ჰიპოთეზის შესამოწმებლად, რომ შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ძილ-აქტიური ნეირონები გაემ-ერგულია, ავტორებმა მოახდინეს კომბინირება იმუნოშეღებვისა *ს-ფოს*

პროტეინისთვის, იმუნოშეღებვასთან გლუტამატის მჟავას დეკარბოქსილაზისთვის (გმდ), რომელიც გაემ-ერგული უჯრედების მარკერია.

ს-ფოს ერთეული, გმდ-ერთეული და *ს-ფოს*+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა დათვლილი იყო ვლპოუ-სა და შპობ-ში ვირთაგვებში, რომელთა სპონტანური ძილის ხანგრძლივობა ჩაწერილი 2 საათიანი პერიოდის განმავლობაში ცვალებადი იყო; ეს პერიოდი იწყებოდა განათებიდან 2 საათის შემდეგ (Gong et al., 2004). *ს-ფოს* იმუნორეაქტიული ნეირონების და *ს-ფოს*+გმდ იმუნორეაქტიული ნეირონების ტოტალური რაოდენობა შპობ-სა და ვლპოუ-ში დადებითად კორელირებდა წინამორბედი ძილის მოცულობასთან: შპობ-ისა და ვლპოუ-ის *ს-ფოს* პოზიტიური ნეირონების უმრავლესობა გმდ-თვისაც ასევე ხანგრძლივი სპონტანური ძილის შემდეგ იღებება **(სურათი 7)**. შესწავლილი იყო *ს-ფოს* +გმდ იმუნორეაქტიულობის პატერნები შპობ-სა და ვლპოუ-ში 24 სთ-ანი ძილის დეპრივაციის შემდეგ.

ს-ფოს +გმდ იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა მნიშვნელოვნად იმატებდა ისეთ ვირთაგვებში, რომლებსაც საკონტროლო – ძილ-დეპრივირებულ და სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებთან შედარებით საშუალება ჰქონდათ 24 საათიანი ძილის დეპრივაციის შემდეგ 2 საათის განმავლობაში დაეძინათ (აღდგენითი პერიოდი). თუმცა ვირთაგვების მე-3 ჯგუფში ძილის მოცულობის

მნიშვნელოვანი განსხვავება არ აღინიშნებოდა, ძილის ეეგ განსხვავებული იყო ჯგუფების მიხედვით.

ნელი ძილის ფაზაში ეეგ დელტა სიმძლავრე საკონტროლო (ძილ-დეპრივირებულ) და სპონტანურად მძინარე ჯგუფებთან შედარებით მნიშვნელოვნად მაღალი იყო აღდგენითი ძილის ჯგუფში. *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის ექსპრესიით გაემ-ერგული ნეირონების რაოდენობა გაზრდილი იყო ძილ-დეპრივირებული ვირთაგვების შპობ-სა და ვლპოუ-ში, კონტროლთან შედარებით, მაშინაც კი, თუ მათ არ ჰქონდათ აღდგენითი ძილის შესაძლებლობა (Gong et al., 2004). ამ მონაცემებმა აჩვენა, რომ ძილის დეპრივაცია დაკავშირებულია შპობ-ის და ვლპოუ-ის გაემ-ერგული ნეირონების გაზრდილ აქტივაციასთან და სავარაუდოა, რომ ეს ნეირონები მონაწილეობენ ძილის ჰომეოსტაზურ რეგულაციაში.

ჰიპოთალამუსის და ტვინის ღეროს გამააქტივებელი სისტემების აქტივობის მოდულაცია პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური ნეირონების მიერ

ანატომიური მონაცემებით, პრეოპტიკური უბნის ნეირონების მიერ ძილის ხელისშემწყობი ფუნქცია უკანა ჰიპოთალამუსსა და ტვინის ღეროში მოთავსებული მრავლობითი გამააქტივებელი (ეროუზალ) სისტემების დაღმავალი შემაკავებელი მოდულაციის საშუალებით ხორციელდება. შერინის და თანამშრომლების ორიგინალური მონაცემებით, ყველაზე მძლავრი ანატომიური ურთიერთობები ვლპოუ-ს

ნეირონების და ტუბერომამილარული ბირთვის ჰისტამინერგულ ნეირონებს შორის არსებობს (Sherin et al., 1996; Sherin et al., 1998). ვლპოუ-დან ხშირი პროექციები ტუბერომამილარულ ბირთვში - ჰისტამინერგული ნეირონების სხეულებისკენ მოდის და ეს არის ამ ბირთვისკენ მომავალი აფერენტების ძირითადი წყარო. ტუბერომამილარული ბირთვის ნეირონების განმუხტვები რეციპროკულია ვლპოუ-ს ნეირონების უმეტესი ნაწილის განმუხტვებისა, ე.ი. განმუხტვები მომატებულია ღვიძილის დროს, ხოლო ნელტალღოვანი და პარადოქსული ძილის დროს კი - აქტივობა შემცირებულია (Vanni-Mercier et al., 1984; Steininger et al., 1999). ვირთაგვას თავის ტვინის ჰორიზონტალური ანათლების პრეპარატებზე, რომლებიც ჰიპოთალამუსის როსტრალურ და კაუდალურ ნაწილებს შეიცავს, ვლპოუ-ს ელექტრული გაღიზიანება ტუბერო-მამილარული ბირთვის ჰისტამინერგულ ნეირონებში გაემ-ერგული წარმოშობის შემაკავებელ პოსტსინაფსურ პოტენციალების აღმოცენებას იწვევს (Yang et al., 1997). ანატომიური და ფიზიოლოგიური მონაცემების საფუძველზე გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ნელი ძილის და სწრაფი ძილის დროს გაემ-ის და გალანინის შემცველი ვლპოუ-ის ნეირონები ტუბერო-მამილარული ბირთვის უჯრედების აქტივობას აკავებენ.

ვლპოუ და მიმდებარე მედიალური და დორსალური რეგიონები ასევე იმ აფერენტების წყაროა, რომლებიც მიემართება შუა ხაზისა და დორსო- ლატერალური ნაკერის ბირთვისა და ლურჯი ლაქისკენ (Sherin et al., 1998; Steininger et al., 2001). შპობ-ი ასევე ტვინის ღეროს

მონოამინერგული ბირთვებისკენ პროეცირებს (Zandetto-Smith et al., 1995). დორსო-ლატერალური ნაკერის ბირთვის სავარაუდო სეროტონინერგული ნეირონებისა და ლურჯი ლაქის სავარაუდო ნორადრენერგული ნეირონების განმუხტვაც "სწრაფი ძილის გამორთვის" ტიპისაა (REM-off); ეს პატერნი ტუბერო-მამილარული ბირთვის ნეირონებშია ნანახი და ვლპოუ-ის და შპობ-ის ძილ-აქტიური ნეირონების განმუხტვის რეციპროკულია (McGinty and Szymusiak, 1988). პრეოპტიკური უბნიდან დორსალური ნაკერის ბირთვისკენ დაღმავალი შემაკავებელი პროექციების არსებობა თვალსაჩინოა იმ მონაცემების საფუძველზე, რომლის მიხედვითაც პრეოპტიკური უბნის ლოკალური გათბობა, რაც ააქტიურებს ძილ-აქტიურ ნეირონებს (იხ. ზემოთ), სწრაფი ძილის დროს დორსალური ნაკერის ბირთვის სავარაუდოდ სეროტონინერგულ ნეირონებში ღვიძილის ტიპის განმუხტვის დათრგუნვას იწვევს (Guzman-Marin et al., 2000).

უკანა ჰიპოთალამუსის ჰიპოკრეტინ/ორექსინ ნეირონებს ქცევითი და ელექტროგრაფიული გამოღვიძების რეგულაციის ჩათვლით მრავალ ფიზიოლოგიურ ფუნქციას მიაწერენ. ჰიპოკრეტინული ნეირონების სხეულები ლატერალური ჰიპოთალამუსის პერიფორნიკალურ უბანსა და მიმდებარე დორსომედიალურ ჰიპოთალამუსშია განთავსებული. ჰიპოკრეტინულ ნეირონებს ფართოდ გავრცელებული პროექციები აქვს მთელ თავის ტვინსა და ზურგის ტვინში (de Lecea et al., 1998; Sakurai et al., 1998; Peyron et al., 1998). საექსპერიმენტო ცხოველებში

ჰიპოკრეტინული ნეირონების და/ან მათი რეცეპტორების დაზიანება გამოღვიძების დეფიციტს იწვევს (Chemelli et al., 1999; Lin et al., 1999), ხოლო ჰიპოკრეტინერგული ნეირონების რაოდენობის რედუქცია ადამიანის ნარკოლეფსიურ/კატაპლექსიური სინდრომის პათოფიზიოლოგიაშია ჩართული (Peyron et al., 2000; Thannickal et al., 2000). ანტეროგრადული და რეტროგრადული "ტრეისერების" გამოკვლევაში წარმოდგენილია პროექციები ვლპოუ-დან და შპობ-დან ჰიპოკრეტინული ნეირონებისკენ ლატერალური ჰიპოთალამუსის პერიფორნიკალურ უბანში (Yoshida et al., 2006). შპობ-იდან ლატერალური ჰიპოთალამუსის პერიფორნიკალური უბნისკენ მიმავალი საპროექციო ნეირონების გარკვეული ნაწილი გმდ-თვის იმუნოშეღებვას ექვემდებარება (Gong et al., 2005). შპობ-დან და ვლპოუ-დან ჰიპოთალამუსის პერიფორნიკალური უბნისკენ პროეცირებადი ნეირონები ძილის დროს *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობას ამჟღავნებენ (Uschakov et al., 2005). ძილ-ღვიძილის ციკლში ჰიპოკრეტინული ნეირონების განმუხტვების პატერნი მონოამინერგულ ნეირონებში ნანახი პატერნის მსგავსია: ისინი მაქსიმალური აქტივობით ღვიძილის დროს და მინიმალურით კი - ნელი და სწრაფი-ძილის დროს გამოირჩევიან (Alam et al., 2002; Mileykovskiy et al., 2005; Lee et al., 2005). პრეოპტიკური უბნის ლოკალური შეთბობა პერიფორნიკალურ უბანში გამოღვიძებასთან დაკავშირებული ნეირონული აქტივობის დათრგუნვას იწვევს (Krilowicz et al., 1994; Methippara et al., 2001), ხოლო მუსციმოლის ლოკალური პერფუზია კი-პრეოპტიკური უბნის ნეირონებს აკავებს, რაც

ჰიპოკრეტინულ ნეირონებში *ს-ფოს*-ის ექსპრესიას იწვევს (Satoh et al., 2003). ძილის დროს ჰიპოკრეტინული ნეირონული აქტივობის დათრგუნვა გაძლიერებული ენდოგენური გაემ-ერგული შეკავების შედეგია. მძინარე ვირთაგვების პერიფორნიკალურ უბანში გაემ-რეცეპტორის ანტაგონისტ ბიკუკულინის ლოკალური მიკროდიალიზური პერფუზია ჰიპოკრეტინულ ნეირონებში დიალიზური სინჯის იპსილატერალურად *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის ინტენსიურ ექსპრესიას იწვევს (Alam et al., 2005).

ძილ-ღვიძილის ფაზების ჩამრთველი მექანიზმი: აიწონა-დაიწონას პრინციპი

სტაბილური/ფიზიოლოგიური ძილ-ღვიძილის ციკლის მოდელის (McGinty and Szymusiak, 2000; Saper et al., 2001) თანახმად, ღვიძილის- და ძილის-ხელშემწყობი ნეირონების ფუნქციური ურთიერთობა "აიწონა-დაიწონას" პრინციპით ხორციელდება (**სურათი 8**).

ამ მოდელის მიხედვით, ძილის დროს ვლპოუ-ს ნეირონების აქტივობის მომატება მონოამინერგული უჯრედების აქტივობის დათრგუნვას, ხოლო ღვიძილის დროს მონოამინერგული ნეირონების აქტივობის გაზრდა ვლპოუ-ს ნეირონების აქტივობის დათრგუნვას იწვევს. ეს რეციპროკული ურთიერთობა ელექტრო-ინჟინერიაში არსებული "აიწონა-დაიწონა"-ს ტიპის (Horowitz and Hill, 1986) მოწყობილობის მუშაობის პრინციპს ემსგავსება (Saper et al., 2001). აიწონა-დაიწონას ორი ფრთა, რომელიც ხასიათდება ურთიერთშეკავების თვისებით, ქმნის ბისტაბილური უკუკავშირის მდგომარეობას; შესაძლებელია მხოლოდ ორი სტაბილური პატერნის და არავითარ შემთხვევაში შუალედური მდგომარეობის განვითარება. ძილ-ღვიძილის რეგულაციაში ფუნქციური ურთიერთობის ეს პრინციპი ძალზე სასარგებლოა, ვინაიდან ნახევრად ძილის მდგომარეობაში მყოფი ცხოველის ან ადამიანის აქტიური ურთიერთობა გარე სამყაროსთან მნიშვნელოვან საფრთხეს შეუქმნიდა როგორც თავად ცოცხალ ორგანიზმს, ისე გარე სამყაროს.

აიწონა-დაიწონას პრინციპით ძილ-ღვიძილის რეგულაციის შედეგს წარმოადგენს ის ფენომენი, რომ ცხოველები თავიანთი დროის აბსოლუტურ უმეტესობას ან ნათლად გამოხატული ღვიძილის და ან ნათლად გამოხატული ძილის მდგომარეობაში ატარებენ; გარდამავალი ფაზები დროის უმცირესობას წარმოადგენენ. აიწონა-დაიწონას "გადამრთველი ღილაკი" ხასიათდება თვითშემაკავებელი აქტივობით, რაც ნეიროფიზიოლოგიური მოთხოვნილების გარეშე ერთი მდგომარეობიდან მეორეში გადართვას უშლის ხელს. მაშასადამე, გადამრთველი მექანიზმის მსგავსი რეზისტულობა დღის განმავლობაში ვლპოუ-დან ან მონოამინერგული უჯრედებიდან შემომავალი იმპულსების გარკვეულ ფარგლებში ფლუქტუაციის გამო ძილ-ღვიძილის მდგომარეობათა მონაცვლეობის შემთხვევითობას გამორიცხავს.

რა შემთხვევაში ხდება გადამრთველი მექანიზმის/ჩამრთველის გააქტივება? ძილის რეგულაციის ორ-პროცესიანი მოდელის თანახმად (Borbeli, 1982), ძილისა და ღვიძილის დროსთან მიმართება და მონაცვლეობა ორი პროცესის (ჰომეოსტაზური/პროცესი S და ცირკადული/პროცესი C) სინქრონული ურთიერთქმედების შედეგია. პროცესი S ღვიძილის დროს ექსპონენციალურად იზრდება და ძილის მსვლელობისას ასევე ექსპონენციალურად იკლებს. ნორმალურ ზრდასრულ ინდივიდებში ძილის ცირკადული დრაივი საღამოს იზრდება და მაქსიმუმს დილის ძალიან ადრეულ საათებში - ტემპერატურის მინიმუმის ფონზე აღწევს. ღვიძილის ცირკადული

დრაივი იზრდება დღის განმავლობაში და პიკს ტემპერატურული მაქსიმუმის დროს აღწევს (Czeisler et al., 1980; Lavie, 1991; Dijk and Czeisler, 1994; Dijk et al., 1997). ძილის ცირკადული და ჰომეოსტაზური დრაივის ექსპონენციალური ზრდა აიწონა-დაიწონას ფრთების ურთიერთშეკავების ბალანსის გრადუალურ გადახრას ძილის ჩამრთველი მექანიზმის სასარგებლოდ განაპირობებს. როდესაც ძილის დრაივი/მოწოლა გარკვეულ პიკს აღწევს, ჩამრთველი მექანიზმი ერთბაშად აქტიურდება და განაპირობებს ძილის დადგომას/ჩართვას. მაშასადამე, ნელა და თანდათანობით მიმდინარე ძილის ცირკადული და ჰომეოსტაზური პროცესებისაგან განსხვავებით, ჩართვის მექანიზმი ქცევის მდგომარეობათა არახშირ, მაგრამ სწრაფ შეცვლას განაპირობებს. ბისტაბილური ჩართვის მექანიზმის მნიშვნელოვან ასპექტს წარმოადგენს ის გარემოება, რომ თუ რომელიმე მხარის (ძილის ან ღვიძილის) ხელშემწყობი ნეირონების ფონური აქტივობა შესუსტებულია (სხვადასხვა მიზეზების გამო), ჩამრთველი მექანიზმი ნაკლებად სტაბილურია. ასეთი სიტუაციის ნათელ მაგალითს ვლპოუ-ს დაზიანების მქონე ცხოველები წარმოადგენენ. ისინი უმეტეს დროს ღვიძილის მდგომარეობაში ატარებენ და შესაბამისად, ძილის ჰომეოსტაზური დრაივის ზრდის პარალელურად აიწონა-დაიწონას ბალანსის შეცვლა ძილის ჩამრთველი მექანიზმისკენ იხრება (Lu et al., 2000). ვლპოუ-ს დაზიანების მქონე ვირთაგვები ხშირად გადადიან ძილში, მაგრამ არც ძილის მდგომარეობა არის სტაბილური – ცხოველები სწრაფადვე უბრუნდებიან ღვიძილის მდგომარეობას. ასეთი

ცხოველები წყვეტილი და არასტაბილური ძილ-ღვიძილის ციკლის პატერნით ხასიათდებიან. აიწონა-დაიწონას ურთიერთშემაკავებელი, სტაბილური მექანიზმის შესუსტების მეორე მაგალითს ღვიძილის სისტემის დისფუნქციის შედეგად ნარკოლეფსიის განვითარება წარმოადგენს. ნარკოლეფსიით დაავადებულ ინდივიდებს ხშირად და არასასურველ სიტუაციებში უვითარდებათ ძილი – ადგილი აქვს ღვიძილში ძილის ერთბაშად შემოჭრას, რაც საფრთხეს უქმნის ადამიანის სიცოცხლეს და გარე სამყაროს (მაგალითად საჭესთან ჯდომის დროს). ღვიძილის სისტემის აქტივობის დაქვეითება უარყოფითად მოქმედებს ძილის ხარისხზეც – ძილს წყვეტილი ხასიათი აქვს. მშვიდ მდგომარეობაში აღმოჩენილ ინდივიდებს სწრაფად უვითარდებათ პარადოქსული ძილის პათოლოგიური ანალოგი – კატაპლექსია, რაც ფაქტობრივად კუნთური ტონუსის გარეშე მიმდინარე ღვიძილია. კატაპლექსიის წარმოშობის მიზეზი უცნობი იყო 1998 წლამდე. ამ პერიოდში მკვლევართა ორი დამოუკიდებელი ჯგუფის მიერ ერთდროულად იქნა აღმოჩენილი პეპტიდური ნეიროტრანსმიტერების ახალი ოჯახი – ორექსინი/ჰიპოკრეტინი (Sakurai et al., 1998; deLecea et al., 1998). იმუნოციტოქიმიური მეთოდით ორექსინ/ჰიპოკრეტინის ლოკალიზაციის შესწავლამ აჩვენა, რომ ორექსინის ნეირონები აინერვირებს აღმავალი გამააქტივებელი სისტემის ყველა კომპონენტს. ორექსინ 1 რეცეპტორი აღმოჩენილია ლურჯ ლაქაში, ხოლო ოპრექსინ 2 რეცეპტორი კი – ტუბერომამილარულ ბირთვში და ბაზალურ წინა ტვინში. ორივე ტიპის რეცეპტორები რაფეს ბირთვსა და

რეტიკულურ ფორმაციაშია აღმოჩენილი (Marcus, 2001; Trivedi et al., 1998). ვინაიდან ორექსინის ორივე რეცეპტორი ამგზნებია, აღმავალი გამააქტივებელი სისტემის აგზნების გზით ორექსინი განიხილება როგორც ღვიძილის ხელშემწყობი ფაქტორი.

1999 წელს (Chemelli et al), თაგვებში ორექსინ/ჰიპოკრეტინ-ის "ნოკაუტ" მოდელი შექმნეს. ეს ცხოველები ღვიძილში ძილის უცაბედი, ხანმოკლე შემოჭრით ხასიათდებოდნენ. პოლისომნოგრაფიულმა ანალიზმა აჩვენა, რომ ქცევის ეს პერიოდები ნარკოლეფსიის მსგავსი მოვლენებით ხასიათდებიან: ღვიძილის მსგავსი ეეგ-ს ფონზე კუნთური ატონიის განვითარება. ამ აღმოჩენის თანადროულად ნაჩვენებიქნა, რომ ნარკოლეფსია ორექსინ/ჰიპოკრეტინის რეცეპტორ 2-ის გენის მუტაციით არის გამოწვეული (Lin et al., 1999). ამ ორი აღმოჩენის საფუძველზე ნავარაუდები იქნა, რომ ნარკოლეფსია მე-2 ტიპის რეცეპტორების გზით მიმავალი ორექსინული იმპულსების დეფიციტით არის განპირობებული. ადამიანებზე ჩატარებულმა გამოკვლევებმა აღნიშნული ჰიპოთეზის სისწორე დაადასტურა (Nishino et al., 2000; Peyron et al., 2000; Thannickal et al., 2000).

როგორც ჩანს, ორექსინ/ჰიპოკრეტინის ნეირონები გადამწყვეტ როლს თამაშობენ ნორმალური/ფიზიოლოგიური ღვიძილის წარმოქმნა-შენარჩუნებაში. კილდოფისა და პეირონის ვარაუდით (Kilduff and Peyron, 2000), ეს ნეირონები როგორც ღვიძილის, ისე პარადოქსული ძილის რეგულაციაში მონაწილეობენ. სეიპერის (Saper et al., 2001) მიხედვით კი ორექსინები ექსკლუზიურად ღვიძილს არეგულირებენ. ორექსინის

ნეირონები ასინთეზირებენ *ს-ფოს* პროტეინს ღვიძილის დროს და *ს-ფოს* იმუნორეაქტიული ორექსინ-ნეირონების რიცხვი კორელირებს წინარე ღვიძილის მოცულობასთან როგორც სპონტანური, ისე ფარმაკოლოგიურად (ამფეტამინის და მოდაფილინის გამოყენებით) და არაფარმაკოლოგიურად (ძილის დეპრივაცია) გამოწვეული ღვიძილის პირობებში (Chemelli et al., 1999; Estabrooke et al., 2001). ჰიპოთალამუსის პერიფორნიკალურ უბანში ლოკალიზებული ორექსინ/ჰიპოკრეტინის უჯრედების აქტივობის ჩაწერამ დაადასტურა ვარაუდი იმის თაობაზე, რომ ორექსინის ნეირონები ძირითადად ღვიძილის დროს არიან აქტიური (Szymusiak et al., 1998). საინტერესოა ის ფაქტი, რომ არც ორექსინების დეფიციტის მქონე ცხოველები და არც ნარკოლეფსიით დაავადებული ადამიანები არ ხასიათდებიან ძილის ჭარბი რაოდენობით (რაც თითქოს არალოგიკურია); ისინი ხასიათდებიან როგორც ღვიძილის, ისე ძილის უხარისხობით, რაც განპირობებულია გადამრთველი მექანიზმის დისფუნქციით.

მაშ რა როლს უნდა ასრულებდნენ ორექსინ/ჰიპოკრეტინ ნეირონები ქცევის მდგომარეობის რეგულაციაში? უკანასკნელი მონაცემების თანახმად, ორექსინ/ჰიპოკრეტინი გავლენას ახდენს აიწონა-დაიწონას ორივე ფრთის/მხარის ფუნქციონირებაზე. ეს განპირობებულია ორექსინული ნეირონების პროექციებით როგორც მონოამინერგულ და ქოლინერგულ უჯრედებზე, ისე ვლპოუ/შპობ-ის ბირთვებზე. ორექსინ/ჰიპოკრეტინი მკვეთრად ზრდის აქტივობას ლურჯ ლაქაში (Hagan et al., 1999), რაფეს ბირთვსა (Brown et al., 2001) და

ტუბერომამილარულ ბირთვში. მიუხედავად იმისა, რომ ვლპოუ და შპობ-ი არ შეიცავს ორექსინის ნეირონებს (Chemelli et al., 1999), ორექსინის ინექცია პრეოპტიკურ უბანში ღვიძილის გაზრდას და როგორც ნელი, ისე პარადოქსული ძილის მოცულობის შემცირებას იწვევს (Methippara et al., 2000). სავარაუდოა, რომ ეს პრესინაფსური (მონოამინერგულ აქსონებზე) მექანიზმით ხდება. ზემოთქმულიდან გამომდინარე, ორექსინ/ჰიპოკრეტინ ნეირონები შესაძლოა, "დამჭერი თითის" როლს თამაშობენ აიწონა-დაიწონას ღვიძილისკენ გადახრაში და ძილის მდგომარეობაში არასასურველი გადასვლის პრევენციისთვის. ასეთი კონტროლის არარსებობის პირობებში, რაც ნარკოლეფსიას ახასიათებს, გადამრთველი მექანიზმი ნაკლებად სტაბილურია და იწვევს უდროო და არასასურველ გადასვლებს ქცევის ერთი მდგომარეობიდან მეორეში. ამ მოდელით შეიძლება აიხსნას ღვიძილიდან სწრაფ ძილში უეცარი გადასვლები ნარკოლეფსიით დაავადებულ პაციენტებსა და ცხოველებში. ტუბერომამილარული სხეული, რაფეს ბირთვი და ლურჯი ლაქა შეიცავენ ორექსინ/ჰიპოკრეტინის რეცეპტორებს (Marcus et al., 2001) და სამივე რეგიონი თრგუნავს პარადოქსულ ძილს. ორექსინული წარმოშობის ამგზნები იმპულსების არარსებობის პირობებში ღვიძილის შესუსტებული გავლენა და, შესაბამისად, ვლპოუ-ს დორსომედიალური ნაწილის გაზრდილი აქტივობა ხელს შეუწყობს პარადოქსული ძილის ადრეულ და ხშირ დადგომას. ვლპოუ-დაზიანებული ცხოველების

მსგავსად, “გადამრთველის” დისფუნქცია ნარკოლეფსიის დროს ძილის წყვეტილ პატერნს განაპირობებს.

ძილის ჩამრთველი სისტემის კომპონენტების შესწავლის ბოლოდროინდელმა პროგრესმა უნდა გაგვიუმჯობესოს წარმოდგენა იმის თაობაზე, თუ როგორ განაპირობებენ ძილის ცირკადული და ჰომეოსტაზური დრაივის თანდათანობითი ცვლილებები ქცევის მდგომარეობის სწრაფ და დროულ შეცვლას.

პრეოპტიკურ უბანში ძილის მარეგულირებელი ნეირონების ფარმაკოლოგია

ძილის ჰიპოთალამური რეგულაციის სრული გაგებისთვის და ახალი თერაპიული საშუალებების შექმნისთვის, უძილობისა და/ან ძილის დარღვევებთან დაკავშირებული მოვლენების სამკურნალოდ, კრიტიკულადაა საჭირო იმ ენდოგენური ნეიროტრანსმიტერებისა თუ ნეირომოდულატორების ცოდნა, რომლებიც არეგულირებენ პრეოპტიკური უბნის ნეირონების აგზნებადობას. მიუხედავად ბოლოდროინდელი პროგრესისა, ჩვენი ცოდნა ამ საკითხებზე არ არის სრულყოფილი. ანატომიური მონაცემებით, ვლპოუ სინაფსურ შესავალს იმავე მონოამინერგული სისტემებიდან იღებს, რომლებისკენაც თავად პროეცირდება (Chou et al., 2002). ვლპოუ-ის იდენტიფიცირებული გაემ-ერგული ნეირონები, რეგისტრირებული *in vitro*, ნორადრენალინის და სეროტონინის მოქმედებით კავდება (Gallopin et al., 2000). სავარაუდოა, რომ მონოამინერგული სისტემების აქტივაციას შეუძლია დათრგუნოს

ვლპოუ-ის ნეირონების აქტივაცია და ხელი შეუწყოს ღვიძილის გახანგრძლივებას (Saper et al., 2001).

შემაკავებელი ნეირომოდულატორი - ადენოზინი ჩართულია ძილის რეგულაციაში. უჯრედგარეთა ადენოზინის მომატება, როგორც ჩანს, მნიშვნელოვანი მექანიზმია, რომელიც საფუძვლად უდევს ძილისადმი გაზრდილ მიდრეკილებას, ძილის გაზრდილ მოცულობას და ხანგრძლივი ღვიძილის შედეგად გაჩენილ გაძლიერებულ ნელტალღოვან ეეგ აქტივობას (Basheer et al., 2004). ადენოზინი ღვიძილის ხელშემწყობი ნეირონების (მაგნოცელულარული ბაზალური წინა ტვინის ქოლინერგული ნეირონების ჩათვლით) შეკავების გზით ხელს უწყობს ძილს (Basheer et al., 2004, Alam et al., 1999). ამავე დროს, ბოლოდროინდელი მონაცემები მიუთითებს, რომ ადენოზინს შეუძლია, პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიურ ნეირონებზე თავისი პირდაპირი და არაპირდაპირი ამგზნები მოქმედებით ძილის ხელშემწყობი იყოს. ადენოზინის აპლიკაცია იწვევდა A_1 რეცეპტორით განხორციელებულ დათრგუნვას სპონტანური შპსპ-ებისა ვირთაგვას ვლპოუ-ის ნეირონებში *in vitro* (Chamberlin et al., 2003). ადენოზინის A_{2A} რეცეპტორის აგონისტის შეყვანა პირდაპირ მოქმედებდა ამაგზნებლად ვირთაგვას ვლპოუ-ის ნეირონებზე *in vitro* (Gallopin et al., 2005). A_{2A}-ს ამ ეფექტის ფუნქციური მნიშვნელობა ნაჩვენებია ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემებით, რომ A_{2A}-ს აგონისტის პერფუზიას ვირთაგვების ლატერალურ პრეოპტიკურ უბანში ძილის ხელშემწყობი ეფექტი აქვს (Methippara et al., 2005).

ასევე, ძილის მომგვრელი ეფექტებით ხასიათდება ციტოკინი - ინტერლეიკინი 1 (IL1-β): ის ძილის ჰომეოსტაზურ კონტროლში მონაწილეობს (Obal and Krueger, 2003). IL1-β-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური შეყვანის ძილის ხელშემწყობ ეფექტს თან ახლავს შპობ-ის ნეირონების გაზრდილი *ს-ფოს* აქტივაცია (Baker et al., 2005). პროსტაგლანდინი D_2 (PGD_2) ძილის მეორე მნიშვნელოვანი ენდოგენური ფაქტორია, რომლის მოქმედების ადგილი ნაწილობრივ მაინც პრეოპტიკურ უბანშია ლოკალიზებული (Ueno et al., 1982). PGD_2-ის ინფუზია სუბარაქნოიდულ სივრცეში, ოპტიკური ქიაზმის როსტრალურად, ხელს უწყობს ძილს და ზრდის *ს-ფოს* იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობას ვლპოუ-ში (Scamell et al., 1998).

რეზიუმე და პერსპექტივა

როგორც ზემოთ განვიხილეთ, პრეოპტიკური უბნის ძილის მარეგულირებელი ნეირონების ფუნქციური და ანატომიური ორგანიზაციის ასპექტები ცნობილია ზოგიერთ დეტალებში. ნეირონები ძილთან-დაკავშირებული *ს-ფოს* პროტეინის იმუნორეაქტიულობით, ლოკალიზებულია ვლპოუ-ში და შპობ-ში. ამ უბნების ელექტროფიზიოლოგიური რეგისტრაცია აჩვენებს, რომ ძილ-აქტიური ნეირონების უმრავლესობაში მატულობს განმუხტვები როგორც ნელი, ისე პარადოქსული ძილის დროს, სიფხიზლესთან შედარებით. ძილ-აქტიური ნეირონები ასევე ვლპოუ-ის მედიალურ ნაწილში, დორსოლატერალურ პრეოპტიკურ უბანსა და მაგნოცელულარული წინა

ტვინის მიმდებარე ნაწილებში არიან ლოკალიზებული. დადასტურებულია, რომ პროექციები პრეოპტიკური უბნიდან ტვინის მრავალ რეგიონში ღვიძილის კონტროლშია ჩართული. ამიტომ, შეიძლება ჩამოვაყალიბოთ ჰიპოთეზა, რომ შპობ-ის და ვლპოუ-ის ნეირონების აქტივაცია ღვიძილიდან ძილისკენ გარდამავალ პერიოდში, გამოღვიძების სისტემების ნეირონებში გაემ-ერგული და/ან გალანინის მოქმედებით აღძრულ შეკავებას იწვევს **(იხ. სურათი 9).** ამ ჰიპოთეზას ამყარებს ის მონაცემები, რომ ძილ-ღვიძილის ციკლში ნეირონული აქტივობის პატერნები ვლპოუ-სა და შპობ-ში, უმეტესად, რეციპროკულია ნეირონული პატერნების მიმართ, რომლებიც ნანახია ტუბერომამილარულ ბირთვში, პერიფორნიკულ ლატერალურ ჰიპოთალამუსში, დორსალურ ნაკერის ბირთვსა და ლურჯ ლაქაში.

პრეოპტიკური უბნის ერთ ან მეტ სუბრეგიონში ძილ-აქტიური ნეირონების დესტრუქციამ ძილთან-დაკავშირებული შემაკავებელი მოდულაციისგან უნდა ნაწილობრივ გამოანთავისუფლოს ღვიძილის სისტემები და გამოიწვიოს ქრონიკული უძილობა. როსტრალური ჰიპოთალამური ქსოვილის დესტრუქციის შემდეგ მუდმივი ძილის დეფიციტის არსებობა კარგად არის გამოხატული ძილის ნეირობიოლოგიურ ლიტერატურაში. ის, რომ უძილობა წარმოიქმნება გამოღვიძების სისტემების დიზინჰიბიციის შედეგად, მტკიცდება მონაცემებით, რომ გაემ-ერგული აგონისტის ინფუზია უკანა ლატერალურ ჰიპოთალამუსში იწვევს უძილობის რევერსიას, რომელიც კატებში პრეოპტიკური უბნის ნეირონების დესტრუქციას მოყვება

(Sallanon et al., 1989). პრეოპტიკური უბნის მრავალი ნეირონი თავის ტვინის და/ან პერიფერიული ტემპერატურის ცვლილებებზე პასუხობს და ძილ- აქტიური ნეირონების მნიშვნელოვანი სუბპოპულაცია თერმოსენსიტიურია.

შედეგად, ექსპერიმენტულ ცხოველებში პრეოპტიკური უბნის ლოკალური შეთბობა უკანა ჰიპოთალამუსის და როსტრალური ტვინის ღეროს გამოღვიძების სისტემებში ღვიძილთან დაკავშირებულ ნეირონულ აქტივობას თრგუნავს, ხელს უწყობს ძილის დაწყებას და ეეგ სინქრონიზაციას. პრეოპტიკურ უბანში ძილის მარეგულირებელი და თერმორეგულატორული ნეირონების მჭიდრო ფუნქციური და ანატომიური ურთიერთობები კარგად ხსნის ადამიანის ძილზე მთლიანი სხეულის გათბობის ან კანის ტემპერატურის ზრდის ხელშემწყობ მოქმედებას (Horne et al., 1985, Krauchi et al., 2000). ასევე ამით აიხსნება, თუ რატომ ახლავს ძილის დაწყებას სითბოს გაძლიერებული დაკარგვა, დაქვეითებული მეტაბოლიზმი და სხეულის ტემპერატურის დაცემა (Heller, 2005).

გასარკვევი დარჩა პრეოპტიკური უბნის ძილის მარეგულირებელი ნეირონების ფიზიოლოგიის მნიშვნელოვანი დეტალები. უცნობია, თუ რამდენად არის განპირობებული პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური ნეირონების აქტივობის თუ აგზნებადობის ცვლილებები ძილისადმი მიდრეკილების ცირკადული მოდულაციით. სუპრაქიაზმური ბირთვის პირდაპირი და არაპირდაპირი პროექციები შპობ-სა და ვლპოუ-საკენ

დადასტურებულია (Chou et al., 2002, Deurveilher and Semba, 2003), მაგრამ არ არსებობს სუპრაქიაზმური ბირთვიდან და მასთან დაკავშირებული ბირთვებიდან შპობ-ის და/ან ვლპოუ-ის ძილ-აქტიური ნეირონებისკენ მომავალი სინაფსური შესავლის დემონსტრირება და დახასიათება.

ასევე, შპობ-ს მიიჩნევენ როგორც მნიშვნელოვან სარელეო ბირთვს იმ ცენტრალურ გზებში, რომლებიც ორგანიზმის სითხის ჰომეოსტაზს არეგულირებენ. ამავე დროს, ფუნქციური კავშირები შპობ-ის ნეირონებს შორის, რომლებიც მონაწილეობენ ძილისა და ორგანიზმის ჰიდრომინერალური ბალანსის რეგულაციაში, ცნობილი არაა.

დადგენილია, რომ შპობ-ის ნეირონები პროეცირდებიან ლატერალურ ჰიპოთალამუსზე, მაგრამ უცნობია, თუ რა ტიპის ნეირონებზე გააჩნიათ ძილის აქტიურ ნეირონებს სინაფსური შესავალი **(იხ. სურათი 10)**.

ძილის ჰომეოსტაზურ რეგულაციაში ჩართული ენდოგენური ნეირომოდულატორების - ადენოზინის, IL-1β და PGD2-ის თვისება გააქტიურონ შპობ-ის და ვლპოუ-ის ნეირონები, ვარაუდობს ისეთი მექანიზმების არსებობას, რომელთა მეშვეობით ძილის შეზღუდვას (დეპრივაციას) შეუძლია გამოიწვიოს ძილისადმი მიდრეკილებისა ან ძილის მოცულობის კომპენსატორული გაზრდა. პრეოპტიკური უბნის ნეირონული აქტივობის ურთიერთობა ძილის ჰომეოსტაზურ მოთხოვნილებებთან ფართოდ არ არის შესწავლილი. *ს-ფოს*-ის აქტივობის (Szymusiak and McGinty, 1986) და ერთეული ნეირონების რეგისტრაცია (Zhang et al., 1999) მიუთითებს, რომ ძილის დეპრივაციის

საპასუხოდ, თუკი ცხოველს არ მისცემენ აღდგენითი ძილის საშუალებას, ვლპოუ-ს ნეირონები არ არის გააქტივებული. შპობ-ის ნეირონების პასუხები ძილის დეპრივაციაზე კი პირიქით მიუთითებს მათ პოტენციურ როლზე ძილის კონტროლის ჰომეოსტაზურ ასპექტში (Modirrousta et al., 2004, Gong et al., 2004).

ამრიგად, ჰიპოთალამუსის პრეოპტიკური უბნის და ძილ-ღვიძილის ცილკის ურთიერთობის ირგვლივ საკმაოდ ბევრი საკითხია, რომელიც შესწავლას, ან შემდგომ დაზუსტებას მოითხოვს. რიგი ამ საკითხებისა განხილულია ქვემოთ მოყვანილ შრომაში.

III. ჩატარებული გამოკვლევა

ზოგადი მიმოხილვა

წინამდებარე ნაშრომი ეძღვნება ორგანიზმის ოსმორეგულაციასა და ძილის ჰომეოსტაზთან ჰიპოთალამუსის პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური უჯრედების ფუნქციური ურთიერთობების შესწავლას.

1. კვლევის საწყის ეტაპზე ჩვენ შევაფასეთ შპობ-ში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობოს ექსპრესია და მისი ნეიროტრანსმიტერული ფენოტიპი სისტემური ჰიპერტონული ხსნარის შეყვანის და ტვინის პარკუჭშიდა ანგ-II-ის ინექციის შემდეგ როგორც სპონტანური ძილის, ისე ძილის დეპრივაციის პირობებში.

2. კვლევის შემდგომ ეტაპზე შევაფასეთ *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულობის პატერნი შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ნეირონებში სპონტანური პარადოქსული ძილის და მისი სელექციური შეზღუდვის პირობებში. ექსპერიმენტის მიზანს წარმოადგენდა პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზურ მოწოლასა და მის ფაქტიურ მოცულობასთან პრეოპტიკური უბნის ნეირონული აქტივაციის დამოკიდებულების გაგვერკვია. ვირთაგვების ჯგუფები ისეთ ექსპერიმენტულ პირობებში მოვათავსეთ, სადაც პარადოქსული ძილის მოწოლის დონე და მისი ფაქტიური მოცულობა იცვლებოდა.

3. კვლევის შემდგომ ეტაპზე ხდებოდა ვირთაგვების ტოტალური ძილის მოცულობის და ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლის დონის დიფერენცირებული მართვა. შპობ-ისა და ვლპოუ-ს ნეირონებში *ს-ფოს*-ის ექსპრესია სპონტანური ღვიძილის, სპონტანური ძილის, ტოტალური

ძილის დეპრივაციის და ძილის ჰომეოსტაზური რებაუნდის პირობებში შევისწავლეთ. ტოტალური ძილის დეპრივეციის ეფექტები როგორც ნათელ, ისე ბნელ პერიოდებში შევისწავლეთ.

1. ვირთაგვის შუა პრეოპტიკური ბირთვის სხვადასხვა ნეირონული პოპულაცია აწარმოებს ს-ფოს-ის ექსპრესიას ძილის დროს და მარილის ჰიპერტონიული ხსნარის ან ანგიოტენზინ-II-ის საპასუხოდ

შესავალი

თანამედროვე გამოკვლევებით შუა პრეოპტიკურ ბირთვს (შპობ-ს) - ძილის ხელშემწყობ უბნად მიიჩნევენ. შპობ-ის მონაწილეობა ძილისა და ღვიძილის რეგულაციაში ფოს-იმუნორეაქტიულობის ფუნქციური კარტირებით იქნა ნაჩვენები. ვირთაგვების შპობ-ში ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა ხანგრძლივი ძილის შემდეგ ღვიძილთან შედარებით მნიშვნელოვნად უფრო მაღალი იყო (Gong et al., 2000). შპობ-ში ძილით აქტივირებადი ნეირონების არსებობა დასაბუთებულ იქნა ელექტროფიზიოლოგიური გამოკვლევებით: შპობ-ში რეგისტრირებულ ნეირონთა თითქმის 76% განმუხტვების გაზრდილ სიხშირეს ძილის დროს ავლენდა (Suntsova et al., 2002). მძინარე ვირთაგვების შპობ-ის ნეირონების ფოს-იმუნორეაქტიულობა გლუტამინის მჟავას დეკარბოქსილაზას (გმდ-ს: გაემ-ერგული ნეირონების მარკერის) იმუნორეაქტიულობასთან იყო შეუღლებული

(Gong et al., 2004). ამ ბირთვში ძილით გააქტიურებული გაემ-ერგული ნეირონების რაოდენობა კორელირებდა გაზომვების წინამორბედი ძილის მოცულობასთან (Gong et al., 2004). გარდა ამისა, შპობ-ის იმ გაემ-ერგული ნეირონების რაოდენობა, რომლებიც ფოს-იმუნორეაქტიულობას ამჟღავნებდნენ, მნიშვნელოვნად მომატებული იყო დეპრივაციის შემდგომი აღდგენითი ძილის დროს (Gong et al., 2004). ერთად აღებული, ეს შედეგები გვაფიქრებინებს, რომ შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონები ძილის ჰომეოსტაზურ რეგულაციაში მონაწილეობენ.

ადრინდელი შრომების თანახმად, შპობ-ი ფუნქციონირებს როგორც ორგანიზმის სითხის ჰომეოსტაზის რეგულაციაში ჩართული ცენტრალური გზების სარელეო ბირთვი (McKinley et al., 1996; McKinley et al., 1999). ორგანიზმში ჰიდრომინერალური ცვლილებების საპასუხოდ შპობ-ი გაზრდილ ფოს-იმუნორეაქტიულობას ავლენს (Oldfield et al., 1991; Sharp et al., 1991; Hamamura et al., 1992; Oldfield et al., 1994; Xu & Herbert, 1995). შპობ-ის ანატომიური და ფუნქციური კავშირები ორგანიზმის ოსმორეგულაციაში ჩართულ რამდენიმე სტრუქტურაზე ვრცელდება. მათ შორისაა საბოლოო შრის (lamina terminalis) სისხლძარღვოვანი ორგანო, სუბფორნიკალური ორგანო და სუპრაოპტიკური ბირთვი (Camacho & Phillips, 1981; Lind & Johnson, 1982; Lind et al., 1985; Tanaka et al., 1987; Wilkin et al., 1989; Weiss & Hatton, 1990; Oldfield et al., 1991; Armstrong et al., 1996; Krout et al., 2002). ორგანიზმის დეჰიდრატაციით გამოწვეული ჰიპოთალამუსიდან ვაზოპრესინის გამოყოფა კავდება შპობ-ის დაზიანების შემთხვევაში; შპობ-ის დაზიანება წყლის სმის ქცევასაც

არღვევს (Manciapane et al., 1983; Gardiner & Stricker, 1985; Wilkin et al., 1986; Xu & Herbert, 1995; Xu & Herbert, 1996; Ludwig et al., 1996).

ფუნქციური კავშირები ძილსა და ოსმორეგულაციაში მონაწილე შპობ-ის ნეირონებს შორის ცნობილი არ არის. წინამდებარე გამოკვლევის მიზანი იყო გაგვერკვია: 1. ხდება თუ არა შპობ-ის ნეირონების ოსმოსურად ან ჰორმონულად გააქტივების მოდიფიკაცია ძილ-ღვიძილის ციკლში; 2. არის თუ არა ოსმოსური სტიმულების/ცვლილებების საპასუხოდ აქტივირებადი შპობ-ის ნეირონების პოპულაცია იგივე, რაც ძილის დროს აქტივირებადი ნეირონების პოპულაცია. ოსმოსური ცვლილებების საპასუხოდ შპობ–ის ნეირონების გააქტივებაზე ძილ-ღვიძილის მდგომარეობის ეფექტების დასადგენად შევისწავლეთ ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების ექსპრესია და განაწილება, სისტემურად ჰიპერტონული ხსნარის შეყვანის და ტვინის პარკუჭშიდა ანგიოტენზინ–II-ს (ანგ-II) ინექციის შემდეგ, როგორც სპონტანურად მძინარე, ისე ძილ-დეპრივირებულ ვირთაგვებში. ადრე ნაჩვენები იყო, რომ ძილთან დაკავშირებული ფოს-იმუნორეაქტიულობა, ძირითადად, შპობ–ის გაემ-ერგულ ნეირონებშია ლოკალიზებული (Gong et al., 2004). ჩვენ გავარკვიეთ არის თუ არა შპობ–ში ჰიპერტონული ხსნარით და ანგ-II-ით გამოწვეული ფოს-იმუნორეაქტიულობა თანალოკალიზებული გმს-ს იმუნურ შეღებვასთან.

მეთოდები

ყველა ექსპერიმენტი მოწონებულია ცხოველთა მოვლისა და გამოყენების კომიტეტის მიერ და ცდები ჩატარდა ეროვნული კვლევითი საბჭოს წესების შესაბამისად.

ცხოველები და საექსპერიმენტო გარემო:

სპრაგ-დოულის ჯიშის 54 ვირთაგვა, ცდების დაწყების დროისთვის წონით 280-320გ, მიჩვეული იყო 12/12 საათიან დღე-ღამურ ციკლს (სინათლე დილის 8 სთ-დან). ვირთაგვები ცხოვრობდნენ ინდივიდუალურ გალიებში. საკვები და წყალი მიეწოდებოდათ შეუზღუდავად და გარემოს ტემპერატურა 23±0,5^{0}C იყო.

ქირურგიული პროცედურები და რეგისტრაცია:

ქრონიკული ექსპერიმენტის პირობებში ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზათა რეგისტრაციისათვის კეტამინ/ქსილაზინის ნარკოზის ქვეშ (80/10 მგ/კგ, შესაბამისად, პერიტონეუმში) ვირთაგვებს ვუნერგავდით ქერქულ ელექტროენცეფალოგრაფიულ (ეეგ) და კისრის უკანა კუნთების ელექტრომიოგრაფიულ (ემგ) ელექტროდებს. უჟანგავი ფოლადის ხრახნები ინერგებოდა თავის ქალაში, ეეგ-ს აღსარიცხავად. დრეკადი, იზოლირებული უჟანგავი ფოლადის ელექტროდები ინერგებოდა კისრის კუნთებში, ემგ-ს აღსარიცხავად. ელექტროდების ბოლოები მირჩილული იყო პატარა Amphenol-ის კონექტორთან, ხოლო მთელი ეს მოწყობილობა მაგრდებოდა თავის ქალაზე სტომატოლოგიური

აკრილატით. უჟანგავი ფოლადის გამტარი კანულა (გარეგანი დიამეტრი 0,5 მმ), ანგ-II-ის ინექციისთვის (პროექტ I-ში), სტერეოტაქსურად ინერგებოდა მარჯვენა ლატერალურ პარკუჭში და იხურებოდა მოსახსნელი ობდურატორით (მანდრენით) (გარეთა დიამეტრი – 0,3 მმ).

ცხოველებს ეძლეოდათ 7-9 დღე პოსტოპერაციული რეაბილიტაციისათვის. ექსპერიმენტის დაწყებამდე ხუთი თანმიმდევრული დღის განმავლობაში ცხოველებს უერთდებოდა გამომყვანი კაბელი, რომელიც მსუბუქად იყო ჩამოშვებული მათ თავზე საპირწონე ბერკეტის საშუალებით. ცხოველები რჩებოდნენ კაბელზე მიერთებული 5-6 სთ-ს განმავლობაში (დილის 8 სთ-დან), ყოველდღიურად. სარეგისტრაციო კაბელი აკავშირებდა ცხოველის თავზე მოთავსებულ მინიატურულ კონექტორს პოლისომნოგრაფიულ სარეგისტრაციო მოწყობილობასთან (Embla, Medcare Flaga hf Medical Devices, Reykjavik, Iceland). ეეგ და ემგ მიიღებოდა ციფრული ფორმით და ინახებოდა კომპიუტერში პროგრამა შომნოლოგიცა–ს საშუალებით (Somnologica Studio, Medcare Flaga hf Medical Devices, Reykjavik, Iceland). ექსპერიმენტების დროს ეეგ და ემგ უწყვეტად რეგისტრირდებოდა.

საექსპერიმენტო ჯგუფები (კვლევა ჩატარდა 54 ვირთაგვაზე):

24 ვირთაგვას უკეთდებოდა მარილის ჰიპერტონული ხსნარის (1,5 მმოლი, 1მლ/100გ სხეულის მასაზე, პერიტონეუმში, n=12) ან ანგ-II-ის (25 ნგ, პიროგენისგან თავისუფალი ხსნარის 3 მკლ-ში, თავის ტვინის პარკუჭში, n=12) ინექცია. პერიტონეუმში ჰიპერტონული ხსნარის და

პარკუჭში ანგ-II-ის შეყვანის შემდეგ ცხოველები იყოფოდა ქვეჯგუფებად (n=6 თითოეულში); ერთ ქვეჯგუფს ეძლეოდა სპონტანურად ძილის საშუალება ნივთიერების შეყვანიდან 2სთ-ს განმავლობაში, ხოლო დანარჩენ ცხოველებს კი 2სთ-იანი ძილის დეპრივაცია უტარდებოდა. დეპრივაციის პროცესში ღვიძილის შენარჩუნება ხორციელდებოდა ძილის ეეგ-ნიშნების გამოჩენისთანავე მსუბუქი გამღიზიანებლის (კაკუნი გალიის სახურავზე და/ან გალიის მსუბუქი მოძრაობა) მიწოდების გზით. ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლის დონე ძილ-დეპრივირებულ ვირთაგვებში ისაზღვრებოდა ექსპერიმენტის მსვლელობისას ძილის დაწყების მცდელობათა რაოდენობით. დეპრივაციის შედეგად ძილის მოწოლის დინამიკაზე დაკვირვების მიზნით, თითოეულ ვირთაგვაში ძილის დადგომათა რაოდენობის საშუალო რიცხვი იანგარიშებოდა თანამიმდევრულ 10-წუთიანი ინტერვალებში. ცდების დაწყებამდე ვირთაგვები კარგად იყვნენ მიჩვეული ძილის დეპრივაციის პროცედურას. საკონტროლო ვირთაგვებს (n=24) პეროტონეუმში (n=12), ან პარკუჭში (n=12) 0,9% მარილხსნარი უკეთდებოდა; ეს ვირთაგვებიც სპონტანურად მძინარე და ძილ-დეპრივირებული ცხოველების ქვეჯგუფებად დაიყო (n=6 თითოეულში). ვირთაგვების კიდევ ერთ ჯგუფს (n=6), რომელშიც არავითარი ნივთიერება არ შეგვყავდა, ეძლეოდა 2 სთ-იანი სპონტანური ძილის საშუალება. ეს უკანასკნელი ჯგუფი სპონტანური ძილის მდგომარეობის დამატებით, ინტაქტურ კონტროლს

წარმოადგენდა. ექსპერიმენტების დამთავრებისთანავე ვირთაგვებს ტრანსკარდიალური პერფუზია უკეთდებოდა (იხ. კვლევის მეთოდები).

მარილის ჰიპერტონული ხსნარი მზადდებოდა უშუალოდ ექსპერიმენტული პროცედურის დღეს. ანგ-II-ს დისტანციურად შესაყვანად, უჟანგავი ფოლადის საინექციო ნემსი (გარეთა დიამეტრი 0,3 მმ) ივსებოდა ნივთიერებით და უერთდებოდა 5მკლ მოცულობის ჰამილტონის მიკროშპრიცს (1მ სიგრძის პოლიეთილენის მილით). ნემსი ჩანერგილ კანულაში ცდის დაწყებამდე 1 სთ-ით ადრე (დილის 8 სთ) იდგმებოდა. ანგ-II-ს შეყვანისას, რაც 1 წუთს გრძელდებოდა, ცხოველები თავიანთ საცხოვრებელ გალიებში რჩებოდნენ. ნივთიერების შეყვანის საპასუხოდ წყლის სმის ქცევის გააქტივების დაკვირვების მიზნით, წყლის ცარიელ ბოთლებს ვიყენებდით. წყლის "მოჩვენებითი სმის" ეფექტის თავიდან ასაცილებლად, ბოთლებს ინექციიდან 5 წთ-ს შემდეგ ვაცილებდით. ნივთიერების შეყვანის შემდეგ ექსპერიმენტის სრული 2-სთ-იანი პერიოდის განმავლობაში ვირთაგვებს წყალი აღარ ეძლეოდათ. მარჯვენა პარკუჭში კანულის წვერის ადგილმდებარეობა ჰისტოლოგიურად მოწმდებოდა ექსპერიმენტის დამთავრების შემდეგ.

იმუნოჰისტოქიმია:

ცხოველების ტრანსკარდიალური პერფუზია პენტობარბიტალის ღრმა ანესთეზიის ქვეშ (100 მგ/კგ) ტარდებოდა. პერფუზიის საწყის ეტაპზე 5 წთ-ს განმავლობაში გამოიყენებოდა 0,12 მოლარობის

მილონიგის (Millonigs) ფოსფატური ბუფერი (მფბ), რასაც მოჰყვებოდა 500 მლ 4%-იანი პარაფორმალდეჰიდი (პფა), გახსნილი 0,12 მოლარობის მფბ-ში. პერფუზიის შემდეგ ცხოველთა სხეულებს 1 საათის განმავლობაში 4^0C-ზე ინახებოდა. ამის შემდეგ ამოღებული ტვინები, 1 საათის განმავლობაში ფიქსირდებოდა იგივე პფა ხსნარში, ირეცხებოდა 0,12 მოლარობის მფბ-ში და 4^0C-ზე საფეხურებრივად გადაიტანებოდა 10%, 20% და 30%-იან საქაროზაში, სანამ ტვინები არ დაიწყებდნენ ჩაძირვას. 30 მკმ სისქის, შპობ-ზე გამავალი ფრონტალური ანათლები კეთდებოდა გამყინავ მიკროტომზე. ანათლები ჯერ მუშავდებოდა ფოს-ს შეღებვით. ქსოვილის ანათლებს ერთი ღამის განმავლობაში 4^0C-ზე ინკუბირდებოდა ბოცვრის ანტი-ს-ფოს პირველად ანტიშრატში (AB-5, Oncogene Science; 1:15000), სანჯღრეველაზე. შემდგომ, 1,5 საათის განმავლობაში ანათლები ოთახის ტემპერატურაზე ბიოტინირებული თხის ბიცვრის საწინააღმდეგო IgG-თი (Vector laboratories; 1:800) მუშავდებოდა, რასაც მოსდევდა ავიდინ-ბიოტინის კომპლექსთან (ABC, Vector Elite Kit; 1:200) რეაქციის ჩატარება. ანათლების გამჟღავნება ხდებოდა ნიკელის დიამინობენზიდინ-ტეტრაჰიდროქლორიდით (Ni-DAB), რომელიც იძლევა შავი ფერის რეაქციას უჯრედის ბირთვში. ბირთვის შეღებვა არ ხდებოდა პირველადი ანტიშრატის არგამოყენების (კონტროლი არასპეციფიურ შეღებვაზე) შემთხვევაში. გმდ-ს შეღებვისთვის ანათლები ორი ღამის განმავლობაში 4^0C-ზე თაგვის ანტი-გმდ მონოკლონურ ანტისხეულში (MAB5406, Chemicon International; 1:300) ინკუბირდებოდა, ბიოტინირებული ანტი-თაგვური IgG-თი (BA-

2001, Vector Laboratories; 1:500) მუშავდებოდა და DAB-თი მჟღავნდებოდა, რათა ორმაგი მონიშვნისთვის ყავისფერი პროდუქტი მიგვეღო უჯრედის სომაში (**იხ. სურათი 18**). გმდ- შეღებვა არ ხდებოდა პირველადი ანტიშრატის არგამოყენების (კონტროლი არასპეციფიურ შეღებვაზე) შემთხვევაში. შეღებვის შემდეგ, ანათლები ჟელატინიზებულ სასაგნე მინებზე თავსდებოდა, აღმავალ სპირტებში დეჰიდრირდებოდა და Depex-ის საფარი მინით იფარებოდა.

მონაცემთა ანალიზი:

ძილის ანალიზი: ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზები (ღვიძილი, ნელტალღოვანი ძილი, პარადოქსული ძილი) დგინდებოდა პოლიგრაფული ჩანაწერის თითოეულ 10-წამიან ეპოქაში დომინანტური მდგომარეობის მიხედვით. ღვიძილი აღირიცხებოდა ეეგ-აქტივობის დესინქრონიზაციის და კისრის კუნთის მაღალი ტონუსის კომბინაციის შემთხვევაში. ნელი ძილი მაღალამპლიტუდიანი ნელტალღოვანი ეეგ-თი (2-დან 4 ჰერცამდე აქტივობით) და ღვიძილთან შედარებით დაბალი ემგ-ტონუსით ხასიათდებოდა. პარადოქსული ძილი კი - ზომიერი ამპლიტუდის (დომინანტური თეტა სიხშირით/6-8ჰც) ეეგ-აქტივობის და კისრის მინიმალური ემგ-ს (იშვიათი შეკრთომებით) შემთხვევაში აღირიცხებოდა. თითოეული მდგომარეობის პროცენტულობა იანგარიშებოდა რეგისტრაციის 2-საათიანი პერიოდის უკანასკნელი 90 წუთისთვის.

უჯრედების რაოდენობა: უჯრედების დათვლა ხდებოდა “ბრმად”, ანუ პიროვნების მიერ, რომელმაც არ იცოდა ცხოველთა საექსპერიმენტო პირობები. ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობისათვის ერთხელობრივად მონიშნული და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიულობისათვის ორმაგად მონიშნული ნეირონების იდენტიფიცირება და დათვლა Neurolucida კომპიუტერის დახმარებით აგებული სისტემის (MicroBrightField, Williston, VT) გამოყენებით ხდებოდა. ანათლების კონტურები იხატებოდა მიკროსკოპის 20X გადიდებაზე, ხოლო ფოს- და ფოს+გმდ- იმუნორეაქტიული ნეირონების აღნიშვნა/კარტირება ანათლების კონტურებში 400X გადიდებით ხდებოდა. უჯრედების დათვლა შესასწავლი უბნების (პრეოპტიკური ჰიპოთალამუსის ორი უბანი) ცხაურების ფარგალში ხდებოდა (**იხ. სურათი 11**). (1) როსტრალური შპობ-ის (რშპობ) ცხაური (600X600) თავსდებოდა მესამე პარკუჭის თავზე - წინა კომისურის და ბრეგმას გადაკვეთის როსტრალურად (ანტერიორ, 0,1 მმ). (2) კაუდალური შპობ-ის (კშპობ) ცხაური თავსდებოდა წინა კომისურის გადაკვეთაზე (ლატერალურად – 150 მკმ-ის და დორსალურად – 600 მკმ), ბრეგმას კაუდალურად (ანტერიორ, -0,26 მმ).

თითოეული ვირთაგვის როსტრალურ და კაუდალურ შპობ-ში ფოს- და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული უჯრედების დათვლა აღნიშნული უბნების 3 ანათალში ხდებოდა და ამ სამი ანათვალის საშუალო განიხილებოდა როგორც ინდივიდუალური ცხოველის მონაცემი.

სტატისტიკური ანალიზი:

ყველა შედეგი მოტანილია, როგორც საშუალო ± საშუალოს სტანდარტული ცდომილება (SEM). ცალმხრივი, განმეორებადი გაზომვების ცვლადთა ანალიზი (ANOVA) გამოიანგარიშებოდა ძილის სტადიების პროცენტულობისთვის იმ ხუთი ჯგუფისთვის, რომელსაც ეძლეოდა სპონტანური ძილის საშუალება.

იმ ცხოველებისთვის, რომელთაც ინექცია პერიტონეუმში უკეთდებოდა, ფოს+ ერთეული იმუნორეაქტიული ნეირონებისთვის 4 ჯგუფში (პერიტონეუმში ფიზიოლოგიური და ჰიპერტონული ხსნარის ინექციით ვირთაგვებში, ძილის დეპრივაციის და სპონტანური ძილის პირობებში) ცალმხრივი, არაგანმეორებად გაზომვათა ANOVA იყო გამოანგარიშებული. ასეთივე ANOVA იყო გამოანგარიშებული 4 ჯგუფისთვის პარკუჭშიდა ინექციით: ვირთაგვები ფიზიოლოგიური ხსნარის და ანგ-II-ის ინექციით ძილის დეპრივაციის და სპონტანური ძილის პირობებში. ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული უჯრედების დასათვლელად, ANOVA იანგარიშებოდა სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში პარკუჭში ანგ-II-ის ინექციით, პარკუჭში ფიზიოლოგიური ხსნარით და ინტაქტურ პირობებში. ყველა ANOVA-ს შემდეგ განსხვავებათა სარწმუნობა ინდივიდუალური ჯგუფების საშუალოებს შორის დგინდებოდა ეწმან- ეულს-ის პოსტ ჰოც ტესტით. ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რიცხვი სპონტანურად მძინარე, პეროტონეუმში ჰიპერტონულ ხსნარშეყვანილ ვირთაგვებში

დაუწყვილებელი *t*-ტესტით სპონტანურად მძინარე, პერიტონეუმში ფიზიოლოგიურ-ხსნარშეყვანილ ვირთაგვებს დარდებოდა.

შედეგები

ძილი და ღვიძილი:

ცხრილ 1-ში მოტანილია ძილში გატარებული დროის პროცენტები ვირთაგვების იმ ჯგუფებისათვის, რომელთაც ეძლეოდა სპონტანური ძილის საშუალება ინექციის შემდგომ პერიოდში. ძილში გატარებული დროის პროცენტულობა თანაბარი იყო ვირთაგვებში პარკუჭში ანგ-II-ის ან ფიზიოლოგიური ხსნარის ინექციის შემდეგ და ვირთაგვებში, რომელთაც ინექცია საერთოდ არ უკეთდებოდა. მეორე მხრივ, პარკუჭში ანგ-II-ით ვირთაგვები შესაბამის საკონტროლო და უინექციო ცხოველებთან შედარებით პარადოქსული ძილის მნიშვნელოვან შემცირებას და ნელი ძილის გაზრდას ამჟღავნებდნენ. ღვიძილის საერთო მოცულობა ამ ცხოველებში მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა, თუმცა, იმ ვირთაგვებში, რომელთაც უკეთდებოდა ანგ-II, ღვიძილს ნაკლებობისაკენ ტენდენცია ჰქონდა. პერიტონეუმში მარილის ჰიპერტონული ხსნარშერყვანილ ვირთაგვებს ყველა სხვა ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით ძილი ფრაგმენტირებული ჰქონდათ, ხოლო მთლიანი ძილის ოდენობა - საგრძნობლად შემცირებული. ვირთაგვები, რომელთაც პეროტონეუმში ფიზიოლოგიური ხსნარი უკეთდებოდა, სხვა საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით (პარკუჭში ფიზიოლოგიურ-ხსნარშეყვანილები და ისინი, რომელთაც ინექცია არ

უკეთდებოდა საერთოდ) ძილის შემცირებულ დროს ამჟღავნებდნენ. ჩაწერის მთელი დროის განმავლობაში ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზათა განაწილების მაგალითები ნაჩვენებია **სურათ 12-ზე.** როგორც დიაგრამიდან ჩანს, იმ ცხოველებში, რომელთაც უკეთდებოდა პერიტონეუმში ჰიპერტონული ხსნარი, პერიტონეუმში ფიზიოლოგიური ხსნარი და პარკუჭში ანგ-II, შეიმჩნეოდა დაძინების დაგვიანება იმ ვირთაგვებთან შედარებით, რომელთაც პარკუჭში ფიზიოლოგიური ხსნარი უკეთდებოდა ან საერთოდ არ უკეთდებოდა რაიმე ნივთიერება. ეს ხდებოდა იმიტომ, რომ ინექციიდან პირველი 15-20 წუთის განმავლობაში ვირთაგვები, რომელთაც პერიტონეუმში ჰიპერტონული ხსნარი ან პარკუჭში ანგ-II უკეთდებოდა, აქტიურად ეძებდნენ წყალს, მაშინ, როდესაც პერიტონეუმში ფიზიოლოგიურ ხსნარშეყვანილი ვირთაგვები მოჭარბებულ გრუმინგს ამჟღავნებდედ.

ცხრილი 1. მთლიან ძილში, ნელ ძილში და პარადოქსულ ძილში გატარებული დროის პროცენტულობა სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში (n=30).

ექსპერიმენტული ჯგუფები	ტოტალური ძილი (%)	ნელი ძილი (%)	პარადოქსული ძილი (%)
ჰიპერტონული ხსნარი (პერიტონეუმში; n=6)	49.7±2.9*	42.4±2.1*	7.3±2.7***♦
ფიზიოლოგიური ხსნარი (პერიტონეუმში; n=6)	74.5±3.1**	60.2±2.9**	14.3±2.4**
პარკუჭში ანგ-II (n=6)	87.1±5.2	78±4.3***	9.1±2.9***
პარკუჭში ფიზ. ხსნარი (n=6)	86.4±3.8	68±2.7	18.4±1.8
ინტაქტური ძილი	85.3±6.3	66.1±3.3	19.2±1.7

ANOVA-მ გვაჩვენა ნივთიერებათა შეყვანის მნიშვნელოვანი ეფექტი ტოტალური ძილის [F (4,25)=588,6; p<0.001], ნელი ძილის [F (4,25)=432.3; p<0.001] და პარადოქსული ძილის პროცენტულობაზე [F (4,25)=89.5; p<0.001].

* მნიშვნელოვნად განსხვავებულია ყველა დანარჩენი ჯგუფისაგან, p<0.001 (Newman-Keuls); ** მნიშვნელოვნად განსხვავებულია პერიტონეუმში ფიზიოლოგიური ხსნარით და ინტაქტური (სპონტანურად მძინარე) ვირთაგვებისგან, p<0.001 (Newman-Keuls); ***მნიშვნელოვნად განსხვავებულია პერიტონეუმში ფიზიოლოგიური ხსნარით, პარკუჭში ფიზიოლოგიური ხსნარით და ინტაქტური ვირთაგვებისგან, p<0.001 (Newman-Keuls); ♦მნიშვნელოვნად განსხვავებულია პარკუჭში ანგ–II-ით ვირთაგვებისაგან, p<0.05 (Newman-Keuls).

მიუხედავად იმისა, რომ ჰიპერტონული ხსნარის და ანგ-II-ს ინექცია იწვევდა ძილ-ღვიძილის არქიტექტურის შეცვლას, არცერთი ნივთიერება არ ცვლიდა ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზების ეეგ-კორელატებს (**სურათი 13**).

ყველა ვირთაგვა, რომელსაც უტარდებოდა ძილის დეპრივაცია, ამჟღავნებდა ძილის მოთხოვნილების თანდათანობით გაზრდას; დაძინების მცდელობების რაოდენობა დეპრივაციის პროცესში იზრდებოდა (**სურათი 14**).

ვირთაგვები, რომელთაც პერიტონეუმში უკეთდებოდა ჰიპერტონიული ხსნარი და შესაბამისი საკონტროლო ცხოველები, დაძინების ნაკლებ მცდელობას ავლენდნენ. დეპრივაციის პერიოდში

ყველა ძილ-დეპრივირებულ ვირთაგვაში ნელი ძილი 6%-მადე, ხოლო პარადოქსული ძილი საერთოდ არ ვლინდებოდა.

ს-ფოს იმუნორეაქტიული ნეირონების ექსპრესია და განაწილება შპობ-ში

იმუნური შეღებვა *ს-ფოს* ცილაზე გამოყენებულ იქნა, როგორც ექსპერიმენტული ჯგუფების შპობ-ის ნეირონული აქტივობის გამოვლენის საშუალება (Sagar et al., 1988; Dragunov & Faul, 1989; Herrera & Robertson, 1996). ჰიპერტონული ხსნარისა და ანგ-II-ის ზემოქმედებამ ყველა საექსპერიმენტო ცხოველის შპობ-ის ნეირონებში ფოს-ის გაზრდილი ექსპრესია გამოიწვია **(სურათები 15 და 16)**. ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა ნივთიერებებით დამუშავებული ცხოველების შპობ-ში შესაბამის საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით, როგორც სპონტანურად მძინარე, ისე ძილდეპრივირებულ ჯგუფებში საგრძნობლად გაზრდილი იყო თუმცა, შპობ-ის ფოს-იმუნორეაქტიულობის ინტენსივობა საექსპერიმენტო ჯგუფებში ძილ-ღვიძილის მდგომარეობაზე დამოკიდებულ ცვალებადობას ავლენდა **(სურათი 17)**. პერიტონეუმში ჰიპერტონულ ხსნარ- და პარკუჭში ანგ-II-შეყვანილ მძინარე ვირთაგვებში ფოს-იმუნორეაქტიულ ნეირონთა რაოდენობა მნიშვნელოვნად მაღალი იყო,

ვიდრე ძილდეპრივირებულ ცხოველებში, რომელთაც ნივთიერებები იგივე წესით უკეთდებოდა.

ფიზიოლოგიურ-ხსნარშეყვანილ ცხოველებში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიულ ნეირონთა რაოდენობა მძინარე ცხოველების როსტრალურ შპობ-ში ძილდეპრივირებულ ვირთაგვებთან შედარებით მნიშვნელოვნად დაბალი იყო, ხოლო ამავე ცხოველების კაუდალურ შპობ-ში უჯრედთა იგივე რაოდენობა იყო ნაჩვენები.

ANOVA-მ აჩვენა, რომ პერიტონეუმში ინექციის პროცედურა შპობ-ის ნეირონების აქტივაციაში მნიშვნელოვან ცვლილებებს არ იწვევდა; პერიტონეუმში ფიზიოლოგიურ-ხსნარშეყვანილი ვირთაგვების შპობ-ში ს-ფოს-ის ექსპრესია ისეთივე იყო, როგორც პარკუჭში ფიზიოლოგიურ-ხსნარშეყვანილ ვირთაგვებში, ნებისმიერ მდგომარეობაში – სპონტანური ძილისას და ძილის დეპრივაციის შემდეგ **(იხ.სურათი 17)**.

ფოს+გმდ-ს იმუნორეაქტიულობის ოდენობა შპობ-ის ნეირონებში

იმის დასადგენად, ძილისა და ოსმორეგულაციის ცენტრალური წრეების გააქტიურების საპასუხოდ აქტივირებად შპობ-ის ნეირონებს აქვთ თუ არა ერთი და იგივე ნეიროტრანსმიტერული ფენოტიპი შპობ-ში ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული უჯრედების რაოდენობა შედარდა იმ მძინარე ვირთაგვებში, რომელთაც გაუკეთდა პარკუჭშიდა ანგ-II, პარკუჭშიდა ფიზიოლოგიური ხსნარი და საერთოდ არ გაუკეთდა

რაიმე ნივთიერება. ცხოველთა ეს ჯგუფები ერთმანეთს იმიტომ შედარდა, რომ მათ ძილის მთლიანი მოცულობა მსგავსი ჰქონდათ (იხ. ცხრილი 1). ფოს- იმუნორეაქტიული, გმდ-იმუნორეაქტიული და ფოს+გმდ- იმუნორეაქტიული ნეირონების განაწილების მაგალითები შპობ-ის სათვლელ ბადეებში, ნაჩვენებია **სურათ 18A-ზე**. ცალკეული შეღებილი ნეირონების მაგალითები მოტანილია **სურათ 18B-ზე**. როგორც სურათ 18A-ზე ჩანს, ვირთაგვებში, რომელთაც ტვინის პარკუჭში გაუკეთდა ანგ-II, ამჟღავნებდნენ ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების დრამატულად დიდ რაოდენობას, პარკუჭში ნორმალურ ხსნარშეყვანილ და ინტაქტურ ვირთაგვებთან შედარებით ($p<0,05$).

ამავე დროს, ფოს+გმდ- იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობები ამ ცხოველებში სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა **(იხ. სურათი 19B);** პარკუჭში ანგ-II-შეყვანილ ვირთაგვებში ფოს- იმუნორეაქტიული ნეირონების უმრავლესობა იმ ნეირონებში იყო მოთავსებული, რომლებშიც გმდ-ს თანალოკალიზაცია არ შეიმჩნეოდა **(იხ. სურათები 18A და 19C)**.

პერიტონეუმში ჰიპერტონულ ხსნარშეყვანილი ვირთაგვები, რომელთაც ინექციის შემდეგ ეძლეოდათ სპონტანურად დაძინების საშუალება, არ ამჟღავნებდნენ რაიმე სხვაობას შპობ-ში ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობაში, პერიტონეუმში ფიზიოლოგიურ-ხსნარშეყვანილ ცხოველებთან შედარებით. ჰიპერტონული ხსნარის შეყვანა მხოლოდ ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობას ზრდიდა მნიშვნელოვნად, მაგრამ შპობ-ის იმ ნეირონებიდან, რომლებიც ექსპრესირებდნენ ფოს-იმუნორეაქტიულობას, მხოლოდ 20% მოინიშნა ორმაგად გმდ-ზე (**ცხრილი 2**).

არც პერიტონეუმში შეყვანილი ჰიპერტონული ხსნარი და არც პარკუჭში შეყვანილი ანგ-II შპობ-ის გმდ- იმუნორეაქტიული ნეირონების მთლიან რაოდენობაში მნიშვნელოვან ცვლილებებს არ იწვევდნენ (**იხ. ცხრილი 3**).

ცხრილი 2. პერიტონეუმში ფიზიოლოგიურ ხსნარ- და ჰიპერტონულ ხსნარ-შეყვანილი ვირთაგვების შპობ-ში ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების საშუალო რაოდენობა და ფოს-პოზიტიური გმდ უჯრედების პროცენტულობა (%).

ექსპერიმენტული ჯგუფები	**როსტრალური შპობ-ი**		**კაუდალური შპობ-ი**	
	ფოს+გმდ (n)	ფოს+გმდ (%)	ფოს+გმდ (n)	ფოს+გმდ (%)
პერიტ.-ში ფიზიოლოგიური ხსნარი (n=6)	25.4±1.8	30.6±1.4*	17±1.8	25.9±1.9*
პერიტ.-ში ჰიპერტონული ხსნარი (n=6)	27.8±2.1	20.1±1.5*	20.4±2.2	18.0±1.1*

ფოს+გმდ - იმუნორეაქტიული უჯრედების რაოდენობამ არ აჩვენა სარწმუნო განსხვავება, თუმცა ფოს+გმდ–პოზიტიური ნეირონების პროცენტულობა პერიტონეუმში ჰიპერტონულ ხსნარ-შეყვანილ ვირთაგვებში პერიტონეუმში ფიზიოლოგიურ ხსნარ-შეყვანილ ჯგუფთან შედარებით უფრო დაბალი იყო (დაუწყვილებელი *t*-ტესტი) როგორც როსტრალურ [$t(10) = 8.0$; $p<0.001$], ისე კაუდალურ შპობ-ში [$t(10)=6.2$; $p<0.001$].

ცხრილი 3. ერთეული გმდ-იმუნორეაქტიული უჯრედების საშუალო რაოდენობა სპონტანური ძილის პირობებში; პერიტონეუმში ჰიპერტონიული ხსნარით ვირთაგვების და სათანადო საკონტროლო ჯგუფის შპობ-ში, პარკუჭში ანგ–II და პარკუჭში ფიზიოლოგიური ხსნარ-შეყვანილი ვირთაგვების შპობ–ში.

ექსპერიმენტული ჯგუფი	როსტრალური შპობ-ი	კაუდალური შპობ-ი
პერიტ. ჰიპერტონული ხსნარი (n=6)	94.7±1.6	87.6±2.6
პერიტ. ფიზიოლოგიური ხსნარი (n=6)	93.9±2.9	89.0±3.4
პარკუჭში ანგ–II (n=6)	96.9±4.9	89.9±6.1
პარკუჭში ფიზიოლოგიური ხსნარი (n=6)	94.8±4.7	80.9±6.1
ინტაქტური ძილი (n=6)	95.5±5.7	89.4±3.4

განხილვა:

წინამდებარე გამოკვლევა დაგეგმილი იყო, რათა დაგვედგინა: 1) ახდენს თუ არა ძილ-ღვიძილის ციკლის მდგომარეობა მარილის ჰიპერტონული ხსნარით ან ანგ-II-ით გამოწვეული შპობ-ის ნეირონების გააქტიურების მოდიფიკაციას და 2) შპობ-ის ნეირონთა ერთსა და იმავე, თუ განსხვავებულ პოპულაციას მიეკუთვნება ის უჯრედები, რომლებიც ხასიათდებიან ფოს-იმუნორეაქტიულობის ექსპრესიით ძილის დროს და ოსმორეგულაციის ცენტრალური წრეების გააქტიურებისას. ჩვენი შედეგები გვიჩვენებს, რომ ჰიპერტონული ხსნარისა და ანგ-II-ის ინექცია მღვიძარე ვირთაგვებში მნიშვნელოვნად ზრდის შპობ-ის ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობას საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით.

ჰიპერტონული ხსნარით და ანგ-II-ით შპობ-ის ნეირონების გააქტიურება არ სუსტდებოდა იმ ცხოველებში, რომელთაც, ნივთიერების შეყვანის შემდეგ ძილის საშუალება ეძლეოდა. ეს მიუთითებს, რომ შპობ-ის ნეირონები პასუხობენ წყლის სმისა და ოსმორეგულაციის ცენტრალური წრეების გააქტიურებაზე ძილ-ღვიძილის ციკლის მდგომარეობისგან დამოუკიდებელი წესით და, რომ შპობ-ის მიერ გამოწვეული მარეგულირებელი პასუხები ასეთ გამოწვევაზე (მაგ. ვაზოპრესინის გამოყოფაზე) შეიძლება გრძელდებოდეს ძილის დროსაც.

ცირკულირებადი ანგიოტენზინის მომატება წყლის სმის სტიმულაციის მიზნით სუბფორნიკალური ორგანოს (სფო) გზით მოქმედებს (იხ. McKinley et al., 2004). თავის ტვინში ანგიოტენზინისადმი მგრძნობიარე სმის წრეების აქტივაციის სურათი, რომელსაც პარკუჭში ანგ-II-ს შეყვანა იწვევს, (როგორც ამ გამოკვლევაში იყო გაკეთებული) შეიძლება განსხვავდებოდეს ანგ-II-ს სისტემური შეყვანის დროს განვითარებული აქტივაციისაგან. მეორე მხრივ, შპობ-ის ანგ-II-სადმი მგრძნობიარე ნეირონები კრიტიკულადაა ჩართული ცირკულირებადი ანგ-II-ით, რომლის მედიაცია ხდება ამგზნები ანგიოტენზინერგული პროექციებით სფო-დან შპობ-ისაკენ, გამოწვეული წყლის სმის რეაქციებში (Tanaka et al., 1987; Tanaka, 1989; Tanaka & Nomura, 1993). თუ გავითვალისწინებთ შპობ-ის სიახლოვეს მესამე პარკუჭთან,

ანგ-II-ს პარკუჭში შეყვანა, სავარაუდოდ, ამ ბირთვში ანგ-II-სადმი კრიტიკულად მგრძნობიარე ნეირონებს უნდა ააქტიურებდეს.

წინამდებარე კვლევაში, პერიტონეუმში ჰიპერტონული ხსნარის და პარკუჭში ანგ-II-ს ინექცია წინა კომისურიდან დორსალურად და ვენტრალურად მდებარე ნეირონებში ფოს-იმუნორეაქტიულობას იწვევდა, რაც შპობ-ის ვენტრალური და დორსალური ნაწილების შუა ხაზით შემოიზღუდებოდა. ჩვენი გამოკვლევის შედეგები ადრე გამოქვეყნებულ პუბლიკაციებს ეთანხმება. ს-ფოს-ის ექსპრესია შპობ-ში სისტემურად შეყვანილი ჰიპერტონული ხსნარის და ანგ-II-ს შეყვანის საპასუხოდ (Oldfield et al., 1991; Herbert et al., 1992; Oldfield et al., 1994; Xu et al., 1995; Xu et al., 1996; Xu et al., 2003), ან 24-საათიანი წყლის დეპრივაციის შემდეგ (McKinley et al., 1994), შპობ-ის დორსალური და ვენტრალური ნაწილების შუა ხაზზე მოთავსებულ ნეირონებში იყო ნანახი. იგივე უბნები გააქტიურდა მწვავე ჰიდრომინერალური ცვლილების დროს, რაც ფუროსემიდით გამოწვეული, სითხისა და ელექტროლიტების დაშლით მიიღებოდა (Grob et al., 2003). ნეირონების სათვლელი ცხაური შპობ-ში წინა კომისურის ვენტრალურად თავსდებოდა.

ჰიპერტონული ხსნარის და ანგ-II-ს შეყვანაზე აგზნებითი პასუხები, ჩვეულებრივ, შეინიშნება შპობ-ის ნეირონებში და ელექტროფიზიოლოგიური მონაცემები ს-ფოს-ის იმუნური შეღებვის შედეგებს ეთანხმება. ცხვრებსა (McAllen et al., 1990) და ვირთაგვებზე (Honda et al., 1990) ჩატარებული გამოკვლევებით ნაჩვენებია, რომ შპობ-ის ნეირონების უმრავლესობა საკუთარ ელექტრულ აქტივობას

ჰიპერტონიული ხსნარის სისტემური ან ლოკალური შეყვანის საპასუხოდ აძლიერებს. შპობ-ის ნეირონების აგზნება სუპრაქიაზმატური ბირთვის ანგ-II-ით გაღიზიანების დროს ხდება, და ეს ეფექტი ისპობა სარალაზინის – ანგ-II-ის სპეციფიკური ანტაგონისტის, შპობ-ში იონტოფორეზული აპლიკაციით (Tanaka et al., 1987; Tanaka et al., 1989)

წინამდებარე გამოკვლევაში პერიტონეუმში ჰიპერტონული ხსნარის და პარკუჭში ანგ-II-ის შეყვანა შპობ-ის ნეირონებს ძილ-ღვიძილის მდგომარეობაზე დამოკიდებული წესით ააქტიურებდა, მაგრამ დაძინების საშუალების მქონე ცხოველებში ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა მნიშვნელოვნად იყო გაზრდილი იმ ცხოველებისაგან განსხვავებით, რომელთაც უკეთდებოდა ნივთიერება, მაგრამ ძილის საშუალება არ ჰქონდათ. ამ შედეგს შეეძლო ეჩვენებინა ძილის დროს ძილთან დაკავშირებული ნეირონების და ოსმოსურად მგრძნობიარე ნეირონების ცალკეული პოპულაციების ორმაგი აქტივაცია იმ ცხოველებში, რომელთაც უკეთდებოდა ჰიპერტონული ხსნარი და ანგ-II.

პერიტონეუმში ჰიპერტონული ხსნარის ინექცია შპობ-ში ს-ფოს-ის ექსპრესიის მნიშვნელოვან ზრდას იწვევდა, იმ ვირთაგვებთან შედარებით, რომელთაც პერიტონეუმში ფიზიოლოგიური ხსნარი უკეთდებოდა. ჰიპერტონული ხსნარი, ასევე, ძილის დარღვევას, დაგვიანებულ ჩაძინებას, ძილის ფრაგმენტაციასა და როგორც ნელი, ისე პარადოქსული ძილის რედუქციას იწვევდა. ძილის დარღვევა მთელი 2-საათიანი რეგისტრაციის პერიოდში ნარჩუნდებოდა.

ჰიპერტონულ-ხსნარშეყვანილ ვირთაგვებს, ასევე, ძილის დეპრივაციის შესანარჩუნებლად ფიზიოლოგიურ-ხსნარშეყვანილ საკონტროლო ვირთაგვებთან შედარებით. ნაკლები გაღიზიანება ესაჭიროებოდა. აღსანიშნავია, რომ პერიტონეუმში ხსნარის ინექცია ძილის დარღვევის გარკვეული ეფექტით ხასიათდებოდა: სხვა საკონტროლო ჯგუფებთან შედარებით (პარკუჭში ფიზიოლოგიური ხსნარშეყვანილი და ყოველგვარი ინექციის გარეშე ცხოველები), პერიტონეუმში ფიზიოლოგიურ-ხსნარშეყვანილი საკონტროლო ცხოველები ინექციიდან პირველი 30-45 წუთის განმავლობაში ძილის დადგომის ლატენტობის ზრდასა და ძილის შემცირებულ ხანგრძლივობას ავლენდნენ.

ჰიპერტონულ ხსნარშეყვანილი ვირთაგვების შპობ-ში ფოს-ის ექსპრესია, შეიძლება ინექციით გამოწვეულ სტრესს მივაწეროთ. ამის საწინააღმდეგოდ ორი რამ მეტყველებს: 1) პერიტონეუმში ჰიპერტონული ხსნარის შეყვანას სათანადო კონტროლი ჰქონდა; პერიტონეუმში ინექციის არასპეციფიური ეფექტები საკონტროლო ვირთაგვებზე იყო შემოწმებული; 2) ადრე გამოქვეყნებული მონაცემებით ნაჩვენებია, რომ შპობ-ის უჯრედებში ფოს-იმუნორეაქტიულობის მსგავსი სურათი ჰიპერტონული ხსნარის როგორც პერიტონეუმში, ისე ვენაში შეყვანით გამოიწვეოდა (Xu et al. 2003). ამ ავტორებმა დაასკვნეს, რომ პერიტონეუმში ნივთირება-შეყვანილი ვირთაგვების შპობ-ში ს-ფოს-ის გაზრდილი ექსპრესია შეიძლება განვიხილოთ, როგორც ოსმოსური სტიმულაციის შედეგი, და არა როგორც ინექციით გამოწვეული ტკივილის შედეგი.

პარკუჭში ანგ-II-ს შეყვანა ძილის ლატენტობასა და მთლიანად ძილის ხანგრძლივობაში მხოლოდ უმნიშვნელო ცვლილებებს იწვევდა. ძილის ლატენტობაზე, პერიტონეუმში ჰიპერტონული ხსნარის შეყვანის ეფექტებთან შედარებით პარკუჭში ანგ-II-ს შეყვანის განსხვავებული ეფექტები, უდავოდ, ნაწილობრივ, ინექციის დისტანციური მეთოდით იყო გამოწვეული, რაც ანგ-II-ს შეყვანის დროს ცხოველთა შეხებას არ ითვალისწინებდა. მაშინ, როდესაც პარკუჭში ანგ-II-ის შეყვანა ძილის მთლიან დროს მნიშვნელოვნად არ ცვლიდა, ძილის არქიტექტურა ანგ-II-შეყვანილ ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის მოცულობის მნიშვნელოვანი შემცირებით იცვლებოდა. რამდენადაც ჩვენთვისაა ცნობილი, ეს პარკუჭში ანგ-II-ის შეყვანის პარადოქსული ძილის დამთრგუნველი მოქმედების პირველი აღწერაა.

პარადოქსული ძილის რაოდენობათა განსხვავებას პარკუჭში ანგ-II-შეყვანილ და სპონტანურად მძინარე საკონტროლო ვირთაგვების შპობ-ის ნეირონებში ს-ფოს ექსპრესიაზე განსხვავებული გავლენის მოხდენა შეეძლო. ადრე ვაჩვენეთ, რომ შპობ-ში ფოს-იმუნორეაქტივობის ოდენობა დადებითად კორელირებს წინარე ძილის მთლიან რაოდენობასთან (Gong et al., 2005). მეორე მხრივ, გაუგებარია, შპობ-ში ძილთან დაკავშირებული ფოს-იმუნორეაქტიულობა, ნელ ძილთანაა კავშირში, თუ პარადოქსულ ძილთან. პარკუჭში ანგ-II-ს შეყვანით გამოწვეული პარადოქსული ძილის რედუქციას, შპობ-ის გაემ-ერგულ ნეირონებში ფოს-იმუნორეაქტიულობის შემცირების გამოწვევა შეეძლო. ჩვენმა შედეგებმა გვაჩვენა, რომ ფოს+გმდ იმუნორეაქტიული

ნეირონების მთლიანი რაოდენობა პარკუჭში ანგ-II შეყვანისას, პარკუჭში ფიზიოლოგიური ხსნარშეყვანილ და ნივთიერებათა შეყვანის გარეშე მყოფ, ნორმალურად მძინარე საკონტროლო ვირთაგვებთან შედარებით არ იცვლებოდა. მეორე მხრივ, პარკუჭში ანგ-II-შეყვანილ ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის დათრგუნვას შპობ-ის არა გაემ-ერგული ნეირონების პოპულაციის გააქტიურება შეეძლო. ურთიერთკავშირი შპობ-ის ს-ფოს-ის ექსპრესიასა და ნელი ძილის საწინააღმდეგოდ პარადოქსული ძილის რეგულაციას შორის ურთიერთკავშირი კვლავაც გასარკვევია.

ადრე ვაჩვენეთ, რომ შპობ-ში ძილთან დაკავშირებული ფოს-იმუნორეაქტიულობა, გაემ-ერგულ ნეირონებში ექსპრესირდება (Gong et al., 2004). იმის დასადგენად, თუ რამდენად იდენტურია შპობ-ის ის ნეირონები, რომლებიც აქტივირდებიან ძილის დროს და ოსმორეგულაციის ცენტრალური წრეების აგზნებისას, გამოვიანგარიშეთ ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა სპონტანურად მძინარე ანგ-II-შეყვანილ, პარკუჭში ფიზიოლოგიურ-ხსნარშეყვანილ და ნივთიერების გარეშე მყოფ საკონტროლო ვირთაგვებში. ცხოველთა ეს ჯგუფები შესადარებლად გამოვიყენეთ იმიტომ, რომ მათ მთლიანი ძილის მოცულობა თანაბარი ჰქონდათ. ანგ-II-შეყვანილ ვირთაგვებში შპობ-ის ფოს+ ნეირონთა მხოლოდ 15% იყო ასევე დადებითი გმდ-სათვის. ფაქტიურად, ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა ერთნაირი იყო როგორც ანგ-II-შეყვანილ, ისე საკონტროლო ვირთაგვებში, მაგრამ ორმაგად მონიშნული უჯრედების

პროცენტულობა შემცირებული იყო საექსპერიმენტრო ჯგუფში, ვინაიდან ერთხელობრივად ფოს-მონიშნული ნეირონების რაოდენობა მნიშვნელოვნად იყო გაზრდილი. ასევე არ იყო სარწმუნო განსხვავება შპობ-ის ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობაში ჰიპერტონულ ხსნარშეყვანილ ვირთაგვებსა და საკონტროლოებს შორის, მაგრამ ერთეული ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა საექსპერიმენტო ცხოველებში მნიშვნელოვნად იყო მომატებული.

პარკუჭში ანგ-II-ით და პერიტონეუმში ჰიპერტონული ხსნარით ცხოველების შპობ-ში ფოს-ის ექსპრესიის გაზრდა მიგვანიშნებს ამ ნივთიერებების საპასუხოდ შპობ-ში არა-გაემ-ერგული ნეირონების გააქტიურებაზე. ეს შეესაბამება ადრე გამოქვეყნებულ მონაცემებს, რომლებმაც გვაჩვენა, რომ ფუროსემიდით გამოწვეული სითხისა და ელექტროლიტების დაშლით გამოწვეული ფოს-იმუნორეაქტიულობა, დაიკვირვება შპობ-ის გლუტამატერგულ ნეირონებში (Grob et al. 2003) და განამტკიცებს ჰიპოთეზას, რომ ჰიპერტონული მარილხსნარი და ანგ-II-ი ძილის დროს გააქტიურებული ნეირონებისაგან განსხვავებულ პოპულაციას ააქტიურებს.

ადრე გამოქვეყნებულ შრომაში (Gong et al. 2004) ჩვენ მოვახსენებდით, რომ შპობ-ის იმ ნეირონთა 70%-ზე მეტი, რომლებიც ექსპრესირებენ ძილთან დაკავშირებულ ფოს-ს, ასევე ორმაგად მოინიშნებოდნენ გმდ-ზე. ერთი ფაქტორი, რომლითაც შეიძლება აიხსნას ეს განსხვავებები, იყო გმდ67-ის საწინააღმდეგო მონოკლონური ანტისხეულების გამოყენება წინამდებარე გამოკვლევაში, ხოლო ადრე

ჩატარებულ გამოკვლევაში გმდ-67-ისა და გმდ-65-ის საწინააღმდეგოდ პოლიკლონური ანტისხეულები გამოიყენებოდა. პოლიკლონურ ანტისხეულებს შეეძლო გამოეწვია უფრო არასპეციფიკური შეღებვა, რასაც მოჰყვებოდა გმდ+ ნეირონების რიცხვის მოჭარბებულად წარმოსახვა შპობ-ში. ალტერნატივის სახით, შპობ შეიძლება შეიცავდეს გაემ-ერგული ნეირონების ქვეპოპულაციას, რომელიც ძირითადად ექსპრესირებს გმდ67-ს ან გმდ65-ს. წინამდებარე გამოკვლევაში გამოყენებულ მონოკლონურ ანტისხეულს შპობ-ის პოლიკლონური ანტისხეულით მონიშნული გაემ-ერგული ნეირონების მხოლოდ ნაწილის შეღებვა შეეძლო.

წინამდებარე გამოკვლევაში ჩვენ არ გაგვიანალიზებია ძილ-დეპრივირებულ ვირთაგვებში შპობ-ის ფოს+გმდ პოპულაციის ცვლილებები, სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებთან შედარებით. მიუხედავად ამისა, წინა პუბლიკაციებში ნაჩვენებია, რომ სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში ფოს+გმდ იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა მნიშვნელოვნად მეტია ვიდრე ძილდეპრივირებულებში (Gong et al., 2004; Modirrousta et al., 2004).

თავდაპირველ პუბლიკაციაში, რომელიც შპობ-ში ძილთან დაკავშირებულ ფოს-იმუნორეაქტიულობას მიეძღვნა, ჩვენ მოვახსენებდით სპონტანურად მძინარე ცხოველებთან შედარებით ფოს+ ნეირონების დაბალ დონეებს ძილდეპრივირებულ ცხოველებში (Gong et al., 2000). წინამდებარე გამოკვლევაში ძილდეპრივირებული ვირთაგვების შპობ-ში ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების დიდი

რაოდენობაა ნაჩვენები. ამ შეუსაბამობის მიზეზები ნათელი არ არის. ორ კვლევაში ცხოველი დღე-ღამის ერთსა და იმავე დროს იკვლებოდა, და ძილის დეპრივაციის მეთოდები და ხანგრძლივობაც ერთნაირი იყო. ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების მნიშვნელოვანი რაოდენობა მღვიძარე ვირთაგვების შპობ-ში, როდესაც ფოს+ ნეირონების რაოდენობა იყო ისეთივე ან მეტიც ძილდეპროვირებულ ვირთაგვებში, მძინარეებთან შედარებით, ასევე მოხსენებული იყო წინა პუბლიკაციებში (Pompeiano et al., 1992; Modirrousta et al., 2004; Peterfi et al,. 2004). ჩვენ ვნახეთ ფოს-ის აქტივაცია იმ მღვიძარე ვირთაგვების შპობ-ში, რომლებზეც მოქმედებდა გარემოს მომატებული ტემპერატურა და ვირთაგვებში, რომლებზეც გამოიყენებოდა მოძრაობის შეზღუდვის სტრესი (გამოუქვეყნებული შედეგები). ამგვარად, ფოს-ის აქტივაცია შეიძლება მოხდეს შპობ-ის ნეირონებში, ღვიძილის დროს ზოგიერთ ფიზიოლოგიურ და/ან ქცევით პირობებში. როგორც აქ არის ნაჩვენები, მწვავე ოსმოსურ გაღიზიანებას შპობ-ში ღვიძილის ფოს-ექსპრესია ძირითადად არა-გაემ-ერგულ ნეირონებში შეუძლია ძლიერ გააქტიუროს. სხვა სტიმულები, რომელთაც შპობ-ის ნეირონული აქტივობის შეცვლა შეუძლია, სისხლის წნევის შეცვლას (Sho et al., 2005), ციებას და იმუნური სისტემის გააქტიურებას (Ek et al., 2000; Oka et al., 2000; Ekimova, 2003), და ჰიპერთერმიას (Scammel et al., 1993; Vellucci & Parrott, 1994, 1995) მოიცავს. ის ზღვარი, რომლითაც შპობ-ის ნეირონთა მსგავსი ან განსხვავებული ქვეპოპულაციები აღნიშნული განსხვავებული სტიმულებით აქტივირდებიან, კვლავაც დასადგენია.

რეზიუმე: შუა პრეოპტიკური ბირთვი (შპობ) შეიცავს ძილით აქტივირებად ნეირონებს და ამ ბირთვში ძილთან დაკავშირებული ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობა, უპირველეს ყოვლისა, გაემ-ერგულ უჯრედებში ექსპრესირდება. შპობ-ი ასევე მარილის ჰიპერტონიულ ხსნარის და ანგ-II-ის მიმართ მგრძნობიარე უჯრედებს შეიცავს. ძილისა და ორგანიზმის სითხის ჰომეოსტაზის რეგულაციაში ჩართულ ნეირონებს შორის ფუნქციური კავშირის გასარკვევად, ს-ფოს-ის ექსპრესია მარილის ჰიპერტონიული ხსნარისა და ანგ-II-ს შეყვანის შემდეგ, სპონტანურად მძინარე და ძილდეპრივირებულ ვირთაგვებში შევამოწმეთ. ჰიპერტონიული ხსნარის სისტემური შეყვანა და ტვინის პარკუჭში ანგ-II-ის ინექცია ააქტიურებდა შპობ-ის ნეირონებს, ზოგადი მდგომარეობისაგან დამოუკიდებლად: ფოს-იმუნორეაქტიულობის ზრდა ხდებოდა როგორც ძილის, ისე ღვიძილის დროს. იმისთვის, რომ დაგვედგინა ოსმოსური და ჰორმონული სტიმულებით გააქტიურებულ შპობ-ის ნეირონთა პოპულაცია მსგავსია თუ განსხვავებული იმ ნეირონებისაგან, რომლებიც აქტიურდება ძილის დროს, ჩვენ შპობ-ის გაემ-ერგულ ნეირონებში ფოს-იმუნორეაქტიულობა, სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებსა, რომელთაც გაუკეთდა ჰიპერტონიული ხსნარისა და ანგ-II-ის ინექცია და საკონტროლო ვირთაგვებში დავითვალეთ. აღნიშნული ზემოქმედებით გამოწვეულ ფოს-იმუნორეაქტიულობას ადგილი ჰქონდა, უპირველეს ყოვლისა არა-გაემ-ერგულ ნეირონებში (80-85%). წინამდებარე გამოკვლევის შედეგები მეტყველებს, რომ ძილისა

და ორგანიზმის სითხის ჰომეოსტაზის რეგულაციაში ჩართულია შპობ-ის ნეირონთა განსხვავებული პოპულაციები.

2. პრეოპტიკური უბნის ნეირონები და პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზური რეგულაცია

შესავალი

ბოლოდროინდელმა გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ ჰიპოთალამუსის შპობ-ი და ვლპოუ ჩართულია ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგულაციაში. ორივე ბირთვი შეიცავს "ძილის-აქტიურ" ნეირონებს (მანჯავიძე, 1987; Sherin et al., 1996, 1998; Szymusiak et al., 1998; Gong et al., 2000; Suntsova et al., 2002), და ამ ნეირონების გარკვეული პოპულაცია გაბა-ერგული უჯრედების მარკერთან - გლუტამინის მჟავას დეკარბოქსილაზასთან (გმდ) არის თანალოკალიზებული (Sherin et al., 1998; Gaus et al., 2002; Gong et al., 2004). ორივე უბანში – შპობსა და ვლპოუ-ში ფოს- და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა წინამორბედი ძილის მოცულობასთან დადებითად კორელირებს (Sherin et al.,1996; Gong et al., 2000, 2004). მაგრამ, გაურკვეველია, შპობ-ისა და ვლპოუ-ის უჯრედებში ძილით გამოწვეული ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობა დაკავშირებულია თუ არა პარადოქსულ ძილთან.

ანატომიური მონაცემები ცხადყოფს, რომ შეიძლება შპობ-ი და ვლპოუ პარადოქსული ძილის კონტროლში მონაწილეობდნენ. ორივე რეგიონი მონოამინერგულ და ორექსინერგულ ნეირონებზე პროეცირებს (Gritti et al., 1994; Zardetto-Smith and Johnson, 1995; Sherin et al., 1998; Steininger

et al., 2001; Thompson and Swanson, 2003), სადაც პარადოქსული ძილის დროს განმუხტვები ითრგუნება (McGinty and Harper, 1976; Aston-Jones and Bloom, 1981; Heym et al., 1982; Sakai, 1986, 1988). არსებობს მონაცემები რომელთა მიხედვით ეს უჯრედები პარადოქსული ძილის დროს გაემ-ერგული შეკავების გზით ჩუმდებიან (Nitz and Siegel, 1997, a,b; Gervasoni et al., 2000). ამიტომ, შპობ-ისა და ვლპოუ-ის გაემ-ერგული უჯრედების აქტივაცია შეიძლება ტვინის გამააქტიურებელი სისტემების შეკავებაში მონაწილეობდეს (Saper et al., 2001; McGinty et al., 2004) და პარადოქსული ძილის ხელშემწყობი იყოს.

პარადოქსული ძილის რეგულაციაში შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ჰიპოთეზური როლი ელექტროფიზიოლოგიურ მონაცემებთან შესაბამისობაშია: ვირთაგვებში სპონტანური ძილის დროს შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ნეირონებში უფრო ხშირი განმუხტვები პარადოქსული ძილის დროს წარმოიქმნება, ნელ ძილთან ან ღვიძილთან შედარებით (Szymusiak et al., 1998; Suntsova et al., 2002).

წარმოდგენილი შრომის მთავარი მიზანი იმის განსაზღვრა იყო, უკავშირდება თუ არა ვირთაგვებში შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ნეირონების აქტივაცია, რომელიც ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობით იზომება, პარადოქსული ძილის რეგულაციას. ექსპერიმენტებში შედარებული იყო ვირთაგვების ის ჯგუფები, სადაც გამოხატული იყო პარადოქსული ძილის მოცულობის სხვაობა და ძილის ამ ფაზის ჰომეოსტაზური მოწოლა/მოთხოვნილების განსხვავებული ხარისხი; ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობა შესწავლილი იყო სპონტანური ძილის

(პარადოქსული ძილის სხვა და სხვა მოცულობით), შეზღუდული პარადოქსული ძილის, და პარადოქსული ძილის შეზღუდვის შემდეგ აღდგენის პერიოდებში.

მასალა და მეთოდები:

38 მამრ სპრაგ-დოულის ჯიშის ვირთაგვას, წონით 280-320 გრამი, ექსპერიმენტების დასაწყისში ვაჩვევდით 12-საათიან სინათლე/სიბნელის ციკლს (სინათლე ინთებოდა დილის 8.00 საათზე). ვირთაგვებს ჰქონდათ ინდივიდუალური საცხოვრებელი კამერები. საკვები და წყალი – შეუზღუდავად, გარემოს ტემპერატურა იყო 23±0,5 ^{0}C.

ქირურგიული პროცედურები და ძილის რეგისტრაცია:

კეტამინ/ქსილაზინით ანესთეზირებულ ვირთაგვებს (80 მგ და 10 მგ/კგ, სათანადოდ, პერიტონეუმში), ქირურგიული წესით ვუნერგავდით ელექტროდებს ძილ-ღვიძილის ციკლში ქერქული ენცეფალოგრამის და კისრის დორსალური ნაწილის ელექტრომიოგრამის ჩასაწერად. ეეგ რეგისტრაციისთვის უჟანგავი ფოლადის ხრახნისებური ელექტროდები ქალას ძვლებში იყო ჩანერგილი, ხოლო მოქნილი, იზოლირებული, უჟანგავი ფოლადის მავთულები ჩადგმული იყო კისრის კუნთებში ემგ-ის ჩასაწერად. ელექტროდიდან გამომყვანი მავთულები მირჩილული იყო პატარა Amphenol-ის კონექტორზე, და მთლიანი მოწყობილობა მიმაგრებული იყო თავის ქალაზე სტომატოლოგიური აკრილატით.

ქირურგიული ოპერაციის შემდეგ, ცხოველებს პოსტოპერაციული გამოკეთებისთვის 7-9 დღე ეძლეოდათ. ექსპერიმენტის დაწყებამდე.

ხუთი დღე ზედიზედ, ვირთაგვებს ვუერთებდით კაბელს, რომელიც მსუბუქად მოძრაობდა მათ ზემოთ, გაწონასწორებული საწონით. ცხოველებს კაბელი ყოველდღე ჰქონდათ მიერთებული, 5-6 საათის განმავლობაში (დაწყებული დილის 8 საათიდან). ცხოველის თავზე მოთავსებული მინიატურული კონექტორი სარეგისტრაციო კაბელით მიერთებული იყო პოლისომნოგრაფიულ ჩამწერ ხელსაწყოსთან (Embla). ეეგ და ემგ ჩანაწერები გადაყვანილი იყო ციფრულ მონაცემებში და შენახული კომპიუტერში (Somnologia Studio, Medcare Flaga Medical Devices). ექსპერიმენტების მსვლელობაში ეეგ და ემგ სიგნალები უწყვეტად იწერებოდა.

საექსპერიმენტო ჯგუფები (კვლევა ჩატარდა 38 ვირთაგვაზე): პირველ ექსპერიმენტში, ვირთაგვებს (n=10) დილის 9 სთ-დან 11-სთ-მდე სპონტანური ძილის საშუალება ეძლეოდა. მეორე ექსპერიმენტში, ვირთაგვებს (n=14) 2-საათის განმავლობაში (დილის 9 სთ-დან 11-სთ-მდე) შეზღუდული ჰქონდათ პარადოქსული ძილი. ძილის ამ ფაზის ეპიზოდების შესაწყვეტად ვირთაგვებს ფრთხილად ვაღვიძებდით (გალიაზე დაკაკუნებით და/ან გალიის მსუბუქი შერხევით) 20/25 სეკუნდში, როგორც კი გამოჩნდებოდა ნელი ძილიდან პარადოქსულ ძილში გადასვლის პირველი ნიშნები. პარადოქსულ ძილში გარდამავალი ფაზა აღინიშნებოდა მაღალი ამპლიტუდის თითისტარების და ეეგ ნელტალღოვან აქტივობასთან შერეული თეტა აქტივობის წარმოშობით და ემგ-ის ტონუსის დაქვეითებით. ვირთაგვებს

საშუალება ეძლეოდა დაესრულებინათ პარადოქსულ ძილში გადასვლის პერიოდი (ხანგრძლივობით 8-10 სეკ) და 12-15 სეკუნდიანი ფაქტობრივი პარადოქსული ძილის პერიოდი, ვიდრე გავაღვიძებდით. მესამე ექსპერიმენტში, ვირთაგვებს (n=14) ვუზღუდავდით პარადოქსულ ძილს დილის 9 საათიდან 11 საათამდე, ხოლო შემდეგ აღდგენითი ძილის საშუალებას ვაძლევდით 1 საათის (n=5) ან 2საათის (n=5) განმავლობაში. ცდების დამთავრებისთანავე, ვირთაგვებში ანესთეტიკის ლეტალური დოზა შეგვყავდა და ვახორციელებდით პერფუზიას (იხ. კვლევის მეთოდები).

იმუნოჰისტოქიმია:

ცხოველების ტრანსკარდიალური პერფუზია პენტობარბიტალის ღრმა ანესთეზიის ქვეშ (100 მგ/კგ) ტარდებოდა. პერფუზიის საწყის ეტაპზე 5 წთ-ს განმავლობაში გამოიყენებოდა 0,12 მოლარობის მილონიგის (Millonigs) ფოსფატური ბუფერი (მფბ), რასაც მოჰყვებოდა 500 მლ 4%-იანი პარაფორმალდეჰიდი (პფა), გახსნილი 0,12 მოლარობის მფბ-ში. პერფუზიის შემდეგ ცხოველთა სხეულებს 1 საათის განმავლობაში 4^0C-ზე ინახებოდა. ამის შემდეგ ამოღებული ტვინები, 1 საათის განმავლობაში ფიქსირდებოდა იგივე პფა ხსნარში, ირეცხებოდა 0,12 მოლარობის მფბ-ში და 4^0C-ზე საფეხურებრივად გადაიტანებოდა 10%, 20% და 30%-იან საქაროზაში, სანამ ტვინები არ დაიწყებდნენ ჩაძირვას. 30 მკმ სისქის, შპობ-ზე გამავალი ფრონტალური ანათლები კეთდებოდა გამყინავ მიკროტომზე. ანათლები ჯერ მუშავდებოდა ფოს-ს შეღებვით. ქსოვილის ანათლებს ერთი ღამის განმავლობაში 4^0C-

ზე ინკუბირდებოდა ბოცვრის ანტი-ს-ფოს პირველად ანტიშრატში (AB-5, Oncogene Science; 1:15000), სანჯღრეველაზე. შემდგომ, 1,5 საათის განმავლობაში ანათლები ოთახის ტემპერატურაზე ბიოტინირებული თხის ბიცვრის საწინააღმდეგო IgG-თი (Vector laboratories; 1:800) მუშავდებოდა, რასაც მოსდევდა ავიდინ-ბიოტინის კომპლექსთან (ABC, Vector Elite Kit; 1:200) რეაქციის ჩატარება. ანათლების გამჟღავნება ხდებოდა ნიკელის დიამინობენზიდინ-ტეტრაჰიდროქლორიდით (Ni-DAB), რომელიც იძლევა შავი ფერის რეაქციას უჯრედის ბირთვში. ბირთვის შეღებვა არ ხდებოდა პირველადი ანტიშრატის არგამოყენების (კონტროლი არასპეციფიურ შეღებვაზე) შემთხვევაში. გმდ-ს შეღებვისთვის ანათლები ორი ღამის განმავლობაში 4^0C-ზე თაგვის ანტი-გმდ მონოკლონურ ანტისხეულში (MAB5406, Chemicon International; 1:300) ინკუბირდებოდა, ბიოტინირებული ანტი-თაგვური IgG-თი (BA-2001, Vector Laboratories; 1:500) მუშავდებოდა და DAB-თი მჟღავნდებოდა, რათა ორმაგი მონიშვნისთვის ყავისფერი პროდუქტი მიგვეღო უჯრედის სომაში (**იხ. სურათი 20**). გმდ- შეღებვა არ ხდებოდა პირველადი ანტიშრატის არგამოყენების (კონტროლი არასპეციფიურ შეღებვაზე) შემთხვევაში. შეღებვის შემდეგ, ანათლები ჟელატინიზებულ სასაგნე მინებზე თავსდებოდა, აღმავალ სპირტებში დეჰიდრირდებოდა და Depex-ის საფარი მინით იფარებოდა.

მონაცემთა ანალიზი:

ძილის ანალიზი: ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზები (ღვიძილი, ნელი ძილი, პარადოქსული ძილი) დგინდებოდა პოლიგრაფული ჩანაწერის თითოეულ 10-წამიან ეპოქაში დომინანტური მდგომარეობის მიხედვით. ღვიძილი აღირიცხებოდა ეეგ-აქტივობის დესინქრონიზაციის და კისრის კუნთის მაღალი ტონუსის კომბინაციის შემთხვევაში. ნელი ძილი მაღალამპლიტუდიანი ნელტალღოვანი ეეგ-თი (2-დან 4 ჰერცამდე აქტივობით) და ღვიძილთან შედარებით დაბალი ემგ-ტონუსით ხასიათდებოდა. პარადოქსული ძილი ზომიერი ამპლიტუდის (დომინანტური თეტა სიხშირით/6-8ჰც) ეეგ-აქტივობის და კისრის მინიმალური ემგ-ს (იშვიათი შეკრთომებით) შემთხვევაში აღირიცხებოდა. ნელი ძილიდან პარადოქსული ძილისკენ გარდამავალი ეპოქები განისაზღვრებოდა მაღალამპლიტუდიანი თითისტარების და ეეგ-ს ნელტალღოვან აქტივობასთან შერეული თეტა-აქტივობის წარმოშობით, და ისინი ითვლებოდა ნელი ძილის ეპოქებად.

პარადოქსული ძილი იდენტიფიცირებული იყო საშუალო ამპლიტუდის ეეგ-თი და დომინირებული თეტა სიხშირის აქტივობით, რასაც ემგ-ში ხანმოკლე არახშირი შეკრთომებით სრული კუნთოვანი ატონია სდევდა თან. პარადოქსული ძილის ეპიზოდები ხანმოკლე/აბორტული (20 სეკ.-ზე ნაკლები ხანგრძლივობის) და სრული ხანგრძლივობის/სტაბილური (20 სეკ.-ზე მეტი ხანგრძლივობის) კატეგორიებად იყო დაყოფილი. პარადოქსული ძილის ორივე – ხანმოკლე და სრული ეპიზოდების დადგომის რაოდენობა და საშუალო ხანგრძლივობა იყო გამოთვლილი.

პირველ ექსპერიმენტში, 2 საათის განმავლობაში ვირთაგვების პერფუზიამდე, ნელი და პარადოქსული ძილის ხანგრძლივობის პროცენტულობა, ასევე პარადოქსული ძილის ეპიზოდების (აბორტული და სრული) სიხშირე და საშუალო ხანგრძლივობა იყო დათვლილი. სპონტანურად მძინარე ვირთაგვები პარადოქსული ძილის საშუალო ხანგრძლივობის მაღალი და შედარებით დაბალი პროცენტული მაჩვენებლებით ჯგუფებად იყვნენ დაყოფილი.

პარადოქსული ძილის შეზღუდვის დროს (მეორე, მესამე ექსპერიმენტებში) ექსპერიმენტის განმავლობაში ძილის ამ ფაზის მოწოლის დონე მისი დადგომის რაოდენობის დათვლით განისაზღვრებოდა. პარადოქსული ძილის მოწოლის აკუმულირებაზე დაკვირვებისათვის, მისი შეზღუდვის ორსაათიან პერიოდში ძილის ამ ფაზის დადგომის რაოდენობა ყოველ ცხოველში გასაშუალოებული იყო ყოველ მომდევნო 10-წუთიან ინტერვალში.

მეორე ექსპერიმენტში, ვირთაგვები პარადოქსული ძილის დაბალი, საშუალო და მაღალი მოწოლის ჯგუფებად იყვნენ დაყოფილი. ძილის ამ ფაზის მოწოლა ითვლებოდა როგორც მაღალი იმ ვირთაგვებში (n=5), რომლებიც გამოხატავდნენ ძილში გადასვლის მცდელობას ყველაზე დიდი რაოდენობით (61,4±3,3) და, დაბალი იმ ვირთაგვებში (n=5), რომლებშიც ყველაზე ნაკლები რაოდენობით აღინიშნებოდა პარადოქსულ ძილში გადასვლის მცდელობა (20,4±1,8). პარადოქსული ძილის დადგომის რაოდენობა ვირთაგვების მესამე ჯგუფში (n=5) იყო 40,5±4,4 და ითვლებოდა, რომ მათ ჰქონდათ ამ ფაზის მოწოლის საშუალო დონე. პარადოქსული ძილის ეპიზოდების საშუალო ხანგრძლივობა სამივე ჯგუფის ცხოველებში იყო გამოანგარიშებული (იხ. ცხრილი 5). ნელტალღოვან და პარადოქსულ ძილში გატარებული დროის პროცენტულობა გამოანგარიშებული იყო ვირთაგვების პერფუზიამდე 2 საათის განმავლობაში.

მესამე ექსპერიმენტში, 4 ექსპერიმენტულ ცხოველში აღინიშნებოდა პარადოქსული ძილის მოწოლის დაბალი დონე ძილის ამ ფაზის შეზღუდვის პერიოდში (პარადოქსული ძილის დადგომის საშუალო რაოდენობა იყო 22±1,4), და ამიტომ ისინი გამოვრიცხეთ ექსპერიმენტის მომდევნო ეტაპებიდან. 10-მა ვირთაგვამ გამოავლინა პარადოქსული ძილის მოწოლის საშუალო–მაღალი დონეები (მისი დადგომის საშუალო რაოდენობა იყო 57,7±2,4), და ამ ცხოველებს პარადოქსული ძილის 2–საათიანი შეზღუდვის შემდეგ მიეცათ

აღდგენითი ძილის საშუალება, 1 საათის (n=5) ან 2 საათის განმავლობაში (n=5),.

ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის აღდგენით, ნელი და პარადოქსული ძილის პროცენტულობა, ისევე, როგორც პარადოქსული ძილის ეპიზოდების სიხშირე და საშუალო ხანგრძლივობა, ვირთაგვების პერფუზიამდე ბოლო 1 ან 2 საათის განმავლობაში იყო გამოთვლილი.

უჯრედების დათვლა: უჯრედებს ითვლიდა სპეციალისტი, რომელიც ცხოველთა საექსპერიმენტო პირობებს არ იცნობდა. ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობისათვის ერთხელობრივად მონიშნული და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიულობისათვის ორმაგად მონიშნული ნეირონების იდენტიფიცირება და დათვლა Neurolucida კომპიუტერის დახმარებით აგებული სისტემის (MicroBrightField, Williston, VT) გამოყენებით ხდებოდა. ანათლების კონტურები იხატებოდა მიკროსკოპის 20X გადიდებაზე, ხოლო ფოს- და ფოს+გმდ- იმუნორეაქტიული ნეირონების აღნიშვნა/კარტირება ანათლების კონტურებში 400X გადიდებით ხდებოდა. უჯრედების დათვლა შესასწავლი უბნების (პრეოპტიკური ჰიპოთალამუსის ოთხი უბანი) ცხაურების ფარგალში ხდებოდა (იხ. სურათი 11; Gong et al., 2000). (1) როსტრალური შპობ-ის (რშპობ) ცხაური (600X600) თავსდებოდა მესამე პარკუჭის თავზე - წინა კომისურის და ბრეგმას გადაკვეთის როსტრალურად (ანტერიორ, 0,1 მმ). (2) კაუდალური შპობ-ის (კშპობ) ცხაური თავსდებოდა წინა კომისურის გადაკვეთაზე (ლატერალურად – 150 მკმ-ის და დორსალურად – 600 მკმ), ბრეგმას კაუდალურად (ანტერიორ, -0,26 მმ). ვლპოუ-ის

დასათვლელი ცხაური თავსდებოდა საბოლოო ფირფიტის სისხლძარღვოვანი ორგანოს კაუდალურად (160 ან უფრო მეტი მკმ-ით; ანტერიორ - 0,3-0,7 მმ ბრეგმას მიმართ), და იყოფოდა შუაგულ და პერიფერიულ (გავრცობილ) სექტორებად (Lu et al., 2002). (3) ვლპოუ-ს შუაგული, - 300 მკმ სიგანის და 300 მკმ სიმაღლის, - განთავსებული იყო ტვინის ფუძის გაყოლებით, ხოლო მისი განაპირა საზღვრები – მხედველობის ქიაზმის ლატერალური კიდის მიმართ 400 მკმ-ით ლატერალურად. (4) ვლპოუ-ს მედიალურად განთავსებული უჯრა, - 400 მკმ სიგანის და 300 მკმ სიმაღლის, - ვრცელდებოდა ვლპოუ-ს შუაგულის მედიალურად. ვლპოუ-ის დორსალურად გავრცელებული უჯრა იყო 200 მკმ სიგანის და 300 მკმ სიმაღლის; იგი მოთავსებული იყო ვლპოუ-ს შუაგულისა და ვლპოუ-ის მედიალური ცხაურების ზემოთ, კონცენტრირებული მათ საზღვრებზე..

თითოეული ვირთაგვის როსტრალურ და კაუდალურ შპობ-ში ფოს- და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული უჯრედების დათვლა აღნიშნული უბნების 3 ანათალში ხდებოდა და ამ სამი ანათვალის საშუალო განიხილებოდა როგორც ინდივიდუალური ცხოველის მონაცემი. ვლპოუ-ს უჯრედები დათვლილი იყო ბილატერალურად სამ სექციაში, რომელიც შეიცავდა ვლპოუ-ის ყველაზე დიდ ნაწილს. ის ექვსი ანათვალი შემდეგ გასაშუალოებული იყო, რათა ყოველი ვირთაგვასთვის თითო მონაცემი მიგვეღო, როგორც ვლპოუ-ის შუაგულის, ისე ვლპოუ-ის გავრცობილი ნაწილების შესაფასებლად (კომბინირებული მედიალურო და დორსალური სექციები).

სტატისტიკური ანალიზი:

ყველა შედეგი მოხსენებულია როგორც საშუალო ± საშუალოს სტანდარტული ცდომილება (SEM). ძილის სტადიების პროცენტულობის, და პარადოქსული ძილის ეპიზოდების სიხშირისა და საშუალო ხანგრძლივობის განსხვავებანი ვირთაგვებში მაღალი და შედარებით დაბალი სპონტანური პარადოქსული ძილით, და, აგრეთვე, ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის შეზღუდვით, რომლებსაც ჰქონდათ 1-საათიანი ან 2-საათიანი აღდგენითი ძილის საშუალება, - შეფასებული იყო დაუწყვილებელი *t* – ტესტით (იხ. ცხრილები 4 და 6). ცალმხრივი არა-განმეორებადი – განზომილებანი, ANOVA, გამოანგარიშებული იყო ძილის სტადიების პროცენტულობის თვალსაზრისით ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის შეზღუდვით. მსგავსი ANOVA გამოანგარიშებული იყო ამ ფაზის დაწყების მცდელობის რაოდენობისათვის და მისი ეპიზოდების საშუალო ხანგრძლივობისათვის პარადოქსული ძილის შეზღუდვის მქონე ვირთაგვების ჯგუფებში (იხ. ცხრილი 5).

კორელაციური ანალიზისათვის, სპონტანურად მძინარე და პარადოქსული ძილის აღდგენითი ჯგუფების ვირთაგვებში შეღებილი უჯრედების საშუალო რაოდენობა (ერთეული ფოს- და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონებისა შპობ-ისა და ვლპოუ-ის მიდამოებში) ასახული იყო მრუდეზე რეგისტრირებული პარადოქსული ძილის მოცულობების (%-ულობის) საპირისპიროდ (იხ. სურათები 19 და 23). პარადოქსული ძილის შეზღუდულ ვირთაგვებში, კორელაციური

კოეფიციენტი გამოანგარიშებული იყო შპობ-ისა და ვლპოუ-ში ერთეული ფოს+ და ორმაგი ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონებისთვის ძილის ამ ფაზის დაწყების მცდელობის რაოდენობის საპირისპიროდ (იხ. სურათი 24).

ერთეული ფოს+ უჯრედების დასათვლელად შპობ-ისა და ვლპოუ-ის მიდამოებში, შვიდივე ექსპერიმენტულ ჯგუფში გამოანგარიშებული იყო ცალმხრივი არა-განმეორებადი – განზომილებანი (იხ. სურათები 26A და 27A). მსგავსი ANOVA გამოანგარიშებული იყო ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონებისთვის შპობ-ის და ვლპოუ-ის მიდამოებში ვირთაგვების იმავე ქვეჯგუფებში (იხ. სურათები 26B და 27B). ყველა ANOVA-ს შემდეგ ცალკეული ჯგუფების საშუალოთა შორის განსხვავებების მნიშვნელობა შეფასებული იყო Newman-Keuls *post hoc* ტესტებით.

შედეგები

ექსპერიმენტი 1 (სპონტანური ძილი და ღვიძილი): ცხრილი 4 წარმოგვიდგენს საშუალო პროცენტულ დროს ძილის სხვადასხვა სტადიაზე, და პარადოქსული ძილის ეპიზოდების სიხშირესა და საშუალო ხანგრძლივობას იმ ვირთაგვებისათვის (n=10), რომელთაც ეძლეოდათ 2-საათიანი სპონტანური ძილის და ღვიძილის საშუალება. როგორც ნაჩვენებია, ვირთაგვების ერთმა ჯგუფმა (n=6) გამოავლინა პარადოქსული ძილის მაღალი პროცენტულობა (19.4±0.6%), მაშინ, როცა სხვა ჯგუფს (n=4) ჰქონდა პარადოქსული ძილის მნიშვნელოვნად უფრო

დაბალი საშუალო პროცენტულობა (13.4±1.1%; $p<0.001$). ვირთაგვებს, რომლებმაც გამოავლინეს პარადოქსული ძილის შედარებით დაბალი პროცენტულობა, აღმოაჩნდათ ამ ფაზის სრული-ხანგრძლივობის ეპიზოდების მნიშვნელოვნად უფრო დაბალი რაოდენობა სხვა გჯუფთან შედარებით, მაშინ როცა ამ ეპიზოდების საშუალო ხანგრძლივობა არ განსხვავდებოდა ჯგუფებს შორის. ნელი ძილის საშუალო პროცენტულობა ამ ვირთაგვებში მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა.

სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში კორელაციის ანალიზმა აჩვენა, რომ შპობ-ის და ვლპოუ-ის მიდამოებში ერთეული ფოს-იმუნორეაქტიული და ორმაგი ფოს+გმდ- იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა დადებით კორელაციაში იყო პარადოქსული ძილის პროცენტულობასთან, რომელიც ვირთაგვების პერფუზიამდე 2-საათიანი აღრიცხვის პერიოდში იყო გამოანგარიშებული (**სურათი 21**).

ექსპერიმენტი 2 (პარადოქსული ძილის შეზღუდვა): პარადოქსული ძილის შეზღუდვის პროცედურის დროს ცხოველებმა (n=14) ამ ფაზის დადგომათა რაოდენობის მიხედვით პარადოქსული ძილის მოწოლის სხვადასხვა ხარისხი გამოავლინეს (ცხრილი 5 და **სურათი 22**).

ცხრილი 4. სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში (n=10) ნელ და პარადოქსულ ძილში გატარებული დროის პროცენტულობა, სრული ხანგრძლივობის და აბორტული პარადოქსული ძილის ეპიზოდების საშუალო რაოდენობა და ხანგრძლივობა.

ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზები	ვირთაგვები პარადოქსული ძილის დაბალი % (n=4)	ვირთაგვები პარადოქსული ძილის მაღალი % (n=6)
ნელი ძილი (%)	63,5±1,2	63,9±1,2
პარადოქსული ძილი (%)	13,4±1,1	19,4±0,6*
სრული ხანგრძლივობის პარადოქსული ძილის ეპიზოდები (n)	7,5±0,64	11,5±0,6*
სრული ხანგრძლივობის პარადოქსული ძილის ეპიზოდების საშუალო ხანგრძლივობა	1,7±0,1	1,85±0,13
აბორტული პარადოქსული ძილის ეპიზოდები (n)	10,4±0,71	8,1±0,53
აბორტული პარადოქსული ძილის ეპიზოდების საშუალო ხანგრძლივობა	19,2±0,6	14,9±2,89

ნელი და პარადოქსული ძილის პროცენტულობა ვირთაგვების პერფუზიამდე 2 საათის განმავლობაში იყო გამოანგარიშებული და სპონტანურად მძინარე ვირთაგვების ჯგუფებში დაუწყვილებელი *t*–ტესტით იყო შედარებული. ვირთაგვების ამ ორ ჯგუფში ნელი ძილის პროცენტულობა მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა, მაგრამ პარადოქსული ძილის პროცენტულობა მნიშვნელოვნად იყო განსხვავებული ($t_{(8)}$5,2;* $p<0,001$). ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის მაღალი პროცენტულობით, სრული ხანგრძლივობის პარადოქსული ძილის ეპიზოდების მნიშვნელოვნად უფრო დიდი რაოდენობა აღინიშნებოდა მეორე ჯგუფთან შედარებით ($t_{(8)}$ =5,4;* $p<0,001$), მაშინ როცა ამ ფაზის სრული ეპიზოდების საშ. ხანგრძლივობა ჯგუფებს შორის არ განსხვავდებოდა.

ვირთაგვები პარადოქსული ძილის დაბალი, საშუალო და მაღალი მოწოლის ჯგუფებად იყვნენ დაყოფილი (იხ. მასალები და მეთოდები). მაგრამ, ყველა ვირთაგვამ ძილის ამ ფაზის მოწოლის თანდათანობითი აკუმულირება თვალსაჩინოდ გამოავლინა. პარადოქსული ძილის შეზღუდვის პერიოდში მისი დადგომის რაოდენობა პროგრესულად გაიზარდა; ცდის მსვლელობისას ამ ფაზის მოწოლის აკუმულირებაზე დაკვირვებისათვის, მისი დადგომის რაოდენობა ყოველ ცხოველში გასაშუალოებული იყო ყოველ მომდევნო 10-წუთიან ინტერვალში (იხ. მასალები და მეთოდები) (**სურათი 23**)

ცხრილი 5 წარმოგვიდგენს პარადოქსულ ძილში გადასვლის მცდელობის საშ. რაოდენობას, მისი ეპიზოდების საშ. ხანგრძლივობას, პარადოქსულ და ნელ ძილში გატარებული დროის პროცენტულობას ვირთაგვების იმ ჯგუფებში, რომელთაც პარადოქსული ძილი შეზღუდული ჰქონდათ (n=14).

ძილის სტადიები	პარადოქსული ძილის დაბალი მოწოლა (n=5)	პარადოქსული ძილის ზომიერი მოწოლა (n=4)	პარადოქსული ძილის მაღალი მოწოლა (n=5)
პარადოქსული ძილის მცდელობები (n)	20,4±1,8	40,5±4,4*	61,4±3,3*
პარადოქსული ძილის საშ. ხანგრძლივობა (წმ)	13,6±0,6	14,1±0,8	11,7±0,5
აკუმულირებული პარადოქსული ძილი (%)	3,9±0,4	8,1±0,5*	10,1±0,5*
ნელი ძილი (%)	62,4±2,1	63,2±1,4	64,3±2,5

პარადოქსულ ძილში გადასვლის მცდელობების რაოდენობა, მისი ეპიზოდების საშუალო ხანგრძლივობა, პარადოქსული და ნელი ძილის პროცენტულობა ვირთაგვების პერფუზიამდე 2სთ განმავლობაში იყო გამოანგარიშებული. პარადოქსული ძილის დადგომათა რაოდენობა ($F_{(2,11)}$=44,5; p<0,001) და მისი დროის პროცენტულობა ($F_{(2,11)}$=79,5; p<0,001) მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა პარადოქსულ ძილ შეზღუდულ ცხოველთა ჯგუფებში. *p<0,050, მნიშვნელოვნად განსხვავებული სხვა ჯგუფებისგან Newman-Keuls ტესტით.

პარადოქსულ ძილ შეზღუდული ვირთაგვების შპობ-ის და ვლპოუ-ს უბნებში ერთეული ფოს-იმუნორეაქტიული და ორმაგი ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რიცხვი ძილის ამ ფაზის დადგომათა რაოდენობასთან დადებით კორელაციაში იყო **(სურათი 24)**.

ექსპერიმენტი 3 (აღდგენა პარადოქსული ძილის შეზღუდვის შემდეგ): პარადოქსული ძილის შეზღუდვის დროს, 10 ვირთაგვაში პარადოქსული ძილის მოწოლის ზომიერი და მაღალი დონეები გამოვლინდა; პარადოქსულ ძილში გადასვლის საშუალო რაოდენობა

57,7±2,4 იყო და ექსპერიმენტში ვირთაგვებმა აშკარად გამოამჟღავნეს პარადოქსული ძილის მოწოლის თანდათანობითი აკუმულაცია. აკუმულირებული პარადოქსული ძილის დროის საშუალო პროცენტულობა (10,4±0,8%) შეიძლება შევადაროთ იმავე მონაცემებს ვირთაგვებში, რომლებშიც აღინიშნებოდა პარადოქსული ძილის მაღალი მოწოლა მე-2 ექსპერიმენტში.

იმ ვირთაგვებში ნელი ძილის პროცენტულობის თვალსაზრისით (62,1±2,8%) არ აღინიშნებოდა რაიმე მნიშვნელოვანი განსხვავება სპონტანურად მძინარე და პარადოქსულ ძილ შეზღუდულ ვირთაგვებთან შედარებით (ცხრილი 4-5).

აღდგენითი ძილის პირველი საათის განმავლობაში, ყველა ვირთაგვამ (n=10) პარადოქსული ძილის დროის %-ში მნიშვნელოვანი ზრდა გამოავლინა სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებთან შედარებით, მაშინ, როცა მეორე საათში ძილის ამ ფაზის დროის %-სა მნიშვნელოვანი შემცირება ხდებოდა. ვირთაგვებში 2-საათიანი აღდგენით, პარადოქსული ძილის ეპიზოდების რაოდენობა აღდგენითი ძილის მეორე საათის განმავლობაში მნიშვნელოვნად შემცირებული იყო პირველი საათის და, აგრეთვე, 1-საათიანი აღდგენითი ძილის მონაცემებთან შედარებით (ცხრილი 6).

ერთეული ფოს-იმუნორეაქტიული და ორმაგი ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული უჯრედების რაოდენობა, როგორც შპობ-ის, ისე ვლპოუ-ის უბნებში დადებითად კორელირებდა პარადოქსული ძილის %-თან, რომელიც გამოანგარიშებული იყო ცხოველების მოკვლამდე ბოლო 1-საათიანი პერიოდის განმავლობაში **(სურათი 25)**.

სურათი **26 და 27** ყველა ექსპერიმენტულ გჯუფში ერთეული ფოს- და ორმაგი ფოს/გმდ – იმუნორეაქტიული ნეირონების საშუალო რაოდენობას წარმოგვიდგენს შპობ-სა და ვლპოუ-ში. ფოს- და ფოს/გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა როსტრალურ და

კაუდალურ შპობ-ში პარადოქსული ძილ შეზღუდულ (პარადოქსული ძილის მაღალი მოწოლის) ვირთაგვებში სპონტანურად მძინარე ვირთაგვების ორივე ჯგუფთან შედარებით მნიშვნელოვნად მომატებული იყო.

ცხრილი. 6. ნელი და პარადოქსული ძილის დროის პროცენტულობა, სრული ხანგრძლივობის და აბორტული პარადოქსული ძილის ეპიზოდების საშ. ხანგრძლივობა და რაოდენობა ვირთაგვებში (n=10), რომლებსაც ძილის ამ ფაზის 2-სთ-ანი შეზღუდვის შემდეგ 1- ან 2-სთ-ანი აღდგენითი ძილის საშუალება ჰქონდათ.

ქცევის სტადიები	1სთ აღდგენა (n=5)	2სთ აღდგენა (n=5)	
		პირველი 1სთ	მე-2 1სთ პერიოდი
ნელი ძილი (%)	60,1±1,4	61,3±1,5	62,1±1,2
პარადოქსული ძილი (%)	26,1±0,8	25,7±1,1	19,1±0,6*
სრული პარადოქსული ძილის ეპიზოდები (n)	8,1±0,9	7,8±0,74	5,6±0,5*
სრული პარადოქსული ძილის ეპიზოდების საშ. ხანგრძლივობა (წთ)	1,78±0,11	1,751,81±0,1	1,81±0,09
აბორტული პარადოქსული ძილის ეპიზოდების საშ. ხაგრძლივობა (წმ)	11,3±3,01	14,9±1,9	18,9±2,7

ვირთაგვებში 1-საათიანი აღდგენით, ნელი და პარადოქსული ძილის პროცენტულობა ვირთაგვების მოკვლამდე 1 სთ-ის განმავლობაში იყო გამოანგარიშებული. ცხოველებში 2-სთ აღდგენით, ნელი და პარადოქსული ძილის პროცენტულობა როგორც პირველი, ისე მეორე საათისთვის იყო გამოანგარიშებული. მონაცემები ვირთაგვების ჯგუფებს შორის შეფასებული იყო შეუწყვილებელი *t* ტესტით; ვირთაგვების მოკვლამდე ბოლო 1-საათის მონაცემები იყო შედარებული. ჯგუფებს შორის ნელი ძილის პროცენტულობის მნიშვნელოვანი განსხვავება არ იყო შემჩნეული მაშინ, როცა პარადოქსული ძილის პროცენტულობა მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა ($t_{(8)}$=7,3; $p<0,001$). აღდგენითი ძილის პირველი საათთან შედარებით მეორე საათის განმავლობაში პარადოქსული ძილის სრული ხანგრძლივობის მნიშვნელოვნად უფრო ნაკლები ეპიზოდები იყო აღნიშნული ($t_{(8)}$=3,9; *$p<0,001$).

შპობ-ში ფოს- და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა ასევე მნიშვნელოვნად უფრო მაღალი იყო პარადოქსული ძილის 1 საათიანი აღდგენითი პერიოდის მქონე ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის როგორც მაღალი ისე დაბალი დონის მქონე სპონტანურად მძინარე ცხოველებთან შედარებით.

გარდა ამისა, პარადოქსული ძილის შეზღუდვის შემდეგ აღდგენითი ძილის მეორე საათის განმავლობაში პირველ საათთან

შედარებით ერთეული ფოს- და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობის მნიშვნელოვანი შემცირება აღინიშნებოდა (სურათი 24).

შპობ-ის საპირისპიროდ, გავრცობილ ვლპოუ-ში და ვლპოუ-ს შუაგულში ერთეული ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა მნიშვნელოვნად არ იყო მომატებული პარადოქსული ძილის შეზღუდვის/მისი მაღალი მოწოლის მქონე ვირთაგვებში, მაღალი სპონტანური პარადოქსული ძილის მქონე ვირთაგვებთან შედარებით (სურათი 27). ასევე, პარადოქსული ძილის 1-საათიანი აღდგენის და მაღალი სპონტანური პარადოქსული ძილის პირობებში ფოს-იმუნორეაქტიული უჯრედების რაოდენობაში მნიშვნელოვანი განსხვავებანი არ აღინიშნებოდა. შპობ-ის მსგავსად, გავრცობილ ვლპოუ-ში და ვლპოუ-ს შუაგულში ფოს- და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა პარადოქსული ძილის შეზღუდვის შემდეგ აღდგენითი ძილის მეორე საათში პირველთან შედარებით მნიშვნელოვნად შემცირებულია. ერთადერთი განსხვავება გავრცობილ ვლპოუ-სა და ვლპოუ-ის შუაგულს შორის იყო ის, რომ მაღალი სპონტანური პარადოქსული ძილის პირობებთან შედარებით 1 სთ-იანი აღდგენითი ძილის პირობებში ფოს/გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების მნიშვნელოვანი მომატება აღინიშნებოდა, რაც მხოლოდ გავრცობილ ვლპოუ-ში იყო ნანახი. დასკვნის სახით, ჯგუფებს შორის სხვა განსხვავებანი იხ. სურათ 27-ზე, A და B, და სურათების სათანადო წარწერებში.

პარადოქსული ძილის შეზღუდვის საპასუხოდ შპობ-ში და ვლპოუ-ში გმდ-დადებითი ფოს-იმუნორეაქტიულობის გავრცელება

ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის შეზღუდვით, გმდ-ს მიმართ შპობ-ის ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების მხოლოდ 22-26% იყო იმუნორეაქტიული (ცხრილი 7). ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის შეზღუდვით, რომლებშიც აღინიშნებოდა ამ ფაზის მოწოლის ზომიერი და მაღალი დონეები, ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების მნიშვნელოვნად უფრო მაღალი რაოდენობა იყო ნაჩვენები, ვიდრე სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში (იხ. სურათი 26), მაგრამ ამ ვირთაგვების შპობ-ში ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების უმრავლესობის ლოკალიზაცია გმდ-იმუნორეაქტიულობას არ თანხვდებოდა. ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის შეზღუდვით, ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების პროცენტულობა მნიშვნელოვნად უფრო დაბალი იყო, ვიდრე სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში (იხ. ცხრილი 7). შპობ-ის საწინააღმდეგოდ, ვლპოუ-ის ნეირონების უმრავლესობა (65%), სადაც პარადოქსული ძილის შეზღუდვის საპასუხოდ ფოს-ის ექსპრესია ხდება, იმუნორეაქტიული იყო გმდ-ს მიმართ (ცხრილი 7).

ცხრილი. 7. შპობ-სა და ვლპოუ-ის ფოს/გმდ+ ნეირონების პროცენტულობა ვირთაგვებში მაღალი სპონტანური პარადოქსული ძილით, ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის შეზღუდვით (ამ ფაზის მაღალი მოწოლით) და ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის შეზღუდვით, რომლებსაც ძილის ამ ფაზის შეზღუდვის შემდეგ 1-საათიანი აღდგენითი ძილის საშუალება ჰქონდათ.

პრეოპტიკური უბნის ნაწილები	ვირთაგვები პარადოქსული ძილის მაღალი (%)-ით	ვირთაგვები პარადოქსული ძილის მაღალი მოწოლით	ვირთაგვები პარადოქსული ძილის რებაუნდით (პირველი საათი)
რშპობ	39,9±1,3%	26,3±0,9%*	29,9±1,7%*
კშპობ	36,1±4,1%	21,7±0,9%**	29,4±1,6%
ვლპოუ-ს შუაგული	68,3±1,8%	64,7±3,2%	61,0±2,5%
გავრცობილი ვლპოუ	77,6±4,6%	64,6±3,1	73,9±2,9%

ფოს/გმდ+ ნეირონების პროცენტულობა შპობ-ის როსტრალურ ($F_{(2,13)}$=12,5; p<0,001) და კაუდალურ ($F_{(2,13)}$=6,4; p=0,01) ნაწილებში მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა ცხოველების სამ ჯგუფში. * p<0,005, მნიშვნელოვნად განსხვავდება სპონტანურად მძინარე ცხოველებისაგან Newman-Keuls ტესტით; ** p<0,050.

ერთადერთი განსხვავება გავრცობილ ვლპოუ-სა და ვლპოუ-ის შუაგულს შორის იყო ის, რომ მაღალი სპონტანური პარადოქსული ძილის პირობებთან შედარებით 1 საათიანი აღდგენითი ძილის პირობებში ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების მნიშვნელოვანი მომატება აღინიშნებოდა, რაც მხოლოდ გავრცობილ ვლპოუ-ში იყო ნანახი.

განხილვა

ამ შრომის მნიშვნელოვანი შედეგი იყო ის, რომ სამ განსხვავებულ ექსპერიმენტულ პირობებში შპობ-სა და ვლპოუ-ში ნეირონების აქტივაცია ყველაზე უფრო მჭიდროდ პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზურ მოწოლასთან იყო დაკავშირებული, და არა ამ ფაზის მოცულობასთან. ამ მონაცემებმა პირველად გახადა თვალსაჩინო, რომ პრეოპტიკური უბნის მთელი რიგი ნეირონების აქტივობა დაკავშირებულია პარადოქსული ძილის მოთხოვნილებასთან, და რომ ეს ნეირონები, შესაძლებელია, წინა ტვინის წრეების ნაწილს შეადგენენ, რომელიც პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზის რეგულაციაში არის ჩართული.

სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში (ექსპერიმენტი 1) პარადოქსული ძილის განსხვავებული მოცულობა გამოვლინდა, თუმცა ნელი ძილის მოცულობა ერთნაირი იყო (იხ. ცხრილი 4). ამ ცხოველებში შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ფოს-იმუნორეაქტიული და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა პარადოქსული ძილის დროის პროცენტულობასთან დადებითად კორელირებდა. ჩვენ ვვარაუდობთ, რომ ვირთაგვები მაღალი სპონტანური პარადოქსული ძილით განიცდიან ძილის მომატებულ ენდოგენურ/ჰომეოსტაზურ მოწოლას, შედარებით ვირთაგვებთან, სადაც აღინიშნება ძილის ამ ფაზის დაბალი %-ი. ამის სასარგებლოდ მეტყველებს ის ფაქტი, რომ სრული ხანგრძლივობის პარადოქსული ძილის ეპიზოდების რაოდენობა

უფრო მაღალი იყო ვირთაგვებში მაღალი სპონტანური პარადოქსული ძილით. ვირთაგვებში შეზღუდული პარადოქსული ძილით (ექსპერიმენტი 2), ამ ფაზის ჰომეოსტაზური მოწოლის განსხვავებული ხარისხი გამოვლინდა, რაც ძილის ამ ფაზაში გადასვლის მცდელობათა რაოდენობით განისაზღვრებოდა (იხ. ცხრილი 5). ამ ცხოველებში ფოს-იმუნორეაქტიული და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონები ნელი ძილიდან პარადოქსულ ძილში გადასვლის რაოდენობასთან დადებით კორელაციაში იყო. ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის შეზღუდვით, რომლებსაც ეძლეოდათ აღდგენითი ძილის შესაძლებლობა (ექსპერიმენტი 3), აღდგენის პირველი საათის განმავლობაში ამ ფაზის რებაუნდი (26,1±0,8%) აღინიშნებოდა, მაშინ როცა მეორე საათი - მისი პროცენტულობის საწყისი სიდიდის აღდგენით ხასიათდებოდა (19,1±0,6%). ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის რებაუნდით აღდგენითი ძილის პირველი საათიდან მე-2 საათამდე პერიოდში შპობ-სა და ვლპოუ-ში ფოს-იმუნორეაქტიული და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების საშუალო რაოდენობა შემცირდა. ვვარაუდობთ, რომ პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლა აღდგენის პირველ საათში უფრო ძლიერი იყო, ვიდრე მეორეში. ამ დასკვნას ის მონაცემები ასაბუთებს, რომ პარადოქსული ძილის სრული ხანგრძლივობის ეპიზოდების რაოდენობა უფრო მაღალი იყო პირველი საათის განმავლობაში.

შესწავლილ ექსპერიმენტულ პირობებში საერთო ელემენტი, რომელიც საფუძვლად უდევს შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ნეირონულ

აქტივაციას, პარადოქსული ძილის მოწოლის დონე იყო, და არა ნელი ან პარადოქსული ძილის მოცულობა როგორც ასეთი: 1. ექსპერიმენტულ ქვეჯგუფებს შორის არ იყო განსხვავება ნელი ძილის საერთო ხანგრძლივობაში და 2. ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის შეზღუდვით ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა უფრო მაღალი იყო, ვიდრე ყველა სხვა დანარჩენ ჯგუფში, თუმცა ვირთაგვები პარადოქსული ძილის შეზღუდვით გაცილებით ნაკლებ დროს ატარებდნენ პარადოქსულ ძილში, ვიდრე, სპონტანურად მძინარე ვირთაგვები, და ვირთაგვები პარადოქსული ძილის აღდგენით. ჩვენი ჰიპოთეზის თანახმად, შპობ და ვლპოუ შეიცავს ნეირონებს, რომლებიც პარადოქსული ძილის მზარდი ჰომეოსტაზური მოწოლის საპასუხოდ ნელი ძილიდან პარადოქსულ ძილში გადასვლას უწყობენ ხელს. მეორე მხრივ, ფოს-იმუნორეაქტიულობა ამ ნეირონებში, შესაძლოა, ნეირონული აქტივობის იმ პატერნს ასახავს, რომელიც ნანახია ნელი ძილიდან პარადოქსულ ძილში გადასვლის დროს, ვინაიდან ვირთაგვებში შეზღუდული პარადოქსული ძილით, აღინიშნება ამ ტიპის მრავლობითი გადასვლა.

წინამდებარე კვლევის ტექნიკური შეზღუდულობა გაემ-ერგული ნეირონების იდენტიფიცირებისათვის გმდ67-ის მიმართ მონოკლონური ანტისხეულების გამოყენება იყო. შესაძლებელია, რომ იმუნოშეღებვის მეთოდები მონოკლონური ანტისხეულების გამოყენებით ზოგიერთ უჯრედში პროტეინის დაბალი დონის გამო მთლიან გაემ-ერგულ პოპულაციას არ მონიშნავენ. ამიტომ, შესაძლებელია, ჩვენ შპობ-ის და

ვლპოუ-ის გაემ-ერგული ნეირონების რაოდენობას, სადაც პარადოქსული ძილის მზარდი მოწოლის საპასუხოდ ს-ფოს-ის ექსპრესია ხდება სათანადოდ ვერ ვაფასებთ.

პარადოქსული ძილის რეგულაციაში შპობ-ის და ვლპოუ-ის სავარაუდო როლს ელექტროფიზიოლოგიური კვლევა ადასტურებს. ამ ბირთვებში რეგისტრირებული ნეირონების უმრავლესობაში ძილის დროს განმუხტვათა სიჩქარე იზრდება, ღვიძილთან შედარებით (Szymusiak et al., 1998, Suntsova et al., 2002). ძილის აქტიური ნეირონების ჯგუფები მაქსიმალურად განიმუხტება პარადოქსული ძილის დროს, მაგრამ, ამ ტიპის ნეირონების უმრავლესობაში განმუხტვების სიჩქარე პარადოქსული ძილის დროს მხოლოდ ზომიერად უფრო მაღალია, ვიდრე ნელი ძილის დროს. არ არსებობს გამოქვეყნებული მონაცემები პარადოქსული ძილის შეზღუდვის შემდეგ შპობ-ისა და ვლპოუ-ს ნეირონების განმუხტვების სიჩქარის შესახებ, მაგრამ ჩვენს მიერ წარმოდგენილი მონაცემების საფუძველზე ვვარაუდობთ, რომ ამ ბირთვების ნეირონების განმუხტვა პარადოქსული ძილის მოწოლის დონესთან და არა მის მოცულობასთან უნდა იყოს დაკავშირებული.

ლუმ და თანამშრომლებმა (Lu et al., 2000) გამოაქვეყნეს მონაცემები, რომ გავრცობილ ვლპოუ-ში ძილ-აქტიური ნეირონების დაკარგვა (დაზიანების შედეგად) პარადოქსული ძილის დროის შემცირებასთან კორელირებს, მაშინ, როცა ვლპოუ-ს შუაგულ ნაწილში ნეირონების დაკარგვა ნელი ძილის მოცულობის შემცირებასთან კორელირებს (Lu et al., 2000). ვირთაგვების სიბნელეში ყოფნის შედეგად გაზრდილი

პარადოქსული ძილის პირობებში, გავრცობილ ვლპოუ-ში ფოს-დადებითი უჯრედების რაოდენობა წინამორბედი პარადოქსული ძილის მოცულობასთან კორელირებდა (Lu et al., 2000). ეს ორივე მონაცემი აჩვენებს, რომ ვლპოუ-ის შუაგული და გავრცობილი ნაწილები ნელი და პარადოქსული ძილის რეგულაციაში განსხვავებულ როლებს ასრულებენ. ვნახეთ, რომ გავრცობილ ვლპოუ-ში ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა აღდგენითი ძილის პირველ საათში მომატებული იყო, აღდგენის მეორე საათთან და სპონტანურ ძილთან შედარებით. ამ პირობებში ვლპოუ-ის შუაგულ ნაწილში ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობაში განსხვავებები არ აღინიშნებოდა.

პარადოქსული ძილის შეზღუდვა ძილის ამ ფაზის ჰომეოსტაზური მოწოლის მატებას იწვევს, რაც პარადოქსულ ძილში გადასვლის მცდელობის რაოდენობის გაზრდით აღინიშნება. მოსალოდნელია, რომ პარადოქსული ძილის გენერაციაში ჩართულ ნეირონებში, პარადოქსული ძილისათვის გაზრდილი ჰომეოსტაზური მოწოლის საპასუხოდ აქტივაცია გაიზრდება. ამიტომ, ჩვენი ჰიპოთეზის თანახმად, შპობ-ისა და ვლპოუ-ს ნეირონები, სადაც პარადოქსული ძილის შეზღუდვის დროს ფოს-იმუნორეაქტიულობის ექსპრესია ხდება, არის პარადოქსული ძილის გენერაციაში ჩართული ნერვული წრეების ნაწილი. პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზში წინა ტვინის მექანიზმების ჩართვას ის ფაქტი ადასტურებს, რომ ქრონიკულ დეცერებრირებულ

კატებში ძილის ამ ფაზის დეპრივაციის შემდეგ ძილის ამ ფაზის რებაუნდი არ ხდება (de Andres et al., 2003).

ჩვენი მონაცემების თანახმად, შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონები პარადოქსული ძილის მზარდი ჰომეოსტაზური მოწოლის საპასუხოდ ნელი ძილიდან პარადოქსულ ძილში გადასვლას (მის ჩართვას) უწყობენ ხელს. მეორე მხრივ, ფოს-იმუნორეაქტიულობა ამ ნეირონებში, შესაძლოა, ასახავს ნეირონული აქტივობის პატერნს, რომელიც ნელი ძილიდან პარადოქსულ ძილში გარდამავალ ფაზაში (ძილის ამ ფაზის დადგომის დროს) არის ნანახი. ჩვენს მიდგომაში შემზღუდველია ის გარემოება, რომ შეუძლებელია გავარჩიოთ შპობ-ის და ვლპოუ-ის ნეირონებში პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლით და მისი დაწყების პროცესით გამოწვეული ს-ფოს-ის ექსპრესია. ვირთაგვებს პარადოქსული ძილის მაღალი მოწოლით დეპრივაციის ოქმში ნელი ძილიდან პარადოქსულ ძილში მრავლობითი გადასვლები აღენიშნებათ. ამ სიტუაციაში, შესაძლოა, ფოს-იმუნორეაქტიულობა უპირატესად იმ ნეირონებში გვხვდება, რომლებიც ასეთ გარდამავალ პერიოდში მაღალი სიჩქარით განიმუხტებიან. ამ ნეირონებს პარადოქსული ძილის დაწყების გაადვილებაში შეუძლიათ ითამაშონ მნიშვნელოვანი როლი, მაგრამ, პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლის მაკოდირებელ ნეიროქიმიურ სიგნალებს შეიძლება პირდაპირ არ უპასუხონ. შპობ-ის ნეირონების აქტივობის ამ ასპექტში დამატებითი შესწავლა შეიძლება 1. პარადოქსული ძილის შეზღუდვის ფონზე შპობ-ის და ვლპოუ-ის ნეირონების განმუხტვების სიჩქარის შესწავლით და 2. პარადოქსული

ძილის 2-საათიანი შეზღუდვის შემდეგ ძილის ტოტალური დეპრივაციის პირობებში (როცა ნელი ძილიდან პარადოქსულ ძილში გადასვლები არ აღინიშნბეა) ფოს-იმუნორეაქტიულობის გამოკვლევით.

პარადოქსული ძილის გენერაციაზე პრეოპტიკური უბნის ნეირონების გავლენის მექანიზმში, შესაძლოა, როსტრალური ტვინის ღეროს მონოამინერგული ნეირონების შეკავება იყოს ჩართული. აღიარებულია, რომ დორსალური ნაკერის ბირთვის (დნბ) სეროტორინერგული უჯრედების და ლურჯი ლაქის (ლლ) ნორადრენერგული ნეირონების შეკავება პარადოქსული ძილის გენერაციისთვის აუცილებელი წინაპირობაა. ეს მონოამინერგული უჯრედები აქტიურია ღვიძილის დროს, აქვეითებს აქტივობას ნელი ძილის დროს და ჩუმდება პარადოქსული ძილის დროს (Heym et al., 1982; Fornal et al., 1985; Sakai, 1986; Reiner and mcGeer, 1987; Yamny et al., 1995, 1998; Thakkar et al., 1998; Gevrasoni et al., 2000). თვალსაჩინოა, რომ პარადოქსული ძილის დროს ამ უჯრედების გაჩუმება გაემ-ერგულ შეკავებას შეიძლება მივაწეროთ (Levine and Jacobs, 1992; Wang et al., 1992; Nirtz and Siegal, 1996, 1997a, b; Gevrasoni et al., 2000). იმის გამო, რომ როგორც შპობ-ი, ისე ვლპოუ პროეცირებს დნბ და ლლ-კენ (Zardetto-Smith and Johnson, 1995; Steininger et al., 2001, Lu et al., 2002), და ეს ორივე ბირთვი შეიცავს ძილ-აქტიური გაემ-ერგული ნეირონების პოპულაციებს, ისინი პარადოქსული ძილის დასაწყისში მონოამინერგული სისტემების შეკავების წყარო შეიძლება იყოს.

ჩვენი შედეგები აჩვენებს, რომ გაემ-ერგული ნეირონების აქტივაციის გარდა პარადოქსული ძილის მზარდი მოწოლა უპირატესად შპობ-ის არაგაემ-ერგულ ნეირონებს ააქტიურებს. მაღალი პარადოქსული ძილის მოწოლის ვირთაგვებში შპობ-ის ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების მხოლოდ 20-26% იყვნენ იმუნორეაქტიული გმდ-ის მიმართ. ეს საპირისპიროა ვლპოუ-ისათვის, რომელშიც ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების გმდ-ს მიმართ 65% ასევე დადებითი იყო. შპობ-ში გმდ-თვის ორმაგად მონიშნული ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების პროპორცია შემცირდა მაღალი სპონტანური პარადოქსული ძილის პირობასა და მაღალი პარადოქსული-ძილის-მოწოლის პირობას შორის (40%-დან 26%-მდე როსტრალურ შპობ-ში; 36%-დან 21%-მდე კაუდალურ შპობ-ში). ეს მიუთითებს, რომ პარადოქსული ძილის მაღალი მოწოლის, მაგრამ დაბალი მოცულობის პირობებში, შპობ-ში უმთავრესად არაგაემ-ერგულ ნეირონებში ხდება აქტივაცია. როგორია შპობ-ის არაგაემ-ერგული ნეირონების აქტივაციის პოტენციური ფუნქციური მნიშვნელობა გაზრდილი პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლის საპასუხოდ? ჩვენი ჰიპოთეზით, ეს ნეირონები გლუტამატერგულია და ფუნქციონირებენ, რათა პარადოქსულ ძილს ორი გზით შეუწყონ ხელი. პირველი, მათ აქვთ ამაგზნებელი ეფექტები ვლპოუ-ის გაემ-ერგულ ნეირონებზე (Chou et al., 2002), რაც ხელს უწყობს ლლ-ის და დნბ-ის ნეირონების დათრგუნვას. მეორე, ისინი ლლ-ში და დნბ-ში აძლიერებენ გაემ-ერგულ შეკავებას ამ უბნების ლოკალურ გაემ-ერგულ

ინტერნეირონებზე ამაგზნებელი მოქმედებით. ამგვარად, მომატებული პარადოქსული ძილის მოწოლის პირობებში, მაგ., პარადოქსული ძილის შეზღუდვის დროს, და შეზღუდვის შემდეგ, პარადოქსული ძილის აღდგენის დროს, შპობ-ის გაემ-ერგული და არაგაემ-ერგული ნეირონების და ვლპოუ-ის გაემ-ერგული/გალანინერგული ნეირონების აქტივაცია ტვინის ღეროს მონოამინერგული ნეირონების აქტივობას თრგუნავს, რაც პარადოქსული ძილის ექსპრესიისათვის მისი გენერაციის ტვინის ღეროვანი წრეების მიერ გაზრდილ მიდრეკილებას იწვევს.

რეზიუმე

ჰიპოთალამუსის შპობ-ი და ვლპოუ ძილთან დაკავშირებულ *ფოს*-იმუნორეაქტიულობას ამჟღავნებენ. ამ ბირთვების *ფოს*-იმუნორეაქტიული ნეირონები გლუტამინის მჟავას დეკარბოქსილაზას (გმდ) შეიცავენ, რომელიც გაემ-ერგული უჯრედების მარკერია. ბოლო დროს ნაჩვენებია, რომ ორივე ბირთვში (შპობ და ვლპოუ) ფოს–დადებითი (ფოს+) და ფოს/გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონები წინამდებარე ძილის ტოტალურ მოცულობასთან დადებითად კორელირებენ. წარმოდგენილი შრომა მიზნად ისახავდა იმის გარკვევას, არის თუ არა ვირთაგვების შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ძილთან დაკავშირებული ნეირონების აქტივაცია პარადოქსული ძილის რეგულაციასთან დაკავშირებული. შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ნეირონებში ს-ფოს-ის ექსპრესია სპონტანური ძილის, პარადოქსული ძილის

შეზღუდვის და მისი შეზღუდვის შემდეგ - ძილის ამ ფაზის ჰომეოსტაზური გაზრდის/რებაუნდის (დეპრივაციის შემდგომი აღდგენის) პირობებში იყო შესწავლილი. ყველა ამ შემთხვევაში, ფოს+ ნეირონების რაოდენობა ყველაზე მაღალი იმ პირობებში იყო, რომელიც პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლის/მოთხოვნილების უმაღლეს დონეებს აჩვენებდა; ვირთაგვების იმ ჯგუფებში, სადაც ყველაზე ხშირად ნელი ძილიდან პარადოქსულ ძილში გადასვლის პერიოდები იყო გამოხატული. ეს მონაცემები ცხადყოფს, რომ შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ნეირონების აქტივაცია პარადოქსული ძილის მოცულობასთან შედარებით მეტად მის მოწოლას უკავშირდება.

3. ძილის ჰომეოსტაზური რეგულაცია: პრეოპტიკური უბნის ნეირონების როლი

შესავალი

შპობ-ი და ვლპოუ ძილის მარეგულირებელ ნეირონებს შეიცავენ. როგორც შპობ-ი, ისე ვლპოუ ძილთან დაკავშირებულ ს-ფოს ცილის იმუნორეაქტიულობას ავლენენ (Sherin et al., 1996, 1998; Gong et al., 2000) და ამ ბირთვების ნეირონთა ქვეჯგუფებში, ძილის დროს, ღვიძილთან შედარებით განმუხტვების სიხშირე იზრდება, რაც ერთეული ნეირონების აქტივობის რეგისტრაციით იყო ნაჩვენები (Szymusiak et al., 1998; Suntsova et al., 2002). ძილთან დაკავშირებული ფოს-იმუნორეაქტიულობა, ძირითადად, შპობ-ის გაემ-ერგულ ნეირონებსა და

ვლპოუ-ს გაემ-ერგულ/გალანინერგულ უჯრედებში ექსპერესირდება (Sherin et al., 1998; Gaus et al., 2002; Gong et al., 2004). ამ ბირთვებში ფოს-დადებითი გაემ-ერგული უჯრედების რაოდენობა წინამორბედი ძილის მთლიან მოცულობასთან დადებითად კორელირებს (Gong et al., 2004).

ადრე გამოქვეყნებული კვლევებით ფოს-იმუნორექატიულობის ფუნქციურ კარტირებაზე, შპობ-ის ფოს+ ნეირონების დაბალი დონე სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებთან შედარებით ძილდეპრივირებულ ვირთაგვებშია ნაჩვენები (Gong et al., 2000), ხოლო უფრო მოგვიანო გამოკვლევებით - ფოს+ ნეირონების უფრო დიდი რაოდენობა ძილდეპრივირებული ვირთაგვების შპობ-სა (Modirrousta et al., 2004; Peterfi et al., 2004; Gvilia et al., 2005) და პარადოქსულ-ძილდეპრივირებულ ვირთაგვებშია ნაჩვენები (Gvilia et al., 2006). შპობ-ის და ვლპოუ-ს ფოს-პოზიტიური გაემ-ერგული ნეირონების რაოდენობა ძილის ტოტალური დეპრივაციის შემდეგ აღდგენითი ძილის დროსა (Gong et al., 2004) და პარადოქსული ძილის შეზღუდვის შემდეგ აღდგენითი ძილის დროს არის გაზრდილი (Gvilia et al., 2006). ეს მონაცემები მიუთითებს, რომ შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონები ძილის ჰომეოსტაზურ რეგულაციაში მონაწილეობენ.

სპეციფიკური ნეირონული სისტემები, რომლებიც ძილის ჰომეოსტაზური კონტროლის ასპექტებს არეგულირებენ, ნაკლებადაა შესწავლილი. ნაშრომში შეფასებულია ჰოპოთეზა, რომლის მიხედვით შპობ-სა და ვლპოუ-ში გაემ-ერგული ნეირონების გააქტიურება ჰომეოსტაზური ძილის დრაივ/მოწოლასთან და არა ძილის გაზრდილ

მოცულობასთან არის დაკავშირებული. ს-ფოს-იმუნორეაქტიული სურათები განსხვავებულ ძილის მოწოლისა და ძილის მოცულობის მქონე ვირთაგვების ჯგუფებში იყო შედარებული. პირველ ცდაში გამოყენებული იყო ვირთაგვების ჯგუფები, რომელთაც ძილ-ღვიძილის ციკლის ორგანიზაციის ძლიერი თანდაყოლილი დღე-ღამური რიტმები ჰქონდათ, რადგან ასეთ ვირთაგვებს შედარებით მაღალი ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლა უფრო ნათელ/მოსვენების პერიოდში აქვთ, ვიდრე ბნელ/აქტიურ ფაზაში. მეორე ცდაში გამოყენებულია ვირთაგვები ძილისა და ღვიძილის განაწილების თანდაყოლილად სუსტი დღე-ღამური რიტმებით რადგან ასეთ ვირთაგვებში ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლა ერთნაირია ნათელ და ბნელ პერიოდებში. შედეგები მოწმობს, რომ შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონები ყველაზე ძლიერად ძილის გაზრდილი მოწოლის დროს აქტივირდება, ხოლო ვლპოუ-ს გაემ-ერგული ნეირონები ყველაზე მძლავრად ძილის გაზრდილი მოცულობის დროს აქტივირდება.

მეთოდები

ცხოველები და საექსპერიმენტო გარემო:

33 სპრაგ-დოულის ჯიშის ვირთაგვა, ცდების დაწყების მომენტისათვის წონით 280-320 გ, მიჩვეული იყო 12-საათიანი დღე-ღამური ციკლის მიმართ (განათება დილის 8 სთ-დან). ვირთაგვები ცხოვრობდნენ ინდივიდუალურ გალიებში. საკვები და წყალი შეუზღუდავი იყო და გარემოს ტემპერატურე შენარჩუნებული იყო $23\pm0,5^{0}C$ -ზე.

ქირურგიული პროცედურები და რეგისტრაცია:

კეტამინ/ქსილაზინის ნარკოზის ქვეშ (80/10 მგ/კგ, პერიტონეუმში) ვირთაგვებს ქირურგიულად ვუნერგავდით ქრონიკულ ქერქულ ენცეფალოგრაფიულ (ეეგ) და დორსალური კისრის ელექტრომიოგრაფიულ (ემგ) ელექტროდებს, რომელთა საშუალებით ხდებოდა ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზების დადგენა. ეეგ-ს ჩასაწერად უჟანგავი ფოლადის ხრახნები თავის ქალაში ინერგებოდა, ხოლო ემგ-ს ჩასაწერად მოქნილი, იზოლირებული უჟანგავი ფოლადის მავთულები კისრის კუნთებში ინერგებოდა. ელექტროდების თავისუფალი ბოლოები მინიატურულ Amphenol-ის კონექტორს ერჩილებოდა და მთელი ანსამბლი თავის ქალაზე სტომატოლოგიური აკრილატით მაგრდებოდა.

ოპერაციიდან მე-8 - მე-13 დღეს, ცხოველებს ვუერთებდით სარეგისტრაციო კაბელს, რომელიც მსუბუქად იყო ჩამოკიდებული ზემოდან და გაწონასწორებული ბერკეტით. ცხოველებს ყოველდღიურად 5-6 სათის განმავლობაში (დილის 8 საათიდან) რეგისტრაციის პროცედურას ვაჩვევდით. ექსპერიმენტების დროს პოლისომნოგრაფიული სარეგისტრაციო მოწყობილობის საშუალებით (Embla, Medcare Flaga Medical Devices, Reykjavik, Iceland) ეეგ და ემგ უწყვეტად რეგისტრირდებოდა. ეეგ და ემგ ციფრულ ფორმაში გადაგვყავდა და კომპიუტერში სომნოლოგიური პროგრამის (Somnologica Studio, Medcare Flaga Medical Devices, Reykjavik, Iceland) საშუალებით ვინახავდით.

ექსპერიმენტის მსვლელობა:

ოპერაციიდან მე-14 დღეს ხდებოდა ყველა ვირთაგვის 24-საათიანი რეგისტრაცია, რათა ძილ-ღვიძილის ციკლის დღე-ღამური ორგანიზაცია დაგვედგინა. ვირთაგვები (n=24), რომელთაც განათებულ პერიოდში არანაკლებ 60%-ისა ეძინათ და სიბნელეში - არაუმეტეს 30%-სა, მიკუთვნებულ იყვნენ 1 ექსპერიმენტის ჯგუფს, ხოლო ვირთაგვები ძილისა და ღვიძილის სუსტი დღეღამური რიტმით მიკუთვნებულ იყვნენ ექსპერიმენტის მე-2 ჯგუფს. ყველა დანარჩენი ქვემოთ აღწერილი საექსპერიმენტო რეგისტრაცია ოპერაციიდან მე-14 დღეს ჩატარდა.

ექსპერიმენტი 1. ვირთაგვების ერთ ჯგუფს (n=6) მიეცა საშუალება სპონტანურად ეძინათ ან ეღვიძათ განათებულ/მოსვენების პერიოდში (ზეიტელბერგის/განათებიდან 1-3 სთ დროის მონაკვეთი, ძთ1-3). მეორე ჯგუფს (n=6) მიეცა სპონტანური ძილ-ღვიძილის ციკლის განხორციელების საშუალება ბნელ/აქტიურ პერიოდში (ZT13-15). ვირთაგვების მესამე ჯგუფში (n=12) ჩატარდა ძილის 2-საათიანი დეპრივაცია განათებულ პერიოდში (ZT1-3), რის შემდეგაც ისინი დაიყო ორ ქვეჯგუფად - ვირთაგვები (n=6), რომლებიც იკვლებოდნენ დეპრივაციის პროცედურის დამთავრებისთანავე და ვირთაგვები (n=6), რომელთაც დეპრივაციის შემდეგ 1-საათიანი აღდგენის საშუალება მიეცათ. ძილის დეპრივაციისათვის (მისი ეპიზოდების შესაწყვეტად) ძილის ეეგ/ემგ ნიშნების გამოჩენიდან 3-5 წამში ვირთაგვებს მსუბუქად

ვაღიზიანებდით (კაკუნი გალიის სახურავზე და/ან გალიის რხევა). ძილის დეპრივაციის პროცედურისადმი ცხოველთა ადაპტაცია ხდებოდა ოპერაციის შემდგომი მე-5 – მე-13 დღეებში; ამისთვის მათ, ყოველდღიურად, 8 საათიდან 15 საათამდე, რამდენიმეჯერ 5-10 წუთის განმავლობაში მიეწოდებოდა ის გამღიზიანებლები, რომლითაც შემდგომში ძილის შეწყვეტა ხდებოდა.

ექსპერიმენტი 2. ძილ-ღვიძილის ციკლის სუსტი დღე-ღამური რიტმის მქონე ცხრა ვირთაგვისგან შემდგარ ჯგუფს ძილის 2-საათიანი დეპრივაცია ან ნათელ (n=5), ან ბნელ პერიოდში (n=4) უტარდებოდა. რეგისტრაციის შეწყვეტისთანავე, ვირთაგვებს პერფუზია უტარდებოდა.

იმუნოჰისტოქიმია:

ცხოველების ტრანსკარდიალური პერფუზია პენტობარბიტალის ღრმა ანესთეზიის ქვეშ (100 მგ/კგ) ტარდებოდა. პერფუზიის საწყის ეტაპზე 5 წთ-ს განმავლობაში გამოიყენებოდა 0,12 მოლარობის მილონიგის (Millonigs) ფოსფატური ბუფერი (მფბ), რასაც მოჰყვებოდა 500 მლ 4%-იანი პარაფორმალდეჰიდი (პფა), გახსნილი 0,12 მოლარობის მფბ-ში. პერფუზიის შემდეგ ცხოველთა სხეულებს 1 საათის განმავლობაში 4^0C-ზე ინახებოდა. ამის შემდეგ ამოღებული ტვინები, 1 საათის განმავლობაში ფიქსირდებოდა იგივე პფა ხსნარში, ირეცხებოდა 0,12 მოლარობის მფბ-ში და 4^0C-ზე საფეხურებრივად გადაიტანებოდა 10%, 20% და 30%-იან საქაროზაში, სანამ ტვინები არ დაიწყებდნენ ჩაძირვას. 30 მკმ სისქის, შპობ-ზე გამავალი ფრონტალური ანათლები

კეთდებოდა გამყინავ მიკროტომზე. ანათლები ჯერ მუშავდებოდა ფოს-ს შეღებვით. ქსოვილის ანათლებს ერთი ღამის განმავლობაში 4^0C-ზე ინკუბირდებოდა ბოცვრის ანტი-ს-ფოს პირველად ანტიშრატში (AB-5, Oncogene Science; 1:15000), სანჯღრეველაზე. შემდგომ, 1,5 საათის განმავლობაში ანათლები ოთახის ტემპერატურაზე ბიოტინირებული თხის ბიცვრის საწინააღმდეგო IgG-თი (Vector laboratories; 1:800) მუშავდებოდა, რასაც მოსდევდა ავიდინ-ბიოტინის კომპლექსთან (ABC, Vector Elite Kit; 1:200) რეაქციის ჩატარება. ანათლების გამჟღავნება ხდებოდა ნიკელის დიამინობენზიდინ-ტეტრაჰიდროქლორიდით (Ni-DAB), რომელიც იძლევა შავი ფერის რეაქციას უჯრედის ბირთვში. ბირთვის შეღებვა არ ხდებოდა პირველადი ანტიშრატის არგამოყენების (კონტროლი არასპეციფიურ შეღებვაზე) შემთხვევაში. გმდ-ს შეღებვისთვის ანათლები ორი ღამის განმავლობაში 4^0C-ზე თაგვის ანტი-გმდ მონოკლონურ ანტისხეულში (MAB5406, Chemicon International; 1:300) ინკუბირდებოდა, ბიოტინირებული ანტი-თაგვური IgG-თი (BA-2001, Vector Laboratories; 1:500) მუშავდებოდა და DAB-თი მჟღავნდებოდა, რათა ორმაგი მონიშვნისთვის ყავისფერი პროდუქტი მიგვეღო უჯრედის სომაში. გმდ- შეღებვა არ ხდებოდა პირველადი ანტიშრატის არგამოყენების (კონტროლი არასპეციფიურ შეღებვაზე) შემთხვევაში. შეღებვის შემდეგ, ანათლები ჟელატინიზებულ სასაგნე მინებზე თავსდებოდა, აღმავალ სპირტებში დეჰიდრირდებოდა და Depex-ის საფარი მინით იფარებოდა.

მონაცემთა ანალიზი:

ძილის ანალიზი: ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზები ვირთაგვებში, თითოეული 10-წამიან ეპოქის დომინანტური მდგომარეობის მიხედვით დგინდებოდა. ღვიძილი აღირიცხებოდა ეეგ-აქტივობის დესინქრონიზაციის და კისრის კუნთის მაღალი ტონუსის კომბინაციის შემთხვევაში. ნელი ძილი მაღალამპლიტუდიანი ნელტალღოვანი ეეგ-თი (2-დან 4 ჰერცამდე აქტივობით) და ღვიძილთან შედარებით დაბალი ემგ-ტონუსით ხასიათდებოდა. პარადოქსული ძილი ზომიერი ამპლიტუდის (დომინანტური თეტა სიხშირით/6-8ჰც) ეეგ-აქტივობის და კისრის მინიმალური ემგ-ს (იშვიათი შეკრთომებით) შემთხვევაში აღირიცხებოდა.

ძილის დეპრივაციის პერიოდში, ძილის მოწოლის დონე ძილის დადგომათა რაოდენობით განისაზღვრებოდა. იმისთვის, რომ დავკვირვებოდით ძილის მოწოლის დაგროვებას, ძილის დაწყებათა საშუალო რაოდენობა თითოეულ ცხოველში ძილის დეპრივაციის 2-საათიან პერიოდში თანმიმდევრულ 10-წუთიან ინტერვალში იანგარიშებოდა.

უჯრედების დათვლა: უჯრედებს ითვლიდა სპეციალისტი, რომელიც ცხოველთა საექსპერიმენტო პირობებს არ იცნობდა. ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობისათვის ერთხელობრივად მონიშნული და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიულობისათვის ორმაგად მონიშნული ნეირონების იდენტიფიცირება და დათვლა Neurolucida კომპიუტერის დახმარებით აგებული სისტემის (MicroBrightField, Williston, VT) გამოყენებით

ხდებოდა. ანათლების კონტურები იხატებოდა მიკროსკოპის 20X გადიდებაზე, ხოლო ფოს- და ფოს+გმდ- იმუნორეაქტიული ნეირონების აღნიშვნა/კარტირება ანათლების კონტურებში 400X გადიდებით ხდებოდა. უჯრედების დათვლა შესასწავლი უბნების (პრეოპტიკური ჰიპოთალამუსის ოთხი უბანი) ცხაურების ფარგალში ხდებოდა (იხ. სურათი 11; Gong et al., 2000). (1) როსტრალური შპობ-ის (რშპობ) ცხაური (600X600) თავსდებოდა მესამე პარკუჭის თავზე - წინა კომისურის და ბრეგმას გადაკვეთის როსტრალურად (ანტერიორ, 0,1 მმ). (2) კაუდალური შპობ-ის (კშპობ) ცხაური თავსდებოდა წინა კომისურის გადაკვეთაზე (ლატერალურად – 150 მკმ-ის და დორსალურად – 600 მკმ), ბრეგმას კაუდალურად (ანტერიორ, -0,26 მმ). ვლპოუ-ის დასათვლელი ცხაური თავსდებოდა საბოლოო ფირფიტის სისხლძარღვოვანი ორგანოს კაუდალურად (160 ან უფრო მეტი მკმ-ით; ანტერიორ - 0,3-0,7 მმ ბრეგმას მიმართ), და იყოფოდა შუაგულ და პერიფერიულ (გავრცობილ) სექტორებად (Lu et al., 2002). (3) ვლპოუ-ს შუაგული, - 300 მკმ სიგანის და 300 მკმ სიმაღლის, - განთავსებული იყო ტვინის ფუძის გაყოლებით, ხოლო მისი განაპირა საზღვრები – მხედველობის ქიაზმის ლატერალური კიდის მიმართ 400 მკმ-ით ლატერალურად. (4) ვლპოუ-ს მედიალურად განთავსებული უჯრა, - 400 მკმ სიგანის და 300 მკმ სიმაღლის, - ვრცელდებოდა ვლპოუ-ს შუაგულის მედიალურად. ვლპოუ-ის დორსალურად გავრცელებული უჯრა იყო 200 მკმ სიგანის და 300 მკმ სიმაღლის; იგი მოთავსებული

იყო ვლპოუ-ს შუაგულისა და ვლპოუ-ის მედიალური ცხაურების ზემოთ, კონცენტრირებული მათ საზღვრებზე..

თითოეული ვირთაგვის როსტრალურ და კაუდალურ შპობ-ში ფოს- და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული უჯრედების დათვლა აღნიშნული უბნების 3 ანათალში ხდებოდა და ამ სამი ანათვალის საშუალო განიხილებოდა როგორც ინდივიდუალური ცხოველის მონაცემი. ვლპოუ-ს უჯრედები დათვლილი იყო ბილატერალურად სამ სექციაში, რომელიც შეიცავდა ვლპოუ-ის ყველაზე დიდ ნაწილს. ის ექვსი ანათვალი შემდეგ გასაშუალოებული იყო, რათა ყოველი ვირთაგვასთვის თითო მონაცემი მიგვეღო, როგორც ვლპოუ-ის შუაგულის, ისე ვლპოუ-ის გავრცობილი ნაწილების შესაფასებლად (კომბინირებული მედიალურო და დორსალური სექციები).

სტატისტიკური ანალიზი: ყველა შედეგი მოყვანილია, როგორც საშუალო ± საშუალოს სტანდარტული გადახრა (SEM). ქცევითი მდგომარეობის პროცენტულობისათვის ცალმხრივი, არაგანმეორებადი ანათვლების ANOVA იმ ცხოველებში იანგარიშებოდა, რომელთაც სპონტანური ძილ-ღვიძილის ციკლის ნათელ და ბნელ პერიოდში განხორციელების საშუალება ეძლეოდათ და სინათლეში ძილდეპრივირებულ ვირთაგვებში. ასეთივე ANOVA ყველა ძილდეპრივირებული ვირთაგვების ჯგუფებში (ძილის დეპრივაცია სინათლეში – ექსპერიმენტი 1; ძილის დეპრივაცია სინათლეში – ექსპერიმენტი 2 და ძილის დეპრივაცია სიბნელეში – ექსპერიმენტი 2) დაძინების მცდელობებისთვის გამოითვლებოდა.

ექსპერიმენტ 1-ის ოთხ ჯგუფში, შპობ-ის და ვლპოუ–ს უბნებში ცალკეული ფოს-იმუნორეაქტიული უჯრედების დათვლისას, ცალმხრივი არაგანმეორებადი გაზომვების ANOVA იყო გამოთვლილი. ასეთივე ANOVA იყო გამოთვლილი შპობ-ის და ვლპოუ–ს უბნებში ფოს+გმდ იმუნორეაქტიული ნეირონებისთვს ვირთაგვების იგივე ჯგუფებში და ძილდეპრივირებული ვირთაგვების ყველა ჯგუფში იმავე უბნებში - ფოს-იმუნორეაქტიული უჯერების რაოდენობისთვის. ყველა ANOVA-ს შემდეგ, ცალკეული ჯგუფის საშუალოების სხვაობათა სარწმუნობა შემოწმებულ იქნა Newman-Keuls *post hoc* ტესტით.

შედეგები

საექსპერიმენტო ვირთაგვებმა დღე-ღამური ძილ-ღვიძილის ციკლის განსხვავებული პროფილები გამოავლინეს, რის შესახებაც ჩვენ იმ დროის პროცენტულობით ვმსჯელობდით, რომელსაც ცხოველი ბნელი/აქტიური პერიოდის საპირისპიროდ ნათელ/მოსვენების პერიოდში ძილში ატარებდა. ფონური 24-საათიანი რეგისტრაციის დროს ვირთაგვების დიდმა ჯგუფმა (n=24) ძილის რაოდენობაში ძლიერი დღეღამური რიტმები გვაჩვენა; ძილის საშუალო პროცენტულობა ნათელ პერიოდში 64,87±1,6% იყო, ხოლო სიბნელეში ძილის პროცენტულობა 26,99±3,0% იყო. ეს 24 ვირთაგვა ექსპერიმენტ 1-ში იყო გამოყენებული. ცხრა ვირთაგვამ 24-საათიანი ფონური რეგისტრაციის დროს ძილ-ღვიძილის ციკლის დღე-ღამური რიტმი არ გამოავლინა; ნათელ პერიოდში ძილის პროცენტულობა (50,4±2,6) ბნელ

პერიოდში ძილის პროცენტულობისაგან (47,35±1,9) სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა. ეს ვირთაგვები ექსპერიმენტ 2-ში მონაწილეობდნენ. **სურათ 28-ზე** 24-საათიანი ფონური რეგისტრაციის განმავლობაში იმ ვირთაგვების (n=6) ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზათა საშუალო ოდენობებია (%) წარმოდგენილი, რომელთაც ძილ-ღვიძილის მძლავრი დღეღამური რიტმი ახასიათებდა. **სურათ 29-ზე** 24-საათიანი ფონური რეგისტრაციის განმავლობაში იმ ვირთაგვების (n=6) ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზათა საშუალო ოდენობებია (%) წარმოდგენილი, რომელთაც ძილისა და ღვიძილის დღეღამური რიტმი ან სუსტი ჰქონდათ ან საერთოდ არ განერჩეოდათ.

ექსპერიმენტი 1: ვირთაგვები (n=6), რომელთაც ბნელ პერიოდში სპონტანური ძილის-ღვიძილის ციკლის საშუალება ჰქონდათ, პერფუზიამდე ერთი საათით ადრე ძილის დაბალ %-ბას (8,8±3,4%) ამჟღავნებდნენ, ხოლო ნათელ პერიოდში რეგისტრირებული ვირთაგვები (n=6) 73,7±2,6% ძილს ავლენდნენ **(ცხრილი 8 და სურ. 30).**

ცხრილი 8. ღვიძილში, ნელ და პარადოქსულ ძილში გატარებული დროის პროცენტულობა ვირთაგვებში, რომლებსაც სპონტანური ძილ-ღვიძილის ციკლის საშუალება ნათელ (n=6) ან ბნელ პერიოდში (n=6) ეძლეოდათ; ნათელ პერიოდში ძილდეპრივირებულ ვირთაგვებში (n=6) და ვირთაგვებში (n=6), რომლებსაც ძილის დეპრივაციის შემდეგ აღდგენითი ძილის საშუალება ეძლეოდათ.

ქცევის სტადიები	სპონტანური ძილი ბნელ პერიოდში (n=6)	სპონტანური ძილი ნათელ პერიოდში (n=6)	ძილის დეპრ. ნათელ პერიოდში (n=6)	დეპრივაციის შემდგომი აღდგენა (n=6)
ღვიძილი (%)	91.2±3.4	27.1±2.6*	94.4±1.4**	11.24±1.36*
ნელი ძილი (%)	6.8±2.9	57.7±2.04*	5.6±1.4**	72.1±2.5*
პარადოქსული ძილი (%)	2±0.71*	16±1.67	0	16.78±2.39

ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზათა პროცენტულობა ვირთაგვების პერფუზიამდე რეგისტრაციის 1-საათიანი პერიოდისთვის არის გამოანგარიშებული. ANOVA-მ აჩვენა ექსპერიმენტული პირობების მნიშვნელოვანი ეფექტი ღვიძილზე [F (3,20)=356.094; p<0.001], ნელ ძილზე [F (3,20)=238.743; p<0.001] და პარადოქსულ ძილზე [F (2,15)=22.858; p<0.001] *სარწმუნოდ განსხვავდება ყველა სხვა ჯგუფისაგან,

** სარწმუნოდ განსხვავდება სინათლეში მძინარე და აღდგენითი ძილით მძინარე ვირთაგვებისაგან, p<0.050 (Newman-Keuls test).

ძილდეპრივირებულ ვირთაგვებში, აკუმულირებული ძილი წარმოდგენილი იყო 5,6±1,4% ნელი ძილით და 0% პარადოქსული ძილით (**იხ. ცხრილი 8 და სურათი 30C)**. ვირთაგვები (n=6), რომელთაც ნათელ პერიოდში ძილის დეპრივაციის შემდეგ 1-საათიანი აღდგენითი ძილის საშუალება ეძლეოდათ, 88,9±1,3% ძილში ატარებდნენ (**იხ. ცხრილი 8 და სურათი 30D)**. ამ უკანასკნელ ჯგუფში ნელი ძილის საერთო ხანგრძლივობის გაზრდა მისი ეპიზოდების სიხშირის გაზრდოთ იყო განპირობებული. ყველა ძილდეპრივირებული ვირთაგვა (n=12) ძილის მოწოლის თანდათანობით ზრდას გვაჩვენებდა; დეპრივაციის პერიოდში ძილის დადგომათა რაოდენობა, პროგრესულად იზრდებოდა.

ყველა ძილ-დეპრივირებული ვირთაგვა (n=12) ძილის მოწოლის თანდათანობით ზრდას გვაჩვენებდა; დეპრივაციის პერიოდში ძილის დადგომათა რაოდენობა პროგრესულად იზრდებოდა (**სურათი 31**).

შპობ-სა და ვლპოუ-ში ერთეული ფოს+ და ფოს+გმდ-იმუნორეაქციული ნეირონების განაწილება წარმოდგენილია **სურათ 32-ზე**. **სურათ 33-ზე და სურათ 34-ზე** ცხოველთა ოთხსავე ჯგუფში შპობ-ის და ვლპოუ–ს უბნებში ერთხელობრივი ფოს-იმუნორეაქტიული და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რიცხვია წარმოდგენილი. ფოს+გმდ იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობები როსტრალურ და კაუდალურ შპობ-ში ყველაზე მაღალი იმ ძილდეპროვირებულ

ვირთაგვებში იყო, რომელთაც არ ეძლეოდათ აღდგენითი ძილის საშუალება, და ყველაზე დაბალი იმ ვირთაგვებში, რომელთაც სიბნელის ფაზაში სპონტანურად ეძინათ (იხ. სურათი 33).

ვლპოუ–ს უბნებში, ფოს+გმდ იმუნორეაქტიული უჯრედების რაოდენობა ყველაზე მაღალი იმ ვირთაგვებში იყო, რომელთაც სპონტანურად ეძინათ ნათელ პერიოდში და ძილდეპრივირებულ ვირთაგვებში, რომელთაც დეპრივაციის შემდეგ აღდგენითი ძილის შესაძლებლობა ეძლეოდათ (**იხ. სურათი 34**).

ექსპერიმენტი 2: სინათლეში ძილდეპრივირებული (n=5) და სიბნელეში ძილდეპრივირებული (n=4) ვირთაგვები ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლის ერთნაირ დონეს ავლენდნენ, როგორც ეს დეპრივაციის პერიოდში ძილის დადგომათა რაოდენობით დადგინდა (**ცხრილი 9**). როგორც ნაჩვენებია, ძილის დაწყების მცდელობათა რაოდენობა ვირთაგვების ამ ორ ჯგუფში ექსპერიმენტ 1-ში, სინათლე/მოსვენების პერიოდში ძილდეპრივირებული ვირთაგვების მონაცემებთან შედარებით მნიშვნელოვნად ნაკლები იყო. მეორე მხრივ, ექსპერიმენტ 2-ში ძილდეპრივირებული ვირთაგვები ძილის მოწოლის თანდათანობით ზრდას ამჟღავნებდნენ – დეპრივაციის პერიოდში საჭირო შეღვიძებათა რაოდენობა პროგრესიულად იზრდებოდა.

ექსპერიმენტ 2-ის მსვლელობისას სინათლესა და სიბნელეში ძილდეპრივირებული ვირთაგვების ჯგუფებში შპობ-ში ერთხელობრივი ფოს+ და ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა სარწმუნოდ განსხვავებული არ იყო, მაგრამ მათი ოდენობები უფრო დაბალი იყო, ვიდრე იმ ვირთაგვებში, რომლებშიც ფონური ძილისა და ღვიძილის ძლიერი დღეღამური რიტმის პირობებში ძილის დეპრივაცია ნათელ პერიოდში ჩატარდა (იხ. ცხრილი 9).

ცხრილი 9. ძილის დაწყების მცდელობათა საშუალო რაოდენობა ძილის დეპრივაციის პერიოდების დროს და ფოს+ და ფოს/გმდ+ ნეირონების საშუალო რაოდენობა ვირთაგვების შპობ-ში, რომელთაც ძილის დეპრივაცია (ძდ) სინათლეში, ძილ-ღვიძილის ძლიერი დღეღამური რიტმის ფონური ორგანიზაციის პირობებში ჩაუტარდა (ექსპერიმენტი 1) და ვირთაგვებში, რომელთაც ძილის დეპრივაცია ფონური ძილისა და ღვიძილის სუსტი დღეღამური რიტმის პირობებში ან ნათელ ან ბნელ პერიოდში ჩაუტარდა (ექსპერიმენტი 2).

საექსპერიმენტო ჯგუფები	ძილის დაწყების მცდელობათა რაოდენობა	ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონები (n)		ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონები (n)	
		რშპობ	კშპობ	რშპობ	კშპობ
ძდ სინათლეში, ექსპ. 1 (n=6)	81±5,4*	87,8±3,8*	74,3±6,1*	42,2±2,8*	34,9±2,8*
ძდ სინათლეში, ექსპ. 2 (n=5)	45,1±5,2	58,6±6,4	46,8±7,8	13,2±2,4	10±2,3
ძდ სიბნელეში, ექსპ. 2 (n=4)	36,8±7,2	61±9,2	51,5±5,7	10,8±1,8	11,7±2,3

ძილის დაწყების მცდელობათა/დაწყებათა რაოდენობა ცხოველის პერფუზიამდე რეგისტრაციის 2-საათიან პერიოდში ითვლებოდა. ANOVA-მ ძილის დაწყების მცდელობათა რაოდენობაზე ექსპერიმენტული პირობების მნიშვნელოვანი ეფექტი გვაჩვენა [F (2,12)=16,951; p<0,001]. ერთეული ფოს-იმუნორეაქტიული უჯრედების რაოდენობისთვის, ANOVA-თი ექსპერიმენტული პირობების სარწმუნო ეფექტი როგორც როსტრალურ [F (2,12)=7,47; p<0,01], ისე კაუდალურ შპობ-ში [F (2,12)=5,17; p<0,05] დადგინდა. ამის მსგავსად, საექსპერიმენტო პირობები როგორც როსტრალურ [F (2,12)=50,12; p<0,001], ისე კაუდალურ შპობ-ში ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული უჯრედების რაოდენობაზე მნიშვნელოვან ეფექტს ახდენდნენ [F (2,12)=31,83; p<0,001].

* სარწმუნოდ განსხვავდება ყველა სხვა ჯგუფისაგან, p<0,05 (Newman-Keuls).

ერთეული ფოს-იმუნორეაქტიული და ორმაგი ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რიცხვი შპობ-ში, ექსპერიმენტ 2-ის სინათლეში ძილდეპრივირებულ და სიბნელეში ძილდეპრივირებულ ვირთაგვებში, დადებით კორელაციაში იყო ღვიძილიდან ძილში გადასვლის მცდელობათა რაოდენობასთან ტოტალური ძილის 2-საათიანი დეპრივაციის პერიოდში **(სურათი 35)**.

განხილვა: ნეირონული სუბსტრატები, რომლებიც საფუძვლად უდევს ძილის ჰომეოსტაზურ რეგულაციას, საკმაოდ ცუდადაა შესწავლილი. ჩვენ პირველებმა ვაჩვენეთ, რომ შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონები მაქსიმალურ ფოს-იმუნორეაქტიულობას ძილზე მაღალი ჰომეოსტაზური მოთხოვნილების იმ სიტუაციებში ექსპრესირებენ, რომელსაც თან მინიმალური ძილი ახლავს, ე.ი. ძილის დეპრივაციის საპასუხოდ ნათელ/მოსვენების პერიოდში. ამის საპირისპიროდ, ვლპოუ-ს გაემ-ერგული ნეირონები მაქსიმალურ ფოს-იმუნორეაქტიულობას აღდგენითი ძილის დროს და სინათლეში სპონტანური ძილის დროს ამჟღავნებენ. ეს მონაცემები ძილის ჰომეოსტაზურ რეგულაციაში შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონების შესაძლო როლზე მეტყველებს.

ექსპერიმენტ 1-სა და 2-ში შესწავლილ რამდენიმე მდგომარეობაში ძილის ზეწოლას, ძილის მოცულობასა და დღე-ღამის მონაკვეთს შორის დისოციაცია აღინიშნება. ექსპერიმენტ 1-ში, შპობ-ის გაემ-ერგულ ნეირონებში ფოს-იმუნორეაქტიულობა ყველაზე დაბალი სიბნელეში სპონტანური ძილის დროს იყო, როდესაც ძილის ზეწოლაცა და მოცულობაც მცირეა. მეორე მხრივ, ძილის მაღალი ზეწოლისა და მინიმალური მოცულობის პირობებში (ძილის დეპრივაცია სინათლეში) შპობ-ის გაემ-ერგულ ნეირონებში ფოს-იმუნორეაქტიულობა მაქსიმალური იყო. სინათლეში სპონტანური ძილისა და აღდგენითი ძილის პირობებში ძილის დიდი მოცულობისას შპობ-ის გაემ-ერგულ

ნეირონებში ფოს-იმუნორეაქტიულობა ძილის მაღალი ზეწოლის პირობებში (ე.ი. აღდგენით ძილში) უფრო მაღალი იყო. ერთიანობაში, ეს შედეგები გვიჩვენებს რომ შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონების გააქტივება ძილის გაზრდილი ზეწოლის პარალელურად მატულობს.

ვლპოუ-ს გაემ-ერგულ ნეირონებში ფოს-იმუნორეაქტიულობა ძილის დეპრივაციასთან შედარებით მნიშვნელოვნად მაღალი იყო როგორც სპონტანური ძილის, ისე აღდგენით ძილის დროს. ეს ეთანხმება ადრე მიღებულ მონაცემებს იმის შესახებ, რომ ვლპოუ-ს ნეირონებში ფოს-იმუნორეაქტიულობა ძილის დეპრივაციის შემდეგ არ იზრდება იმ პირობებში, როდესაც ცხოველებს აღდგენითი ძილის საშუალება არ ეძლევათ (Sherin et al., 1996) და, რომ ვლპოუ-ს ნეირონებში ძილთან დაკავშირებული განმუხტვა იზრდება 16-საათიანი ძილის დეპრივაციის შემდეგ (აღდგენის დროს), ხოლო გამოწვეულ ღვიძილთან დაკავშირებული განმუხტვების ინტენსივობა სპონტანურ ღვიძილთან შედარებით უცვლელია (Szymusiak et al., 1998). ვლპოუ-ს ნეირონებში ფოს-იმუნორეაქტიულობა 24-საათიანი ძილის დეპრივაციის შემდეგ აღდგენითი ძილის დროს მნიშვნელოვნად იზრდება ფონურ ძილთან შედარებით (Gong et al., 2004), რაც ეთანხმება ცალკეული უჯრედების რეგისტრაციის მონაცემებს იმის შესახებ, რომ ვლპოუ-ს ძილთან დაკავშირებული გააქტივება შეიძლება ძილის გაზრდილი ჰომეოსტაზური ზეწოლის საპასუხოდ მოხდეს. უკანასკნელი მონაცემები ეთანხმება ჰიპოთეზას, რომ ვლპოუ-ს ძილის მარეგულირებელ ნეირონებსა და მონოამინერგულ სისტემებს შორის

ურთიერთშემაკავებელი ურთიერთობა ძილისა და ღვიძილის სტაბილიზაციისათვის მოქმედებს (იხ.: Saper et al., 2001, 2005). ძილის დეპრივაციის შემდეგ აღდგენითი ძილის დროს ვლპოუ-ს გაემ-ერგული ნეირონების გაზრდილი აქტივაცია შეიძლება ძილის სტაბილიზაციისთვის (გახანგრძლივება და გაღრმავება) ხელშეწყობისთვის მოქმედებს, მონოამინერგული სისტემების შეკავების გზით.

ნათელი პერიოდის საპირისპიროდ სიბნელეში სპონტანური ძილის დროს შპობ-ისა და ვლპოუ-ს ნეირონებში ფოს-იმუნორეაქტიულობა შემცირებულია, რაც ჩვენი ინტერპრეტაციით, სიბნელეში ძილის მცირე ზეწოლასა და მოცულობას ასახავს. ამავე დროს, ამ ბირთვებში, შესაძლოა, ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობის ექსპრესიის დღე-ღამური რიტმი არსებობდეს; ფოს-იმუნორეაქტიული უჯრედების მცირე რიცხვი შეიძლება ცირკადული (სინათლე-სიბნელის) მოდულაციის შედეგი იყოს. მეორე მხრივ, ექსპერიმენტ 2-ის შედეგები ასეთი ახსნის საფუძველს არ გვაძლევს და დამატებით შპობ-ის ნეირონულ აქტივობასა და ძილის ზეწოლას შორის ურთიერთკავშირს ასაბუთებს. ვირთაგვები თანდაყოლილი სუსტი დღე-ღამური ძილ-ღვიძილის რიტმით, სავარაუდოდ, ძილის ზეწოლის ერთნაირ დონეებს, როგორც სინათლეში, ისე სიბნელეში ამჟღავნებდნენ. ეს დასაბუთებულია იმ ფაქტით, რომ როდესაც ასეთი ცხოველები დაექვემდებარა ძილის დეპრივაციას, ისინი ნათელ და ბნელ პერიოდებში ძილის დაწყების ერთნაირ რაოდენობას ავლენდნენ. ის,

რომ ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული უჯრედების რაოდენობა ასეთი ვირთაგვების ჯგუფებს შორის, რომლებიც სინათლესა და სიბნელეში ძილდეპრივირებული იყვნენ არ განსხვავდებოდა, იმის მაჩვენებელია, რომ ძილისადმი მიდრეკილების დღე-ღამური ვარიაბელობის არარსებობისას, შპობ-ის ნეირონებში ს-ფოს-ის ექსპრესიის რაიმე ძლიერი სინათლე-სიბნელის რიტმები არ შეიმჩნევა. ძილის დეპრივაციის შემდეგ როგორც ძილის დაწყების მცდელობები, ისე ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა სინათლეში ძილის დეპრივაციის დროს ძლიერი დღე-ღამური რიტმის მქონე ვირთაგვებთან შედარებით სუსტი დღე-ღამური რიტმის მქონე ცხოველებში უფრო დაბალი იყო. ეს გვაძლევს დამატებით მონაცემს, რომ შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონების აქტივაცია ძილის მოცულობისაგან დამოუკიდებლად ძილის ზეწოლასთან არის დაკავშირებული.

გონგ-მა და თან. (Gong et al., 2000) აჩვენეს, რომ შპობ-ის ნეირონებში ფოს-ის ექსპრესია ნათელ პერიოდში სპონტანური ძილის დროს უფრო მაღალია, ვიდრე ნათელ პერიოდში ძილის დეპრივაციისას, რაც ჩვენს მონაცემებს ეწინააღმდეგება (Gvilia et al., 2005, 2006c). ძილის დეპრივაციის მეთოდებში ჩვენ ორ მნიშვნელოვან განსხვავებას გამოვყოფთ, რამაც შესაძლოა ზემოთ აღნიშნულ შრომათა შედეგის რადიკალური განსხვავება განაპირობა: 1. ჩვენს კვლევებში (Gvilia et al., 2005, 2006c) საექსპერიმენტო პირობებისადმი (ძილის დეპრივაციის პროცედურა) ვირთაგვების ადაპტაცია ექსპერიმენტის

დაწყებამდე 7-9 დღის განმავლობაში ხდებოდა; 2. ძილის შეწყვეტის მიზნით, ცხოველებს ზღურბლოვანი (მინიმალური ინტენსივობის) შემაღვიძებელი სტიმულები მიეწოდებოდათ (Gvilia et al., 2005, 2006c). გონგი და თან. (Gong et al., 2000) ძილის დეპრივაციის პროცედურისადმი ცხოველების წინასწარ ადაპტაციას არ აწარმოებდნენ, და მათ სტიმულების ზღურბლოვანი დონის შენარჩუნების მცდელობა არ ჰქონდათ. ჩვენ ვვარაუდობთ, რომ ახალი, ინტენსიური სტიმულით გამოწვეული ჰიპერაქტივაცია შპობ-ის ძილის ხელშემწყობი ნეირონების ძლიერ ინჰიბიციას გამოიწვევს; ძილის მოწოლის გაზრდა (გარკვეულ დონემდე) შპობ-ის გაემ-ერგულ ნეირონებში ამაგზნებელ ეფექტს ვერ გამოიწვევს, რაც ფოს-იმუნორეაქტიულობის ექსპრესიას იწვევს.

ბოლო დროს ნაჩვენები იყო (Modirrousta et al., 2004), რომ აღდგენითი ძილის 3 საათის შემდეგ ფოს-იმუნორეაქტულობას შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონების მეტი რაოდენობა ექსპრესირებს, ვიდრე 3 საათიანი ძილის დეპრივაციის დროს. ეს თითქოს ეწინააღმდეგება ჩვენს ამჟამინდელ შედეგებს, განსაკუთრებით იმ მონაცემებს, რომ ძილის დეპრივაციის შემდეგ ფოს-იმუნორეაქტიულობას შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონების მხოლოდ მცირე ნაწილი ექსპრესირებს. მეორე მხრივ, განსხვავებული შედეგები შეიძლება ექსპერიმენტის სქემის კრიტიკულ თავისებურებებს მიეწეროს. 1. შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონების ინტენსიური გააქტივება ძილის დეპრივაციის შემდეგ მხოლოდ ისეთ პირობებში ვნახეთ, როდესაც ძილზე მოთხოვნილება ძალზე გაზრდილი იყო, ე.ი. ძთ1-3 ვირთაგვებში, რომელთაც ძილ-

ღვიძილის ციკლის ძლიერი დღე-ღამური რიტმი ახასიათებდათ. მოდიროუსტა და თან. გამოკვლევაში ძილის დეპრივაცია ვირთაგვებში ხდებოდა 3 საათის განმავლობაში და ეს პერიოდი იწყებოდა დღის 12 სთ-ზე. კვლევის მეთოდიკაში სინათლის ანთების (ანუ, ცდის ზეიტენბერგის/ძთ) დრო მითითებული არ არის, მაგრამ ძილის დეპრივაცია, ალბათ სინათლის ანთებიდან რამდენიმე საათის შემდეგ განხორციელდა, როდესაც ძილზე შინაგანი მოთხოვნილების პიკი დიდი ხნის გასული იყო. ჩვენს ექსპერიმენტ 2-ში ნაჩვენებია, რომ ძილის დაბალი ენდოგენური მოწოლის დროს განხორციელებული ძილის დეპრივაცია შპობ-ის გაემ-ერგულ ნეირონებს მნიშვნელოვნად არ ააქტიურებს. 2. მოდიროუსტა და თან.-ის შრომაში ნაჩვენებია ძილის დეპრივაციის პერიოდში აკუმულირებული ძილის 0%, რაც იმას ნიშნავს, რომ ვირთაგვები მუდმივი ჰენდლინგის ქვეშ იმყოფებოდნენ და ისინი ღვიძილიდან ძილში გარდამავალ ეპიზოდებს არ გაივლიდნენ. ჩვენს შემთხვევაში, ცხოველების შეღვიძება მხოლოდ ძილის ხანმოკლე ეპიზოდების განვითარების შემდეგ ხდებოდა. შესაძლოა, შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონების ფოს-იმუნორეაქტიულობა ღვიძილიდან ძილში გადასვლის დროს (გარდამავალ პერიოდში) ნეირონების განმუხტვებს ასახავდეს (Suntsova et al., 2002).

ადრე მოვახსენებდით, რომ შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონები ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობას პარადოქსული ძილის მზარდი ჰომეოსტაზური მოწოლის დროს ექსპრესირებენ (Gvilia et al., 2006a). ძილის ამ ფაზის ხანგრძლივობის მნიშვნელოვანი შემცირებები მისი 2-

საათიანი შეზღუდვის დროს მიიღწეოდა; ეს პროცედურა არ იწვევდა ნელი ძილის ხანგრძლივობის ცვლილებას. შპობ-ში ს-ფოს-ის აქტივაცია მაქსიმალური იყო იმ ვირთაგვებში, რომლებიც პარადოქსული ძილის შეზღუდვის პერიოდში მისი დაწყების ყველაზე მეტ მცდელობას ავლენდნენ. ფოს-იმუნორეაქტიულობა ფონურ ძილთან შედარებით ასევე მომატებული იყო აღდგენით ძილისას და პარადოსული ძილის შეზღუდვის შემდეგ. პარადოქსული ძილის მოწოლა შპობ-ში არა-გაემ-ერგულ ნეირონებში ფოს-იმუნორეაქტიულობის ზრდასთან ასოცირდებოდა (Gvilia et al., 2006a); ამის საპირისპიროა ამ ნაშრომში აღწერილი უპირატესად გაემ-ერგული ნეირონების აქტივაცია, რაც ძილის ტოტალური დეპრივაციის შედეგია.

ძილთან დაკავშირებული ფოს-იმუნორეაქტიულობისა და ძილთან დაკავშირებული ნეირონული განმუხტვების შესწავლა სავარაუდოდ ძილის რეგულაციაში ვლპოუ-ს და შპობ-ის ნეირონების განსხვავებულ როლზე მიუთითებს. ვლპოუ-ს ნეირონებში ძილის დეპრივაციის საპასუხოდ (აღდგენითი ძილის არარსებობის შემთხვევაში) ფოს-იმუნორეაქტიულობა მხოლოდ სუსტად გამოიწვევა, მაშინ როცა შპობ-ის ნეირონები მძლავრად აქტიურდებიან მხოლოდ ძილის დეპრივაციის შედეგად. ძილით აქტივირებადი ვლპოუ-ს ნეირონთა უმრავლესობა გაზრდილ აქტივობას უშუალოდ ღვიძილიდან ძილში გადასვლის დროს ამჟღავნებს და პროგრესულად აქტივირდება ზერელედან ღრმა ნელ ძილადე (Szymusiak et al., 1998). შედარებისთვის, შპობ-ის ძილით აქტივირებადი მრავალი ნეირონი განმუხტვების სიხშირის

თანდათანობით ზრდას ძილის დადგომის მოლოდინში ამჟღავნებს (Suntsova et al., 2002). შპობ-ის ნეირონების პიკური სიხშირის განმუხტვები ნელი ძილის განვითარების ადრეულ ეპიზოდებშია ნანახი და ეს სიხშირეები ჩართული ღვიძილის გარეშე მდგრადი ძილის ეპიზოდების დროს ქვეითდება (Suntsova et al., 2002). ერთიანობაში, მიღებული შედეგებით შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ შპობ-ში გაემ-ერგული ნეირონები ძილის მოწოლის ზრდის საპასუხოდ პროგრესულად აქტიურდება, რაც სტაბილური ღვიძილის დროს ვითარდება და ღვიძილიდან ძილში გადასვლის ხელშესაწყობად მოქმედებს. შეიძლება ვლპოუ-ში გაემ-ერგული ნეირონების ძილთან დაკავშირებული გააქტიურება მოქმედებდეს, ძირითადად, ძილის კონსოლიდაციისთვის და ძილის ეპიზოდის ფარგლებში მისი სიღრმის სარეგულაციოდ.

ანატომიური და ფიზიოლოგიური მონაცემები გვაფიქრებინებს, რომ შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონები უკანა ჰიპოთალამუსსა და ტვინის ღეროში მოთავსებულ გამოღვიძების სისტემებზე დაღმავალი შემაკავებელი მოდულაციის გზით ძილის ხელშემწყობად მოქმედებენ. ტუბერომამილარულ ბირთვში ვლპოუ მძლავრად აინერვირებს ღვიძილის გამააქტიურებელ ჰისტამინერგულ ნეირონებს (ტმბ) (Sherin et al., 1996, 1998). ვირთაგვის ჰორიზონტალური ანათლების პრეპარატებში ვლპოუ-ს უბნის ელექტრული სტიმულაცია ტმბ-ს ჰისტამინერგულ ნეირონებში გაემ-ით გამოწვეულ შემაკავებელ პოსტსინაფსურ პოტენციალებს იწვევს (Yang & Hatton, 1997). ვლპოუ პროექციებს ლურჯ

ლაქასა და ნაკერის დორსალურ ბირთვში აგზავნის (Sherin et al. 1998; Steininger et al. 2001; Lu et al., 2006). ვლპოუ-ს და შპობ-ის პროექციების არსებობა ლატერალური ჰიპოთალამუსის პერიფორნიკულ უბნებში (ლჰპფუ) ჰიპოკრეტინის ნეირონულ ველებში დადასტურებულია (Yoshida et al., 2006). როგორც შპობ-ის, ისე ვლპოუ-ს საპროექციო ნეირონები ლჰპფუ-სკენ ს-ფოს იმუნორეაქტიულობას ძილის დროს ექსპრესირებენ (Uschakov et al., 2006). შპობ-ის ელექტრული სტიმულაცია იწვევს ლჰპფუ–ს ნეირონების ღვიძილის განმუხტვების დათრგუნვას (Suntsova et al., 2003), ხოლო შპობ-ში მუსციმოლის ადგილობრივი შეყვანით გამოწვეული პრეოპტიკური უბნის ნეირონების შეკავებას ჰიპოკრეტინულ ნეირინებში ფოს-იმუნორეაქტიულობის დათრგუნვას იწვევს (Satoh et al., 2003). ჩვენ ვვარაუდობთ, რომ ძილის ჰომეოსტაზური ზეწოლა, რომელიც გახანგრძლივებული ღვიძილის შედეგად ვითარდება, მონოამინერგული, ჰიპოკრეტინერგული და დოფამინერგული ღვიძილის სისტემების შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონთა გააქტივების გზით გაემ-ით გამოწვეულ შეკავებას იწვევს.

ფაქტორი (ები), რომელიც ძილის დეპრივაციის დროს შპობ-ის ნეირონების და აღდგენითი ძილის დროს ვლპოუ-ს ნეირონების გააქტივებაზეა პასუხისმგებელი, უცნობია. ენდოგენურ სომნოგენს, ადენოზინს, ჰომეოსტაზური ძილის მარეგულირებლად თვლიდნენ, მას სტაბილური ღვიძილის საპასუხოდ შეუძლია ვლპოუ-ს და შპობ-ის ნეირონების ატქივობის მარეგულირებელ ცვლილებებში გარკვეული როლი ითამაშოს. ინ ვიტრო ადენოზინი ადენოზინის 1 რეცეპტორების გზით

ვლპოუ-ს ნეირონების შეკავებას ხსნის (Chamberli et al. 2003) და in vitro A_2A რეცეპტორების გზით პირდაპირ ვლპოუ ნეირონებს ააგზნებს (Gallopin et al., 2005). ვლპოუ-ს მეზობელ უბნებში (Methippara et al., 2005) და ვენტრალურ სტრიატუმში, უშუალოდ შპობ-ის როსტრალურად 2 რეცეპტორების ანტაგონისტის ინფუზია (Satoh et al. 2006), ხელს უწყობს ძილს. ციტოკინი, ინტერლეიკინ-1 (IL-1β), ასევე ჰომეოსტაზური ძილის ფაქტორად ითვლება (იხ. Obal & Krueger, 2003) და თავის ტვინის პარკუჭში IL-1β-ს შეყვანა ძილს ხელს უწყობს და შპობ-ში ფოს-იმუნორეაქტიულობას ააქტიურებს (Baker et al., 2005).

რეზიუმე

შპობ-ი და ვლპოუ ძილის მარეგულირებელ ნეირონებს შეიცავენ. ეს ნეირონები ძილის დროს ღვიძილთან შედარებით განმუხტვების გაზრდილ სიხშირეებს ამჟღავნებენ. შპობ-ის და ვლპოუ-ს გაემ-ერგულ ნეირონებში ს-ფოს ცილის იმუნორეაქტიულობის ექსპრესია მაღალია სპონტანურად მძინარე ვირთაგვებში და ვირთაგვებში ძილის დეპრივაციის შემდეგ აღდგენითი ძილის დროს. მაგრამ, გაურკვეველია, შპობ-ისა და ვლპოუ-ის ნეირონებში ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობა ძილის მოწოლით თუ ფაქტობრივი ძილის განვითარებით გამოიწვევა. წინამდებარე ნაშრომში შევამოწმეთ შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონებში ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობა, იმ საექსპერიმენტო პირობებში, რომლებიც ძილის მოწოლის დონის, ძილის მოცულობის და დღე-ღამის დროის დიფერენცირების შესაძლებლობას იძლევა. ვირთაგვების ჯგუფებში,

რომელთაც ძილ-ღვიძილის ციკლის ორგანიზაციაში ძლიერი დღე-ღამური რიტმი ჰქონდათ, შპობ-ის და ვლპოუ-ს ფოს-ექსპრესია შეისწავლებოდა 1) სინათლეში სპონტანური ძილის შემდეგ, 2) სიბნელეში სპონტანური ძილის შემდეგ, 3) სინათლეში ძილის დეპრივაციის შემდეგ და 4) სინათლეში ძილის დეპრივაციის მომდევნო აღდგენითი ძილის შემდეგ. იმ გაემ-ერგული ნეირონების რაოდენობა, რომლებიც შპობ-ში ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობას ექსპრესირებდნენ, მნიშვნელოვნად მეტი იყო სინათლეში ძილის დეპრივაციის შემდეგ, ვიდრე სპონტანური და აღდგენითი ძილის დროს ასევე სინათლეში. ამის საპირისპიროდ, ფოს-იმუნორეაქტიულობა ვლპოუ-ს გაემ-ერგულ ნეირონებში განსაკუთრებით პრევალირებდა სინათლეში მიმდინარე სპონტანური და აღდგენითი ძილის შემდეგ. ფოს-იმუნორეაქტიულობაში რაიმე სინათლე-სიბნელის სხვაობა შპობ-ში ძილის დეპრივაციის შემდეგ არ აღინიშნებოდა ვირთაგვების იმ ჯგუფებში, რომელთაც ახასიათებდა ძილ-ღვიძილის სუსტი ან საერთოდ შეუმჩნეველი დღე-ღამური რიტმი. მიღებული მონაცემები ძილის რეგულაციის ჰომეოსტაზურ ასპექტებში შპობ-ისა და ვლპოუ-ს გაემ-ერგული ნეირონების პოტენციურ როლს განსაზღვრავს.

IV. ჩატარებული კვლევის ზოგადი რეზიუმე

მოცემულ კვლევაში შესწავლილ იქნა პრეოპტიკური ჰიპოთალამუსის ძილით აქტივირებადი უბნების ფუნქციური ურთიერთობები ორგანიზმის ოსმორეგულაციასა და ძილის ჰომეოსტაზთან.

იმის დასადგენად თუ რამდენად სეგრეგირებულია პრეოპტიკური უბნის ძილ-აქტიური ნეირონების ჯგუფი იმ უჯრედებისგან, რომლებიც ჩართული არიან ორგანიზმის ჰიდრომინერალური ბალანსის კონტროლში, იმუნოშეღებვის მეთოდების გამოყენებით პრეოპტიკური უბნის ნეირონების ფუნქციონალური კარტირება მოვახდინეთ; კვლევის ძირითადი მიზნიდან გამომდინარე, შევისწავლეთ 1. ადრეული გენის – *ს-ფოს*-ის ექსპრესია შპობ-ის ნეირონებში და 2. შპობ-ის *ფოს*-იმუნორეაქტიული ნეირონების ნეიროტრანსმიტერული ბუნება ჰიდრომინერალური ცვლილებების ფონზე, როგორც ძილის ისე ღვიძილის პირობებში. ორგანიზმში ჰიდრომინერალური დისბალანსის პერიტონეალურად ჰიპერტონული ხსნარის ან პარკუჭში ანგიოტენზინ-II-ის ინექციის გზით მიიღწეოდა. შედეგებმა აჩვენა, რომ შპობ-ის ნეირონები წყლის სმისა და ოსმორეგულაციის ცენტრალური წრეების გააქტიურებაზე ქცევის მდგომარეობისგან (ძილი თუ ღვიძილი) დამოუკიდებლად პასუხობენ; ჰიპერტონული ხსნარისა და

ანგიოტენზინ-II-ის შეყვანა შპობ-ის ფოს-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობას როგორც მღვიძარე ისე მძინარე ვირთაგვებში მნიშვნელოვნად ზრდის. გამოვიანგარიშეთ შპობ-ში ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების (ანუ, გააქტიურებული გაემ-ერგული ნეირონების) პროცენტულობა პარკუჭში ანგიოტენზინ-II-შეყვანილ ვირთაგვებში, პარკუჭში ფიზიოლოგიურ ხსნარშეყვანილ და ნივთიერების გარეშე მყოფ საკონტროლო ვირთაგვებთან შედარებით, სპონტანური ძილის პირობებში. აღმოჩნდა, რომ ანგიოტენზინ-II-შეყვანილ ვირთაგვებში, შპობ-ის ფოს-იმუნორეაქტიულ ნეირონთა მხოლოდ 15% არის გმდ-პოზიტიური, რაც იმაზე მიუთითებს რომ ძილის-ხელშემწყობი ნეირონებისაგან განსხვავებით ორგანიზმის ოსმორეგულაციაში ჩართული შპობ-ის ნეირონები არა-გაემ-ერგული ბუნების არიან. მოცემული შრომის შედეგები მეტყველებს, რომ ძილისა და ორგანიზმის სითხის ჰომეოსტაზის რეგულაციაში შპობ-ის ნეირონთა განსხვავებული პოპულაციებია ჩართული, რომლებიც ერთმანეთისგან დამოუკიდებლად ფუნქციონირებენ.

პრეოპტიკური უბნის ნეირონებში ძილით გამოწვეული აქტივობის ფუნქციური კავშირი ძილის ჰომეოსტაზთან ორ ეტაპად იქნა შესწავლილი. იმის გათვალისწინებით, რომ ძილი ძუძუმწოვრებში არ არის ჰომოგენური პროცესი და ის წარმოადგენს სულ ცოტა ორი ფაზის, ნელი ძილისა და პარადოქსული ძილის, კანონზომიერ მონაცვლეობას, პრეოპტიკური უბნის გააქტივებასთან ძილის ორივე ფაზის ფუნქციური დამოკიდებულება შევისწავლეთ. კვლევის პირველ

ეტაპზე, პრეოპტიკურ უბანში *ფოს*-ის ექსპრესია ვირთაგვების ისეთ ჯგუფებში შევისწავლეთ, სადაც ხდებოდა ვირთაგვების პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლის დონისა და მისი ფაქტობრივი მოცულობის დიფერენცირებული მართვა. შპობ-ისა და ვლპოუ-ს ნეირონებში *ს-ფოს*-ის ექსპრესია სპონტანური ძილის (პარადოქსული ძილის განსხვავებული მოცულობებით), პარადოქსული ძილის შეზღუდვის და შეზღუდვის შემდეგ მისი აღდგენის პირობებში იყო შესწავლილი. ასეთ პირობებში, *ს-ფოს*-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა შპობ-ში ყველაზე მაღალი იყო ვირთაგვებში პარადოქსული ძილის შეზღუდვით, როდესაც ძილის ამ ფაზის ჰომეოსტაზური მოწოლა ყველაზე მაღალია. პარადოქსული ძილის შეზღუდვის პირობებში ვლპოუ-ს გავრცობილი ნაწილში, *ს-ფოს*-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა აგრეთვე იზრდებოდა ძილის ამ ფაზის მოწოლის ზრდის პარალელურად. ამ მონაცემების საფუძველზე პირველად ხდება თვალსაჩინო, რომ შპობ-ისა და ვლპოუ-ს ნეირონთა გარკვეული ჯგუფის აქტივაცია უფრო ძლიერად არის დაკავშირებული ამ ფაზის მოწოლასთან, ვიდრე მის ფაქტობრივ მოცულობასთან, ვინაიდან პარადოქსულ ძილ-შეზღუდულ ვირთაგვებში ძილის ამ ფაზის აკუმულირებული დრო მნიშვნელოვნად უფრო დაბალი იყო, ვიდრე ყველა დანარჩენ ჯგუფში.

კვლევის შემდგომ ეტაპზე შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონებში ს-ფოს-იმუნორეაქტიულობა იქნა შესწავლილი იმ საექსპერიმენტო პირობებში, რომლებიც ძილის მოწოლის დონის, ძილის მოცულობის

და დღე-ღამის დროის დიფერენცირების საშუალებას გვაძლევდა. ვირთაგვების ერთ ჯგუფს (ექსპერიმენტი 1) 2-საათიანი სპონტანური ძილის საშუალება ეძლეოდა, რომელიც სინათლის ანთებიდან 1 საათის შემდეგ (დროის მონაკვეთი რომელიც ხასიათდება ძილის ზომიერი მოწოლით და ფაქტობრივი ძილის დიდი მოცულობით) იწყებოდა; 2-საათიანი სპონტანური ძილისა, რომელიც სინათლის გამორთვიდან 1 საათის შემდეგ (დროის მონაკვეთი რომელიც ხასიათდება ძილის დაბალი მოწოლოთ და ფაქტობრივი ძილის მცირე მოცულობით) იწყებოდა და ძილის ტოტალური, 2-საათიანი დეპრივაციისა, რომელიც განათებიდან 1 საათის შემდეგ (ფიზიოლოგიური მდგომარეობა, რომელიც ხასიათდება ძილის მაღალი მოწოლით და ფაქტობრივი ძილის მინიმალური მოცულობით) იწყებოდა. ექსპერიმენტ 1-ში გამოყენებული ვირთაგვები ხასიათდებოდნენ ძილ-ღვიძილის ციკლის ფონური ორგანიზაციის ძლიერ გამოხატული დღე-ღამური რიტმით, რამაც შესაძლებელი გახადა ზემოთ აღწერილი ცდის დიზაინის შემუშავება და განხორციელება. ქსპერიმენტ 1-ის ძირითადი მიზანი იყო ძილის მოწოლის და ფაქტობრივი ძილის ქსპერიმენტალური დიფერენცირების მოხდენა. მეორე ცდაში (ექსპერიმენტი 2) გამოყენებული იყო ვირთაგვები ძილისა და ღვიძილის დღე-ღამური განაწილების თანდაყოლილად სუსტი რიტმებით, იმის გათვალისწინებით, რომ ასეთ ვირთაგვებში ძილის ჰომეოსტაზური მოწოლა ერთნაირია განათებულ და ბნელ პერიოდებში. ქსპერიმენტ 2-ის ძირითადი მიზანი

იყო ძილის მოწოლის და დღე-ღამის დროის ქსპერიმენტალური განცალკევება. ამ ვირთაგვების ერთ ნაწილს ჩაუტარდა ძილის ტოტალური, 2-სთ-ანი დეპრივაცია ნათელ პერიოდში, ხოლო მეორე ნაწილს – ბნელ პერიოდში.

ექსპერიმენტ 1-ის მონაცემების თანახმად, ვლპოუ-ში *ს-ფოს* იმუნორეაქტიული უჯრედების რაოდენობა სინათლეში სპონტანური ძილის დროს უფრო მაღალი იყო, ვიდრე ასევე სინათლეში ძილის დეპრივაციის დროს. მეორე მხრივ, ძილის მოწოლის დონეებს ვლპოუ–ს ნეირონებზე გარკვეული გავლენა ჰქონდა; უჯრედების რაოდენობა სიბნელეში სპონტანური ძილის დროს უფრო მცირე იყო, ვიდრე სინათლეში დეპრივაციის დროს. განსხვავებით ვლპოუ-სა, შპობ-ში *ს-ფოს*-იმუნორექტიული უჯრედების ყველაზე დიდი რაოდენობა ნანახი იყო ძილის დეპრივაციის პირობებში, რაც მიუთითებს ამ უჯრედების მაქსიმალურ აქტივირებაზე ძილის მოწოლის საპასუხოდ, და არა ფაქტობრივი ძილის მიმდინარეობის დროს. ექსპერიმენტ 2-ში მიღებული მონაცემები აჩვენებს, რომ 1. ვირთაგვები ძილის დეპრივაციის მიმდინარეობისას ძილის დაწყების მცდელობათა ერთნაირ რაოდენობას ავლენდნენ ნათელ და ბნელ პერიოდებში (ანუ, მათ ძილის მოწოლის ერთნაირი დონე ახასიათებდათ) და 2. რომ ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული (ანუ, გააქტივებული გაემ-ერგული) უჯრედების რაოდენობა ასეთი ვირთაგვების ჯგუფებს შორის არ განსხვავდებოდა. ეს იმის მაჩვენებელია, რომ ძილის დრაივის დღე-ღამური ვარიაბელობის არარსებობისას, შპობ-ის ნეირონებში *ს-ფოს*-ის

ექსპრესიის რაიმე ძლიერი სინათლე-სიბნელის რიტმები არ შეიმჩნევა. როგორც ძილის დაწყების მცდელობათა რაოდენობა სინათლეში ძილის დეპრივაციის დროს, ისე ფოს+გმდ-იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა სინათლეში ძილის დეპრივაციის შემდეგ უფრო დაბალი იყო იმ ვირთაგვებში, რომელთაც სუსტი დღე-ღამური რიტმი ახასიათებდათ (ექსპერიმენტი 2), იმ ვირთაგვებთან შედარებით, რომელთაც ძლიერი დღე-ღამური რიტმი ჰქონდათ გამოხატული (ექსპერიმენტი 1). ეს გვაძლევს დამატებით მონაცემს, რომ შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონების აქტივაცია ძილის მოცულობისაგან დამოუკიდებლად ძილის მოწოლასთან არის დაკავშირებული.

საბოლოოდ, ეს ცდები აჩვენებს, რომ შპობ-ის ნეირონების გაემ-ერგული და არა-გაემ-ერგული პოპულაციები ძილის მოცულობისაგან დამოუკიდებლად ნელი ძილის და სწრაფი ძილის ჰომეოსტაზურ მოთხოვნილებაზეა პასუხისმგებელი. მიღებული მონაცემების საფუძველზე უნდა ვივარაუდოთ ამ ნეირონების ხელშემწყობი როლი ძილის დაწყებაში, რაც მოსდევს ხანგრძილვი ღვიძილის ეპიზოდებს, და აგრეთვე, ნელი ძილის ტვინის ღეროვანი მექანიზმების მოდულაციაში, რათა გამოიწვიოს პარადოქსული ძილის რებაუნდი ამ ფაზის სელექციური შეზღუდვის და/ან ძილის ტოტალური დეპრივაციის პირობებში. ვლპოუ-ის ნეირონები ძილის გაზრდილი ჰომეოსტაზური მოწოლის საპასუხოდ ძილის ტოტალური დეპრივაციის შემდეგ მხოლოდ ზომიერად აქტიურობენ, მაგრამ პოსტ-დეპრივაციული აღდგენითი ძილის დროს ძლიერ აქტივაციას განიცდიან. ამგვარად,

სავარაუდოა, რომ ეს ნეირონები ხანგრძლივი ღვიძილის საპასუხოდ ძილის ხელშეწყობასა და კონსოლიდირებაში არიან ჩართული. ვლპოუ-ს ნეირონების წყება პარადოქსული ძილის მომატებული მოწოლის საპასუხოდ აქტივირდება, რომელიც ძილის ამ ფაზის სელექციური შეზღუდვის შემდეგ წარმოიშობა. ამიტომ, როგორც შპობ-ის, ისე ვლპოუ-ის ნეირონების ფუნქცია შეიძლება პარადოქსული ძილის გენერაციის წრეებში, ტვინის ღეროში აქტივობის მოდულირება იყოს ნორმალური და დეპრივირებული ძილის დროს, ტვინის ღეროს სეროტონინერგული და ნორადენერგული ნეირონების შეკავების გზით. ჯერ კიდევ გასარკვევი რჩება ადენოზინის, IL-β და სხვა ენდოგენური სომნოგენური ნივთიერებების როლი ძილის ჰომეოსტაზური მოთხოვნილების საპასუხოდ შპობ-ის და ვლპოუ-ს ნეირონების აქტივობის ცვლილებებში.

დასკვნები:

1. ჰიპოთალამუსის შუა პრეოპტიკური ბირთვი (შპობ) აქტიური კომპონენტია, როგორც ორგანიზმში ჰიდრომინერალური ბალანსის ისე ძილის ჰომეოსტაზის რეგულაციაში. შპობ-ის ფუნქციური ჰეტეროგენურობა განპირობებულია ამ რეგიონის უჯრედული ორგანიზაციის თავისებურებით; ძილ-ღვიძილის ციკლის და ორგანიზმის ჰიდრომინერალური ბალანსის რეგულაციაში შპობ-ის ნეირონთა განსხვავებული პოპულაციები არიან ჩართული.

2. ორგანიზმში ჰიდრომინერალური ბალანსის დარღვევა ცენტრალურად ჰიპერტონული ხსნარის ან პარკუჭში ანგიოტენზინ-II-ის ინექციის გზით შპობ-ის ნეირონების გააქტიურებას ძილ-ღვიძილის ციკლის მდგომარეობისგან დამოუკიდებელი წესით იწვევს; წყლის სმისა და ოსმორეგულაციის ცენტრალური წრეების გააქტიურებაზე შპობ-ის მიერ გამოწვეული მარეგულირებელი პასუხები როგორც ღვიძილის ისე ძილის დროსაც ხდება, ანუ, ძილის ხელშემწყობი და ოსმორეგულაციაში ჩართული ნეირონები შპობ-ში სეგრეგირებული არიან როგორც ანატომიურად, ისე ფუნქციურად.

3. შპობ-ის ძილით აქტივირებადი ნეირონების ერთ-ერთი (არა-გაემ-ერგული) პოპულაციის გააქტივება პარადოქსული ძილის ჰომეოსტაზურ მოწოლასთან ძლიერად არის დაკავშირებული; შპობ-ში *ს-ფოს-*

იმუნორეაქტიული ნეირონების რაოდენობა პროგრესულად იზრდებოდა პარადოქსული ძილის მოწოლის ზრდასთან ერთად.

4. შპობ-ის ნეირონების გაემ-ერგული პოპულაციის გააქტივება ფაქტობრივი ძილის მოცულობისაგან დამოუკიდებლად ნელი ძილის შინაგან მოთხოვნილებასთან არის დაკავშირებული.

5. ძილის მოთხოვნილების/დრაივის (რაც ჩვეულებრივ ძილის რეგულაციის როგორც ჰომეოსტაზური, ისე ცირკადული კომპონენტებით არის განპირობებული) დღე-ღამური ვარიაბელობის არარსებობისას, შპობ-ის გაემ-ერგულ ნეირონების აქტივაცია რაიმე ძლიერ სინათლე-სიბნელის რიტმს არ ექვემდებარება; ამ ნეირონების აქტივობის ინტენსივობა განპირობებულია ძილის დრაივის დონით.

6. გავრცობილი ვლპოუ-ს ნეირონთა ქვეჯგუფის აქტივაცია უფრო ძლიერად არის დაკავშირებული პარადოქსული ძილის მოწოლასთან, ვიდრე მის მოცულობასთან.

7. ვლპოუ-ს (როგორც შუაგულ ისე გავრცობილ ნაწილებში) გაემ-ერგული ნეირონების აქტივაცია უფრო ძლიერად ნელი ძილის მოცულობასთან არის დაკავშირებული, ვიდრე მისი მოწოლის დონესთან; *ს-ფოს*-იმუნორეაქტიული გაემ-ერგულ ნეირონების რაოდენობა ვლპოუ-ში ნელი ძილის მოცულობის ზრდასთან ერთად პროგრესულად იზრდებოდა.

8. ვლპოუ-ს და შპობ-ის ნეირონები განსხვავებულ როლს თამაშობენ ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგულაციაში.

9. შპობ-ის გაემ-ერგული ნეირონები უკანა ჰიპოთალამუსსა და ტვინის ღეროში მოთავსებულ გამოღვიძების სისტემებზე დაღმავალი შემაკავებელი მოდულაციის გზით ღვიძილიდან ძილში გადასვლის (ძილის ჩართვის) ხელშესაწყობად ფუნქციონირებენ ძილის გაზრდილი ჰომეოსტაზური მოწოლის პირობებში.

10. ვლპოუ-ს გაემ-ერგული ნეირონების ძილთან დაკავშირებული გააქტიურება ტვინის ღეროს სეროტონინერგული და ნორადრენერგული ნეირონების შეკავების გზით ძილის კონსოლიდაციას და მისი ეპიზოდის ფარგლებში ძილის სიღრმის რეგულაციას უწყობს ხელს.

VI. გამოყენებული ლიტერატურა

Alam MN, Gong H, Alam T, Jaganath R, McGinty D, szymusiak R (2002) Sleep-waking discharge patterns of neurons recorded in the rat perifornical lateral hypothalamic area. J Physiol 538:619-631.

Alam MN, McGinty D, Szymusiak R (1995) Neuronal discharge of preoptic/anterior hypothalamic thermosensitive neurons: relation to NREM sleep. Am J Physiol 269:R1240-1249.

Alam MN, McGinty D, Szymusiak R (1996) Preoptic/anterior hypothalamic neurons: thermosensitivity in wakefulness and non rapid eye movement sleep. Brain Res 718:76-82.

Alam MN, McGinty D, Szymusiak R (1997) Thermosensitive neurons of the diagonal band in rats: relation to wakefulness and non-rapid eye movement sleep. Brain Res 752:81-89.

Alam MN, Kumar S, Bashir T, Suntsova N, Methippara MM, szymusiak R et al (2005) GABA-mediated control of hypocretin –but not melanin-concentrating hormone-immunoreactive neurons during sleep in rats. J Physiol 563:569-582.

Alam MN, Szymusiak R, Gong H, King J, McGinty D (1999) Adenosinergic modulation of rat basal forebrain neurons during sleep and waking: neuronal recording with microdialysis. J Physiol 521(3):679-690.

Armstrong WE, Tian M & Wong H (1996). Electron microscopic analysis of synaptic inputs from the median preoptic nucleus and adjacent regions to the supraoptic nucleus in the rat. *J Comp Neurol* 373, 228-239.

Asala SA, Okano Y, Honda K, Inoue S (1990) Effects of medial preoptic lesions on sleep and wakefulness in unrestrained rats. Neurosci Let 114:300-304.

Aston-Jones G, Bloom FE (1981) Activity of norepinepherine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. J Neurosci 1:876-886.

Baker, FC, Shah S, Stewart D, Angara C, Gong H, Szymusiak R, Opp MR, McGinty D (2005) Interleukin-1-beta enhances non-rapid eye movement sleep and increases c-Fos protien expression in the median preoptic nucleus of the hypothalamus. Am J Physiol 288:R998-R1005.

Basheer R, Strecker RE, Thakkar MM, McCarley RW (2004) Adenosine and sleep-wake regulation . Prog Neurobiol 73(6):379-396.

Benedek G, Obal Jr F, Lelkes Z, Obal F (1982) Thermal and chemical stimulation of hypothalamic heat detectors: the effects on the EEG. Acta Physiol Acad Sci Hung 60:27-35.

Bremer F (1935) “Cerveau isole” et physiologic du sommeil. C. R. Soc Biol, Paris 118:1235-1242.

Bremer F (1936) Nouvelles recherches sur le mecanisme du sommeil. C. R. Soc Biol, Paris 122(3):460-464.

Boulant JA (1981) Hypothalamic mechanisms in thermoregulation. Fed Proc 40:2843-2850.

Boulant JA, Dean JB (1986) Temperature receptors in the central nervous system. Ann Rev Physiol 48:639-654.

Camacho A & Phillips MI (1981). Horseradish peroxidase study in rat of the neural connections of the organum vasculosum of the lamina terminalis. *Neurosci Lett* 25, 201-204.

Chamberlin NL, Arrigoni E, Chou TC, Scammel TE, Green RW, Saper CB (2003) Effects of adenosine on gabaergic synaptic inputs to identified ventrolateral preoptic neurons. Neuroscience 119(4):913-918.

Chastrette N, Cespuglio R, Jouvet M (1990) Proopiomelanocortin (POMC)-derived peptides and sleep in the rat. Part 1-Hypnogenic properties of ACTH derivatives. Neuropeptides 15:61-74.

Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammel T, Lee C et al. (1999) Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. Cell 98:437-451.

Chou TC, Bjorkum AA, Gaus SE, Lu J, Scammell TE, Saper CB (2002) Afferents to the ventrolateral preoptic nucleus. J Neurosci 22(3): 977-90.

Cravatt B, Prospero-Garcia O, Siudzak G, Gilula N, Henrisken S, Boger D, Lerner R (1995) Chemical characterization of a family of brain lipids that induce sleep. Science 268:1506-1509.

Danguir J, Nicolaidis S (1984) Chronic Intracerebroventricular infusion of insulin causes increase in slow wave sleep in rats. Brain Res 306:97-103.

Darchia N, **Gvilia I**, Eliava M and Oniani T (1995) The effects of selective deprivation of paradoxical sleep on the sleep-wakefulness cycle in rats. Moambe, J. of the Georgian Academy of Sciences 151(2):295-301.

Darchia N, **Gvilia I** (2003) Insomnia: Introduction. In: Sleep - Physiology, Investigations and Medicine, edited by Michael Billiard pp. 187-190, France.

de Andres I, Garson M, Villablanca JR (2003) The disconnected brain stem does not support rapid eye movement sleep rebound following selective deprivation. Sleep 26(4): 419-25.

deLecea L, Criado, Prospero-Garcia O, Gautvik K, Schweitzer P, Danielson P, Dunlap C, Siggins, Henriksen S, Sutcliff G (1996) A cortical neuropeptide with neuronal depressant and sleep-modulating properties. Nature 381:242-245.

deLecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao X, Foye PE, Danielson PE et al (1998) The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. Proc Natl Acad Sci USA 95:322-327.

Detari L, Juhasz G, Kukorelli T (1984) Firing properties of cat basal forebrain neurons during sleep-wakefulness cycle. Electroenceph. Clin. Neurophysiol 58:362-368.

Deurveilher S, Semba K (2003) Indirect projections from the suprachiasmatic nucleus to the median preoptic nucleus in rat. Brain Res 987(1):100-106.

Dragunow M & Faull R (1989) The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. J Neurosci Meth 29: 261-265.

Ek M, Arias C, Sawchenko P & Ericsson-Dahlstrand A (2000). Distribution of the EP3 prostaglandin E(2) receptor subtype in the rat brain: relationship to sites of interleukin-1-induced cellular responsiveness. *J Comp Neurol* 428(1), 5-20.

Ekimova I (2003). Changes in the metabolic activity of neurons in the anterior hypothalamic nuclei in rats during hyperthermia, fever, and hypothermia. *Neurosci Behav Physiol* 33(5), 455-60.

Findlay AR, Hayward JN (1969) Spontaneous activity of single neurons in the hypothalamus of rabbits during sleep and waking. J Physiol 201:237-258.

Fornal C, Auerbach S, Jacobs BL (1985) Activity of serotonin-containing neurons in nucleus raphe magnus in freely moving cats. Exp neurol 88: 590-608.

Gardiner TW & Stricker EM (1985). Impaired drinking responses of rats with lesions of nucleus medianus: Circadian dependence. *Am J Physiol* 248, R224-R230.

Gallopin T, Fort P, Eggermann E, Cauli B, Luppi PH, Rossier J et al (2000) Identification of sleep promoting neurons *in vitro.* Nature 404:992-995.

Gallopin T, Luppi PH, Cauli B, Urade Y, Rossier J, Hayaishi O, Lambolez B, Fort P (2005) The endogenous somnogen adenosine excites a subset of sleep-promoting neurons via A2A receptors in the ventrolateral preoptic nucleus. Neurosci 134:1377-1390.

Gaus SE, Strecker RE, Tate BA, Parker RA, Saper CB (2002) Ventrolateral preoptic nucleus contains sleep-active, galaninergic neurons in multiple mammalian species. Neuroscience 115:285-294.

Gervasoni D, Peyron C, Rampon C, Barbagli B, Chouvet G, Urbain N, Fort P, Luppi PH (2000) Role and origin of the GABAergic innervation of dorsal raphe serotoninergic neurons. J Neurosci 20:4217-4225.

Glotzbach SF, Heller Ch (1984) Changes in the thermal characteristics of hypothalamic neurons during sleep and wakefulness. Brain Res 309:17-26.

Gong H, Angara C, Chew KT, Xu F, McGinty D, Szymusiak R (2005) Distribution of neurons in the preoptic hypothalamus that project to both the perifornical lateral hypothalamus and the locus coeruleus. Sleep 28:A33.

Gong H, McGinty D, Guzman-Marin R, Chew KT, Stewart D & Szymusiak R (2004). Activation of c-*fos* in GABAergic neurons in the preoptic area during sleep and in response to sleep deprivation. *J Physiol* 556, 935-946.

Gong H, McGinty D, Szymusiak R (2002) Projections from the median preoptic nucleus to hypocretin and forebrain cholinergic systems in rats. Sleep 25:A155.

Gong H, Szymusiak R, King J, Steininger T & McGinty D (2000). Sleep-related c-Fos protein expression in the preoptic hypothalamus: effects of ambient warming. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279, R2079-R2088.

Gritti I, Mainville L, Jones BE (1994) Projections of GABAergic and cholinergic basal forebrain and GABAergic peroptic-anterior hypothalamic neurons to the posterior lateral hypothalamus of the rat. J Comp Neurol 339:251-268.

Grob M, Trottier JF, Drolet G & Mouginot D (2003). Characterization of the neurochemical content of neuronal populations of the lamina terminalis activated by acute hydromineral challenge. *Neuroscience* 122, 247-257.

Guzman-Marin R, Alam MN, Drucker-Colin R, McGinty D (2000) Discharge modulation of rat dorsal raphe neurons during sleep and waking: effects of preoptic/basal forebrain warming. Brain Res 875:23-34.

Gvilia I, Angara C, McGinty D, Szymusiak R (2005) Different neuronal populations of the rat median preoptic nucleus express *c-fos* during sleep and in response to hypertonic saline or angiotensin-II. Jphysiol (Lond) 569(2): 587-599.

Gvilia I, Darchia N and Oniani T (1999) Analysis of benzodiazepines' action on the sleep-wakefulness cycle in poor sleepers. Journal of Experimental and Clinical Medicine 2:133-136.

Gvilia I, Kochladze M, Darchia N and Oniani T (1999) Analysis of the effects of relanium on the sleep-wakefulness cycle in Guinea pigs. Transactions of Young Scientists, Presidential Scholarship Grantees 1:7-11, Tbilisi, Georgia.

Gvilia I, Oniani T, Darchia N, Chijavadze E, Dabrundashvili N and Rukhadze I (2001) Influence of relatively short-lasting total sleep deprivation on the

structure of sleep-waking cycle in rats. Moambe, J. of the Georgian Academy of Sciences 163(1):136-140.

Gvilia I, Turner A, McGinty D, Szymusiak R (2006) Preoptic area neurons and the homeostatic regulation of rapid yey movement sleep. J Neurosci 26(11): 3037-3044.

Gvilia. I, Xu F, McGinty D, Szymusiak R (2006) Homeostatic regulation of sleep: a role for preoptic area neurons. J Neurosci (in press).

Hamamura M, Nunez DJ, Leng G, Emson PC & Kiyama H (1992). c-fos may code for a common transcription factor within the hypothalamic neural circuits involved in osmoregulation. *Brain Res* 572, 42-51.

Heller HC (2005) Temperature, thermoregulation and sleep. In: Kruger MH, Roth T, dement WC, editors. Principles and Practice of Sleep Medicine. Philadelphia: Elsevier Saunders, 292-304.

Herbert J, Forsling ML, Howes SR, Stacey PM & Shiers HM (1992). Regional expression of c-fos antigen in the basal forebrain following intraventricular infusions of angiotensin and its modulation by drinking either water or saline. *Neuroscience* 51, 867-882.

Herrera DG & Robertson HA (1996). Activation of c-*fos* in the brain. *Prog Neurobiol* 50, 83-107.

Heym J, Steinfels GF, Jacobs BL (1982) Activity of serotonin-containig neurons in the nucleus raphe pallidus of freely moving cats. Brain Res 251:259-276.

Hobson JA, McCarley RW, Wyzinski PW (1975) Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. Science 189:55-58.

Honda R, Negoro H, Dyball REJ, Higuchi T & Takano S (1990). The osmoreceptor complex in the rat: Evidence for interactions between the supraoptic and other diencephalic nuclei. *J Physiol* 431, 225-241.

Horne JA, Reid AJ (1985) Night-time sleep EEG changes following body heating in a warm bath. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 60(2): 154-157.

Inoue S, Honda K, Komoda Y (1995) Sleep as neuronal detoxification and restitution. Behavioral Brain Research 69:91-95.

John J, Kumar V (1998) Effect of NMDA lesions of the medial preoptic neurons on sleep and other functions. Sleep 21:587-598.

Jones BE (2000) Basic mechanisms of sleep-wake states. In: Krueger MH, Roth T, Dement WC, eds. Principles and Practice of Sleep Medicine. 3d ed. Philadelphia: Saunders pp 134-154.

Jones BE (2004) Paradoxical REM sleep promoting and permitting neuronal networks. Arch. Ital. Biol. 142:379-396.

Jones BE (2004) Activity, modulation and role of basal forebrain cholinergic neurons innervating the cerebral cortex. Progr. Brain Res 145:157-169.

Jones BE (2005) Sleep-Wake Mechanisms: Neurophysiology and Chemical Neuroanatomy. In: SRS Basics of Sleep Guide. Sleep Research Society. Westchester, IL: 57-64.

Jouvet M (1972) The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. Ergeb. Physiol 64:165-307.

Kaitin KI (1984) Preoptic area unit activity during sleep and wakefulness in the cat. Exp Neurol 83:347-357.

Kilduff TS, Peyron C (2000) The hypocretn/orexin ligand-receptor system: implication for sleep and sleep disorders. Trends Neurosci 23:359-365.

Kimura M, Kodama T, Aguila MC, Zhang S-Q, Inoue S (2000) Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor modulates rapid eye movement (REM) sleep and non-REM sleep in rats. J Neurosci 20:5544-5551.

Krauchi K, Cajochen C, Werth E, Wirz-Justice A (2000) Functional link between distal vasodilation and sleep-onset latency? Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 278:R741-R748.

Krilowicz BL, Szymusiak R, McGinty D (1994) Regulation of posterior lateral hypothalamic arousal related neuronal discharge by preoptic anterior hypothalamic warming. brain Res 668:30-38.

Krout K, Kawano J, Mettenleiter T & Loewy A (2002). CNS inputs to the suprachiasmatic nucleus of the rat. *Neuroscience* 110, 73-92.

Krueger JM, Majde JA (2003) Humoral links between sleep and the immune system: research issues. Ann N Y Acad Sci 992:9-20.

Krueger J, Obal Jr F, Opp M, Toth L, Johannsen L, Cady A (1990) Somnogenic cytokines and models concerning their effects on sleep. Yale L Biol Med 63:157-172.

Koyama Y, Hayaishi O (1994) Modulation by prostaglandins of activity of sleep-related neurons in the preoptic/anterior hypothalamic areas of rats. Brain Res Bull 33:367-372.

Lee MG, Hassani OK, Jones BE (2005) Discharge of identified orexin/hypocretin neurons across the sleep-waking cycle. J Neurosci 25:6716-6720.

Lin L, Faraco J, Li R, Kadotani H, Rogers W, Lin X et al (1999) The sleep disorders canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. Cell 98:365-376.

Lind RW & Johnson AK (1982). Subfornical organ-median preoptic connections and drinking and pressor responses to angiotensin II. J *Neurosci* 2, 1043-1051.

Lincoln DW (1969) Correlation of unit activity in the hypothalamus with EEG patterns associated with the sleep cycle. Exp Neurol 24:1-18.

Lind RW, Swanson LW & Ganten D (1985). Organization of angiotensin II immunoreactive cells and fibers in the rat central nervous system: An immunohistochemical study. *Neuroendocrinology* 40, 2-24.

Lu J, Greco MA, Shiromani P, Saper CB (2000) Effect of lesions of the ventrolateral preoptic nucleus on NREM and REM sleep. J. Neurosci 20:3830-3842.

Lu J, Jhou TC, Saper CB (2006) Identification of wake-active dopaminergic neurons in the ventral periaqueductal gray matter. J Neurosci 26:193-202.

Ludwig M, Callahan MF, Landgraf R, Johnson AK & Morris M (1996). Neural input modulates osmotically stimulated release of vasopressin into the supraoptic nucleus. *Am J Physiol* 270, E787-792.

Lucas EA, Sterman MB (1975) Effect of a forebrain lesion on the polycyclic sleep-wake cycle and sleep-wake patterns in the cat. Exp Neurol 46:368-388.

Luppi PH, Aston-Jones G, Akaoka H, Chouvet g, Jouvet M (1995) Afferent projections to the rat locus coeruleus demonstrated by retrograde and anterograde tracing methods. Neuroscience 82:443-468.

Luppi PH, Gervasoni D, Boissard R (2004) Brainstem structures responsible for paradoxical sleep onset and maintenance. Arch Ital Biol 142: 397-411.

Manciapane ML, Thrasher TN, Keil LC, Simpson JB & Ganong WF (1983). Deficits in drinking and vasopressin secretion after lesions of the nucleus medianus. *Neuroendocrinology* 37, 73-77.

Manjavidze Sh, Gvetadze L and Oniani T (1987) Dynamics of Neuronal Activity of the Preoptic Area in the Sleep-Wakefulness Cycle. Bulletin of Georgian Academy of Science 13(6):365-371.

Manjavidze Sh, Oniani T, Gvetadze L and Babilodze M (1988) Dynamics of Neuronal Activity in the Lower Layers of Anterior Tubers of Lamina Quardigemia in the Sleep-Wakefulness Cycle. Physiol. Journal 34(2):3-10.

Matsumura H, Nakajima T, Osaka T, Satoh S, Kawase K, Kubo E, Kantha SS, Kasahara K, Hayaishi O (1994) Prostaglandin D2-sensitive, sleep-promoting zone defined in the ventral surface of the rostral basal forebrain. Proc Natl Acad Sci 91:11998-12002.

McAllen RM, Pennington GL & McKinley MJ (1990). Osmoresponsive units in sheep median preoptic nucleus. *Am J Physiol* 259, R593-R600.

McGinty D, Gong H, Suntsova N, Alam N, Methippara M, Guzman-Marin R, Szymusiak R (2004) Sleep-promoting functions of the hypothalamic median preoptic nucleus: inhibition of arousal systems. Arch Ital Biol 142:501-509.

McGinty D, Harper RM (1976) Dorsal raphe neurons: depression of firing during sleep in cats. Brain Res 101:569-575.

McGinty D, Sterman MB (1968) Sleep suppression after basal forebrain lesions in the cat. Science 160:1253-1255.

McGinty D, Szymusiak R (1988) Neuronal unit activity patterns in behaving animals: brainstem and limbic system. Annu Rev Psychol 39:135-168.

McKinley MJ, Cairns MJ, Denton DA, Egan G, Mathai ML, Uschakokv A, Wade JD, Weisinger RS and Oldfield BJ (2004) Physiological and pathophysiologicalinfuences on thirst. *Physiol Behav* 81, 795-803.

McKinley MJ, Gerstberger R, Mathai ML, Oldfield BJ & Schmid H (1999). The lamina terminalis and its role in fluid and electrolyte homeostasis. *J Clin Neurosci* 6, 289-301.

McKinley MJ, Hards DK & Oldfield BJ (1994). Identification of neural pathways activated in dehydrated rats by means of Fos-immunohistochemistry and neural tracing. *Brain Res* 653, 305-314.

McKinley MJ, Pennington GL & Oldfield BJ (1996). Anterior wall of the third ventricle and dorsal lamina terminalis: headquartes for control of body fluid homeostasis? *Clin Exp Pharmacol Physiol* 23, 271-281.

Mendelson WB, Martin JV, Perlis M, Wagner R (1989) Enhancement of sleep by microinjection of triazolam into the medial preoptic area. Neuropsychophram 2:61-66.

Mendelson WB, Martin JV (1992) Characterization of the hypnotic effects of triazodam microinjections into the medial preoptic area. Life Sci 50:1117-1128.

Methippara MM, Alam MN, Szymusiak R, McGinty D (2001) Preoptic area warming suppresses the discharge of neurons in the perifornical lateral hypothalamus. Sleep 24:A150.

Methippara MM, Kumar S, Alam MN, Szymusiak R, McGinty D (2005) Effects on sleep of microdialysis of adenosine A1 and A2a receptor analogs into the lateral preoptic area of rats. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 289(6):R1715-R1723.

Mignot E, Taheri S, Nishino S (2002) Sleeping with the hypothalamus: emerging therapeutic targets for sleep disorders. Nat Neurosci 5:1071-1075.

Mileykovskiy BY, Kiyashchenko LI, Siegel JM (2005) Behavioral correlates of activity in identified hypocretin/orexin neurons. Neuron 46(5): 787-798.

Modirrousta M, Mainville L & Jones B (2004) Gabaergic neurons with alpha2-adrenergic receptors in basal forebrain and preoptic area express c-Fos during sleep. Neuroscience 129(3): 803-810.

Morairty S, Szymusiak R, Thomson D, McGinty D (1993) Selective Increases in nonrapid eye movement sleep following whole body heating in rats. Brain Research 617: 10-16.

Morgan JI, Curran T (1986) Role of ion flux in the control of c-fos expression. Nature 322:552-555.

Morgan JI, Curran T (1991) Stimulus-transcription coupling in the nervous system: involvement of the inducible proto-oncogenes fos and jun. Ann Rev Neurosci 14:421-451.

Moruzzi G, Magoun HW (1949) Brain stem reticular formation and activation of the EEG. Electroeceph clin Neurophysiol 1(4):455-473.

Moruzzi G (1972) The sleep-waking cycle. Ergeb Physiol 64:1-165.

Nauta WJH (1946) Hypothalamic regulation of sleep in rats. An experimental study. J Neurophysiol 9:285-316.

Nishino S, Mishima K, Mignot E, Dement WC (2004) Sedative-hypnotics. In: Schatzberg AF, Nemeroff CB, eds. Textbook of Pharmacology. Washington DC: American Psychiatric Publishing Inc 651-670.

Nitz D, Siegel J (1996) GABA release in posterior hypothalamus across sleep-wake cycle. Am J Physiol 271:R1707-R1712.

Nitz D, Siegel J (1997a) GABA release in the dorsal raphe nucleus: role in the control of REM sleep. Am J Physiol 273:R451-R455.

Nitz D, Siegel J (1997b) GABA release in the locus coeruleus as a function of sleep/wake state. Neuroscience 78:795-801.

Obal F Jr, & Krueger JM (2003) Biochemical regulation of non-rapid-eye-movement sleep. Front Biosci 1:d520-d550.

Obal F Jr, Sary G, Alfoldi P, Rubicsek G, Obal F, (1986) Vasoactive intestinal polypeptide promotes sleep without effects on brain temperature in rats at night. Neurosci Lett 64:236-240.

Oka T, Oka K, Scammell T, Lee C, Kelly J, Nantel F, Elmquist J & Saper C (2000). Relationship of EP(1-4) prostaglandin receptors with rat hypothalamic cell groups involved in lipopolysaccharide fever responses. *J Comp Neurol* 428(1), 20-32.

Oldfield BJ, Badoer E, Hards DK & McKinley MJ (1994). Fos production in retrogradely labeled neurons of the lamina terminalis following intravenous infusion of either hypertonic saline or angiotensin II. *Neuroscience* 60, 255-262.

Oldfield BJ, Bicknell RJ, McAllen RM, Weisinger RS & McKinley MJ (1991). Intravenous hypertonic saline induces Fos immunoreactivity in neurons throughout the lamina terminalis. *Brain Res* 561, 151-156.

Oldfield BJ, Hards DK, McKinley MJ (1991). Projections from the subfornical organ to the supraoptic nucleus in the rat: ultrastructural identification of an interposed synapse in the median preoptic nucleus using a combination of neuronal tracers. *Brain Res* 558, 13-19.

Oniani T, Adams P, Molnara L, Gvetadze L, Manjavidze S, Beradze G, Mgaloblishvili M, Korczinski R, Varazashvili P (1984) Organization of Unit Activity of Limbic Structures in the Sleep-Wakefulness Cycle. Academy of Science of USSR. UDK 612.821.6:215-228.

Oniani T, Gvetadze L, Manjavidze Sh (1984) Dynamics of neuronal activity of the mesencephalic reticular nuclei in the sleep-wakefulness cycle. Neurophysiology 16(5): 678-690.

Oniani T, Gvetadze L, Manjavidze Sh (1988) Dynamics of neuronal activity of the posterior hypothalamus during alterations of the sleep-wakefulness cycles. Neurophysiology 20 (2): 160-167.

Oniani T, Darchia N, **Gvilia I** and Eliava M (1997) The peculiarities of the sleep-wakefulness cycle in Guinea Pigs. Moambe, J. of the Georgian Academy of Sciences156(1):113-116.

Oniani T, Darchia N, **Gvilia I**, Eliava M, Kochladze M and Moliadze V (1998) The effect of selective deprivation of paradoxical sleep on the sleep-wakefulness cycle in Guinea pigs. Moambe, J. of theGeorgian Academy of Sciences 158(3):495-498.

Oniani T, Darchia N, **Gvilia I**, Lortkipaniudze N, Maisuradze L, Oniani L, Eliava M and Moliadze V (1999) The effect of food deprivation on the sleep-wakefulness cycle in rodents. Moambe, J. of the Georgian Academy of Sciences 160(2):311-315.

Oniani T, Darchia N, **Gvilia I**, Lortkipaniudze N, Maisuradze L, Oniani L, Eliava M and Moliadze V (1999) The effect of food deprivation on the sleep-wakefulness cycle in rodents. Moambe, J. of the Georgian Academy of Sciences 160(2):311-315.

Oniani T, **Gvilia I**, Darchia N, Eliava M and Kochladze M (1997) Total sleep deprivation effect on the sleep-wakefulness cycle in Guinea Pigs. Moambe, J. of the Georgian Academy of Sciences 156(3):456-458.

Osaka T, Matsumura H (1994) Noradrenergic inputs to sleep-related neurons the preoptic area from the locus coeruleus and the ventrolateral medulla in the rat. Neurosci Res 19:39-50.

Pace-Schott EF, Hobson JA (2002) The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. Nat Rev Neurosci 3:591-605.

Peterfi Z, Churchill L, Hajdu I, Obal Jr F, Krueger JM & Parducz A (2004) Fos-immunoreactivity in the hypothalamus: dependency on the diurnal rhythm, sleep, gender, and estrogen. Neurosci 124: 695-707.

Peyron C, Faraco J, Rogers W, Ripley B, Overeem S, Charnay Y et al. (2000) A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains. Nat Med 6:991-997.

Peyron C, Petit JM, Rampon C, jouvet M, Luppi PH (1998) Forebrain afferents to the rat dorsal raphe nucleus demonstrated by retrograde and anterograde tracing methods. Neuroscience 82:443:468.

Peyron C, Tighe DK, van Den Pol AN, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG et al (1998) Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. J Neurosci 18:9996-10015.

Pompeiano M, Cirelli C, Tononi G (1992). Effects of sleep deprivation on fos-like immunoreactivity in the rat brain. *Arch Ital Biol* 130, 325-335.

Porkka-Heiskanen T, Strecker RE, Thakkar M, Bjorkum AA, Greene RW, McCarley RW (1997) Adenosine: A mediator of the sleep-inducing effects of prolonged wakefulness. Science 276:1265-1268.

Portas CM, McCarley RW (1994) Behavioral state-related changes of extracellular serotonin concentration in the dorsal raphe nucleus: a microdialysis study in the freely moving cat. Brain Research 648:306-312.

Radulovacki M, Virus RM, Djuricic-Nedelson M, Green RD (1984) Adenosine analogs and sleep in rats. J Pharmacol Exp Ther 228:268-274.

Ranson SW (1939) Somnolence caused by hypothalamic lesions in monkey. Arch Neurol Psychiat 41:1-10.

Reiner PB, McGeer (1987) Electrophysiological properties of cortically projecting histamine neurons of the rat hypothalamus. Neurosci Lett 73:43-47.

Roberts WW, Robinson TCL (1969) Relaxation and sleep induced by warming of the preoptic region and anterior hypothalamus in cats. Exp Neurol 25:282-294.

Sagar SM, Sharp FR & Curran T (1988). Expression of c-*fos* protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. *Science* 240, 1328-1331.

Sakai K (1986) Central mechanisms of paradoxical sleep. Brain Dev 8:402-407.

Sakai K (1988) Executive neurons of paradoxical sleep. Arch Ital Biol 126:239-257.

Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H et al. (1998) Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. Cell 92:573-585.

Sallanon M, Denoyer M, Kitahama K, Aubert C, Gay N, Jouvet M (1989) Long-lasting insomnia induced by preoptic neuronal lesions and its transient reversal by muscimol injection into the posterior hypothalamus in the cat. Neuroscience 32(3):669-683.

Sallanon M, Kitahama K, Denoyer M, Gay n, Jouvet M (1986) Insomnie de longue duree après lesions des perykarions d l'aire preoptique paramediane chez le chat. C R acad Sc Paris 303:403-409.

Saper CB, Chou TC, Scammell TE (2001) The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. Trends Neurosci 24:726-731.

Saper CB, Cano G, Scammell TE (2005) Homeostatic, circadian and emotional regulation of sleep. J Comp Neurol 493:92-98.

Satoh S, Matsumura H, Nakajima T, Nakahama K, Kanbayashi T, Nishino S et al (2003) Inhibition of rostral basal forebrain neurons promotes wakefulness and induces FOS in orexin neurons. Eur J Neurosci 17:1635-1645.

Satoh S, Matsumura H, Kanbayshi T, Yoshida Y, Urakami T, Nakajima T, Kimura N, Nishino S, Yoneda H (2006) Expression of FOS in orexin neurons during sleep induced by adenosin A(2A) agonist. Behav Brain Res, in press.

Scammel T, Gerashchenko D, Urade Y, Onoe H, Saper CB, Hayaishi O (1998) Activation of ventrolateral preoptic neurons by the somnogen prostaglandin D2. Proc Natl Acad Sci U S A 95:7754-7759.

Scammell T, Price K & Sagar S (1993). Hyperthermia induces c-fos expression in the preoptic area. *Brain Res* 618(2), 303-307.

Schmidt MH, Valatx JL, sakai K, fort P, Jouvet M (2000) Role of the lateral preoptic area in sleep-related erectile mechanisms and sleep generation in the rat. J Neurosci 20: 6640-6647.

Sharp FR, Sagar SM, Hicks K, Lowenstein D & Hisanaga K (1991). c-fos mRNA, Fos, and Fos-related antigen induction by hypertonic saline and stress. *J Neurosci* 11, 2321-2331.

Sherin JE, Elmquist JK, Torrealba F, Saper CB (1998) Innervation of histaminergic tuberomammillary neurons by GABAergic and galaninergic neurons in the ventrolateral preoptic nucleus of the rat. J Neurosci 18:4705-4721.

Sherin JE, Shiromani PJ, McCarley RW, Saper CB (1996) Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep. Science 271:216-219.

Shi L, Zhang Y, Morrissey P, Yao J & Xu Z (2006). The association of cardiovascular responses with brain c-fos expression after central carbachol in the near-term ovine fetus. *Neuropsychopharmacology (in press)*

Siegel JM (2004) The neurotransmitters of sleep. The Clin Psychiatry 65(16):4-7.

Steininger TL, Alam MN, Gong H, Szymusiak R, McGinty D (1999) Sleep-waking discharge of neurons in the posterior lateral hypothalamus of the albino rat. Brain Res 840:138-147.

Steininger T, Gong H, McGinty D, Szymusiak R (2001) Subregional organization of preoptic area/anterior hypothalamic projections to arousal-related monoaminergic cell groups. J Comp Neurol 429:638-653.

Steriade M, Hobson JA (1976) Neuronal activity during the sleep-waking cycle. Prog Neurobiol ^:155-376.

Steriade M, McCormick DA, Sejnowski TJ (1993) Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. Science 262:679-685.

Sterman MB, Clemente CD (1962) Forebrain inhibitory mechanisms: sleep patterns induced by basal forebrain stimulation in the behaving cat. Exp Neurol 6:103-117.

Sterman MB, Clemente CD (1974) In: Forebrain mechanisms for the onset of sleep. Basic sleep mechanisms. Petre-Quadens O, Schlag J eds, New York.

Suntsova N, Guzman-Marin R, Alam MN, Szymusiak R, Shouse M, McGinty D. (2003) EEG, behavioral and neuronal effects of median preoptic nucleus electrical stimulation. Sleep 26:A47.

Suntsova N, Szymusiak R, Alam MN, Guzman-Marin R, McGinty D (2002) Sleep-waking discharge patterns of median preoptic nucleus neurons in rats. JPhysiol (Lond) 543:665-667.

Susic V, Masirevic G, Totic S (1987) The effects of delta-sleep-inducing peptide (DSIP) on wakefulness and sleep patterns in the cat. Brain Res 414: 262-270.

Szymusiak R, Alam MN, Steininger TL, McGinty D (1998) Sleep-waking discharge patterns of ventrolateral preoptic/anterior hypothalamic neurons in rats. Brain Res 803:178-188.

Szymusiak R, Danowski J, McGinty D (1991). Exposure to heat restores sleep in cats with preoptic/anterior hypothalamic cell loss. Brain Res 541:134-138.

Szymusiak R, **Gvilia I**, McGinty D (2006) Hypothalamic control of sleep. Clinical Neuroscience Research (in press).

Szymusiak R, McGinty D (1986a) Sleep-related neuronal discharge in the basal forebrain of cats. Brain Res 370: 82-92.

Szymusiak R, McGinty D (1986b) Sleep suppression following kainic acid-induced lesions of the basal forebrain. Exp. Neurol 94: 598-614.

Szymusiak R, McGinty D (1989) Sleep-waking discharge of basal forebrain projection neurons. Brain Res Bull 22:423-430.

Szymusiak R, Satinoff E (1984) Ambient temperature-dependence of sleep disturbances produced by basal forebrain damage in rats. Brain Res Bull 12:295-305.

Szymusiak R, Steininger T, Alam N, McGinty D (2001) Preoptic area sleep-regulating mechanisms. Arch Ital Biol 139:77-92.

Tanaka J (1989). Involvement of the median preoptic nucleus in the regulation ofparaventricular vasopressin neurons by the subfornical organ in the rat. *Exp Brain Res* 76, 47-54.

Tanaka J and Nomura M (1993) Involvement of neurons sensitive to angiotensin II in the median preoptic nucleus in the drinking response induced by angiotensin II activation of the subfornical organ in rats. *Exp Neurol* 119, 235-239.

Tanaka J, Saito H & Kaba H (1987). Subfornical organ and hypothalamic paraventricular nucleus connections with median preoptic nucleus neurons: An electrophysiological study in the rat. *Exp Brain Res* 68, 579-535.

Thakkar MM, Strecker RE, McCarley RW (1998) Behavioral state control through differential serotoninergic inhibition in the mesopontine cholinergic nuclei: a simultaneous unit recoding and microdialysis study. J Neurosci 18:5490-5497.

Thannickal TC, Moore RY, Nienhuis R, Ramanathan L, Gulyani S, Aldrich M et al. (2000) Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. Neuron 27:469-474.

Thompson R, Swanson L (2003) Structural characterization of a hypothalamic visceromotor pattern generator network. Brain Behav Rev 41, 153-202.

Ticho SR, Radulovacki M (1991) Role of adenosine in sleep and temperature regulation in the preoptic area of rats. Pharmacol Biochem Behav 40:33-40.

Trulson ME, Jacobs BL (1979) Raphe unit activity in freely moving cats: correlation with level of behavioral arousal. Brain Res 163:135-150.

Ueno R, Ishikawa Y, Nakayama T, Hayaishi O (1982) Prostaglandin D2 induces sleep when microinjected into the preoptic area of conscious rats. Biochem Biophys Res Commun 109:576-582.

Uschakov A, Gong H, McGinty D. and Szymusiak R (2006) Sleep-active neurons in the preoptic area project to the hypothalamic paraventricular nucleus and the perifornical lateral hypothalamus. Eur. J. Neurosci, in press.

Uschakov A, McGinty D, Szymusiak R (2005) Sleep active neurons within the ventral lamina terminalis project to the bed nucleus of the stria terminalis and the lateral hypothalamus. Sleep 28:A17.

Vanni-Mercier G, Sakai K, Jouvet M (1984) Neurons specificues de l'eveil dans l'hypothalamus posterior du chat. C R Acad Sci Paris 298:195-200.

Vellucci S & Parrott R (1994). Hyperthermia-associated changes in Fos protein in the median preoptic and other hypothalamic nuclei of the pig following intravenous administration of prostaglandin E2. *Brain Res* 646(1), 165-169.

Vellucci S & Parrott R (1995). Prostaglandin-dependent c-Fos expression in the median preoptic nucleus of pigs subjected to restraint: correlation with hyperthermia. *Neurosci Lett* 198(1), 49-51.

vonEconomo C (1930) Sleep as a problem of localization. J Nerv Ment Dis 71:249-259.

Wang QP, Ochiai H, Nakai Y (1992) GABAergic innervation of serotoninergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the rats studied by electron microscopy double immunostaining. Brain Res Bull 29:943-948.

Weiss MI & Hatton GI (1990). Collateral input to the paraventricular and supraoptic nuclei in rat. I. Afferents from the subfornical organ and the anteroventral third ventricle region. *Brain Res Bull* 24, 231-238.

Wilkin LD, Gruber KA & Johnson AK (1986). Changes in magnocellular-neurohypophyseal vasopressin following anteroventral third-ventricle (AV3V) lesions. *J Cardiovasc Pharmacol* 7, 70-75.

Wisor JP, Nishino S, Sora I, Uhl GH, Mignot E, Edgar DM (2001) Dopaminergic role in stimulant-induced wakefulness. J Neurosci 21:1787-1794.

Wilkin LD, Mitchell D, Ganten D & Johnson AK (1989). The supraoptic nucleus: afferents from areas involved in control of body fluid homeostasis. *Neuroscience* 28, 573-584.

Xi M-C, Morales FR, Chase MH (1999) Evidence that wakefulness and REM sleep are controlled by a GABAergic pontine mechanism. J. Neurophysiol 82:2015-2019.

Xu Z & Herbert J (1995). Regional suppression by the lesions in the anterior third ventricle of c-fos expression induced by either angiotensin II or hypertonic saline. *Neuroscience* 67, 135-147.

Xu Z & Herbert J (1996). Effects of unilateral or bilateral lesions within the anteroventral third ventricular region on fos expression induced by dehydration or angiotensin II in the supraoptic and paraventricular nuclei of the hypothalamus. *Brain Res* 713, 36-43.

Xu Z, Torday J & Yao L (2003). Functional and anatomic relationship between cholinergic neurons in the median preoptic nucleus and the supraoptic cells. *Brain Res* 964, 171-178.

Yamuy J, Sampogna S, Lopez-Rodriguez F, Luppi PH, Morales FR, Chase MH (1995) Fos and serotonin immunoreactivity in the raphe nuclei of the cat during carbachol-induced active sleep: a double-labeling study. Neuroscience 67:211-223.

Yamuy J, Sampogna S, Morales FR, Chase MH (1998) c-fos expression in mesopontine noradrenergic and cholinergic neurons of the cat during carbachol-induced active sleep: a double-labeling study. Sleep Res Online 1:28-40.

Yang Q, Hatton G (1997) Electrophysiology of excitatory and inhibitory afferents to rat histaminergic tuberomammillary nucleus neurons from hypothalamic and forebrain sites. Brain Re 773: 162-172.

Yoshida K, McCormack S, Espana R, Crocker A, Scammell T (2006) Afferents to the orexin neurons of the rat brain. J Comp Neurol 494: 845-861.

Zardetto-Smith A, Johnson A (1995) Chemical topography of efferent projections from the median preoptic nucleus to the pontine monoaminergic cell groups in the rat. Neurosci Lett 199:215-219.

Zhang J, Obal Jr F, Zheng T, Fang J, Taishi P, Krueger J (1999) Intrapreoptic microinjection of GHRH or its antagonist alters sleep in rats. J Neurosci 19:2187-2194.

Zeitzer JM, Mignot E (2005) Sleep-Wake Mechanisms: Neurochemistry and CNS Peptides. In: SRS Basics of Sleep Guide. Sleep Research Society. Westchester, IL: 67-71.