ი. ბერიტაშვილის სახ. ფიზიოლოგიის
ინსტიტუტი

კოტარია ნატო

ვირთაგვას თავის ტვინის ლიმბურ სტრუქტურებში კაინის მჟავითა და მიო-ინოზიტოლით გამოწვეული მორფოლოგიური ცვლილებები

ბიოლოგიურ მეცნიერებათა კანდიდატის
სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

03.00.11 – ციტოლოგია, ჰისტოლოგია და ემბრიოლოგია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: *მზია ჟვანია*
ბიოლ. მეცნ. დოქტორი

თბილისი

2006

შინაარსი

თავი I. შესავალი ——— 5

თავი II. ლიტერატურის მიმოხილვა ——— 10

2.1. ეპილეფსიის ზოგადი დახასიათება ——— 10

2.2. საფეთქლის წილის ეპილეფსიაში ჩართული სტრუქტურები ——— 11

2.2.1. პირიფორმული ქერქის როლი საფეთქლის წილის ეპილეფსიაში. ეპილეფსიური კრუნჩხვებით განპირობებული ცვლილებები პირიფორმული ქერქის ციტოარქიტექტონიკაში ——— 12

2.3. ეპილეფსიების ცხოველური მოდელები ——— 14

2.3.1. ეპილეფსიის კაინის მჟავის მოდელი ——— 16

2.4. კაინის მჟავის ადმინისტრირებით გამოწვეული კრუნჩხვითი აქტივობის მორფოლოგიური კორელატები ——— 20

2.4.1.ფუნქციური შედეგები ——— 20

2.4.2. უჯრედების დაზიანება/დაღუპვა ——— 21

2.4.3. გლიოზი ——— 25

2.4.4. სპრაუტინგი ——— 28

2.5. უჯრედების დაღუპვის მექანიზმები ——— 32

2.6. მიოინოზიტოლის ზოგადი დახასითება ——— 37

თავი III. გამოყენებული მასალები და კვლევის მეთოდები ——— 40

3.1. ცხოველები ——— 40

3.2. ეპილეფსიის ექსპერიმენტული მოდელი ——— 40

3.3 ელექტრონული მიკროსკოპია ——— 41

3.4. პერფუზია ——— 41

3.5 ჰისტოქიმიური მეთოდები ——— 42

3.5.1 ნისლის მეთოდი ——— 42

3.5.2 ვერცხლით იმპრეგნაცია ——— 42

3.5.3. Timm შეღებვის ჰისტოქიმიური მეთოდი ——— 43

3.6. უჯრედების სტერეოლოგიური დათვლა ——— 44

3.7. სტატისტიკური ანალიზი ——— 45

თავი IV. მიღებული შედეგები ——— 47

4.1. ჰიპოკამპი ——— 47

4.1.1. ძირითადი უჯრედების და ინტერნეირონების რაოდენობრივი ცვლილებები ——— 47

4.1.1.1. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები ——— 47

4.1.1.2. მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები ——— 49

4.1.2. ვერცხლით იმპრეგნაცია ——— 52

4.1.2.1. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები ——— 52
4.1.2.2. მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები ——— 53
4.1.3. მაკროგლიის რაოდენობრივი ცვლილებები ——— 54
4.1.3.1. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები ——— 54
4.1.3.2. მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები ——— 55
4.2. პირიფორმული ქერქი ——— 57
4.2.1. ძირითადი უჯრედების და ინტერნეირონების რაოდენობრივი ცვლილებები ——— 57
4.2.1.1. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები ——— 57
4.2.1.2. მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები ——— 60
4.2.2. მაკროგლიის რაოდენობრივი ცვლილებები ——— 63
4.2.2.1. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები ——— 63

4.2.1.2. მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური
ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები ---------- 65
4.3. ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგი ---------- 67
თავი V. მიღებული შედეგების განხილვა ---------- 84
თავი VI. დასკვნები ---------- 95
დამოწმებული ლიტერატურა ---------- 96

თავი I. შესავალი

მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაციის განმარტებით (1973), ეპილეფსია, სხვადასხვა ეთიოლოგიის მქონე, ტვინის ქრონიკული დაავადებაა; ის ხასიათდება, ტვინის ნეირონების ჭარბი განმუხტვით განპირობებული, უცაბედი და გარდამავალი კრუნჩხვითი აქტივობით; ეს აქტივობა მრავალრიცხოვან და მრავალგვარ კლინიკურ და ლაბორატორიულ გამოვლინებებთან ასოციირდება (Gastaut, 1973). ამჟამად, მსოფლიოში აღნიშნული სენით მოსახლეობის 1-3%-ია შეპყრობილი.

სხვადასხვა ეპილეპტოგენური ფაქტორებით გამოწვეული, ეპილეპტოგენური მდგომარეობების უმნიშვნელოვანესი მახასიათებელი - სტრუქტურული ნეირონული ქსელების პლასტიკურობაა. ეს პლასტიკურობა, რომელიც უშუალოდ ასოცირდება ეპილეპტოგენეზთან, ეპილეპტოგენური წარმონაქმნების და მათი ნეირონული წრეებისა და გზების სპეციფიკურ მორფოლოგიურ ცვლილებებში ვლინდება. ამ ცვლილებებს შორის, ძირითადია: 1) ეპილეპტოგენური ზონების უჯრედების დაზიანება/დაღუპვა, 2) გლიოზი, 3) სპრაუტინგი, და 4) ნეიროგენეზი. ეპილეფსიის აღნიშნული მორფოლოგიური კორელატების დეტალური შესწავლა, ეპილეფსიის პათოგენური მექანიზმების გაშუქების აუცილებელი პირობაა.

ეპილეფსიის 40-ზე მეტ სახეობასა და სინდრომს შორის, პაციენტებში განსაკუთრებით გავრცელებული კომპლექსური პარციალური ეპილეფსიაა. კერძოდ, ეპილეფსიით დაავადებულთა დაახლოებით 2/3-ს პარციალური კრუნჩხვები გააჩნიათ, აქედან - 85%-ს - კომპლექსური პარციალური ტიპის კრუნჩხვები. ასეთი ფართო გავრცელების გამო, ნეირობიოლოგები და კლინიცისტები პარციალური ეპილეფსიის კვლევას დიდ ყურადღებას უთმობენ, მაგრამ, ეთიკური მოსაზრებების გამო, ადამიანებზე ამ დაავადების (ისევე, როგორც სხვა ტიპის ეპილეფსიების) ნეირობიოლოგიური მექანიზმების გაშუქება თითქმის შეუძლებელია; ამ მიზნისთვის ფართოდ გამოიყენება ცხოველთა შესაბამისი მოდელები.

თემის აქტუალობა. ვირთაგვებში კაინის მჟავის ინტრაპერიტონეალური, ინტრაცერებრალური ან კანქვეშ ადმინისტრირებით პარციალური ეპილეფსიის ერთ-ერთი მოდელი მიიღება. კერძოდ, გლუტამატის სტრუქტურულ ანალოგს - კაინის მჟავას (Johnston, 1974), ძუძუმწოვრების ცენტრალური ნერვული სისტემის

ნეირონებზე პოტენციური აღმაგზნებელი მოქმედება ახასიათებს. ახდენს რა გლუტამატის რეცეპტორების აქტივაციას, კაინის მჟავა უნდა განაპირობებდეს ნეირონების ხანგრძლივ დეპოლარიზაციას და შედეგად, უჯრედების სიკვდილს (Olney et al. 1974). უჯრედების დაზიანება თავდაპირველად ლიმბურ სტრუქტურებში, შემდეგ კი, ტვინის სხვა მრავალ სტრუქტურებში ვლინდება. ნეირონების მსგავსი დაზიანება პარციალური ეპილეფსიით დაავადებულ პაციენტებსაც ახასიათებთ (Ben-Ari et al, 1981, Lothman, Collins, 1981), ამიტომ აღნიშნული მოდელი მეცნიერების ინტენსიური კვლევის საგანს წარმოადგენს. მიუხედავად ამისა, არ არის ზუსტად დადგენილი ის მექანიზმი/მექანიზმები, რომელთა მეშვეობით კაინის მჟავის სისტემური ინექცია ნეირონებზე ტოქსიკურ ეფექტს ახდენს. ამ მექანიზმების დადგენის ერთ-ერთი აუცილებელი პირობაა, კაინის მჟავის ინეცირების შემთხვევაში, ტვინის წარმონაქმნების (პირველ რიგში, ლიმბური სტრუქტურების) სხვადასხვა სტრუქტურული ელემენტების დაზიანების ტემპორალური პროფილების გამოვლენა.

სტრუქტურული დარღვევები, რომლებიც პარციალურ ეპილეფსიასთან ასოციირდებიან, პირველ რიგში, ეპილეფსიურ ჰიპოკამპს უკავშირდებიან (Sloviter, 1994). ჰიპოკამპური სკლეროზი ტემპორალური წილის ეპილეფსიით დაავადებულთა განსაკუთრებით დიდ პროცენტს ახასიათებს. ამასთანავე, აღსანიშნავია, რომ საფეთქლის წილის ეპილეფსიით დაავადებული იმ პაციენტების 60-70%, რომლებიც არსებული წამლებით მკურნალობას არ ექვემდებარებიან, ჰიპოკამპის ნეირონების მნიშვნელოვანი დაზიანება გააჩნიათ (Babb, Pretorius,1993). ჰიპოკამპურ სკლეროზს ხშირად თან ახლავს ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგი (Tauck, Nadler, 1985, Sutula et al. 1989), რომელიც ეპილეპტოგენეზის და სპონტანური კრუნჩხვების განვითარებაში მონაწილეობს (Sutula et al.1994). კაინის მჟავის ადმინისტრირების შემთხვევაში, ჰიპოკამპის სკლეროზის და სპრაუტინგის ზოგიერთი თავისებურებანი კარგად არის შესწავლილი (Margerison and Corsellis, 1966; Mouritzen Dam, 1980; Babb et al., 1984; Mathern et al., 1995a; de Lanerolle et al., 1989; Robbins et al., 1991), ამასთანავე, უცნობია ჰიპოკამპის სხვადასხვა ტიპის ნეირონების პათოლოგიურ პროცესში ჩართვის ტემპორალური პროფილი. ჰიპოკამპის პარალელურად, უმნიშვნელოვანესია დაზიანებული ნეირონების სიერციითი და ტემპორალური პროფილების აღწერა სხვა ლიმბურ

სტრუქტურებშიც (ნუშისებრ კომპლექსში, ენტორინალურ ქერქში, პირიფორმულ ქერქში და სხვ.), რომლებშიც, ისევე, როგორც ჰიპოკამპში, კაინის მჟავის ზემოქმედების შედეგად, პათოლოგიური პროცესები ვითარდებიან (Ben-Ari, et al, 1981, Lothman, Collins, 1981). ეპილეპტოგენეზში, სპონტანური კრუნჩხვების განვითარებაში და ქცევით დარღვევებში ამ სტრუქტურების მონაწილეობა, ჰიპოკამპთან შედარებით, გაცილებით ნაკლებად არის ცნობილი. ერთ-ერთი ასეთი სტრუქტურა - პირიფორმული (პირველადი ყნოსვის) ქერქი ფოკალური კრუნჩხვების გენერალიზებულ კრუნჩხვებში გარდაქმნაში მონაწილებს; ამ პროცესში, მისი ფუნქციურად, მორფოლოგიურად და ქიმიურად განსხვავებული სხვადასხვა დანაყოფები სპეციფიკურ როლს ასრულებენ.

მაგრამ ეპილეფსიური მდგომარეობებით გამოწვეული უჯრედების დაზიანება/დაღუპვის პროცესის კვლევისას, უმნიშვნელოვანესია, არა მარტო ტვინის ცალკეული წარმონაქმნების ნერვულ წრეებში შემავალი სტრუქტურული ელემენტების პათოგენეზში ჩართვის ტემპორალური მახასიათებლების გამოვლენა, არამედ უჯრედების დაღუპვის მექანიზმის/მექანიზმების დადგენა. არსებობს უჯრედების სიკვდილის ორი ძირითადი, მორფოლოგიურად და ბიოქიმიურად განსხვავებული ტიპი: აპოპტოზი და ნეკროზი. ბიოქიმიური მონაცემებით, ეპილეფსიის რიგი ფორმების დროს, უჯრედები ნეკროზული ტიპით იღუპებიან (Charriaut-Marlangue and Ben-Ari, 1995; Fujikawa, 2000a; Fujikawa et al., 2000b), თუმცა, რიგ შემთხვევებში, არ გამოირიცხება აპოპტოზური მექანიზმის ჩართვა. მნიშვნელოვანია გარკვევა, თავის ტვინის უჯრედების სიკვდილის თუ რომელი მექანიზმი იჩენს თავს ტემპორალური წილის ეპილეფსიით დაავადებულ პაციენტებში? ამ საკითხის გარკვევამ, რაც სრულად მხოლოდ შესაბამის ცხოველურ მოდელებზეა შესაძლებელი, გარკვეულწილად ხელი უნდა შეუწყოს აღნიშნული დაავადების პოტენციურ მკურნალობას.

არსებული მედიკამენტებით და სხვა საშუალებებით მკურნალობას ეპილეფსიით დაავადებული პაციენტების მხოლოდ 65-70% ექვემდებარება. ამასთანავე, მკურნალობა, ძირითადად, მხოლოდ ეპილეფსიური კრუნჩხვების აღმოფხვრაშია ეფექტური, დაავადების კურა კი მეტწილად შენარჩუნებულია (Bazil,

2001). ამიტომ ინტენსიურად მიმდინარეობს ახალი ანტიეპილეფსიური და/ან ნეიროპროტექტორული საშუალებების შემუშავება.

სამკურნალო მცენარეები ხშირად წარმოადგენენ ახალი ფარმაკოლოგიური ნაერთების იდენტიფიკაციის მნიშვნელოვან წყაროს. ერთ-ერთი ასეთი მცენარის - ჩვეულებრივი წყალიკრეფიას (Aquilegia vulgaris) ექსტრაქტი უძველესი დროიდან გამოიყენება ტიბეტურ და ჩინურ მედიცინაში, როგორც ძილის მომგვრელი და ანტიეპილეფსიური საშუალება. უახლეს წარსულში ამ ექსტრაქტში იდენტიფიცირებულია ძილის გამომწვევი პეპტიდი - ოლეამიდი და მიო-ინოზიტოლი (Kuchiashvili et al. 2004). ეპილეფსიის რიგ მოდელებზე ნაჩვენები იქნა, რომ მიოინოზიტოლი აინჰიბირებს 3H მუსციმოლის დაკავშირებას GABA-A რეცეპტორებთან და ააქტივებს MK801-ის დაკავშირებას NMDA ტიპის გლუტამატის რეცეპტორებთან. ნაჩვენები იქნა, ასევე, რომ მიოინოზიტოლით დამუშავება სარწმუნოდ ამცირებს კრუნჩხვის სიძლიერეს და ზრდის არაკონვულსიური ცხოველების (ვირთაგვების) რაოდენობას. ასეთი მონაცემების საფუძველზე, ჰიპოტეზირებულია მიოინოზიტოლის ანტიეპილეფსიური ბუნება. მიოინოზიტოლის აღნიშნული თვისების სრული გაშუქებისთვის, უმნიშვნელოვანესია გარკვევა, ახდენს თუ არა მიოინოზიტოლი რაიმე ეფექტს ეპილეფსიის ძირითად მორფოლოგიურ კორელატებზე: უჯრედების დაზიანება/დაღუპვაზე, სპრაუტინგზე და სხვ.

კვლევის მიზანი და ამოცანები. ზემოთქმულიდან გამომდინარე, სადისერტაციო ნაშრომის ძირითად მიზნებად დავისახეთ:

- კაინის მჟავის ინტრაპერიტონული ადმინისტრირებით გამოწვეული, ჰიპოკამპის და პირიფორმული ქერქის სხვადასხვა ტიპის ნეირონების დაზიანების სივრცითი და ტემპორალური პროფილების გამოვლენა;
- ჰიპოკამპსა და პირიფორმულ ქერქში კაინის მჟავის ინტრაპერიტონული ადმინისტრირებით გამოწვეულ მორფოლოგიურ ცვლილებებზე მიოინოზიტოლის გავლენის შესწავლა. კერძოდ: ნეირონების დაზიანება/დაღუპვა და მიოინოზიტოლის ეფექტი შესწავლილია კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებიდან 2 საათის, 4 საათის 48 საათის, 2 კვირის და 1 თვის შემდეგ.

უჯრედების დაზიანება, რომელიც კაინის მჟავის ადმინისტრირებიდან 2 და 4 საათის შემდეგ ვითარდება, შეიძლება განხილულ იქნეს, როგორც უშუალოდ კრუნჩხვითი აქტივობით გამოწვეული ცვლილებები; 2-დღიანი ვადა კრუნჩხვითი აქტივობიდან მცირე დროის გასვლასთან ასოცირდება, ხოლო 2-კვირიანი და 1-თვიანი ექსპერიმენტული ვადებისთვის ორგანიზმში სპონტანური კრუნჩხვითი აქტივობის აღმოცენებაა დამახასიათებელი.

თავი II. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1. ეპილეფსიის ზოგადი დახასიათება

უძველესი დროიდან ეპილეფსიას მრავალმხრივი ინტერპრეტაცია ჰქონდა. ასევე მრავალმხრივი იყო მისი მკურნალობის საშუალებები. მეცხრამეტე საუკუნის ბოლომდე ის ძირითადად განიხილებოდა როგორც ღმერთის მიერ ბოძებული ავადმყოფობა. ძველი ბერძნები და რომაელები მას "morbus sacer" უწოდებდნენ. მე-19 საუკუნიდან, კლინიკური კვლევების გაუმჯობესებასთან ერთად, ეპილეფსიის განმარტება უფრო რაციონალური ხდება. 1973 წელს, ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის განმარტების თანამხად, ეპილეფსია წარმოადგენს თავის ტვინის სხვადასხვა ეთიოლოგიის მქონე ქრონიკულ დაავადებას, რომლისთვისაც დამახასიათებელია ნეირონების ჭარბი განმუხტვით განპირობებული უცაბედი კრუნჩხვითი აქტივობა; ეპილეფსია ასოცირებულია მრავალგვარ კლინიკურ და ლაბორატორიულ გამოვლინებებთან (Gastaust, 1973).

ეპილეფსიის კლასიფიკაცია ეყრდნობა დაავადების ეთიოლოგიას, კრუნჩხვების ტიპს, ელექტრო-ენცეფალოგრაფულ მონაცემებს და ეპილეფსიური კერის ანატომიურ მდებარეობას (International League against Epilepsy, 1985). კლინიკაში განსაკუთრებით ხშირად გამოიყენება ეპილეფსიის 2 კლასიფიკაცია (Dreifuss, 1989): (1) ეპილეფსიები გენერალიზებული კრუნჩხვებით და ეპილეფსიები პარციალური ან ფოკალური კრუნჩხვებით. პარციალური კრუნჩხვები აღმოცენდებიან ერთი ჰემისფეროთი შემოსაზღვრულ სპეციფიკურ ლოკუსში/ლოკუსებში, ხოლო გენერალიზებული კრუნჩხვები ტვინის გაცილებით ფართო უბნებს მოიცავენ და მათი საწყისი გამოვლინებებიც კი, ძირითადად, ბილატერალურია. პარციალურ კრუნჩხვებს შეუძლიათ გენერალიზებულ მოტორულ კრუნჩხვებში გარდაქმნა; (2) ეპილეფსიები ცნობილი ეთიოლოგიით (სიმპტომატური) და იდიოპათური ან კრიპტოგენული ეპილეფსიები. სიმპტომატური ეპილეფსიების შემთხვევაში, ავადმყოფს გააჩნია ანატომიური პათოლოგია, რომელიც განაპირობებს კრუნჩხვების განვითარებას. თავის მხრივ, იდიოპათურ ან პირველად ეპილეფსიას არ ახასიათებს

დაზიანებები, რომელთა გამოვლენა ნეიროპათოლოგიის კლასიკური მეთოდებითაა შესაძლებელი.

ამჟამად ცნობილია ეპილეფსიის და ეპილეფსიური სინდრომების 40-ზე მეტი ტიპი (International League against Epilepsy, 1985). მათი ნეირობიოლოგიური მექანიზმების გაშუქებისთვის აუცილებელია ცხოველების კრუნჩხვითი აქტივობის შესაბამისი მოდელების შემუშავება (Fisher, 1989).

2.2. საფეთქლის წილის ეპილეფსიაში ჩართულები სტრუქტურები

საფეთქლის წილის ეპილეფსიაში მედიალური საფეთქლის წილის სტრუქტურები არის ჩართული. პრიმატებში მედიალური საფეთქლის წილი წარმოდგენილია ჰიპოკამპით, ნუშისებრი კომპლექსით და გარემომცველი ქერქული ზონებით. კერძოდ, ენტორინალური, პირიფორმული, პერირინალური და პარაჰიპოკამპალური ქერქით. გაერცელებულია შეხედულება, რომ ჰიპოკამპი უმნიშვნელოვანეს და შესაძლებელია, ძირითად როლს ასრულებს იმ კომპლექსური პარციალური კრუნჩხვების გენერაციაში, რომლებიც საფეთქლის წილში აღმოცენდებიან. ასეთ შეხედულებას, პირველ რიგში, საფუძვლად უდევს აუტოფსიურ და ქირურგიული ჩარევის შედეგად ამოკვეთილ მასალაზე მიღებული შედეგები, რომელთა თანახმად, საფეთქლის წილის ეპილეფსიის მქონე პაციენტებში განსაკუთრებით დაზიანებული სწორედ აღნიშნული ზონაა. ინტრაცერებრალური ელექტროდების ჩანაწერები ასევე მიუთითებენ, რომ საფეთქლის წილის კრუნჩხვების აბსოლუტური უმრავლესობა ჰიპოკამპო-ამიგდალურ (ნუშისებრი სხეულის) ზონაში აღმოცენდება. პაციენტებში ამ ზონის ქირურგიული ამოკვეთა კრუნჩხვების მაქსიმალურ შემცირებას ან მათ ჩახშობას იწვევს. მაგრამ მიუხედავად მრავალრიცხოვანი ფაქტებისა, საფეთქლის წილის ეპილეფსიის განვითარებაში მედიალური საფეთქლის წილის სტრუქტურების კრიტიკული მონაწილეობის შესახებ, კრუნჩხვების გენეზში ცალკეული სტრუქტურების მნიშვნელობა ზუსტად დადგენილი არ არის. ამიტომ აუცილებელია ეპილეპტოგენეზის პროცესში ამ სტრუქტურების შემდგომი კვლევა,

აგრეთვე იმ ურთიერთკავშირის დადგენა, რომელიც აღნიშნული სტრუქტურების პათოლოგიასა და კრუნჩხვების გენერაციის მექანიზმებს შორის არსებობს.

2.2.1. პირიფორმული ქერქის როლი საფეთქლის წილის ეპილეფსიაში. ეპილეფსიური კრუნჩხვებით განპირობებული ცვლილებები პირიფორმული ქერქის ციტოარქიტექტონიკაში

ეპილეფსიის ძირითადი თავისებურებაა - ფოკალური კრუნჩხვების პოტენციალის ჩართვა პათოლოგიურ პროცესში, ტვინის სხვადასხვა სტრუქტურებში და კონვულსიებში გენერალიზება. გენერალიზაციის პროცესის გაშუქებისათვის, აუცილებელია იმ კრიტიკული სტრუქტურების ცოდნა, რომლებიც ფოკალური კრუნჩხვების გენერალიზებულ კრუნჩხვებში გარდაქმნას ამარტივებენ. ლიმბური წარმონაქმნი - პირიფორმული (პირველადი ყნოსვის) ქერქი ერთ-ერთი ამ სტრუქტურათაგანია. ყნოსვის ინფორმაციის მიღებასა და გადამუშავებაში უდავო მონაწილეობის გარდა, ეს ზონა - შიდა ასოციაციური კავშირების უნიკალური სისტემის და სხვა ლიმბურ ბირთვებთან კარგად განვითარებული კონტაქტების მეშვეობით, მეხსიერების პროცესებში და ამაგზნებელი ტალღების გადაცემაშია ჩართული (Loscher et al. 1995; Datische et al. 1996; Haberly, 1998: Wilson, 2001; Johnson et al.2000;). ის ფართოდ შეისწავლება პაციენტებში, სხვადასხვა ფსიქიური და ნეიროლოგიური დაავადებებით, მათ შორის, ტემპორალური წილის ეპილეფსიის დროს, რომელსაც კომპლექსური პარციალური კრუნჩხვები ახასიათებს.

არის მონაცემები, რომ პირიფორმული ქერქი, ქრონიკული კრუნჩხვების ერთ-ერთი ექსპერიმენტული მოდელის, ქინდლინგით განპირობებულ ეპილეპტოგენეზის პროცესში მონაწილეობს. კერძოდ, ტვინის "ეპილეპტოგენური" ზონების ელექტრული სტიმულაციის საპასუხოდ, მასში ადრეული "ეპილეფსიური" და ინტერიქტალური განმუხტვები აღმოცენდებიან; ნუშისებრი სხეულის ქინდლინგის დროს, პირიფორმულ ქერქში გლუკოზის უტილიზაციის მნიშვნელოვანი ზრდა აღინიშნება, ხოლო ქინდლინგის საწყის ეტაპებზე მასში ადრეული მყისიერი გენი, C-fos ინდუცირდება (Loscher et al. 1998; Schwabe K, et al. 2000; Ebert et al. 2000; Kelly et al. 2002).

ჰიპოთეზირებულია, რომ პირიფორმული ქერქის წრეები მთავარ როლს ასრულებენ ჰიპოკამპის ან ნუშისებრი სხეულის ქინდლინგის დროს, ლიმბური კრუნჩხვების გაერცელებაში, კერძოდ, მოქმედებენ, როგორც კრიტიკული გზები, რომელთა მეშვეობით ლიმბური კრუნჩხვების განმუხტვები მოტორულ სისტემას აღწევენ, თუმცა ამის პირდაპირი მონაცემები ერთეულია (Ebert et al. 2000; Kelly et al. 2002).

რიგი მონაცემების მიუხედავად, ლიმბურ ეპილეპტოგენეზში პირიფორმული ქერქის როლი, ჰიპოკამპთან და ნუშისებრ სხეულთან შედარებით, გაცილებით სუსტადაა შესწავლილი. ამის ერთ-ერთი მიზეზი აღნიშნული ზონის მორფო-ფუნქციური ჰეტეროგენურობაა, რაც, გარკვეულწილად, ართულებს ეპილეფსიის განვითარებაში მისი მნიშვნელობის დადგენას. კერძოდ, რიგი მონაცემების თანახმად პირიფორმული ქერქის ფუნქციურად, მორფოლოგიურად და ქიმიურად განსხვავებული - წინა, ცენტრალური (ტრანზიტული) და უკანა დანაყოფები, ლიმბურ ეპილეპტოგენეზში სხვადასხვა როლს ასრულებენ; რიგი ელექტროფიზიოლოგიური მონაცემები ცხადჰყოფენ, რომ კრუნჩხვების ინდუცირების მიმართ, თითოეული დანაყოფი განსხვავებულ მზადყოფნას ავლენს და სხვადასხვა ლიმბურ ზონებში აღმოცენებულ კრუნჩხვებზე საპასუხოდ, მათში სპეციფიკური პასუხები აღირიცხება (Schwabe et al. 2000; Wilson, 2001; Kelly et al. 2002). ერთეულ მორფოლოგიურ შრომებშიც, ნუშისებრი სხეულის ბაზოლატერალური ბირთვის ქინდლინგის დროს, პირიფორმული ქერქის სხვადასხვა ზონებში თვისობრივად განსხვავებული ეფექტებია აღწერილი (Loscher, Ebert, 1996). ვარაუდობენ, რომ ეპილეპტოგენეზის პროცესში განსაკუთრებით ჩართულია ცენტრალური ზონა. კერძოდ, ვირთაგვებში ქინდლინგის დაწყებამდე, პირიფორმული ქერქის წინა, ცენტრალური და უკანა ნაწილების იბოტენიტის მიკროინექციებით იზოლირებულად დაზიანებისას, აღმოჩნდა, რომ ქინდლინგის განვითარება მნიშვნელოვნად შენელებულია. ცენტრალური ზონის დარღვევის შემთხვევაში, განსაკუთრებით ეს ეხება ქინდლინგის ბოლო სტადიის - გენერალიზებული კლონური კრუნჩხვების ექსპრესიას, რომელთა გამოსავლენად ცხოველებს გაცილებით მეტი დრო სჭირდებათ. ასეთი მონაცემების მიხედვით, პირიფორმული ქერქის ცენტრალური ზონა გენერალიზებული კრუნჩხვების განვითარებაში ჩართული ნერვული სუბსტრატია; ეს გულისხმობს მის პირდაპირ ან არაპირდაპირ კავშირებს

მოტორულ სტრუქტურებთან, რომლებიც ასეთი კრუნჩხვების ექსპრესიას ხელს უწყობენ (Loscher W., Lehmann H, Ebert U, 1998).

2.3. ეპილეფსიის ცხოველური მოდელები

ეთიკური ასპექტების გამო, ეპილეფსიის ნეირობიოლოგიური მექანიზმების შესწავლა ადამიანებზე ხშირად შეუძლებელია. ასეთ საშუალებას იძლევა ადამიანის ეპილეფსიის სხვადასხვაგვარი ცხოველური მოდელები. ამ მოდელებზე მიღებული მონაცემები, უჯრედის და მოლეკულური ბიოლოგიის, აგრეთვე ნეიროფარმაკოლოგიის უახლეს მიღწევებთან ერთად, ახალი ანტიეპილეფსიური თერაპიული საშუალებების შემუშავებისთვის აუცილებელ, მეცნიერულ საფუძველს წარმოადგენენ. გარდა ამისა, ეპილეფსიების ცხოველურ მოდელებზე მიღებულმა შედეგებმა დიდწილად ხელი შეუწყვეს "ნორმალურ" ტვინში მიმდინარე პროცესების გაშუქებას.

ეპილეფსიების ცხოველური მოდელისთვის დამახასიათებელი უნდა იყოს: (1) სპონტანური უცაბედი კრუნჩხვების განვითარება; (2) კრუნჩხვების ისეთი ტიპი, რომელიც კლინიკური ფენომენოლოგიით, ადამიანის ეპილეფსიის კრუნჩხვების მსგავსია; (3) ელექტროენცეფალოგრამაზე ფიქსირებული კრუნჩხვითი აქტივობა; (4) ანტიეპილეფსიური საშუალებების პლაზმური კონცენტრაციის და ფარმაკოკინეტიკის ადამიანის მსგავსი მახასიათებლები; (5) ექსპერიმენტული მანიპულაციების ეთიკის გათვალისწინება (Losher, 1984). მრავალრიცხოვანი ახალი მოდელები ამ კრიტერიუმების მხოლოდ ნაწილს აკმაყოფილებენ, ყველა კრიტერიუმს - არცერთი. არსებობს კრუნჩხვების მოდელები და ეპილეფსიის მოდელები. კრუნჩხვა - იქტუსი - კლინიკური ან ქცევითი გამოვლინებაა, ხოლო ეპილეფსია - მდგომარეობა, რომელსაც სპონტანურად და უცაბედად აღმოცენებადი კრუნჩხვები ახასიათებს. კრუნჩხვითი განმუხტვები კრუნჩხვებს შორის ან ინტერ-იქტალურ პერიოდშიც წარმოიქმნიან. ეპილეფსიის ცხოველური მოდელების დიდი ნაწილი რეალურად ინტერ-იქტალური სპაიკების მოდელებია; კრუნჩხვების გენერაციის აუცილებელ პირობას სწორედ ეს სპაიკები წარმოადგენენ (Fisher, 1989).

მიუხედავად რიგი შეზღუდვებისა, ცხოველთა მოდელები წარმატებით გამოიყენებიან ეპილეფსიების გენეტიკური, ანატომიური, ფიზიოლოგიური, ქიმიური, ფარმაკოლოგიური და პათოლოგიური მექანიზმების შესასწავლად და ახალი ანტიეპილეფსიური საშუალებების შესამუშავებლად (Lothman, 1991). ასეთი საშუალებები ამჟამად მრავალრიცხოვანი და მრავალფეროვანია, მაგრამ ეპილეფსიების 20-30% მაინც უკურნებად ფორმებს განეკუთვნება. ამის მიზეზი სხვადასხვა ფორმების გამომწვევი, განსხვავებული და რიგ შემთხვევებში, უცნობი, პათოგენური მექანიზმებია. ფარმაკორეზისტენტობის რისკ-ფაქტორი მრავალია, მათ ნაწილს საერთო ბიოლოგიური საფუძველი გააჩნია, ძირითადად, - საფეთქლის სკლეროზი ან ფოკალური დაზიანებები. შესაძლებელია ასევე, მიკროდისგენეზი ან დისპლასტიური ქერქი, რომლისთვისაც ლოკალური წრეების ნეირონების (ინტერნეირონების) მორფოლოგიის დარღვევებია დამახასიათებელი. კრუნჩხვების ხარისხს, ძირითადად, სწორედ ასეთი დარღვევები უნდა განაპირობებდნენ. რეზისტენტობის სხვა შესაძლო მექანიზმებია: გენების გაელენით გამოწვეული სამკურნალო საშუალებების არაადექვატური ინტრაპარენქიმული კონცენტრაცია, ზოგიერთი ციტოკინით განპირობებული, უჯრედშიდა კალციუმის დონის მოჭარბება, დისტროფიული ნეირიტების ჭარბი ზრდა და სხვ. რეზისტენტობის მექანიზმების კვლევა ეპილეპტოლოგიის უმნიშვნელოვანესი ამოცანაა. მასთან უშუალოდ არის დაკავშირებული ახალი ანტიეპილეფსიური და ანტიკონვულსიური პრეპარატების შემუშავება.

პაციენტებში ეპილეფსიის განსაკუთრებით გავრცელებული ფორმა პარციალური ეპილეფსიაა. პარციალური კრუნჩხვები, ძირითადად, კლასიფიცირდებიან მარტივ და კომპლექსურ კრუნჩხვებად, იმისდა მიხედვით, ხდება თუ არა მათი გადაზრდა გენერალიზებულ მოტორულ კრუნჩხვებში, რომლებსაც ყოველთვის თან ახლავს გონების დაკარგვა. ეპილეფსიით დაავადებული ზრდასრული პაციენტების დაახლოებით 2/3-ს პარციალური კრუნჩხვები გააჩნიათ, აქედან 85%-მდე - კომპლექსური პარციალური ტიპისაა. პარციალური ეპილეფსიის მრავალი ექსპერიმენტული მოდელი არსებობს. ცხოველებში კაინის მჟავის ადმინისტრირებით გამოწვეული ეპილეფსიური მდგომარეობა ერთ-ერთი ასეთი მოდელია.

2.3.1. ეპილეფსიის კაინის მჟავის მოდელი

კაინის მჟავა გლუტამატის სტრუქტურული ანალოგია (Johnston, 1974). ის ძლიერი ნეიროტოქსინია და ძუძუმწოვრების ცენტრალური ნერვული სისტემის ნეირონებზე პოტენციური აღმაგზნებელი მოქმედება ახასიათებს (Shinozaki, Konushi, 1970). კაინის მჟავა პირველად წყალმცენარე Digeneasimplex–იდან იქნა გამოყოფილი იყო 1953 წელს და ნაწლავის ჭიების სამკურნალოდ გამოიყენებოდა (Istvan Modi, 1998). ამ წყალმცენარის სამედიცინო ეფექტი სავარაუდოდ განპირობებული იყო კაინის მჟავის მოქმედებით ნაწლავის ჭიების გლუტამატეს რეცეპტორებზე. კაინის მჟავა მალევე გახდა ნეირომეცნიერებაში ფართოდ გამოყენებადი მეთოდი. გამოითქვა მოსაზრება კაინის მჟავის შესაძლო ტოქსიკური ბუნების თაობაზე: ახდენს რა გლუტამატის რეცეპტორების აქტივაციას, კაინის მჟავა უნდა განაპირობებდეს ნეირონების ხანგრძლივ დეპოლარიზაციას და, შედეგად, უჯრედების სიკვდილს (Olney et al. 1974) ნეირონების აგზნების გამომწვევ გლუტამატის ყველა ანალოგს დენდროსომატოტოქსიკური ეფექტი ახასიათებს ამიტომ, მათ "ექსაიტოტოქსინებს" უწოდებენ (Olney et al. 1974); კაინის მჟავაც ექსაიტოტოქსინებს განეკუთვნება. კაინის მჟავის ინტრაპერიტონული, ინტრავენური, ინტრაცერებრული და კანქვეშ ინექცია იწვევს ეპილეფსიურ კრუნჩხვით აქტივობას და ნეირონების შემდგომ დაზიანებას. ეს დაზიანება თავდაპირველად ლიმბურ სტრუქტურებში, შემდეგ კი, ტვინის მრავალ უბნებში ვლინდება, თუმცა, განსაკუთრებული დარღვევები მაინც ლიმბურ წარმონაქმნებში აღინიშნება. აღსანიშნავია, რომ კაინის მჟავის ადმინისტრირებით გამოწვეული, ნეირონების დაზიანების მსგავსი სურათი საფეთქლის წილის ეპილეფსიით დაავადებულ პაციენტებშიც ვლინდება (Ben-Ari et al, 1981, Lothman, Collins, 1981). ამ ფაქტების გამო, კრუნჩხვითი აქტივობის აღნიშნულ მოდელს ასევე განიხილავენ, როგორც საფეთქლის წილის ეპილეფსიის მოდელს. ამასთანავე, კაინის მჟავა ნეირონების დაზიანებას პირდაპირი ეფექტების საშუალებითაც ახდენს (Ben-Ari, 1985). მართალია, ეპილეფსიის აღნიშნულ მოდელს წლების განმავლობაში იყენებენ, არ არის ზუსტად დადგენილი ის მექანიზმი/მექანიზმები, რომელთა მეშვეობით კაინის მჟავის სისტემური ინექცია ნეირონებზე ტოქსიკურ ეფექტს ახდენს.

კაინის მჟავის ინტრაპერიტონული ან ინტრავენური ადმინისტრირებით გამოწვეული ლიმბური კრუნჩხვები თავდაპირველად ჰიპოკამპში აღმოცენდებიან, ჩქარა ვრცელდებიან ლატერალურ ძგიდეში, ნუშისებრ სხეულში, სუბიკულურ კომპლექსში და ენტორინალურ ქერქში, შემდეგ კი, ექსტრალიმბურ ზონებში გადაიცემიან (Ben-Ari, et al, 1981, Lothman, Collins, 1981). ინტრაპერიტონული ინეცირების შემთხვევაში ვირთაგვებს უმეტეს შემთხვევებში ძალიან ჩქარა (5 წუთამდე) უვითარდებათ კატატონური პოზა "გაშეშებული" მზერით; შემდეგ ვლინდება ღეჭვითი ტიპის (მასციკატორული) მოძრაობები: თავის ქნევა, თავის, სახის, წინა კიდურების მიოკლონური "კონვულსიები" (myoclonic twitches), და მრავარიცხოვანი, თითქმის უწყვეტი "სველი ძაღლის" ტიპის რხევები. შემდეგ მოტორული კრუნჩხვითი აქტივობა პროგრესირდება და კაინის მჟავის ინექციიდან დაახლოებით 1 საათის შემდეგ გენერალიზირდება: ირთვება მთელი სხეული, იკარგება პოსტურალური კონტროლი, ვლინდება rearing. ამგვარად, ვითარდება ეპილეფსიური სტატუსი, რომელიც შეიძლება რამოდენიმე საათი გაგრძელდეს. ამასთანავე, ეეგ-რითმული სპაიკური აქტივობა, მოტორული სიმპტომების დამთავრებიდან რამოდენიმე დღის შემდეგაც შეიძლება გამოვლინდეს, ხოლო შემთხვევითი სპაიკები აღინიშნებიან სამი კვირის შემდეგ ან უფრო გვიან, კრუნჩხვების ზღურბლის ძირითადი რედუქციის პარალელურად (Tremblay, Ben-Ari, 1984). ამგვარად, კაინის მჟავის ადმინისტრირებიდან რამოდენიმე კვირის შემდეგაც, კრუნჩხვითი ზღურბლი შემცირებულია.

მიუხედავად იმისა, რომ ადამიანებში ტემპორალური წილის ეპილეფსია არა არის განპირობებული კაინის მჟავის ტოქსიურობით, მრავალ კვლევაზე დაყრდნობით შეგვიძლია ჩამოვაყალიბოთ ის უპირატესობები რაც კაინის მჟავის მოდელს გააჩნია. ქცევითი, კლინიკური და მორფოლოგიური მსგავსება შემდეგნაირია: 1) ქრონიკული, სპონტანური და რეკურენტული კრუნჩხვები; 2) ტვინის დაზიანების კლინიკა და ლატენტური პერიოდი (გრძელდება კვირები და თვეების განმავლობაში), სპონტანური კრუნჩხვითი აქტივობა (Engel, 1989; Mathern et al., 1995b); 3) ნისლით შეღებილი ჰილუსის ნეირონების და ასევე CA1 და CA3 ველების პირამიდული ნეირონების დაკარგვა (Margerison and Corsellis, 1966; Mouritzen Dam, 1980; Babb et al., 1984; Mathern et al., 1995a); 4) სომატოსტატინ-იმუნორეაქტიული

ჰილუსის ნეირონების დაკარგვა (de Lanerolle et al., 1989; Robbins et al., 1991; Mathern et al., 1995a); 5) დაკბილული ფასციის GABA-ერგული ნეირონების გაიშვიათება (Babb et al., 1989) და პარვალბუმინიმუნორეაქტიული ნეირონების მცირე ნაწილის დაღუპვა (Sloviter et al., 1991); 6) მარცვლოვანი უჯრედების აქსონების სპრაუტინგი მარცვლოვანი უჯრედების შრეში და მოლეკულური შრის გარკვეულ უბანში (de Lanerolle et al., 1989; Sutula et al., 1989; Houser et al., 1990; Babb et al., 1991; Isokawa et al., 1993; Franck et al., 1995); 7) კორელაცია ჰილუსის ნეირონების დაკარგვასა და მარცვლოვანი უჯრედების აქსონების რეორგანიზაციას შორის (Babb et al., 1991; Masukawa et al., 1995). მსგავსება ნეირონების დაღუპვასა და მარცვლოვანი უჯრედების აქსონების რეორგანიზაციას შორის ადამიანის ეპილეფსიურ დაკბილულ ფასციასა და კაინატით დამუშავებულ ვირთაგვებს და ტემპორალური წილის ეპილეფსიის სხვა ექსპერიმენტულ მოდელებს შორის მიგვანიშნებს ნეირონების ძლიერ მგრძნობიარე პოპულაციის არსებობაზე, რომლებიც შეიძლება დაიღუპონ როგორც ბუნებრივად არსებული ტარვმული მდგომარეობისაგან (როგორებიცაა – ეპილეფსიური სტატუსი, თავის ტრამვა, ცერებრული ინფეფციები), ისე ექსპერიმენტული ჩარევითაც (როგორებიცაა – კაინის მჟავის ან პილოკარპინის ტოქსიკურობა და პერფორანტული გზის ელექტრული სტიმულაცია). ნეირონების ამ მოწყვლადი პოპულაციის დაღუპვამ შეიძლება გამოიწვიოს მოვლენების მთელი კასკადის ინიცირება, რომელიც საბოლოოდ კრუნჩხვის ზღურბლის შემცირებას გამოიწვევს. ასევე არსებობს ფუნქციური მსგავსებები კაინატით დამუშავებულ ვირთაგვების დაკბილულ ფასციასა და ტემპორალური წილის ეპილეფსიით დაავადებული ადამიანის დაკბილულ ფასციას შორის. კაინატით დამუშავებული ვირთაგვების უმრავლესობა ამჟღავნებს გაძლიერებულ ინჰიბიციას (Milgram et al., 1991; Paul S. Buckmaster et al. 1997), მაგრამ ზოგიერთები აჩვენებენ მკვეთრ ჰიპერაგზნებად პასუხებს და ინჰიბიციის აშკარა დაკარგვას. ამის მსგავსად ადამიანის ეპილეფსიური ჰიპოკამპის ქსოვილის შესწავლა აჩვენებს ძლიერ ინჰიბიციას შემთხვევათა უმრავლესობაში, მაგრამ ასევე არსებობს შემთხვევები ჰიპერაგზნებით და შემცირებული ინჰიბიციით (Isokawa-Akesson et al., 1989; Knowles et al., 1992; Urban et al., 1993; Schwartzkroin, 1994; Williamson, 1994; Franck et al., 1995; Uruno et al., 1995).

დაბალი კონცენტრაციისას კაინის მჟავა გლუტამატის, 3 იონოტროპული რეცეპტორიდან ერთ-ერთის, კაინის მჟავის რეცეპტორის აგონისტია. ერთ-ერთი პირველი უბანი სადაც სინაფსურად გააქტიეებილი კაინატის რეცეპტორების იდენტიფიცირება მოხდა იყო ჰიპოკამპის CA3 ველი (Castillo, P. E., et al. 1997; Vignes, M. & Collingridge, G. L. , 1997), სადაც პირამიდული ნეირონები ხავსიანი ბოჭკოებიდან ამაგზნებელ სტიმულაცის იღებენ. კაინის მჟავის პასუხი პირამიდულ ნეირონებში შეიძლება ხავსიანი ბოჭკოების განმეორებითი სტიმულაციით აღიძრას. GluR6 სუბერთეულით (Mulle, C. *et al*. 1998) ნულ მუტანტ თაგვებში ეს პასუხი არ აღიძრება, რაც გვაფიქრებინებს, რომ Glur6 შემცველი რეცეპტორები ჩართული არიან ამ სინაფსების ტრანსმისიაში. ამასთან ერთად Glur6 ნულ მუტანტ თაგვებს კაინის მჟავის ინექციის შედეგად მნიშვნელოვნად აქვთ შემცირებული უჯრედების დაზიანების ხარისხი. კაინის მჟავის რეცეპტორების აქტივაცია განმეორებითი სტიმულაციის გზით არ არის საკმარისი კაინის მჟავის ნეიროტოქსიკური ან ეპილეპტოგენური ეფექტის ასახსნელად. კაინის მჟავის დამაზიანებელი ეფექტის ასახსნელი დამატებითი გასაღები მოგვცა იმ აღმოჩენამ, რომ კაინის მჟავის ინექცია იწვევს CA1 ველის პირამიდულ უჯრედებში აღრიცხულ სტიმულით აღძრულ ინჰიბიტორულ პოსტსინაფსური პოტენციალის (IPSPs) არც თუ მცირე შემცირებას. ამგვარად კაინატის რეცეპტორების აქტივაციას შეუძლია გამოიწვიოს ორმაგი დარტყმა პირამიდულ უჯრედებზე. GABA-ერგული ინჰიბიცია მცირდება და უჯრედები რჩებიან დაუცველი იმ ჰიპერაგზნების მიმართ, რომელსაც გლუტამატი კაინის მჟავის რეცეპტორებზე ახდენს.

Cossart at al. (1998) მიერ დაწყებული იყო იმ ინტერნეირონების ტიპების კვლევა, რომლებიც კაინის მჟავით ზიანდებიან. ჰიპოკამპის ინტერნეირონებს აღმოაჩნდათ საოცარი ანატომიური და ფუნქციური არაერთგვაროვნება. აქედან გამომდინარე ძალიან მნიშვნელოვანია კაინის მჟავის რეცეპტორების აქტივაციის ტიპის განსაზღვრა ინტერნეირონების ყოველი კლასისათვის. ასევე დიდი მნიშვნელობა აქვს იმის განსაზღვრას, ახდენენ თუ არა სხვადასხვა კლასის ინტერნეირონები კაინის მჟავის რეცეპტორის განსხვავებული სუბერთეულების ექსპრესიას, რაც თავის მხრივ მნიშვნელოვანი იქნება ახალი თერაპიული გზების ძიებისათვის.

2.4. კაინის მჟავის ადმინისტრირებით გამოწვეული კრუნჩხვითი აქტივობის მორფოლოგიური კორელატები

კლინიკური და ექსპერიმენტული ეპილეფსიების სხვადასხვა ფორმების ძირითადი მორფოლოგიური კორელატებია: (1) უჯრედების დაზიანება/დაღუპვა; ეს პროცესი კრუნჩხვითი აქტივობის განვითარებიდან ძალიან მალე ვლინდება: თავდაპირველად, ჰიპოკამპში (ჰიპოკამპალური სკლეროზის სახით), შემდეგ - სხვა ეპილეპტოგენურ ზონებში; (2) გლიოზი - ასტროციტების ჰიპერტროფია/პროლიფერაცია და მაკროფაგების გააქტიურება; ვითარდება უჯრედების დაღუპვის თითქმის იმავდროულად ან მცირე დროის გავლის შემდეგ; (3) სპრაუტინგი - ეპილეპტოგენური ზონების სხვადასხვა ტიპის ნეირონების, პირველ რიგში, დაკბილული ხვეულის მარცვლოვანი უჯრედების აქსონების რეორგანიზაცია, რომელიც ხელს უწყობს ჰიპერაგზნების მოჭარბებას; სპრაუტინგი კრუნჩხვითი აქტივობის განვითარებიდან გარკვეული დროის (ეპილეფსიის ფრომაზე დამოკიდებულებით: 2 კვირა - 1 თვე) შემდეგ ვითარდება; (4) ნეიროგენეზი - ზოგიერთ ეპილეპტოგენურ ზონებში (პირველ რიგში, დაკბილულ ხვეულში) უჯრედების დაღუპვის თითქმის პარალელურად ან მცირე დროის გავლის შემდეგ იწყება. კაინის მჟავის ადმინისტრირებით გამოწვეული ეპილეფსიური აქტივობის დროს, ოთხივე მორფოლოგიური კორელატი ვლინდება.

2.4.1. ფუნქციური შედეგები.

ნორმალურ ჰიპოკამპში პირამიდულ ნეირონებს აქვთ რეკურენტულ ამაგზნებელ კონტაქტები ორიენტული შრის ინტერნეირონებთან, წარმოქმნიან რა ფიდბექ ინჰიბიციას. კაინის მჟავის ადმინისტრირების შემდეგ ორიენტული შრის უჯრედების ფართო პოპულაცია იკარგება, ხოლო რადიალური შრის ინტერნეირონები არიან ნაწილობრივ დეაფერენტირებულები, რაც ამცირებს შემაკავებელ გადაცემას პირამიდულ ნეირონებზე. იმის გამო, რომ ორიენტული შრისა და ალვეუსის ზოგიერთი ინტერნეირონების აქსონები სელექტიურად პროეცირდებიან ლაკუნოზო-მოლეკულურ შრეში, სადაც ტემპოროამონური გზის აფერენტები ქმნიან სინაფსებს პირამიდული უჯრედების დისტალურ დენდრიტებზე, ორიენტული შრისა და

ალეევსის უჯრედების დაკარგვის ფუნქციური შედეგი CA1 ველის კავშირებში შეიძლება იყოს ტემპოროამონური გზის დისინჰიბიცია. პირამიდული უჯრედების აქსონების სპრაუტინგი და ახალი სინაფსების ფორმირება ასევე ხდება CA1 ველში (დაკბილულ ფასციაში ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგის ანალოგია). ამგვარად კაინის მჟავის ადმინისტრირებისას CA1 ველის პირამიდულმა უჯრედებმა ასევე შეიძლება გაზარდონ სხვა პირამიდული უჯრედების და/ან გადარჩენილი ინტერნეირონების ფიდბეკ აგზნება, რაც ხელს შეუწყობს ქსელის ჰიპერსინქრონიზებას. კვლევებმა აჩვენეს, რომ ახალგაზრდა ვირთაგვებში კაინის მჟავის ადმინისტრირებისას არ მინდინარეობს პირამიდული ნეირონების დაღუპვა, ამის საპირისპიროდ ადგილი აქვს ინტერნეირონების სელექტიური დაღუპვას.

2.4.2. უჯრედების დაზიანება/დაღუპვა.

როგორც აღინიშნა, უჯრედების დაზიანება/დაღუპვა ეპილეფსიის მორფოლოგიური კორელატებიდან ყველაზე ადრე ვლინდება. ამ პროცესს უკავშირდება ეპილეპტოლოგიის უმნიშვნელოვანესი კითხვებია: რა რაოდენობის კრუნჩხვითი აქტივობაა საჭირო უჯრედების დაზიანების პროეცირებისთვის და არის თუ არა საფეთქლის წილის ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი, უჯრედების დაღუპვის პროცესი კრუნჩხვითი აქტივობის შედეგი თუ ის თვითონ განაპირობებს კრუნჩხვით აქტივობას? ამ კითხვებზე უპირობო პასუხი ეხლაც არ არსებობს, თუმცა მეცნიერების დიდი ნაწილი ფიქრობს, რომ უჯრედების დაზიანება/დაღუპვა შეიძლება წარმოადგენდეს კრუნჩხვითი აქტივობის, როგორც შედეგს, ასევე მიზეზს.

კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შემთხვევაში, უჯრედების დაზიანების შესწავლა 80-იან წლებში დაიწყეს. ამ პროცესის პირველი ნიშნები უკვე 1-4 საათის შემდეგ ჩნდებიან; დეგენერირებული უჯრედების განსაკუთრებული კონცენტრაცია ჰიპოკამპში, სუბიკულუმში, თალამუსში, ნუშისებრ კომპლექსში და ქერქის (პირველ რიგში, პარაჰიპოკამპალური ქერქი) სხვა უბნებში (Schwob et al., 1980). ვინაიდან ძირითადი და განსაკუთრებით ადრეული ცვლილებები საფეთქლის წილის სტრუქტურებშია, ამიტომ კაინის მჟავის ადმინისტრირებით გამოწვეულ

კრუნჩხვით აქტივობას ავტორები განიხილავდენ, როგორც საფეთქლის წილის ექსპერიმენტულ მოდელს (Schwob et al., 1980).

ასევე, 80-იანი წლეში, გამოითქვა მოსაზრება, რომ კაინის მჟავის ინტრაპერიტონული, ინტრაცერებრალური ან ინტრავენური ინეცირებით გამოწვეული ტვინის ეპილეპტოგენური სტრუქტურების ნეირონების დაზიანების ხარისხი, პირველ რიგში, დამოკიდებულია კრუნჩხვითი აქტივობის ხანგრძლივობაზე (O'Shaugnessey, Gerber, 1986, Sater, Nadler, 1987). მაგალითად, აღმოჩნდა, რომ დაზიანებული ნეირონების განლაგება გაცილებით უფრო კორელირებს კრუნჩხვითი აქტივობის გავრცელებასთან (რაც 2-დეოქსიგლუკოზის შთანთქმით და ელექტროგრაფიული ჩანაწერებით ელინდება), ვიდრე კაინატის რეცეპტორების მდებარეობასთან (Ben-Ari et al., 1981, Lothman and Collins, 1981, Miller et al., 1990, Werner et al. 1991) ან ტვინის ქსოვილში კაინის მჟავის გავრცელებასთან (Nadler, et al. 1980). რიგი ექსპერიმენტული და კლინიკური მონაცემების თანახმად, კაინის მჟავის ადმინისტრირებით გამოწვეული ტოქსიკურობის აუცილებელ პირობას სპეციფიკური აღმაგზნებელი გზების არსებობა წარმოადგენს (Ben-Ari, 1980, Nadler and Cuthlertson, 1980). კერძოდ, როდესაც ვირთაგვებში კაინის მჟავით გამოწვეული, ეპილეფტოფორმული აქტივობის პრევენციის მიზნით, დიაზეპამის ინექცია გამოიყენეს, მნიშვნელოვნად შემცირდა უჯრედების დაღუპვის კლინიკური ნიშნებიც (Ben-Ari, 1980). აღსანიშნავია, რომ კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული, დაზიანებული ნეირონების გავრცელების სურათი თითქმის იდენტურია იმ სურათისა, რომელიც ადამიანსა და ვირთაგვებში ქინდლინგის, პერფორანტული გზის, ნუშისებრი კომპლექსის ლატერალური ბირთვის სტიმულაციით, ან რომელიმე სხვა ეპილეპტოგენური ფაქტორით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის დროს აღინიშნება. ასეთი ტიპის მონაცემების თანახმად, დაზიანებული ნეირონების გავრცელება კაინის მჟავის პირდაპირ ეფექტზე დამოკიდებული არ უნდა იყოს (Sloviter, 1983, Fujikawa et al. 1994, Nissinen, Halonen, Koivisto, Pitkanen, 2001). კაინის მჟავა ჰემატოენცეფალურ ბარიერს ძალიან თავისუფლად ვერ გადის (Berger et al. 1986). ასევე გამოთვლილია, რომ ტვინში არსებული მისი კონცენტრაცია საკმარისია CA3 ველში განმუხტვის გამოსაწვევად, მაგრამ თითქმის ორჯერ მცირეა იმ კონცენტრაციაზე, რომელიც უშუალოდ

ნეირონების დაზიანებას იწვევს (Robinson, Deadwyler, 1981, French et al., 1982). ამგვარად, მოსაზრება, რომ კაინის მჟავის ადმინისტრირების შემთხვევაში, დაზიანებული ნეირონების უმრავლესობა ხანგრძლივი ეპილეფსიური კრუნჩხვითი აქტივობის შედეგს უფრო წარმოადგენს, ვიდრე ამ ნივთიერების უშუალო ციტოტოქსიკურ ეფექტს, მრავალ კლინიკურ და ექსპერიმენტულ მონაცემებს ეყრდნობა.

კაინის მჟავის ადმინისტრირების შემთხვევაში, უჯრედების დაღუპვის პროცესი განსაკუთრებით კარგად ჰიპოკამპშია (ჰიპოკამპალური სკლეროზი) აღწერილი. შედარებით ადრეული მონაცემებით, ის 1-4 საათის შემდეგ ვითარდება და, პირველ რიგში, C1 და C3 ველებსა და დაკბილული ხვეულის ჰილუსში ლოკალიზდება.

თავდაპირველად, ჰიპოკამპური სკლეროზი განიხილებოდა, როგორც ტემპორალური წილის ეპილეფსიის დროს, ჰიპოკამპის პირამიდული უჯრედების დაზიანება, რაც მარცვლოვანი უჯრედების შენარჩუნების ფონზე ხდებოდა (Conselis, Medium, 1976). ამასთანავე, ჰიპოკამპზე დამოკიდებულ ქცევასა და ეპილეპტოგენეზზე, კლინიკურად ან ექსპერიმენტულად გამოწვეული ამონის რქის სკლეროზის ეფექტი განპირობებულია, არა მარტო უჯრედების და მათი კავშირების დაზიანება/დაღუპვით, არამედ, ასევე, ამ დაზიანებით გამოწვეული, სინაფსური რეორგანიზაციით.

ასეთი რეორგანიზაცია ეპილეფსიით დაავადებულ პაციენტებში აღწერილია ძალიან ადრე (de Lorenzo, Glaser, 1061; De Lorenzo et al. 1982).

ეს მონაცემები დასტურდება ადამიანის ქირურგიულად ამოკვეთილი ჰიპოკამპის ნიმუშების ანალიზისას. კერძოდ ნიმუშების უმრავლესობას ახასიათებდა ჰიპოკამპური ატროფია, რომელიც გამოხატულ იყო დაკბილული ფასციის ჰილუსის ნეირონების და CA1 და CA3 ველის პირამიდული უჯრედების დიდი რაოდენობის დაკარგვით. შემთხვევათა უმრავლესობაში (Cossart R. 1998), ჰილუსის ნეირონების და პირამიდული უჯრედების მხოლოდ მცირე ნაწილი ნარჩუნდება, თუმცა უჯრედების დაღუპვის ფარგლები მნიშვნელოვნად ვარირებს (Williams S., et al. 1993).

ნავარაუდები იყო, რომ უჯრედების ნაწილობრივი დაკარგვა და აქედან გამომდინარე აგზნება/შეკავების დისბალანსი ახდენდა CA1 ველის პირამიდული ნეირონების ჰიპერაგზნების კომპენსირებას (Nadler J.V. 1981; Cossart R. et al. 2001).

თუმცა ინჰიბიტორული ფუნქციის დეფიციტი ტემპორალური წილის ეპილეფსიის კაინის მჟავისა და პილოკარპინის მოდელებში მხოლოდ ნაწილობრივია (Frank J.K. et al. 1988; Esclapez M. et al. 1999).

კაინის მჟავის, როგორც გლურამატის რეცეპტორების აგონისტის, მოქმედება კონცენტრაციაზეა დამოკიდებული და მომდინარეობს გლუტამატის იონოტროპული რეცეპტორების, AMPA და KA სუბტიპების აქტივაციის გზით. ის აძლიერებს ჰიპოკამპის ძირითადი უჯრედების აგზნებადობას როგორც მემბრანის განელადობისა და დეპოლარიზაციის გაზრდის, ისევე შემაკავებელი ტრანსმისიის დათრგუნვის გზით (Fisher R.S. et al. 1984; Ben-Ari Y. et al. 1988).

კაინის მჟავის სუბმიკრომოლური კონცენტრაცია იწვევს CA1 ველის ინტერნეირონების პირდაპირ და სელექტიურ პოსტსინაფსურ აგზნებას. რაც თავის მხრივ აპირობებს პირამიდული უჯრედების სპონტანური შეკავების გაზრდას (Cossart R. et al. 1998; Frerking M. et al. 1998; Sanon N. et al. 2005). გარდა ამისა, კაინატის რეცეპტორები პრესინაფსურად ახდენენ ტრანსმიტერის გამოყოფის მოდულირებას.

უახლეს ნაშრომებში ნანახი იყო უჯრედების დაკარგვა ორიენტალ შრესა და ალვეუსში კაინის მჟავის ადმინისტრირების შემდეგ, როგორც ახალგაზრდა, ისე ზრდასრულ ვირთაგვებში (Renaud J. et al. 2002). მრავალი კვლევა მიუთითებს კაინის მჟავის ინტრაპერიტონიული ადმინისტრირებისას GAD-პოზიტიური უჯრედების დაკარგვაზე ორიენტალურ შრესა და ალვეუსში (Morin F. et al. 1998). უფრო მეტიც, როგორც ახალგაზრდა, ისე ზრდასრული ვირთაგვას ტვინში ნანახი იქნა, რომ კაინის მჟავისადმე ყველაზე უფრო მგრძნობიარეა სომატოსტატინ- და პარვალბუმინ-პოზიტიური უჯრედები,. მაგრამ აღსანიშნავია ის ფაქტიც, რომ ინტერნეირონების დაღუპვა უფრო ძლიერად ახალგაზრდა ცხოველებში იყო გამოხატული. ამისგან განსხვავებით CA3 ველის პირამიდული უჯრედები ახალგაზრდა ცხოველებში გაცილებით რეზისტენტულია კაინის მჟავის მოქმედებისადმი და პირიქით, ძალიან მგრძნობიარეა ზრდასრულ ცხოველებში.

ბოლო წლების ნაშრომებმა აჩვენა, რომ ეპილეფსიურ ტვინში ჰოპოკამპის CA1 ველი არის ის უბანი სადაც აღინიშნება როგორც უჯრედების მნიშვნელოვანი დაკარგვა, ასევე კრუნჩხვისადმი გაზრდილი მგრძნობელობა. პირამიდული უჯრედების აქსონების სპაუტინგი და CA1 ველის ნეირონების სელექტიური

დაკარგვის ერთობლიობა საავარაუდოდ ტემპორალური წილის ეპილეფსიის განვითარების მნიშვნელოვანი კომპონენტია (Bretn N. Smith and F. Dudek, 2000). ხშირად CA1 ველის პირამიდული უჯრედების რაოდენობა ძალიან არის შემცირებული როგორც ადამიანებში ტემპორალური წილის ეპილეფსიით, ისე ცხოველების ექსპერიმენტულ მოდელებში. კაინის მჟავისა და პილოკარპინის ტემპორალური წილის ეპილეფსიის მოდელებში, CA1 ველში ასევე იყო ნანახი შემაკავებელი ნეირონების სელექტიური დაკარგვა.

2.4.3. გლიოზი

გლიოზი როგორც კლინიკური, ისე ექსპერიმენტული ეპილეფსიის სხვადასხვა ფორმების უმნიშვნელოვანესი მორფოლოგიური კორელატია. ის ეპილეპტოგენური სტრუქტურების იმ უბნებისთვის არის მეტად დამახასიათებელი სადაც ნეირონების დაღუპვა განსაკუთრემით მძფრად არის გამოხატული (Bachoo R.M. et al. 2004; Girardi E. et al. 2004; Seifert G. et al. 2004; Vessal M. 2005). პირველ რიგში ასეთ სტრუქტურებს განეკუთვნება ჰიპოკამპი, რომლის სკლეროზიც ეპილეფსიური აქტივობის ძალიან ადრეულ ეტაპზე იწყება (Covolan L. et al. 2000; Mody I. 1999; Vida L. et al. 2000). თუმცა არის მონაცემები, რომ უჯრედების დაღუპვა არ არის აუცილებელი პირობა ასტროგლიოზის განვითარებისთვის (Girardi E. et al. 2004).

ცნობილია, რომ ასტროციტებზე განლაგებულია გლუტამატისა და გაემ-ის – ამაგზნებელი და შემაკავებელი ნეიროტრანსმიტერების - მრავალრიცხოვანი რეცეპტორები, რომელთა თანაფარდობის დარღვევაც პირველ რიგში აპირობებს კრუნჩხვითი აქტივობის განვითარებას (Bachoo R.M. et al. 2004; Seifert G. et al. 2004; Vessal M. 2005).

ვარაუდობენ, რომ ნორმალურ თავის ტვინში ასტროციტები, რომლებზეც გლუტამატისა და გაემ-ის მრავალრიცხოვანი რეცეპტორები არის განლაგებული, წარმოადგენენ იმ ძირითადი მექანიზმის სუბსტრატს რომლის გზითაც ხდება ნეირონებიდან გამოყოფილი გლუტამარის დეგრადაცია და რეციკლირება (Bachoo R.M. et al. 2004; Girardi E. et al. 2004). პათოლოგიის დროს ასტროციტების ეს ფუნქცია ირღვევა. ასე მაგალითად, ჰიპოკამპის სკლეროზისას გლუტამატი ასტროციტების

ხანგრძლივ დეპოლარიზაციას უნდა იწვევდეს, და ამგვარად ხელს უწყობდეს კრუნჩხვითი აქტივობის გენერაციასა და გავრცელებას (Vida L. et al. 2000). გარდა ამისა ასტროციტებში განლაგებულია სპეციფიკური ქიმიური არხები, რომლებიც ზემოქმედებენ ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში გლუტამატის ექსტრაცელულარულ დონეზე, რაც თავის მხრივ ზემოქმედებას უნდა ახდენდეს ტვინის ფუნქციონირებაზე როგორც ნორმაში, ისე მოცემული ტრანსმიტერის მეტაბოლიზმის დარღვევისას. მაგალითად, გლუტამატის "შთანთქმის" შემცირებისას, ექსტრაცელულარულ სივრცეში ამ ტრანსმიტერის მაღალი კონცენტრაციები უნდა დარჩეს, რასაც პოტენციურად შეუძლია გამოიწვიოს ნეირონების ჰიპერაგზნება და ექსაიტოტოქსიურობის გზით მათი დაღუპვა. თუმცა, უჯრედშორისი სივრცის გალუტამატისგან "გაწმენდის" ეფექტმა (შესაძლოა ამან ასახვა ჰპოვოს გლიოციტების რიცხვის ზრდისას), ირიბი გზით ასევე შეიძლება გამოიწვიოს ნეირონების ჰიპერაქტივობა. ეს პროცესი სავარაუდოდ უნდა მიმდინარეობდეს კომპენსატორული მექანიზმების ჩართვის გზით, რომლებიც ხელს უწყობენ სინაფსურ ნაპრალში ტრანსმიტერის გარკვეული დონის შენარჩუნებას.

ნეიროგენეზის აქსელერაციის პერიოდს თითქმის ემთხვევა კრუნჩხვებზე საპასუხოდ, გლიური ელემენტების რეაქცია. ის კრუნჩხვითი აქტივობიდან დაახლოებით მესამე დღიდან იწყება და ძალიან მალე აღწევს მაქსიმალურ პიკს. როგორც ცხოველების მოდელებისთვის, ასევე ეპილეფსიით დაავადებული პაციენტებისთვის, ასტროციტების და მიკროგლიის პასუხები ჰიპოკამპური სკლეროზის უმნიშვნელოვანესი კომპონენტებია (Khurgel and Yvi, 1996; Lynch et al. 1996). ასტროციტების პასუხები მათი მორფოლოგიის და გენების ექსპრესიის ცვლილებებში, ასევე პროლიფერაციაში გამოიხატებიან. ამ რეაქტიულ პროცესებში ციტოკინებს აქტიური მონაწილეობა შეუძლიათ. მართლაც, ჯანმრთელ ცხოველებშიც კი, ასტროგლიოზის სხვადასხვა ასპექტების გამოწვევა სხვადასხვა ციტოკინების ინეცირებით, მაგალითად, CNTF-ით ან IL-1-ით (Giulian et al. 1994) არის შესაძლებელი. არის ასევე მონაცემები, რომ, კრუნჩხვების შედეგად, ასტროციტების აქტივაციაში LIF და GFAP მონაწილეობენ. მართალია, ზუსტად არ არის ცნობილი ასტროციტების აქტივაციით განპირობებული ეფექტები, არის რამოდენიმე გზა, რომელთა მეშვეობით ამ პასუხს შეუძლია გამოიწვიოს კრუნჩხვების შემდეგ,

მოკლე- და გრძელვადიანი "გაუმჯობესება". სულ მცირე, შესაძლებელია, რომ ასტროციტების გარკვეულმა სუბპოპულაციამ ხელი შეუშალოს რეგენერაციული ნეირიტების გაერცელებას, რასაც ის ზედაპირზე შემაკავებელი მოლეკულების ექსპრესიით ახერხებს (Hatten et al. 1991; Eddleston, Micke, 1993; Fawcett, 1997; Ridet et al. 1997; Stichel, Uller, 1998). ასტროციტული რექციის აღნიშნული ასპექტი შესაძლებელია უმნიშვნელოვანესი იყოს აქსონების აბერანტული ზრდისთვის, რომელიც დაკბილულ ფასციაში გლიური პასუხის მაქსიმალური გამოელენიდან ძალიან მალე იწყება. ასტროციტები CA3 ველში (მარცელოვანი უჯრედების ნორმალური ინერვაციის ადგილი), შესაძლებელია წარმოადგენდნენ "აკრძალულ" გარემოს ხავსიანი ბოჭკოებისთვის, ამგვარად, ხავსიანი ბოჭკოები იძულებულები იქნებიან აბერანტული, მაგრამ უფრო დასაშვები სპრაუტირებისთვის, გარემომცველ დაკბილულ ფასციაში. მართლაც, Repressa et al. ამ ორ მეზობელ ზონაში ასტროციტების პროლიფერაციის სხვადასხვა ხარისხი და განსხვავებული ზედაპირული ანტიგენური პროფილები აღწერეს, რაც იმის მანიშნებელია, რომ გლიური რეაქცია ჰომოგენური არ არის.

და ბოლოს, ტვინის დაზიანებების და ინსულტების დროს, რეაქტიული ასტროციტები თვითონ წარმოადგენენ ციტოკინების წარმოქმნის წყაროს (Benveniste, 1992; Eddleston, Mucke, 1993; Ridet el. 1997). აქტივირებული ასტროციტებით წარმოქმნილი ციტოკინები თვითონ აფართოებენ კრუნჩხვების შედეგად წარმოშობილი ციტოკინების ქსელს. მრავალ ფაქტორს, რომლებსაც ასტროციტები წარმოშობენ, CNTF, IL-6, TGFbeta და IL-6-ის ჩათვლით, აუტოკრინული გზით შეუძლიათ ასტროციტების პროლიფერაციის, მიგრაციის, მორფოლოგიის და ადეზიის აფექტირება. ამასთანავე, ასტროციტებში წარმოქმნილი ციტოკინები მეზობელ ნეირონების ფიზიოლოგიაზე გავლენას პარაკრინული გზითაც ახდენენ (Miller et al. 1991; Plata-Salaman, French-Mullen, 1992; Yu, Shinnick-Gallagher, 1994; Oliet et al. 1995; Gadient, Otten, 1997; Gruol, Nelson, 1997; Campbell , Lynch, 1998; Yankowski, Patterson, 2000).

მიკროგლია ასევე პასუხობს კრუნჩხვებზე პროლიფერაციით და მორფოლოგიისა და გენური ექსპრესიის ცვლილებებით (Niquet et al. 1994). ასტროციტებისგან განსხვავებით, რომლებიც აქტივაციის შედეგად, ჰქმნიან

ნეირონების გადარჩენის ხელშემწყობ პროდუქტებს, მიკროგლიის მიერ სეკრეტირებული ფაქტორები, ინ ვიტრო ზოგიერთ პირობებში მაინც, ნეიროტოქსიურებია (Giulian, 1993). ციტოკინებს შეუძლიათ გავლენა მოახდინონ მიკროგლიის აქტივაციაზე და მათ მიერ სეკრეტირებული პროდუქტების პროფილზე (Gehrmann et al. 1995; Gebicke-Haerter et al. 1996). მაგალითად, TNF-ის სიგნალირების გარეშე, მიკროგლიის პასუხი კრუნჩხვებზე მცირდება ან ქრება (Bruce et al. 1996). ამგვარად, ასტროციტებსა და მიკროგლიაში ციტოკინების სტიმულაციის პაექრობის შედეგი განაპირობებს მეზობელი უჯრედების ბედს (Giulian, 1993). მიუხედავად ამისა, მაინც შეიძლება ითქვას, რომ არ არის არაფერი ცნობილი მიკროგლიის პასუხების როლზე კრუნჩხვით პათოლოგიაში in vivo.

4.2.4. სპრაუტინგი

როგორც ეპოლეფსიით დაავადებულ პაციენტნებში, ასევე, ეპილეფსიის ექსპერიმენტულ მოდელებში, ნეირონების დაზიანება ხშირად ასოცირდება შენარჩუნებული ნეირონების აქსონების სპრაუტინგთან; განსაკუთრებით აღსანიშანია დაკბილული ფასციის მარცვლოვანი უჯრედების აქსონების – ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგი (Tauck, Nadler, 1985, de Lanerello et al. 1989, Sutula et al. 1993). აღწერილია მკაცრი კორელაცია სპტრაუტინგსა და ქინდლინგით განპირობებულ კრუნჩხვით აქტივობის განვითარება, პროგრესსა და მდგრადობას შორის (Cavazos et al. 1991). ამასთანავე, მართალია, ადამიანებში ნაჩვენებია კორელაცია ჰილუსის უჯრედების დაკარგვასა და სპრაუტინგს შორის, მაგრამ ექსპერიმენტული მონაცემების თანახმად, ჰილუსის უჯრედების დაღუპვა არ არის აუცილებელი პირობა ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტირებისთვის (Mathern et al. 1995; Stringer et al. 1997). მიუხედავად ამისა, ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგი და ახალი რეკურენტული აღმაგზნებელი წრეების წარმოქმნა განიხილებიან, როგორც კრუნჩხვითი აქტივობის მიმართ, დაკბილული ფასციის მომატებული მგრძნობელობის შესაძლო მექანიზმი (Tauck, Nadler, 1985; Cronin, Dudek, 1988). მეორე

მხრივ, Sloviter (1992) განიხილავს ხავსიანი ბოჭკოების რეორგანიზაციას, როგორც შესაძლო მექანიზმს, რომელიც აღადგენს შეკავებას, დარღვეულს ჰილუსის უჯრედების დაღუპვის შემდეგ; ამგვარად, არ არის გამორიცხული, რომ სპრაუტინგს ჰქონდეს ანტიეპილეფსიური ეფექტი. მაგრამ, უფრო ახალი მონაცემების თანახმად, ხავსიანი ბოჭკოები ჰქმნიან ასიმეტრიულ (სავარაუდოდ, აღმაგზნებელ) სინაფსურ კავშირებს მარცელოვანი უჯრედების დენდრიტებთან, რაც, შესაძლებელია, უცაბედი აგზნების საფუძველს წარმოადგენდეს (Franck et al. 1995). ასეთი შეხედულების სასარგებლოდ, რიგი ელექტროფიზიოლოგიური მონაცემებიც მიუთითებენ (Wuarin, Dudek, 1996; Buckmaster, Dudek, 1997).

ასე რომ, ამ დროისათვის ჯერ კიდევ გრძელდება კველევები საკითხზე – კრუნჩხვითი აქტივობის შემდგომი სინაფსური რეორგანიზაციით ხდება რეკურენტული შემაკავებელი კავშირების გაძლიერება, თუ ხდება ახალი რეკურენტული ამაგზნებელი კავშირების ჩამოყალიბება. Buckmaster at al. (2002) მონაცემებით პილოკარპინის ადმინისტრირებით გამოწვეული ტემპორალური წილის ეპილეფსიის დროს ახლად წარმოქმნილი სინაფსების დიდ უმეტესობას ქონდა GABA-ნეგატიური სტრუქტურა (93 და 96% მარცელოვანი უჯრედების შრესა და მოლეკულურ შრეში, შესაბამისად). წარმოქმნილი სინაფსების უმრავლესობას იყო ხორკლებზე. სინათლის მიკროსკოპიისა და ელექტრონული მიკროსკოპიის მონაცემებზე დაყრდნობით შეფასებული იყო, რომ სპრაუტირებული ხავსიანი ბოჭკოები წარმოქნიან საშუალოდ 500 ახალ სინაფსს თითოეულ მარცელოვან უჯრედზე. მაგრამ მხოლოდ 25 სინაფსი წარმოიქმნება GABA-ერგულ ინტერნეირონზე. ეს მონაცემები გვიჩვენებს, რომ თითქმის ყველა ახალი სინაფსი ფორმირდება სხვა მარცელოვან უჯრედებზე. ეს თვალსაზრისი გვაძლევს ვარაუდის საშუალებას, ეპილეფსიით გამოწვეული ხავსიანი უჯრედების დაღუპვის გამო ხდება გარკვეული კავშირების დაკარგვა, მაგრამ ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგი არ ახდენს ერთი რეკურენტული ამაგზნებელი წრებრუნვის მექანიკურად მეორეთი ჩანაცვლებას.

ეპილეფსიური კრუნჩხვების შედეგად, სუპრაგრანულარული ხავსიანი ბოჭკოების კოლატერალები სპრაუტირებენ და ჰქმნიან ფუნქციურ რეკურენტულ ამაგზნებელ წრეებს. ამ აბერანტულ კავშირებს შეუძლიათ ნეირონების დაზიანებით

დარეული, ჰიპოკამპის ისეთი ფუნქციის კომპრომისი, როგორიცაა კრუნჩხვითი აქტივობის გამარტივება.

CA4 ზონის ნეირონები დაკბილული ფასციის ნეირონებისგან მორფოლოგიურად განსხვავდებიან. ეს უჯრედები განლაგებულები არიან ჰილუსში, CA3c –ს პირამიდული უჯრედების დენტრიტებსა და ჰილუსის მარცვლოვანი შრის საზღვრებს შორის. ეს უჯრედები, ასევე ამონის რქის პირამიდები ჰიპოკამპის სკლეროზის (გამოწვეული კლინიკურად ან კაინის მჟავის ადმინისტრირებით) შედეგად, იღუპებიან. CA4 ზონის ნეიორნები იძლევიან ასოციაციურ და კომისურალურ ბოჭკოებს, რომლებიც თავდებიან მარცვლოვანი უჯრედების დენდრიტების პროქსიმალურ მესამედზე (Berger et al. 1981; Swanson et al. 1978). დეგენერირებული კომისურალური და ასოციაციური აფერენტები ნაწილობრივად ინაცვლებიან ხავსიანი ბოჭკოების ახლადწარმოქმნილი კოლატერალებით (Nadler et al. 1980). ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგი იმატებს დაკბილული ფასციის გრანულარული შრის გასწვრივ და დენერვირებულ ზონაში ჰქმნის სპეციფიკურ პლექსუსს. სხვა დაზიანებებიც კომისურალური და ასოციაციური აფერენტების სპრაუტინგს უნდა იწვევდეს (Zimmer, 2001). ამ აბერანტული ბოჭკოების ნაწილი მაინც, ჰქმნის სინაფსურ კავშირებს მარცვლოვანი უჯრედების დენდრიტებთან (Frotscher, Zimmer, 1983). ამგვარად, ვირთაგვაში CA4 ველის დაზიანება ჰქმნის დაკბილულ ფასციაში აბერანტულ მარცვლოვან-მარცვლოვან სინაფსურ კონტაქტებს.

Timm-შეღებვისთვის, ძირითადად, ჰიპოკამპალური ფორმაციის ტემპორალური მესამედი გამოიყენება, ვინაიდან უჯრედები, რომლებიც კომისურალურ და ასოციაციურ კავშირებს ჰქმნიან, განსაკუთრებით დიდი რაოდენობით, სწორედ ამ ქვეზონაში არიან თავმოყრილები (Swanson et al. 1978).

მძიმე მეტალებით შეღებვა რეკურენტული ხავსიანი ბოჭკოების ზრდის მატების დადგენის შესაძლებლობას იძლევა. ხავსიანი ბოჭკოების ბუტონები ყოველთვის ძალაინ მუქად იღებებიან, მძიმე მეტალების, განსაკუთრებით, თუთიის მაღალი შემცველელობის გამო (Haug, 1973). Timm-ით შეღებვის მეთოდი დამყარებულია მეტალ-სულფიდის კომპლექსის წარმოქმნაზე.

შეხედულებები იმის შესახებ – ემსახურებიან თუ არა ახალი კავშირები ტვინის ნორმალური ფუნქციის აღდგენას თუ ისინი აბნორმალურ ფუნქციას უზრუნველყოფენ, წინააღმდეგობრივია.

დაზიანებით გამოწვეული სინაფსოგენეზის შედეგად, შეიძლება შეიქმნას წრეები, რომლებიც ფიზიოლოგიურად მაღალადაპტურები იქნებიან. რეკურენტულ ხავსიან ბოჭკოებს – თუ მათი რაოდენობა შესაბამისია – შეუძლიათ დაკბილულ ფასციაში რეციპროკული აგზნება გამოიწვიონ. შესაძლოა, ასეთმა არანორმალურმა აგზნებამ მოახდინონ ჰიპოკამპის ფუნქციის კომპრომისი, რომელიც ნეირონული დეგენერაციის შედეგად, უკვე დაზიანებულია. მაგალითად: თუ გავითვალისწინებთ, რომ ნორმაში დაკბილული ფასცია თრგუნავს ლიმბურ წრეში მაღალი სიხშირის განმუხტვებს (Collins et al. 1983), შესაძლებელია დაშვება, რომ რეკურენტული ხავსიანი ბოჭკოების ფორმირებამ შეიძლება გამოიწვიოს კრუნჩხვითი ზღურბლის შემცირება. ამგვარად, აბერენტული რეკურენტული აღმაგზნებელი კავშირები მონაწილეობას უნდა იღებდნენ სპონტანური ქცევის დაელექტროგრაფიული კრუნჩხვების აღმოცენებაში.

სპრაუტირების ხარისხი, ძირითადად, მაგრამ არა ყოველთვის, კორელირებს კრინჩხვების სიხშირესა და ხარისხთან.

ჰილუსში იმატებს კოლატერალიზაცია და ხავსიანი ბოჭკოების ბუტონების რიცხვი. აბერანტული ხავსიანი ბოჭკოებია ასევე მოლეკულურ და მარცვლოვანი უჯრედების შრეებში.

სერიულად რეკონსტრუირებულ ანათლებზე: მოლეკულურ შრეში ხავსიანი ბოჭკოების ბუტონები ჰქმნიან ასიმეტრიულ კონტაქტებს გრანულების დენდრიტულ ღეროებსა და ხორკლებზე, მშობელ დენდრიტებზე აუტოფტური კავშირების ჩათვლით. ეს ულტრასტრუქტურული დასაბუთებაა ახლად ფორმირებული ამაგზნებელი რეკურენტული წრეებისა, და სტრუქტურული საფუძველი კაინის მჟავით ინდუცირებული მომატებული აგზნებისა და ეპილეპტოგენეზისა.

ამგვარად, ჰილუსის იმ ნეირონებთან ერთად, რომლებზეც პერფორანტული გზა ბოლოვდება, კალათები და კანდელაბრები ასევე იღებენ უკუკავშირებს მარცვლებისგან და ამგვარად აკონტროლებენ სინქრონობას დაკბილულ ფასციაში. ამასთანავე, მხედველობაში არ მიიღება მონოსინაფსური ამაგზნებელი უკუკავშირები გრანულებთან.

ეპილეფსიის დროს, სპრაუტირებული ხავსიანი ბოჭკოების ტერმინალები მრავალია. სპრაუტირებული სინაფსებისთვის დამახასიათებელია: 1) სუპრაგრანულარულ ზონაში უფრო ხშირია აქსო-ხორკლოვანი, ვიდრე აქსო-დენდრიტული სინაფსები; მრავალი აქსო-ხორკლოვანი სინაფსი პერფორირებულია; 2) სუპრაგრანულარულ შრეში დენდრიტულ ღეროებთან და ხორკლებთან, ასევე, გრანულარულ შრეში – გრანულების სომასთან, სპრაუტირებული ხავსიანი ბოჭკოების ტერმინალები ჰქმნიან მხოლოდ ასიმეტრიულ, ამაგზნებელ სინაფსებს; 3) თუ ადამიანში სპრაუტირებული ხავსიანი ბოჭკოების სინაფსები დიდია, ვირთაგვაში მათ მცირე ზომები გააჩნიათ; 4) რიგ შემთხვევებში მათი სამიზნე გრანულებია, ძალიან იშვიათად – შემაკავებელი ინტერნეირონები.

2.5. უჯრედების დაღუპვის მექანიზმები

ეპილეფსიის დროს, უჯრედების დაღუპვის ტემპორალური და სივრცითი მაჩვენებლების აღწერის პარალელურად, ძალიან მნიშვნელოვანია იმის გარკვევა, თუ რომელი მექანიზმები არიან ჩართულები ამ პროცესში. ცნობილია უჯრედის სიკვდილის მორფოლოგიურად და ბიოქიმიურად განსხვავებული, ორი ძირითადი ფორმა: აპოპტოზი და ნეკროზი. აპოპტოზის ცნება პირველად 1972 წელს იყო შემოტანილი (Kerr et al. 1972). აპოპტოზის თავდაპირველი დეფინიცია ეფუძნებოდა მორფოლოგიურ კრიტერიუმებს. ამ კრიტერიუმებს განეკუთვნება: უჯრედის გამოცალკევება, მემბრანის ასიმეტრიულობა, მაგრამ არა მთლიანობის დაკარგვა (ფოსფატიდილსერინის ექსპოზიცია) ქრომატინის კონდენსაცია, ფრაგმენტაცია მემბრანასთან დაკავშირებილ აპოპტოზურ სხეულებად, ფაგოციტოზი მიმდებარე უჯრედებით (და არა იმიგრაციული ფაგოციტებით) და დეგრადაცია მასპინძელი უჯრედების ლიზოსომების მიერ. აპოპტოზის პროცესში გარეგანი და შინაგანი მემბრანები კარგად არის შენახული, რის გამოც უჯრედის კომპონენტები უსაფრთხოდ არიან გამოყოფილი ფაგოციტოზამდე და უჯრედის გარშემო ანთებითი კერა არ ყალიბდება. აპოპტოზი გენეტიკურად არის დაპროგრამებული და გენთა ტრნსკრიფციის და ტრანსლაციის პროცესებს საჭიროებს. მის ბოლო

სტადიაზე ადგილი აქვს ქრომოსომული დნმ-ს გახლეჩას ნუკლეოსომურ ერთეულებამდე. ხშირ შემთხვევაში, აპოპტოზის თავიდან აცილება შეიძლება ტროფული ჰორმონებით და სხვა ზრდის ფაქტორებით. ნეკროზის თავიდან აცილება მიტოგენებით შეუძლებელია.

ნეკროზი აღმოცენდება ისეთი დაზიანების დროს, როდესაც გაზრდილია პლაზმური მემბრანის განვლადობა. ეს იწვევს ნატრიუმის, კალიუმის, კალციუმის და მაგნიუმის იონების კონცენტრაციების გრადიენტების შემცირებას, რაც განაპირობებს წყლის შთანთქმის მატებას და უჯრედში წყლის გადანაწილებას. თავდაპირველად დაზიანებულ უჯრედში ჩნდება რიგი რევერსიული ცვლილებები: ენდოპლაზმური ბადის დილატაცია, მიტოქონდრიების კონდენსაცია, ქრომატინის ფლოკულაცია და ცილის სინთეზის შემცირება. რევერსიულ ფაზას თან სდევს შეუქცევადი ცვლილებები: მიტოქონდრიების დილატაცია, ბირთვის, ორგანელების, პლაზმური მემბრანის გახლეჩა, რიბოსომების და ლიზოსომების დისოლუცია. კლასიკურად, ნეკროზი ტოქსინების ზემოქმედების და იშემიის შედეგად აღმოცენდება და, იწვევს რა დამატებით ანთებებს, ძირითადად, უჯრედების ჯგუფებზე მოქმედებს, ვიდრე ცალკეულ ნეირონებზე. თავის მხრივ, ნებისმიერი ინსულტს, რომლის ზღურბლი ნეკროზის გამომწვევ ზღურბლზე უფრო დაბალია, აპოპტოზური პასუხის გამოწვევა შეუძლია (Lennon et al. 1991; Bonfoco et al. 1995); ეს პასუხი დამოკიდებულია, არა მარტო ინსულტის ბუნებაზე, არამედ სამიზნე უჯრედის ტიპზე, მის მეტაბოლიზმზე და განვითარების ხარისხზე. აპოპტოზი განაპირობებს უჯრედის "ამოგდებას" ისეთ ფიზიოლოგიურ სიტუაციებში, როგორიცაა ქსოვილის ჰომეოსტაზი, ემბრიოლოგიური განვითარება და იმუნოლოგიური ფუნქციონირება, თუმცა, ის ასევე აღმოცენდება ისეთ პათოლოგიურ პირობებშიც, როგორიცაა კიბო, შეძენილი იმუნოდეფიციტის სინდრომი და რიგი ნეიროდეგენერაციული დაზიანებები, მათ შორის, ალცჰეიმერის, პარკინსონის, ჰანტინგტონის დაავადებები, იშემია/დამბლა, ტვინის ტრავმა, ეპილეფსია (Pollard et al. 1994; Portera-Caillau et al. 1995; Weiss et al. 1996; Charriaut-Marlangue et al. 1996; Shah et al. 1997; Guglielmo et al. 1998; Savitz, Rosenbaum. 1998).

ეპილეფსიით გამოწვეული უჯრედების დაზიანება და დაღუპვა დიდი ხნის განმავლობაში მიეწერებოდა ექსაიტოტოქსიურობით გამოწვეულ ნეკროზს. თუმცა

ბოლო წლებში დაგროვდა მონაცემები, რომ კრუჩხვითი აქტივობის შედეგად ნეირონები ასევე იღუპებიან აპოპტოზით. ასეთივე მნიშვნელოვანია, ის რომ ზოგიერთი ავტორის მიხედვით კრუნჩხვის შემდგომ ნანახი უჯრედების დეგენერაციის ფორმები არის შუალედური აპოპტოზსა და ნეკროზს შორის (Covolan et al., 2000; Fujikawa at al., 2000).

კრუნჩხვით გამოწვეული უჯრედების აპოპტოზი პირველად ნაჩვენები იყო Pollard at al. მიერ (1994). კერძოდ, ზრდასრულ ვირთაგვებში კაინის მჟავის ინტრაამიგდალური ინექციით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის შემდეგ, ვერცხლით იმპრეგნირებული დაზიანებული ნეირონები ნანახი იყო ამიგდალაში და ჰიპოკამპის CA3 ველის პირამიდულ შრეში, კაინის მჟავის ინექციიდან რამოდენიმე საათის შემდეგ. ორიენ უბანში უჯრედების დაღუპვას ჰქონდა აპოპტოზის ბუნება, რაც გულისხმობდა ბირთვში ქრომატინის კონდენსაციას და TUNEL-პოზიტიური ბირთვების არსებობას. ამ მეთოდების კომბინირება აჩვენებდა, რომ უჯრედების კედომის პერიოდში მიმდინარეობდა დნმ-ს ფრაგმენტაცია. შემდგომმა კვლევებმა, რომლებიც მოიცავდნენ კაინის მჟავის როგორც ლოკალურ (Venero et al., 1999), ისე სისტემურ ადმინისტრირებას (Tuunanen et al., 1999), გააფართოვეს ეს აღმოჩენა და დაადასტურა ნეირონების დეგენერაცია აპოპტოზის გზით ჰიპოკამპის პირამიდულ შრეებში - CA1, CA3/CA4 და ნუშისებურ კომპლექსში. შემდგომ კვლევებში უკვე პილოკარპინით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსისას TUNEL-დადებითი უჯრედები ჰიპოკამპის გარდა ნანახი იყო პირიფორმულ და ენტორინალურ ქერქში(Roux et al., 1999).

სხვადასხვა ინსულტებით გამოწვეული უჯრედების პროგრამული სიკვდილი შეიძლება ინიცირებული იყოს რამდენიმე გზით: მემბრანული რეცეპტორების აქტივაციის გზით, მიტოქონდრიების დაზიანებით ან დნმ-ს პირდაპირი დაზიანებით (Graham and Chen, 2001).

კრუნჩხვის შემდგომ მემბრანული რეცეპტორების აქტივაციის გზა დადასტურებული იქნა შემდგომი კვლევებით. გლუტამატეს კაინის რეცეპტორის (GluR6) აქტივაცია იწვევს სიგნალინგს c-Jun N-terminal კინაზას (Jnk) ოჯახის გზით (Savinainen et al., 2001). Jnk-ს ოჯახის ერთ-ერთი წევრი Jnk3 შეიძლება იყოს აუცილებელი სტრესით გამოწვეული ნეირონული აპოპტოზისთვის. Yang et al. (1997)

აღწერეს, რომ თაგვებში Jnk3 გენის დაზიანებას კაინის მჟავით გამოწვეული ექსაიტოტოქსიკურობისადმი რეზისტენტულობამდე მიეყავართ. მათ აჩვენეს, რომ ამ გენის დაზიანება იწვევს კრუნჩხვითი აქტივობის შემცირებას და ახდენს CA1 და CA3 ველის ნეირონების აპოპტოზის პრევენციას. Jnk ოჯახის კრუნჩხვით გამოწვეულ აპოპტოზში მონაწილეობას ის სავარაუდო მტკიცებულება ამყარებს, რომ კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეულ კრუნჩხვას Jnk1-ის აქტივაციამდე და c-Jun-ის ფოსფორილებამდე მივყავართ (Mielke et al., 1999). უფრო მეტიც, კაინის მჟავის შემდგომ ინდუცირებული Jnk პროტეინის რაოდენობა და დრო დაკავშირებული იყო უჯრედის სიკვდილთან, მაშინ როცა C-Jun-ის პროტეინის გაზრდილი ფოსფორილება, უჯრედის სიკვდილისადმი რეზისტენტულობასთან იყო დაკავშირებული (Schauwecker, 2000).

უჯერდების პროგრამული სიკვდილის ერთ-ერთი ძლიერი ტრიგერია მიტოქონდრიული სტრესი, რომელიც გამოწვეულია გახანგრძლივებული დეპოლარიზაციით, ოქსიდაციური სტრესით და მიტოქონდრიული განელადობის გაზრდით (Reed, 1998). მიტოქონდრიული განელადობის რეგულაციის ძირითადი განმსაზღვრელი ელემენტი Bcl-2 ოჯახის გენებია. Bcl-2-ის ფუნქციაა მიტოქონდრიული სტრესული სტიმულის საპასუხოდ ციტოქრომი c-ს მიტოქონდრიული გამონთავისუფლების დაბლოკვა. ანტიაპოპტოზური Bcl-2 გენის გარდა, ეს ოჯახი შეიცავს 20-ზე მეტ გენს. მათ შორისაა ანტიაპოპტოზური გენები – Bcl-xL, Bcl-w და პროაპოპტოზურ გენს – Bax. ასევე ნაჩვენები იყო, რომ სიმსივნის სუპრესიის პროტეინ p53-ს, რომელიც ახდენს Bax-ის მიტოქონდრიული ტრანსლოკაციის ან პროდუცირების სტიმულაციას, შეუძლია კაინის მჟავით გამოწვეული კრუნჩხვის შემდგომი დაზიანების შემცირება ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში (Cukmsee et al., 2001).

მიტოქონდრიიდან ციტოქრომ c-ს გამოყოფა ახდენს უჯრედების სიკვდილის ინიცირებას ცისტეინ ასპარტატ-სპეციფიური პროტეინაზას (ცასპაზას) აქტივაციის გზით. ცასპაზას ოჯახი 14 წევრს მოიცავს. ნათელი მტკიცებულებები მიუთითებენ კრუნჩხვითი აქტივობით გამოწვეულ ცასპაზა-დამოკიდებულ უჯრედის სიკვდილზე. კაინის მჟავით გამოწვეული ნეირონული დეგენერაციისადმი სენსიტიურ და მდგრად თაგვებზე გამოკვლეული იყო ცასპაზა-3-ის დონე კაინის მჟავის შემდგომი

კრუნჩხვითი აქტივობისას (Faherty et al., 1999). კატალიზურად აქტიური ცასპაზა-3 ნანახი იყო სენსიტიურ თაგვებში, კაინის მჟავის ინექციიდან 30 საათის შემდეგ, პიკნოზურობის და TUNEL-პოზიტიური ბირთვების გაჩენამდე. აქტიური ცასპაზა-3-ის ექსპრესია გრძელდებოდა ინექციიდან 4 დღის მანძილზე. ცასპაზა-3 არასდროს ყოფილა დაფიქსირებული რეზისტენტულ თაგვებში, ისევე როგორც პიკნოზურობა და TUNEL-პოზიტიური უჯრედები. კაინის მჟავით გამოწვეული კრუნჩხვებისას ასევე ნაჩვენები იქნა აქტიური ცასპაზა-3-ის ფრაგმენტების რაოდენობის ზრდა. ეს მონაცემები გვაფიქრებინებს, რომ ცასპაზა-3-ის აქტივაცია არის კაინის მჟავით გამოწვეული TUNEL-დადებითი უჯრედების დაღუპვის აუცილებელი კომპონენტი (Henshall et al., 2000a; Kondratyev and Gale, 2000). ცასპაზა-3-ის ინჰიბიტორების ინფუზიისას, ისევე როგორც ტრანსგენულ თაგვებში ნანახი იყო როგორც ცასპაზას აქტივობის, ასევე კაინის მჟავით გამოწვეული ნეიროდეგენერაციის მკვეთრი შემცირება ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდულ შრეში (Ekdahl et al., 2001; Bengzon et al., 2002).

აპოპტოზი და ნეკროზი კრუნჩხვითი აქტივობის დროს. აზრთა მნიშვნელოვანი სხვადასხვაობა არსებობს იმის თაობაზე, არის თუ არა კაინის მჟავის და პილოკარპინის შედგომი კრუნჩხვითი აქტივობით გამოწვეული დაზიანებები ჭეშმარიტად აპოპტოზური. დაკბილული ფასციის მარცვლოვანი უჯრედების დაზიანება ეპილეფსიისას აღწერილი იყო როგორც აპოპტოზი, ისევე როგორც ნეკროზი და როგორც აპოპტოზი და ნეკროზი ერთად. არის მონაცემები, რომ TUNEL-ით შეღებვამ შეიძლება მოგვცეს ნეკროზული უჯრედების ცრუ-პოზიტიური მონიშვნა, ისევე როგორც აგაროზულ გელზე დნმ-ს სპეციფიური დეტექცია შეიძლება მხოლოდ აპოპტოზური უჯრედების მაჩვენებელი არ იყოს (Charriaut-Marlangue and Ben-Ari, 1995; Fujikawa, 2000; Fujikawa et al., 2000). Colovan at al. (2000) პილოკარპინის ადმინისტრირების შემდეგ მოახდინა დაკბილული ფასციის მარცვლოვანი უჯრედების შესწავლა ელექტრონული მიკროსკოპით და აღწერა უჯრედების სიკვდილის მრავალი გარდამავალი ფორმა აპოპტოზიდან ნეკროზამდე. ჰიპოკამპური ნეირონების დეგენერაციის გარდამავალი ფორმები ასევე სხვა ნაშრომებშიც იყო ნანახი კაინის მჟავას ადმინისტრირების დროს (Fujikawa et al., 1999; 2000). სინათლის მიკროსკოპის დონეზე დეგენერირებულ ნეირონებს ჰქონდათ

ნეკროზის მორფოლოგია, მაშინ როცა ელექტრონული მიკროსკოპიის გამოყენებამ ამ უჯრედებში პიკნოზურობა და აპოპტოზის სხვა მახასიათებლები გამოავლინა. სინათლის და ელექტრონული მიკროსკოპებით ანალიზმა აჩვენა, რომ დეგენერირებული ჰილუსის უჯრედები და პირამიდული ნეირონები მორფოლოგიურად ნეკროზულ ბუნებას ამჟღავნებენ. ამის საწინააღმდეგოდ მარცვლოვანი უჯრედებისთვის აპოპტოზური ბუნებაა მეტადაა დამახასიათებელი.

უკანასკნელი წლების კვლევების შედეგად ნათლად ჩანს, რომ ნეირონებში აპოპტოზი მიმდინარეობს კრუნჩხვითი აქტივობიდან როგორც მცირე, ისე დიდი ხნის გასვლის შემდეგ. მაგრამ, ასევე აშკარაა დეგენერაციის შუალედური ფორმების არსებობაც. დეგენერაციის სხვადასხვა ფორმების ზუსტი მოლეკულური მექანიზმების ახსნა შემდგომ კვლევებს საჭიროებს.

2.6. მიოინოზიტოლის ზოგადი დახასითება

ინოზიტოლ ფოსფოლიპიდები და ინოზიტოლ ფოსფატები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ როგორც ნერვულ, ასევე სხვა ქსოვილებში. კერძოდ კი, სიგნალის გადაცემასა და კალციუმის ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში. ბოლო დროს განახლდა ინტერესი მიო-ინოზიტოლისა და მისი ფოსფორილებული ფორმის შესახებ ცენტარლურ ნერვულ სისტემაში (ცნს). მიო-ინოზიტოლი წარმოადგენს ცნს-ში კლინიკურად მნიშვნელოვან ოსმოლიტს. მისი ჰექსაკისფოსფატური და პიროფოსფორილებული დერივატები მონაწილეობას იღებენ დნმ-ს რეპარაციაში, ბირთვული დნმ-ს ექსპორტში და სინაფსურ მემბრანულ ტრეფიკინგში.

ინოზიტოლ ფოსფოლიპიდების როლი სიგნალის ტრანსდუქციაში დღეისათვის კარგადაა ცნობილი (Fisher and Agranoff 1987; Fisher et al. 1992). ასევე დადგენილია ფოსფოინოზიტოლის როლი მემბრანულ გადატანაში, აქტინის ციტოჩონჩხის სტაბილიზაციაში, უჯრედის სიკვდილისა და გადარჩენის რეგულაციის პროცესებში (Toker and Cantley 1997; Low 2000; Vanhaesebroeck et al. 2001). ცნობილია, რომ ინოზიტოლ 1,4,5-ტრიფოსფატი მონაწილეობას იღებს კალციუმის უჯრედშიდა

მობილიზაციის პროცესში, მაგრამ ნაკლები ყურადრება ენიჭება წყალში ხსნად მიო-ინოზიტოლის მნიშვნელობას. ინოზიტოლ ფოსფატაზის ესთერის 63 ფორმა არსებობს, რომელთაგან 7-ს გარკვეული ფიზიოლოგიური მნიშვნელობა აქვს (Irvine and Schell 2001). თაგის ტვინში აღმოჩენილია სულ მცირე 4 პიროფოსფორილირებული ინოზიტოლტრიფოსფატი და ფერმენტები, რომლებიც მონაწილეობენ მათი სინთეზისა და დაშლის პროცესებში (Huand et al. 1998; Saiardi et al. 2001; Safrany et al. 1998; Caffrey et al. 2000).

ინოზიტოლი სინთეზდება de novo გლუკოზისაგან მთელ რიგ ორგანოებში, მათ შორის ტვინში, საკვერცხეებში, თირკმელებში და ღვიძლში. რეაქციას აკატალიზებს ტრიმერული ენზიმი D-ინოზიტოლ-3-ფოსფატსინთაზა. რეაქცია საჭიროებს ნიკოტინამიდ ადენინე დინუკლეოტიდს (დაჟანგული NAD^+), სტიმულირდება NH^+-ით და K^+-ით, ინჰიბირდება Li^+-ით.

ჰიპოტონური სტრესის საპასუხოდ ინოზიტოლის გამოყოფა ხდება როგორც ნეირონებიდან, ასევე გლიიდან, გაადვილებული დიფუზიის მექანიზმის საშუალებით, მათ შორის არასპეციფიკური Cl^--ის არხებითაც.

ნერვულ ქსოვილში მიო-ინოზიტოლის მაღალი კონცენტრაციაა ნანახი. ის აქ ინახება არა მარტო როგორც წინამორბედი ინოზიტოლ ლიპიდების სინთეზისათვის, არამედ როგორც ფიზიოლოგიურად მნიშვნელოვანი ოსმოლიტი. ტვინში ინოზიტოლის კონცენტრაციის ცვლილება იწვევს მტელ რიგ პათოლოგიურ მდგომარეობებს. ინოზიტოლის ორალური გზით მიღება მნიშვნელოვანია რიგი ნეიროფსიქიატრიული დაავადებების სამკურნალოდ.

ინოზიტოლის კონცენტრაციის ცვლილებები ასაკზეა დამოკიდებული. ადამიანის თაგის ტვინში წლოვანებასთან ერთად ინოზიტოლის რაოდენობა იკლებს. ექსპერიმენტული მონაცემების მიხედვით ინოზიტოლი უმთავრესად გლიაშია (Glanville et al. 1989; Brand et al. 1993) ლოკალიზებული, თუმცა კატის პურკინიეს უჯრედებში (Godfrey et al. 1982) ინოზიტოლის მაღალი კონცენტრაციაა ნანახი.

ნანახია ინოზიტოლის პირდაპირი ან არაპირდაპირი გავლენა ცნს-ს მთელ რიგ დარღვევებში. ასევე ცნობილია ზოგი ნეიროფსიქიტრიული დაავადების, მაგალითად დეპრესიის, მიოინოზიტოლის მაღალი დოზებით მკურნალობა.

უნიპოლარულად და ბიპოლარულად დეპრესიული ავადმყოფების საზურგტვინე სითხეში ინოზიტოლის სარწმუნოდ უფრო დაბალი კონცენტრაციაა ჯანმრთელ პიროვნებებთან შედარებით (Barkai et al., 1978). ინოზიტოლის ორალური ადმინისტრაცია (6 გ/დღეში) ინოზიტოლის კონცენტრაციას საზურგტვინე სითხეში დაახლოებით 70%-ით ამაღლებს (Levine et al., 1993). ამ მკურნალობას თან სდევს ავადმყოფის მდგომარეობის სარწმუნო გაუმჯობესება (Levine et al., 1995; Levine et al., 1997). ინოზიტოლით მკურნალობა ასევე ეფექტურია პანიკური დაავადებებისას.

თავი 3. გამოყენებული მასალები და კვლევის მეთოდები

3.1. ცხოველები. ქსპერიმენტში გამოყენებული იყო 150-200 გ წონის, ლაბორატორიული, უჯიშო თეთრი 68 ზრდასრული მამრი ვირთაგვა. ექსპერიმენტამდე ცხოველები იმყოფებოდნენ ერთნაირ ვივარიულ პირობებში და უზრუნველყოფილები იყვნენ ნორმალური კვებით (შეუზღუდავად), აერაციით (მუდმივი ტემპერატურა: 21^0 C; ნესტიანობა: 50-60%; დღე-ღამის ციკლი: სინათლე - 0700-1900) და ჰიგიენური პირობებით. ექსპერიმენტული კვლევის ჩატარებისას, დაცული იყო ევროპის გაერთიანების საბჭოს მიერ დაწესებული ყველა პირობა (86/609/EEC).

3.2. ეპილეფსიის ექსპერიმენტული მოდელი.

ვირთაგვებში კაინის მჟავის ადმინისტრირება ხდებოდა ინტრაპერიტონიალურად (KA, 10 მგ/კგ 0.9% NaCl-ში; Sigma K-0250). საკონტროლო ცხოველებს უკეთდებოდათ იგივე მოცულობის 0.9% NaCl. ეპილეფსიური სტატუსის განვითარებაზე დაკვირვება ხდებოდა ადმინისტრირებიდან 4-6 საათის განმავლობაში. კრუნჩხვითი აქტივობის შეფასება ხდებოდა Racine მოდიფიცირებილი შკალის მიხედვით:

0 – კრუნჩხვითი აქტივობა არ შეინიშნებოდა;

1 – რიგიდობა, თვალების დახუჭვა, ყურების ცახცახი, ფასციალური მიოკლონუსი;

2 – თავის კანკალი და უფრო ძლიერი ფასციალური მიოკლონუსი;

3 – წინა კიდურის უნილატერალური კლონუსი;

3.5 – წინა კიდურების ბილატერალური კლონუსი, რეარინგის გარეშე;

4 – წინა კიდურების ბილატერალური კლონუსი, რეარინგით;

4.5 – გვერდზე გადავარდნა (რეარინგის გარეშე), რეფლექსის დაკარგვა (righting), თანმდევი გენერალიზებული კრუნჩხვით;

5 – რეარინგი და ზურგზე დავარდნა, თანმდევი ტონურ-კლონური გენერალიზებული კრუნჩხვით.

შემდგომი ექსპერიმენტულ ჯგუფებში ხდებოდა მხოლოდ იმ ცხოველების ჩართვა, რომლებსაც უვითარდებოდათ ეპილეფსიური სტატუსი (რეკურენტული კრუნჩხვები და წინა კიდურების ბილატერალური კლონუსი). ვირთაგვებზე დაკვირვება ხდებოდა 2-3 საათი დღეში და 5 დღე კვირაში (მინიმუმ 14 საათი კვირაში) პერფუზიამდე (2 კვირიან და 1 თვიან ჯგუფებში).

მიო-ინოზიტოლის ადმინისტრირება ხდებოდა კაინის მჟავის ადმინისტრირებამდე (20 მგ/კგ დისტილირებულ წყალში) ნახევარი საათით ადრე. ცხოველებზე შემდგომი დაკვირვება მიმდინარეობდა ზემოთ აღწერილი გზით.

3.3. ელექტრონული მიკროსკოპია

ულტრასტრუქტურული ცვლილებების შესასწავლად საკონტროლო და ექსპერიმენტული ცხოველების ანესთეზირება ხდებოდა ქლორალჰიდრატის 4% ხსნარით (60 მგ/კგ-ზე). პერფუზია ხდებოდა ინტრაკარდიალურად 0.1 M ფოსფატურ ბუფერზე (pH=7.4) მომზადებულ გლუტარალდეჰიდის 2.5%-იანი ხსნარით. პერფუზიის დაწყებიდან 15-20 წუთის შემდეგ ვახდენდით ქალას ტრეპანაციას. ჰიპოკამპის CA1 ველის მცირე ზომის ნაჭრებს დამატებითი ფიქსაციისთვის 2.5 საათით ვათავსებდით ოსმიუმის ოთხჟანგის (OsO_4) 2%-იან ცივ ხსნარში ($t=4^0C$). ეთანოლისა და აცეტონის მზარდი კონცენტრაციის ხსნარებში დეჰიდრატაციის შემდეგ მასალას ვაყალიბებდით არალდიტში საყოველთაოდ ცნობილი მეთოდიკის შესაბამისად (Sjostrand, 1967). 40-50 ნმ სისქის ანათლებს ვამზადებდით OmU_2 მარკის ("Reichert", ავსტრია) ულტრამიკროტომზე და ტყვიის ციტრატის ხსნარით (Reunolds, 1963) კონტრასტირების შემდეგ ვიკვლევდით JEM-100B და JEM-100C ("JEOL", იაპონია) მარკის ელექტრონული მიკროსკოპის გამოყენებით.

3.4. პერფუზია

საკონტროლო და ექსპერიმენტული ცხოველების პერფუზია ხდებოდა ინტრაკარდიალურად, ქლორალჰიდრატის 4% ხსნარით (60 მგ/კგ-ზე),

ინტრაპერიტონიალური ნარკოზის ქვეშ. პერფუზიის საწყის ეტაპზე, 2 წთ-ის განმავლობაში, საპერფუზიო აპარატის საშულებით, შეგვყავდა NaCl–ის 0,9% ხსნარი (30მლ/წთ-ში), შემდეგ - 15 წთ-ის განმავლობაში ფიქსატორი: 0,1 M ნატრიუმის ფოსფატურ ბუფერზე დამზადებული 4% ფორმალინის ხსნარი, PH=7,4 (30მლ/წთ). პერფუზიის დამთავრებისთანავე, ტვინი ექსტირპირდებოდა ქალიდან და პოსტფიქსირდებოდა იგივე ფიქსატორში, გამოყენებამდე. მასალის დაჭრა ხდებოდა გამყინავ მიკროტომზე, მიიღებოდა 30მკ სისქის, სერიული ანათლები (2 სერია). ისინი ირეცხებოდნენ 0,1 M-ის Na-ის ფოსფატურ ბუფერში (NaPBS) 30 წთ-ით, ფიქსირდებოდნენ პოლილიზინით დამუშავებულ სასაგნე მინებზე და ინახებოდნენ – 70°C –ზე გამოყენებამდე.

3.5 ჰისტოქიმიური და იმუნოციტოქიმიური მეთოდები.

3.5.1 ნისლის მეთოდი.

ტვინის საკვლევი სტრუქტურების ციტოარქიტექტონიკური საზღვრების იდენტიფიცირებისა და ნეირონებისა და გლიური უჯრედების რაოდენობის შესაფასებლად, ანათლების პირველი სერია შეღებილი იქნა კრეზილ-ვიოლეტით, სტანდარტული მეთოდიკის მიხედვით.

3.5.2 ვერცხლით იმპრეგნაცია.

დეგენერირებული ნეირონების დეტექცია ხდებოდა ვერცხლის იმპრეგნაციის მეთოდით, Gallyas F. and et. al.(1980) პროტოკოლის მიხედვით. კერძოდ: მეორე სერიის ფიქსირებული ანათლები მოთავსებული იყო (1) 2% NaOH და 2,5% NH_4OH ხსნარში, 10 წთ-ით; (2) 10-წთ-ით ინკუბირებული იყო საინპრეგნაციო ხსნარში: 0,8% NaOH და 2,5% NH4OH; (3) გარეცხილი იქნა 0,5% Na_2CO3, 0,01% NH_4NO3 და 30% ეთანოლის შემცველ ხსნარში 5 წთ-ის განმავლობაში; (4) 1 წთ-ით მოთავსებული იქნა 10%-იან ეთანოლზე დამზადებულ, 6%-იანი ფორმალინის და 0,01% ლიმონმჟავას ხსნარში (PH=5-5,5); (5) გარეცხილი იქნა 0,5%-იან ძმარმჟავას ხსნარში: 3-ჯერ, 10-10

წთ-ით; (6) დეჰიდრირდებოდნენ აღმავალი გრადიენტის მქონე სპირტებში (2–4 წთ-ის ინტერვალით) და (7) ქსილოლში, 2-ჯერ, 10-10 წთ-ით. ყველა პროცედურა ტარდებოდა ოთახის ტემპერატურაზე.

3.5.3. Timm შეღებვის ჰისტოქიმიური მეთოდი

პერფუზია **Timm** შეღებვისათვის. საკონტროლო და ექსპერიმენტული ცხოველების პერფუზია ხდებოდა ინტრაკარდიალურად, ქლორალჰიდრატის 4% ხსნარით (60 მგ/კგ-ზე), ინტრააპერიტონიალური ნარკოზის ქვეშ. ცხოველების პერფუზია თავდაპირველად ხდებოდა 0.37%-იანი ნატრიუმის სულფიდის ხსნარით (pH 7.2; $Na_2S{\cdot}9H_2O$) – 5 წუთის განმავლობაში. შემდგომ 0,1 M ნატრიუმის ფოსფატურ ბუფერზე დამზადებული 4% ფორმალინის ხსნარით – 5 წუთის განმავლობაში (Sloviter,1982). პერფუზიის დამთავრებისთანავე, ტვინი ექსტირპირდებოდა ქალიდან და პოსტფიქსირდებოდა იგივე ფიქსატორში. მასალის დაჭრა ხდებოდა გამყინავ მიკროტომზე, მიიღებოდა 30მკ სისქის ანათლები.

მარცვლოვანი უჯრედების ხავსისებური ბოჭკოების რეორგანიზაციის შეფასება ხდებოდა თიმით შეღებვის მეთოდით (Sloviter, 1985). ამ მეთოდის საშუალებით ხდება ხავსისებური ბოჭკოების დეტექცია, მათში თუთიის მაღალი კონცენტრაციის გამო. შეღებვისას ფრონტალურ, 30 მკმ სისქის ანათლებს ვათავსებდით სასაგნე მინაზე და ვაშრობდით 37^0C-ზე. ამის შემდეგ ანათლების ინკუბაცია ხდებოდა სიბნელეში, დაახლოებით 60-75 წუთის განმავლობაში (შეღებვის ინტენსივობის მიხედვით) - შემდეგ ხსნარში: gum arabic (300 გრ/ლ.), ნატრიუმის ციტრატის ბუფერი (25.5 გრ/ლ. ლიმონმჟავა მონოჰიდრატი და 23.5 გრ/ლ. ნატრიუმის ციტრატი), ჰიდროქინონი (17.04 გრ/ლ.) და ვერცხლის ნიტრატი (850 მგ/ლ.). საჭირო ინტენსივობის მიღწევის შემდეგ ხდებოდა ანათლების გარეცხვა 3-ჯერ 10-10 წუთის განმავლობაში და 12 წუთით თავსდებოდა 5%-იან ნატრიუმის თიოსულფატის ხსნარში. საბოლოოდ ხდებოდა ანათლების დეჰიდრირება აღმავალი გრადიენტის მქონე სპირტებში (2–4 წთ-ის ინტერვალით) და ქსილოლში, 2-ჯერ, 10-10 წთ-ით.

3.6. უჯრედების სტერეოლოგიური დათვლა

ნისლის მეთოდით შეღებილი პრეპარატები. საკონტროლო და ექსპერიმენტული ვირთაგვების ტვინის, 30მკ სისქის ანათლებზე, ძირითადი უჯრედების და ინტერნეირონების რაოდენობრივი ცვლილებები შეისწავლებოდა: 1) ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველების ორიენტულ, ძირითადი უჯრედების და რადიალურ შრეებში; 2. დაკბილული ფასციის მარცვლოვანი უჯრედების შრეში; 2) პირიფორმული ქერქის წინა, ცენტრალური (ტრანზიტული) და უკანა დანაყოფების ზედა, შუა და ქვედა შრეებში.

თითოეულ შემთხვევაში დათვლისათვის ვარჩევდით 8 ანათალს (რეგულარული ინტერვალით), ყოველ ანათალში კი, მორფომეტრული ბადის (ზომით 0,000625მმ) საშუალებით, 5-8 შემთხვევით მხედველობის არეს. ითვლებოდა მხოლოდ ისეთი უჯრედები, რომელთა იდენტიფიცირება ეჭვს არ იწვევდა. ვითვალისწინებდით რა ცალკეული სტრუქტურების ციტოარქიტექტონიკულ თავისებურებებს, უჯრედების რაოდენობრივ ანალიზს ვახდენდით CA1, CA3 ველების, ასევე, პირიფორმული ქერქის ცალკეულ შრეებში და დაკბილულ ფასციაში სადაც უჯრედების ზომის და ფორმის გამო, ტექნიკურად რთული იყო შრეების იდენტიფიცირება, ითვლებოდა უჯრედების ცალკეული ტიპების საერთო რაოდენობა. სხვადასხვა ცხოველებში განიხილებოდა ცალკეული სტრუქტურების ერთი და იგივე დონე. სტერეოლოგიური ანალიზი კეთდებოდა რამდენიმე, შემთხვევით შერჩეულ მხედველობის არეში, West-ის მიერ (1991-2001) შემოთავაზებული მეთოდიკის საშუალებით, კერძოდ: თითოეულ შემთხვევაში უჯრედების საერთო ჯამი ისმებოდა შემდეგ ფორმულაში:
სადაც, N_{tot} - ნეირონების საერთო რაოდენობაა; t - აღნიშნავს აღებული ანათლების სერიას; Q-თითოეულ ანათალზე მხედველობის ველების ჯამის მონაცემებს.

$$N_{tot} = \Sigma Q^{-} \times 1/t$$

ვერცხლით იმპრეგნირებული უჯრედების რაოდენობრივი ანალიზი. ვერცხლით იმპრეგნირებულ პრეპარატებზე, დეგენერირებული უჯრედების "ნახევრადრაოდენობრივი" ანალიზისთვის, გამოიყენებოდა Freund et al. (1991)

მოდიფიცირებული შკალა. კერძოდ: მხედველობის არეში დაზიანებული უჯრედების არარსებობა ფასდებოდა 0 ქულით; უჯრედების საერთო რაოდენობიდან, 10%-ზე ნაკლები - 1 ქულით; 10-50% - 2 ქულით; 50%-ზე მეტი - 3 ქულით. შეუქცევადად დეგენერირებულად ითვლებოდნენ მხოლოდ შეჭმუხვნილი, არგიროფილური უჯრედები. ყველა ანათლებზე, უჯრედები, ითვლებოდნენ "ბრმად", როსტროკაუდალურად.

შეფასების მეთოდი თიმით შეღებვისათვის

ხავსისებური ბოჭკოების სინაფსური რეორგანიზაცია ფასდებოდა სუპრაგრანულარული თიმის მარცელების განაწილების და სიხშირის მიხედვით. შეფასება ხდებოდა 6 ქულიანი შკალით (0 – 5 ქულებით), შემდგომი კრიტერიუმების მიხედვით:

0 – შეღებილი თიმის მარცელები არ არის აღინიშნება.

1 – იშვიათი და შემთხვევითად გაფანტული შეღებილი თიმის მარცელები სუპრაგრანულარულ უბანში.

2 – უფრო მრავალრიცხოვანი შეღებილი თიმის მარცვები სუპრაგრანულარულ უბანში, რომელიც უწყვეტი განაწილებით გამოირჩევა.

3 – თვალშისაცემი შეღებილი თიმის მარცვები სუპრაგრანულარულ უბანში, უწყვეტი განაწილებით და იშვიათად შეინიშნება უფრო მკვეთრად შეღებილი ლაქები.

4 – უფრო მრავალრიცხოვანი შეღებილი თიმის მარცვები სუპრაგრანულარულ უბანში, რომელიც ქმნიან უწყვეტ, მკვრივ ლამინარულ არშიას.

5 – შეღებილი თიმის მარცელების უწყვეტი, მკვრივი ლამინარული არშია სუპრაგრანულარულ უბანში, რომელიც გრძელდება შიდა მოლეკულურ შრემდე.

3.7. სტატისტიკური ანალიზი.

მიღებული მონაცემები სტატისტიკურად მუშავდებოდა პროგრამა MINITAB (Basic Statistic) საშუალებით.

სტატისტიკური ანალიზი თიმით შეღებვისათვის

ანთალები დამოუკიდებლად იყო შეფასებული ზემოთ აღწერილი კრიტერიუმების მიხედვით. შეფასება ხდებოდა ორი ადამიანის მიერ, ბრმა მეთოდით. მონაცემები შეჯამებული ყოველი ანათლისათვის. ექსპერიმენტული და საკონტროლო ჯგუფებისათვის გამოანგარიშებული იყო ჯგუფში ყოველი ცხოველის ცალკეული ანათლების მონაცემების საშუალო მნიშვნელობა. მიღებული მონაცემები სტატისტიკურად მუშავდებოდა პროგრამა MINITAB (Basic Statistic) საშუალებით.

თავი 4. მიღებული შედეგები

4.1. ჰიპოკამპი

4.1.1. ძირითადი უჯრედების და ინტერნეირონების რაოდენობრივი ცვლილებები

4.1.1.1. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები.

CA1 ველი

კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, CA1 ველის ყველა შრეში გამოხატულია ნეირონების რაოდენობის კლების ტენდენცია. ეს ტენდენცია უფრო ძლიერია 2-კვირიან და 1-თვიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში. ნეირონების შემცირებისა და დაზიანების ყველაზე მაღალი ხარისხი CA1 ველის პირამიდულ შრეშია აღმოჩენილი. კერძოდ:

ორიენტულ შრეში (დიაგრამა 1. ა) ინტერნეირონების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 13.6%-ით (კ.-566±34; ექს.-478±17; P=0.014), 4 საათის შემდეგ – 35.9%-ით (კ.-566±34; ექს.-363±15; P = 0.005), 2 დღის შემდეგ – 38.7%-ით (კ.-566±34; ექს.-347±25; P = 0.003), 2 კვირის შემდეგ – 34%-ით (კ.-566±34; ექს.-377±16; P = 0.001), 1 თვის შემდეგ – 36%-ით (კ.- 566±34; ექს.-364±23; P = 0.002).

პირამიდულ შრეში (დიაგრამა 1. ბ) პირამიდული უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 22%-ით (კ.-4449±131; ექს.-3471±155; P = 0.004); 4 საათის შემდეგ – 28.9%-ით (კ.-4449±131; ექს.-3166±227; P = 0.003); 2 დღის შემდეგ – 25.4%-ით (კ.-4449±131; ექს.-3322±104; P = 0.001); 2 კვირის შემდეგ – 79.7%-ით (კ.-4449±131; ექს.-907±225; P = 0.003); 1 თვის შემდეგ – 77.2%-ით (კ.-4449±131; ექს.-1018±53; P = 0.001).

რადიალურ შრეში (დიაგრამა 1. გ) ინტერნეირონების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 12.9%-ით (კ.-544±36; ექს.-474±22; P = 0.064); 4 საათის შემდეგ – 29.6%-ით (კ.-544±36; ექს.-383±17; P = 0.02); 2 დღის შემდეგ

– 35.9%-ით (კ.-544±36; ექს.-349±22; P = 0.004); 2 კვირის შემდეგ – 36.6%-ით (კ.-544±36; ექს.-345±28; P = 0.005); 1 თვის შემდეგ – 29.3%-ით (კ-544±36; ექს.-385±32; P = 0.033).

CA3 ველი

კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, CA3 ველის ყველა შრეში გამოხატულია ნეირონების რაოდენობის კლების ტენდენცია. ეს ტენდენცია უფრო ძლიერია 2-კვირიან და 1-თვიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში. კერძოდ:

ორიენტული შრეში (დიაგრამა 2. ა) ინტერნეირონების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 10.8%-ით (კ.-401±7; ექს.-358±25; P=0.136); 4 საათის შემდეგ – 30%-ით (კ.-401±7; ექს.-281±14; P = 0.005); 2 დღის შემდეგ – 24%-ით (კ.-401±7; ექს.-305±29; P = 0.05); 2 კვირის შემდეგ – 38.5%-ით (კ.-401±7; ექს.-247±15; P = 0.001); 1 თვის შემდეგ – 45.8%-ით (კ.-401±7; ექს.-217±28; P = 0.022).

პირამიდულ შრეში (დიაგრამა 2. ბ) პირამიდული უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ - 13.5%-ით (კ.-1481±58; ექს.-1282±54; P = 0.022); 4 საათის შემდეგ – 18.3%-ით (კ.-1481±58; ექს.-1211±27; P = 0.018); 2 დღის შემდეგ – 17.3%-ით (კ.-1481±58; ექს.-1225±29; P = 0.021); 2 კვირის შემდეგ – 20.8%-ით (კ.-1481±58; ექს.-1173±34; P = 0.004); 1 თვის შემდეგ – 23.1%-ით (კ.-1481±58; ექს.-1140±91; P = 0.012).

რადიალურ შრეში (დიაგრამა 2. გ) ინტერნეირონების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 8.8%-ით (კ.-379±10; ექს.-346±27; P = 0.184); 4 საათის შემდეგ – 32.2%-ით (კ-379±10; ექს.-257±20; P = 0.011); 2 დღის შემდეგ – 31.7%-ით (კ.-379±10; ექს.-259±19; P = 0.002); 2 კვირის შემდეგ – 42.5%-ით (კ.-379±10; ექს.-218±17; P = 0.001); 1 თვის შემდეგ – 51.8%-ით (კ.-379±10; ექს.-183±23; P = 0.017).

დაკბილული ფასცია (დიაგრამა 3)

კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, დაკბილულ ფასციაში გრანულარული უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით სარწმუნოდ არის შემცირებული ყველა ექსპერიმენტულ ჯგუფებში. კერძოდ:

გრანულარული უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 7.1%-ით (კ.-21253±364; ექს.-19755±91; P = 0.02); 4 საათის შემდეგ – 8.5%-ით (კ.-21253±364; ექს.-19454±221; P = 0.005); 2 დღის შემდეგ – 9%-ით (კ.-21253±364; ექს.-19360±428; P = 0.01); 2 კვირის შემდეგ – 10.1%-ით (კ.-21253±364; ექს.-19107±313; P = 0.004); 1 თვის შემდეგ – 8.3%-ით (კ.-21253±364; ექს.-19499±412; P = 0.017).

4.1.1.2. მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები.

CA1 ველი

მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, CA1 ველის სხვადასხვა შრეებში ინტერნეირონების რაოდენობის კლების ტენდენცია ძირითადად 2 დღის შემდეგ ჩნდება და სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილებები სწორედ გრძელვადიან ჯგუფებშია ნანახი. პირამიდული შრე მეტადაა დაზიანებული და ნეირონების სტატისტიკურად სარწმუნო კლება საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით უკვე 4 საათიდან ფიქსირდება. კერძოდ:

ორიენტული შრეში (დიაგრამა 1. ა) ინტერნეირონების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 4,3%-ით (კ.-566±34; ექს.-542±58; P=0.59); 4 საათის შემდეგ – 10,8%-ით (კ.-566±34; ექს.-505±51; P = 0.18); 2 დღის შემდეგ – 15,1%-ით (კ.-566±34; ექს.-481±30; P = 0.04); 2 კვირის შემდეგ – 28%-ით (კ.-566±34; ექს.-408±57; P = 0.026); 1 თვის შემდეგ – 30,7%-ით (კ.-566±34; ექს.-398±48; P = 0.016).

პირამიდულ შრეში (დიაგრამა 1. ბ) პირამიდული უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 7,6%-ით (კ.-4449±131; ექს.-4115±186; P = 0.16); 4 საათის შემდეგ – 7,7%-ით (კ.-4449±131; ექს.-4107±97; P = 0.036); 2 დღის შემდეგ – 8,9%-ით (კ.-4449±131; ექს.-4057±137; P = 0.037); 2 კვირის

შემდეგ – 19,9%-ით (კ.-4449±131; ექს.-3568±176; P = 0.011); 1 თვის შემდეგ – 21,8%-ით (კ.-4449±131; ექს.-3480±149; P = 0.003).

რადიალურ შრეში (დიაგრამა 1. გ) ინტერნეირონების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 1%-ით (კ.-544±36; ექს.-539±45; P = 0.89); 4 საათის შემდეგ – 5,6%-ით (კ.-544±36; ექს.-514±44; P = 0.43); 2 დღის შემდეგ – 15,1%-ით (კ.-544±36; ექს.-462±48; P = 0.1); 2 კვირის შემდეგ – 21,2%-ით (კ.-544±36; ექს.-429±45; P = 0.041); 1 თვის შემდეგ – 22,8%-ით (კ.-544±36; ექს.-420±44; P = 0.033).

CA3 ველი

მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, CA3 ველის სხვადასხვა შრეებში როგორც ინტერნეირონების, ასევე პირამიდული უჯრედების რაოდენობის კლების ტენდენცია ძირითადად 2 დღის შემდეგ ჩნდება და სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილებები სწორედ გრძელვადიან ჯგუფებშია ნანახი. კერძოდ:

ორიენტული შრეში (დიაგრამა 2. ა) ინტერნეირონების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 6%-ით (კ.-401±7; ექს.-377±16; P =0.139); 4 საათის შემდეგ – 11.3%-ით (კ.-401±7; ექს.-356±29; P = 0.119); 2 დღის შემდეგ – 22.5%-ით (კ.-401±7; ექს.-311±26; P = 0.028); 2 კვირის შემდეგ – 21%-ით (კ.-401±7; ექს.-317±19; P = 0.018); 1 თვის შემდეგ – 22.2%-ით (კ.-401±7; ექს.-312±14; P = 0.01).

პირამიდულ შრეში (დიაგრამა 2. ბ) პირამიდული უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 9.4% (კ.-1481±58; ექს.-1343±83; P =0.09); 4 საათის შემდეგ – 8.4%-ით (კ-1481±58; ექს.-1357±46; P = 0.062); 2 დღის შემდეგ – 10.7%-ით (კ.-1481±58; ექს.-1323±11; P = 0.043); 2 კვირის შემდეგ – 17.2%-ით (კ.-1481±58; ექს.-1227±36; P = 0.008); 1 თვის შემდეგ – 18.8%-ით (კ.-1481±58; ექს.-1204±28; P = 0.017).

რადიალურ შრეში (დიაგრამა 2. გ) ინტერნეირონების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 8.2%-ით (კ.-379±10; ექს.-348±21; P =0.144); 4 საათის შემდეგ – 10.6%-ით (კ.-379±10; ექს.-339±26; P = 0.13); 2 დღის შემდეგ

– 28.9%-ით (კ.-379±10; ექს.-270±13; P = 0.001); 2 კვირის შემდეგ – 27.8%-ით (კ.-379±10; ექს.-274±23; P = 0.017); 1 თვის შემდეგ – 28%-ით (კ.-379±10; ექს.-273±28; P = 0.025).

დაკბილული ფასცია (დიაგრამა 3)

მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, დაკბილულ ფასციაში გრანულარული უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით სარწმუნოდ მხოლოდ 2 დღის შემდეგ მცირდება. კერძოდ:

მარცვლოვანი უჯრედების შრეში მარცვლოვანი ნეირონების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით შემცირებულია: 2 საათის შემდეგ – 2.2%-ით (კ.-21253±364; ექს.-20791±218; P = 0.156); 4 საათის შემდეგ – 2.9%-ით (კ.-21253±364; ექს.-20649±310; P = 0.177); 2 დღის შემდეგ – 7.1%-ით (კ.-21253±364; ექს.-19761±155; P = 0.023); 2 კვირის შემდეგ – 8.6%-ით (კ.-21253±364; ექს.-19436±91; P = 0.014); 1 თვის შემდეგ – 9.4%-ით (კ.-21253±364; ექს.-19262±223; P = 0.004).

მიღებული შედეგები გვიჩვენებს, რომ კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებისას, უჯრედების სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლება საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით, ეპილეფსიური სტატუსის განვითარებიდან 4 საათის შემდეგ, ხოლო CA1 და CA3 ველების პირამიდულ შრეში უკვე 2 საათის შემდეგ ფიქსირდება.

ამისგან განსხვავებით მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებისას სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლებას ადგილი ძირითადად 2 დღის შემდეგ აქვს, ხოლო დაღუპული უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი შემცირებულია. ეს განსაკუთრებით შესამჩნევია CA1 ველის პირამიდულ შრეში რომელიც ერთ-ერთ ყველაზე დაზიანებულ უბნად შეიძლება ჩაითვალოს ჰიპოკამპში.

შედარებისთვის: კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებისას პირამიდული უჯრედების დაკლება 80%-ს აღწევს და სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლება უკვე 2 საათიდან ფიქსირდება. ამასთანავე, მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებისას სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლებას ასევე

ადრეულ ეტაპზე – 4 საათის შემდეგ აქვს ადგილი, მაგრამ დაღუპული უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი გაცილებით დაბალია და 22%-ს არ აღემატება.

4.1.2. ვერცხლით იმპრეგნაცია

4.1.2.1. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები.

დეგენერირებული ნეირონების დეტექცია ხდებოდა ვერცხლის იმპრეგნაციის მეთოდის გამოყენებით. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრაციის შედეგად აღინიშნებოდა შემდეგი სურათი:

CA1 ველი: დეგენერირებული ნეირონები შეესაბამებოდნენ:

ორიენტულ შრეში: 2 საათის შემდეგ – I ხარისხს (<10%), 4 საათის შემდეგ I ხარისხს (<10%), 2 დღის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 კვირის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%), 1 თვის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%).
პირამიდულ შრეში: 2 საათის შემდეგ – I ხარისხს (<10%), 4 საათის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 დღის შემდეგ – II ხარისხს (10-50%), 2 კვირის შემდეგ II ხარისხს (10-50%) და 1 თვის შემდეგ - III ხარისხს (>50%).
რადიალურ შრეში: 2 საათის შემდეგ – I ხარისხს (<10%), 4 საათის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 დღის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 კვირის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%), 1 თვის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%).

CA3 ველი: დეგენერირებული ნეირონები შეესაბამებოდნენ:

ორიენტულ შრეში: 2 საათის შემდეგ – I ხარისხს (<10%), 4 საათის შემდეგ I ხარისხს (<10%), 2 დღის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 კვირის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%), 1 თვის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%).

პირამიდულ შრეში: 2 საათის შემდეგ – II ხარისხს (10-50%), 4 საათის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 დღის შემდეგ – II ხარისხს (10-50%), 2 კვირის შემდეგ III ხარისხს (>50%) და 1 თვის შემდეგ - III ხარისხს (>50%).
რადიალურ შრეში: 2 საათის შემდეგ – II ხარისხს (10-50%), 4 საათის შემდეგ I ხარისხს (<10%), 2 დღის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 კვირის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%), 1 თვის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%).

4.1.2.2. მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები.

CA1 ველი: დეგენერირებული ნეირონები შეესაბამებოდნენ:

ორიენტულ შრეში: 2 საათის შემდეგ – I ხარისხს (<10%), 4 საათის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 დღის შემდეგ I ხარისხს (<10%), 2 კვირის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%), 1 თვის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%).
პირამიდულ შრეში: 2 საათის შემდეგ – I ხარისხს (<10%), 4 საათის შემდეგ I ხარისხს (<10%), 2 დღის შემდეგ – I ხარისხს (<10%), 2 კვირის შემდეგ II ხარისხს (10-50%) და 1 თვის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%).
რადიალურ შრეში: 2 საათის შემდეგ – I ხარისხს (<10%), 4 საათის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 დღის შემდეგ I ხარისხს (<10%), 2 კვირის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%), 1 თვის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%).

CA3 ველი: დეგენერირებული ნეირონები შეესაბამებოდნენ:

ორიენტულ შრეში: 2 საათის შემდეგ – I ხარისხს (<10%), 4 საათის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 დღის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 კვირის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%), 1 თვის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%).
პირამიდულ შრეში: 2 საათის შემდეგ – I ხარისხს (<10%), 4 საათის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 დღის შემდეგ – II ხარისხს (10-50%), 2 კვირის შემდეგ II ხარისხს (10-50%) და 1 თვის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%).

რადიალურ შრეში: 2 საათის შემდეგ – I ხარისხს (<10%), 4 საათის შემდეგ II ხარისხს (10-50%), 2 დღის შემდეგ I ხარისხს (<10%), 2 კვირის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%), 1 თვის შემდეგ - II ხარისხს (10-50%).

4.1.3. მაკროგლიის რაოდენობრივი ცვლილებები

4.1.3.1. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები.

CA1 ველი (დიაგრამა 6)

კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, CA1 ველის ყველა შრეში მაკროგლიის სტატისტიკურად სარწმუნო ზრდას 1-თვიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში აქვს ადგილი. კერძოდ:

ორიენტული შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით გაზრდილია: 4 საათის შემდეგ – 10 6%-ით (იკლებს) (კ.-188±15; ექს.-168±18; P = 0.11); 2 დღის შემდეგ – 5.8%-ით (კ.-188±15; ექს.-199±48; P = 0.73); 1 თვის შემდეგ – 135.6%-ით (კ.-188±15; ექს.-443±20; P = 0.000).

პირამიდულ შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით გაზრდილია: 4 საათის შემდეგ – 6.5%-ით (იკლებს) (კ.-230±26; ექს.-215±26; P = 0.2); 2 დღის შემდეგ – 15.2%-ით (კ.-230±26; ექს.-265±49; P = 0.35); 1 თვის შემდეგ – 151%-ით (კ.-230±26; ექს.-578±20; P = 0.000).

რადიალურ შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით გაზრდილია: 4 საათის შემდეგ – 2.5%-ით (იკლებს) (კ.-158±26; ექს.-154±26; P = 0.56); 2 დღის შემდეგ – 22.1%-ით (კ.-158±26; ექს.-193±45; P = 0.31); 1 თვის შემდეგ – 212%-ით (კ -158±26; ექს.-493±22; P = 0.002).

CA3 ველი (დიაგრამა 7)

კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, CA3 ველის პირამიდულ შრეში მაკროგლიის სტატისტიკურად სარწმუნო ზრდას უკვე 2 დღიდან, ხოლო

ორიენტულ და რადიალურ შრეებში 1-თვიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში აქვს ადგილი. კერძოდ:

ორიენტული შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით გაზრდილია: 4 საათის შემდეგ 3%-ით (დაკლება) (კ.-195±17; ექს.-189±26; P = 0.74); 2 დღის შემდეგ – 11%-ით (კ.-195±17; ექს.-217±25; P = 0.3); 1 თვის შემდეგ – 85.6%-ით (კ.-195±17; ექს.-362±6; P = 0.004).
პირამიდულ შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით გაზრდილია: 4 საათის შემდეგ – 5%-ით (დაკლება) (კ.-238±21; ექს.-226±22; P = 0.88); 2 დღის შემდეგ – 43%-ით (კ.-238±21; ექს.-341±25; P = 0.012); 1 თვის შემდეგ – 80%-ით (კ.-238±21; ექს.-430±16; P = 0.001).
რადიალურ შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით გაზრდილია: 4 საათის შემდეგ – 5%-ით (კ.-183±11; ექს.-192±29; P = 0.81); 2 დღის შემდეგ – 44%-ით (კ.-183±11; ექს.-264±19; P = 0.058); 1 თვის შემდეგ – 104.9%-ით (კ.-183±11; ექს.-375±15; P = 0.000).

4.1.3.2. მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები.

CA1 ველი (დიაგრამა 6)
მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად CA1 ველის ყველა შრეში გამოხატულია მაკროგლიის სტატისტიკურად სარწმუნო ზრდა. აღსანიშნავია, რომ პირამიდულ და რადიალურ შრეებში მაკროგლიის სტატისტიკურად სარწმუნო ზრდას უკვე 2 დღიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში აქვს ადგილი. ხოლო დროის მატების პარალელურად გლიური უჯრედების რაოდენობა იზრდება. კერძოდ:

ორიენტული შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით გაზრდილია: 4 საათის შემდეგ – 26%-ით (კ.-188±15; ექს.-237±29; P = 0.81); 2 დღის

შემდეგ – 27.6%-ით (კ.-188±15; ექს.-240±24; P = 0.064); 1 თვის შემდეგ – 69%-ით (კ.-188±15; ექს.-318±22; P = 0.004).

პირამიდულ შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით გაზრდილია: 4 საათის შემდეგ – 27.8%-ით (კ.-230±26; ექს.-294±11; P = 0.06); 2 დღის შემდეგ – 35.6%-ით (კ.-230±26; ექს.-312±12; P = 0.039); 1 თვის შემდეგ – 47.3%-ით (კ.-230±26; ექს.-339±44; P = 0.035).

რადიალურ შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით გაზრდილია: 4 საათის შემდეგ – 36%-ით (კ.-158±26; ექს.-215±26; P = 0.07); 2 დღის შემდეგ – 43%-ით (კ.-158±26; ექს.-226±45; P = 0.036); 1 თვის შემდეგ – 89.8%-ით (კ.-158±26; ექს.-300±44; P = 0.032).

CA3 ველი (დიაგრამა 7)

მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად CA3 ველის ყველა შრეში გამოხატულია მაკროგლიის სტატისტიკურად სარწმუნო ზრდა. ამ ველში გლიური უჯრედების რაოდენობის ზრდა განსაკუთრებით მძაფრად არის გამოხატული და უკვე 2 დღიან ექსპერიმენტულ ჯგუფში ყველა შრეში სარწმუნო ზრდას აქვს ადგილი. კერძოდ:

ორიენტული შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით გაზრდილია: 4 საათის შემდეგ – 26%-ით (კ.-195±17; ექს.-246±44; P = 0.2); 2 დღის შემდეგ – 49%-ით (კ.-195±17; ექს.-291±14; P = 0.005); 1 თვის შემდეგ – 107%-ით (კ.-195±17; ექს.-405±19; P = 0.001).

პირამიდულ შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით გაზრდილია: 4 საათის შემდეგ – 27%-ით (კ.-238±21; ექს.-303±35; P = 0.072); 2 დღის შემდეგ – 42%-ით (კ.-238±21; ექს.-340±31; P = 0.018); 1 თვის შემდეგ – 69%-ით (კ.-238±21; ექს.-403±52; P = 0.037).

რადიალურ შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით გაზრდილია: 4 საათის შემდეგ – 31%-ით (კ.-183±11; ექს.-241±37; P = 0.069); 2 დღის შემდეგ – 60%-ით (კ.-183±11; ექს.-293±17; P = 0.003); 1 თვის შემდეგ – 106%-ით (კ.-183±11; ექს.-378±10; P = 0.000).

4.2. პირიფორმული ქერქი

4.2.1. ძირითადი უჯრედების და ინტერნეირონების რაოდენობრივი ცვლილებები

4.2.1.1. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები.

წინა ზონა

კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, პირიფორმული ქერქის წინა ზონის ყველა შრეებში გამოხატულია ნეირონების რაოდენობის კლების ტენდენცია. ეს ტენდენცია უფრო ძლიერია 2-კვირიან და 1-თვიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში. უჯრედების რაოდენობა განსაკუთრებით არის შემცირებული პირამიდულ შრეში. კერძოდ:

პირიფორმული ქერქის წინა ზონის I შრეში ინტერნეირონების რაოდენობა მცირდება (დიაგრამა 4. ა): 2 საათის შემდეგ – 2,8%-ით (კ.-258±13, ექს.-251±25. P=0.72), 4 საათის შემდეგ – 22,9%-ით (კ.- 258±13, ექს.-199±26. P=0.072), 2 დღის შემდეგ 23,7%-ით (კ.- 258±13, ექს.-197±21. P=0.023), 2 კვირის შემდეგ 53,2%-ით (კ.- 258±13, ექს.-121±20. P=0.002), 1 თვის შემდეგ 52.4%-ით (კ.- 258±13, ექს.-123±16. P=0.001).

II შრეში პირამიდული ნეირონების რიცხვი მცირდება (დიაგრამა 4. ბ): 2 საათის შემდეგ – 3,8%-ით (კ.-1264±34, ექს.-1216±68. P=0.39), 4 საათის შემდეგ 4,4%-ით(კ.- 1264±34, ექს.-1209±30. P=0.12), 2 დღის შემდეგ 13,4%-ით(კ.- 1264±34, ექს.-1095±38. P=0 01), 2 კვირის შემდეგ 37,9%-ით (კ.- 1264±34, ექს.-786±115. P=0.03), 1 თვის შემდეგ 52,4%-ით (კ.- 1264±34, ექს.-602±87. P=0.01).

III შრის ნახევრადმთვარისებური უჯრედები მცირდება (დიაგრამა 4. გ): 2 საათის შემდეგ – 9%-ით (კ.-449±39, ექს.-409±21. P=0.21), 4 საათის შემდეგ 11%-ით (კ.-449±39, ექს.-400±34. P=0.19), 2 დღის შემდეგ 13,3%-ით (კ.-449±39, ექს.-385±45. P=0.15), 2 კვირის შემდეგ 41,5%-ით (კ.-449±39, ექს.-263±31. P=0.007), 1 თვის შემდეგ 48,6%-ით (კ.-449±39, ექს.-231±38. P=0.006).

III შრის ინტერნეირონები მცირდება (დიაგრამა 4. დ): 2 საათის შემდეგ – 1,3%-ით (კ.-235±22, ექს.-232±13. P=0.86), 4 საათის შემდეგ 23%-ით (კ.- 235±22, ექს.-181±25. P=0.065), 2 დღის შემდეგ 30,7%-ით (კ.-235±22, ექს.-163±28. P=0.042), 2 კვირის შემდეგ 52,8%-ით (კ.- 235±22, ექს.-111±14. P=0.004), 1 თვის შემდეგ 54,5%-ით (კ.-235±22, ექს.-107±24. P=0.007).

შუა ზონა

კაინის მეავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, პირიფორმული ქერქის შუა ზონის ყველა შრეებში გამოხატულია ნეირონების რაოდენობის კლების ტენდენცია. ეს ტენდენცია უფრო ძლიერია 2-კვირიან და 1-თვიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში. განსაკუთრებით არის შემცირებული II შრის პირამიდული უჯრედები და III შრის ნახევრადმთვარისებრი უჯრედები. კერძოდ:

პირიფორმული ქერქის შუა ზონის I შრის ინტერნეირონები მცირდება (დიაგრამა 5. ა): 2 საათის შემდეგ – 6%-ით (კ.-152±17, ექს.-142±16. P=0.54), 4 საათის შემდეგ 19,8%-ით (კ.- 152±17, ექს.-122±11. P=0.08), 2 დღის შემდეგ 23%-ით (კ.- 152±17, ექს.-111±22. P=0.12), 2 კვირის შემდეგ 62,5%-ით (კ.- 152±17, ექს.-57±14. P=0.008), 1 თვის შემდეგ 61,9%-ით (კ.-152±17, ექს.-58±11. P=0.008).

II შრის პირამიდული უჯრედები მცირდება (დიაგრამა 5. ბ): 2 საათის შემდეგ – 6,2%-ით (კ.-1015±29, ექს.-251±25. P=0.28), 4 საათის შემდეგ 9,3%-ით (კ.- 1015±29, ექს.-921±64. P=0.14), 2 დღის შემდეგ 20,9%-ით (კ.- 1015±29, ექს.-803±66. P=0.037), 2 კვირის შემდეგ 57,9%-ით (კ.- 1015±29, ექს.-428±84. P=0.023), 1 თვის შემდეგ 70,2%-ით (კ.- 1015±29, ექს.-303±65. P=0.01).

III შრეში ნახევრადმთვარისებრი უჯრედების რიცხვი მცირდება (დიაგრამა 5. გ): 2 საათის შემდეგ – 9,3%-ით (კ.-367±17, ექს.-333±28. P=0.18), 4 საათის შემდეგ 14,8%-ით (კ.- 367±17, ექს.-313±43. P=0.18), 2 დღის შემდეგ 10,1%-ით (კ.- 367±17, ექს.-330±51. P=0.47), 2 კვირის შემდეგ 58,1%-ით (კ.- 367±17, ექს.-154±38. P=0.04), 1 თვის შემდეგ 72,5%-ით (კ.- 367±17, ექს.-101±28. P=0.02).

III შრის ინტერნეირონების რიცხვი მცირდება (დიაგრამა 5. დ): 2 საათის შემდეგ – 2,6%-ით (კ.-155±14, ექს.-251±13. P=0.82), 4 საათის შემდეგ 23,3%-ით (კ.- 155±14, ექს.-

119±17. P=0.12), 2 დღის შემდეგ 32,3%-ით (კ.- 155±14, ექს.-105±17. P=0.08), 2 კვირის შემდეგ 66,5%-ით (კ.- 155±14, ექს.-52±12. P=0.01), 1 თვის შემდეგ 62,6%-ით (კ.- 155±14, ექს.-58±14. P=0.02).

უკანა ზონა

კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, პირიფორმული ქერქის უკანა ზონის ყველა შრეებში გამოხატულია ნეირონების რაოდენობის კლების ტენდენცია. ეს ტენდენცია უფრო ძლიერია 2-კვირიან და 1-თვიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში. განსაკუთრებით არის შემცირებული II შრის პირამიდული უჯრედები და III შრის ნახევრადმთვარისებრი უჯრედები. კერძოდ:

პირიფორმული ქერქის უკანა ზონის I შრის ინტერნეირონები მცირდება (დიაგრამა 6. ა): 2 საათის შემდეგ – 0,9%-ით (კ.-247±26, ექს.-245±23. P=0.93), 4 საათის შემდეგ 22,3%-ით (კ.- 247±26, ექს.-192±29. P=0.13), 2 დღის შემდეგ 37,7%-ით (კ.- 247±26, ექს.-154±23. P=0.034), 2 კვირის შემდეგ 59,6%-ით (კ.- 247±26, ექს.-100±13. P=0.02), 1 თვის შემდეგ 57,5%-ით (კ.- 247±26, ექს.-105±22. P=0.011).

II შრის პირამიდული უჯრედები მცირდება (დიაგრამა 6. ბ): 2 საათის შემდეგ – 5,2%-ით (კ.-1458±45, ექს.-1383±47. P=0.14), 4 საათის შემდეგ 4,6%-ით (კ.- 1458±45, ექს.-1395±28. P=0.13), 2 დღის შემდეგ 23,7% (კ.- 1458±45, ექს.-1113±82. P=0.008), 2 კვირის შემდეგ 61,4%-ით (კ.- 1458±45, ექს.-563±112. P=0.01), 1 თვის შემდეგ 70%-ით (კ.- 1458±45, ექს.-428±93. P=0.004).

III შრის ნახევარმთვარისებრი უჯრედების რიცხვი მცირდება (დიაგრამა 6. გ): 2 საათის შემდეგ – 1,9%-ით (კ.-552±45, ექს.-542±68. P=0.86), 4 საათის შემდეგ 9,7%-ით (კ.-552±45, ექს.-499±55. P=0.32), 2 დღის შემდეგ 8,4%-ით (კ.- 552±45, ექს.-506±77. P=0.45), 2 კვირის შემდეგ 57,7%-ით (კ.- 552±45, ექს.-234±55. P=0.01), 1 თვის შემდეგ 66,9%-ით (კ.- 552±45, ექს.-183±48. P=0.01).

III შრის ინტერნეირონების რიცხვი მცირდება (დიაგრამა 6. დ): 2 საათის შემდეგ – 3,4%-ით (კ.-239±18, ექს.-231±22. P=0.66), 4 საათის შემდეგ 29,3%-ით (კ.- 239±18, ექს.-169±14. P=0.013), 2 დღის შემდეგ 52,8%-ით (კ.- 239±18, ექს.-113±18. P=0.009), 2 კვირის

შემდეგ 57,4%-ით (კ.- 239±18, ექს.-102±18. P=0.003), 1 თვის შემდეგ 57%-ით (კ.- 239±18, ექს.-103±25. P=0.007).

4.2.1.2. მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები.

წინა ზონა

მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, პირიფორმული ქერქის წინა ზონის ყველა შრეში ნეირონების რაოდენობის კლების ტენდენცია სუსტად არის გამოხატული. ნეირონების სტატისტიკურად სარწმუნო კლებას ადგილი მხოლოდ 1 თვიან ჯგუფებში: I შრის ინტერნეირონებსა და II შრის პორამიდულ უჯრედებში აქვს. კერძოდ:

პირიფორმული ქერქის წინა ზონის I შრეში ინტერნეირონების რაოდენობა მცირდება (დიაგრამა 4. ა): 2 საათის შემდეგ – 2%-ით (კ.-258±13, ექს.-253±10. P=0.64), 4 საათის შემდეგ – 4,7%-ით (კ.- 258±13, ექს.-246±9. P=0.27), 2 დღის შემდეგ 8,6%-ით (კ.- 258±13, ექს.-236±18. P=0.17), 2 კვირის შემდეგ 11,7%-ით (კ.- 258±13, ექს.-228±11. P=0.057), 1 თვის შემდეგ 17,5%-ით (კ.- 258±13, ექს.-213±15. P=0.029).

II შრეში პირამიდული ნეირონების რიცხვი მცირდება (დიაგრამა 4. ბ): 2 საათის შემდეგ – 3,7%-ით (კ.-1264±34, ექს.-1218±52. P=0.29), 4 საათის შემდეგ 3,8%-ით(კ.- 1264±34, ექს.-1216±25. P=0.14), 2 დღის შემდეგ 4,1%-ით(კ.- 1264±34, ექს.-1213±45. P=0.21), 2 კვირის შემდეგ 4,6%-ით (კ.- 1264±34, ექს.-1206±26. P=0.1), 1 თვის შემდეგ 12,1%-ით (კ.-1264±34, ექს.-1112±38. P=0.014).

III შრის ნახევარდმთვარისებური უჯრედები მცირდება (დიაგრამა 4. გ): 2 საათის შემდეგ – 4,1%-ით (კ.-449±39, ექს.-431±19. P=0.54), 4 საათის შემდეგ 4,7%-ით (კ.- 449±39, ექს.-428±18. P=0.48), 2 დღის შემდეგ 3,8%-ით (კ.-449±39, ექს.-432±24. P=0.56), 2 კვირის შემდეგ 4,3%-ით (კ.-449±39, ექს.-430±28. P=0.54), 1 თვის შემდეგ 5,2%-ით (კ.- 449±39, ექს.-426±44. P=0.54).

III შრის ინტერნეირონები მცირდება (დიაგრამა 4. დ): 2 საათის შემდეგ – 0,9%-ით (კ.-235±22, ექს.-233±8. P=0.89), 4 საათის შემდეგ 3%-ით (კ.- 235±22, ექს.-228±17. P=0.7),

2 დღის შემდეგ 3,5%-ით (კ.-235±22, ექს.-227±25. P=0.7), 2 კვირის შემდეგ 5,6%-ით (კ.-235±22, ექს.-222±23. P=0.5), 1 თვის შემდეგ 9,8%-ით (კ- 235±22, ექს.-212±11. P=0.2).

შუა ზონა

მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, უჯრედების სტატისტიკურად სარწმუნო კლებას საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით ადგილი მხოლოდ შუა ზონის II შრეში აქვს, კერძოდ კი – 2 კვირიან და 1 თვიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში. შუა ზონის I შრის ინტერნეირონებში, III შრის ნახევრადმთვარისებრ უჯრედებში და III შრის ინტერნეირონებში უჯრედების რაოდენობის კლება სტატისტიკურად სარწმუნო არ არის. კერძოდ:

პირიფორმული ქერქის შუა ზონის I შრის ინტერნეირონები მცირდება (დიაგრამა 5. ა): 2 საათის შემდეგ – 1,4%-ით (კ.-152±17, ექს.-150±18. P=0.95), 4 საათის შემდეგ 11,2%-ით (კ.-152±17, ექს.-135±14. P=0.27), 2 დღის შემდეგ 7,9%-ით (კ.-152±17, ექს.-140±12. P=0.43), 2 კვირის შემდეგ 17,2%-ით (კ.-152±17, ექს.-126±17. P=0.16), 1 თვის შემდეგ 17,8%-ით (კ.-152±17, ექს.-125±12. P=0.12).

II შრის პირამიდული უჯრედები მცირდება (დიაგრამა 5. ბ): 2 საათის შემდეგ – 0,4%-ით (კ.-1015±29, ექს.-1011±48. P=0.89), 4 საათის შემდეგ 4,1%-ით (კ.-1015±29, ექს.-974±72. P=0.45), 2 დღის შემდეგ 1,7%-ით (კ.-1015±29, ექს.-998±74. P=0.7), 2 კვირის შემდეგ 15,1%-ით (კ.-1015±29, ექს.-862±42. P=0.014), 1 თვის შემდეგ 17,9%-ით (კ.-1015±29, ექს.-834±68. P=0.05).

III შრეში ნახევრადმთვარისებრი უჯრედების რიცხვი მცირდება (დიაგრამა 5. გ): 2 საათის შემდეგ – 2,8%-ით (კ.-367±17, ექს.-357±21. P=0.57), 4 საათის შემდეგ 6%-ით (კ.- 367±17, ექს.-345±26. P=0.1), 2 დღის შემდეგ 7,4%-ით (კ.-367±17, ექს.-340±36. P=0.37), 2 კვირის შემდეგ 6,3%-ით (კ.-367±17, ექს.-344±49. P=0.56), 1 თვის შემდეგ 11,2%-ით (კ.-367±17, ექს.-326±24. P=0.09).

III შრის ინტერნეირონების რიცხვი მცირდება (დიაგრამა 5. დ): 2 საათის შემდეგ – 2,6%-ით (კ.-155±14, ექს.-251±22. P=0.85), 4 საათის შემდეგ 9,1%-ით (კ.-155±14, ექს.-141±12. P=0.47), 2 დღის შემდეგ 10,4%-ით (კ.-155±14, ექს.-139±15. P=0.4), 2 კვირის

შემდეგ 12,3%-ით (კ.-155±14, ექს.-136±10. P=0.35), 1 თვის შემდეგ 16,2%-ით (კ.-155±14, ექს.-130±8. P=0.24).

უკანა ზონა

მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, პირიფორმული ქერქის უკანა ზონაში უჯრედების სტატისტიკურად სარწმუნო კლებას საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით ადგილი მხოლოდ II შრეში აქვს, კერძოდ კი – 2 კვირიან და 1 თვიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში. შუა ზონის I შრის ინტერნეირონებში, III შრის ნახევარდმთვარისებრ უჯრედებში და III შრის ინტერნეირონებში უჯრედების რაოდენობის კლება სტატისტიკურად სარწმუნო არ არის. კერძოდ:

პირიფორმული ქერქის უკანა ზონის I შრის ინტერნეირონები მცირდება (დიაგრამა 6. ა): 2 საათის შემდეგ – 1,7%-ით (კ.-247±26, ექს.-243±32. P=0.88), 4 საათის შემდეგ 5,3%-ით (კ.-247±26, ექს.-234±12. P=057), 2 დღის შემდეგ 6,1%-ით (კ.-247±26, ექს.-232±19. P=0.54), 2 კვირის შემდეგ 9%-ით (კ.-247±26, ექს.-225±12. P=0.4), 1 თვის შემდეგ 15%-ით (კ.-247±26, ექს.-210±26. P=0.23).

II შრის პირამიდული უჯრედები მცირდება (დიაგრამა 6. ბ): 2 საათის შემდეგ – 6,4%-ით (კ.-1458±45, ექს.-1365±58. P=0.11), 4 საათის შემდეგ 9,2%-ით (კ.-1458±45, ექს.-1324±90. P=0.14), 2 დღის შემდეგ 7,7% (კ.-1458±45, ექს.-1346±76. P=0.11), 2 კვირის შემდეგ 14,3%-ით (კ.-1458±45, ექს.-1250±43. P=0.01), 1 თვის შემდეგ 17,1%-ით (კ.-1458±45, ექს.-1209±39. P=0.006).

III შრის ნახევარმთვარისებრი უჯრედების რიცხვი მცირდება (დიაგრამა 6. გ): 2 საათის შემდეგ – 3,5%-ით (კ.-552±45, ექს.-533±28. P=0.63), 4 საათის შემდეგ 6%-ით (კ.-552±45, ექს.-519±27. P=0.44), 2 დღის შემდეგ 5,5%-ით (კ.-552±45, ექს.-522±65. P=0.61), 2 კვირის შემდეგ 6,6%-ით (კ.-552±45, ექს.-516±48. P=0.45), 1 თვის შემდეგ 6,4%-ით (კ.-552±45, ექს.-517±48. P=0.48).

III შრის ინტერნეირონების რიცხვი მცირდება (დიაგრამა 6. დ): 2 საათის შემდეგ – 1,7%-ით (კ.-239±18, ექს.-235±28. P=0.84), 4 საათის შემდეგ 6,7%-ით (კ.-239±18, ექს.-

223±16. P=0.3), 2 დღის შემდეგ 10,9%-ით (კ.-239±18, ექს.-213±20. P=0.19), 2 კვირის შემდეგ 12,6%-ით (კ.-239±18, ექს.-209±19. P=0.14), 1 თვის შემდეგ 15,1%-ით (კ.-239±18, ექს.-203±20. P=0.17).

მიღებული შედეგები გვიჩვენებს, რომ კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებისას, პირიფორმულ ქერქში უჯრედების კლების ტენდენცია უფრო მეტად გრძელვადიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებშია გამოხატული. სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლება საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით, ძირითადად 2 დღის ან 2 კვირის შემდეგ ფიქსირდება. ამისგან განსხვავებით მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინსტრირებისას სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლებას ადგილი ან საერთოდ არ აქვს ან 1 თვიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში ფიქსირდება.

4.2.2. მაკროგლიის რაოდენობრივი ცვლილებები

4.2.2.1. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები.

წინა ზონა (დიაგრამა 8. ა)

კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, პირიფორმული ქერქის წინა ზონის ყველა შრეში გამოხატულია მაკროგლიის რაოდენობის ზრდის ტენდენცია. ეს ტენდენცია უფრო ძლიერია II შრეში, სადაც გლიური უჯრედების სტატისტიკურად სარწმუნო ზრდას უკვე 2 დღიდან აქვს ადგილი. კერძოდ:

პირიფორმული ქერქის წინა ზონის I შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა იზრდება: 4 საათის შემდეგ – 10.5%-ით (კ.-95±14, ექს.-105±5. P=0.36), 2 დღის შემდეგ 23,2%-ით (კ.-95±14, ექს.-117±13. P=0.15), 1 თვის შემდეგ 293.6%-ით (კ.-95±14, ექს.-374±38. P=0.017).

II შრეში გლიური უჯრედების რიცხვი იზრდება: 4 საათის შემდეგ 19.8%-ით (კ.-101±11, ექს.-121±13. P=0.12), 2 დღის შემდეგ 55.4%-ით(კ.-101±11, ექს.-157±12. P=0.01), 1 თვის შემდეგ 270%-ით (კ.-101±11, ექს.-374 ±41. P=0.02).

III შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა იზრდება: 4 საათის შემდეგ 0.9%-ით (კ.-105±14, ექს.-106±6. P=0.89), 2 დღის შემდეგ 15.2%-ით (კ.-105±14, ექს.-121±10. P=0.18), 1 თვის შემდეგ 224.7%-ით (კ.-105±14, ექს.-341±31. P=0.02).

შუა ზონა (დიაგრამა 8. ბ)

კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, პირიფორმული ქერქის შუა ზონის ყველა შრეში გამოხატულია მაკროგლიის რაოდენობის ზრდის ტენდენცია. გლიური უჯრედების რაოდენობის სტატისტიკურად სარწმუნო ზრდა II შრეში უკვე 2 დღიან ჯგუფში, ხოლო სხვა შრეებში 1 თვიან ჯგუფში ფიქსირდება. კერძოდ:

პირიფორმული ქერქის შუა ზონის I შრის გლიური უჯრედები იზრდება: 4 საათის შემდეგ 4.5%-ით (კ.-109±16, ექს.-114±8. P=0.69), 2 დღის შემდეგ 14.6%-ით (კ.-109±16, ექს.-125±7. P=0.25), 1 თვის შემდეგ 271.5%-ით (კ.-109±16, ექს.-405±49. P=0.044).

II შრის გლიური უჯრედები მცირდება: 4 საათის შემდეგ 24%-ით (კ.-127±8, ექს.-158±25. P=0.061), 2 დღის შემდეგ 50%-ით (კ.-127±8, ექს.-191±16. P=0.024), 1 თვის შემდეგ 238.5%-ით (კ.-127±8, ექს.-430±37. P=0.005).

III შრეში გლიური უჯრედების რიცხვი იზრდება: 4 საათის შემდეგ 12.6%-ით (კ.-103±8, ექს.-116±12. P=0.39), 2 დღის შემდეგ 16.5%-ით (კ-103±8, ექს.-120±12. P=0.31), 1 თვის შემდეგ 229.6%-ით (კ.-103±8, ექს.-378±44. P=0.043).

უკანა ზონა (დიაგრამა 8. გ)

კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, პირიფორმული ქერქის უკანა ზონის ყველა შრეში გამოხატულია მაკროგლიის რაოდენობის ზრდის ტენდენცია. ეს ტენდენცია უფრო ძლიერად 1 თვიან ჯგუფშია გამოხატული, სადაც სტატისტიკურად სარწმუნო ზრდა ფიქსირდება. კერძოდ:

პირიფორმული ქერქის უკანა ზონის I შრის გლიური უჯრედები იზრდება: 4 საათის შემდეგ 7.5%-ით (კ-93±12, ექს.-100±8. P=0.41), 2 დღის შემდეგ 17%-ით (კ-93±12, ექს.-109±15. P=0.22), 1 თვის შემდეგ 292.5%-ით (კ-93±12, ექს.-365±39. P=0.02).

II შრის გლიური უჯრედები მცირდება: 4 საათის შემდეგ 12.7%-ით (კ.-118±23, ექს.-133±13. P=0.38), 2 დღის შემდეგ 25.4% (კ.-118±23, ექს.-148±22. P=0.2), 1 თვის შემდეგ 223%-ით (კ.-118±23, ექს.-381±31. P=0.02).

III შრის გლიური უჯრედების რიცხვი იზრდება: 4 საათის შემდეგ 0%-ით (კ.-105±21, ექს.-105±8. P=0.97), 2 დღის შემდეგ 7.6%-ით (კ.-105±21, ექს.-113±5. P=0.58), 1 თვის შემდეგ 224%-ით (კ.-105±21, ექს.-340±42. P=0.033).

4.2.1.2. მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებით გამოწვეული ცვლილებები.

წინა ზონა (დიაგრამა 8. ა)

მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, პირიფორმული ქერქის წინა ზონის ყველა შრეში გამოხატულია მაკროგლიის რაოდენობის ზრდის ტენდენცია. ეს ტენდენცია უფრო ძლიერია II შრეში, სადაც გლიური უჯრედების სტატისტიკურად სარწმუნო ზრდას უკვე 2 დღიდან აქვს ადგილი. კერძოდ:

პირიფორმული ქერქის წინა ზონის I შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობა იზრდება: 4 საათის შემდეგ – 12 6%-ით (კ.-95±14, ექს.-107±7. P=0.34), 2 დღის შემდეგ 30.5%-ით (კ.-95±14, ექს.-124±13. P=0.083), 1 თვის შემდეგ 128.4%-ით (კ.-95±14, ექს.-217±17. P=0.002).

II შრეში გლიური უჯრედების რიცხვი იზრდება: 4 საათის შემდეგ 13.8%-ით (კ.-101±11, ექს.-115±10. P=0.2), 2 დღის შემდეგ 51.4%-ით (კ.-101±11, ექს.-153 ±12. P=0.01), 1 თვის შემდეგ 114.8%-ით (კ.-101±11, ექს.-228±14. P=0.001).

III შრის გლიური უჯრედების რიცხვი იზრდება: 4 საათის შემდეგ 4,7%-ით (კ.-105±14, ექს.-112±12. P=0.54), 2 დღის შემდეგ 3,8%-ით (კ.-105±14, ექს.-114±10. P=0.44), 1 თვის შემდეგ 52%-ით (კ.-105±14, ექს.-210±30. P=0.037).

შუა ზონა (დიაგრამა 8. ბ)

მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, პირიფორმული ქერქის შუა ზონის ყველა შრეში გამოხატულია მაკროგლიის რაოდენობის ზრდის ტენდენცია. გლიური უჯრედების რაოდენობის სტატისტიკურად სარწმუნო ზრდა II შრეში უკვე 2 დღიან ჯგუფში, ხოლო სხვა შრეებში 1 თვიან ჯგუფში ფიქსირდება. კერძოდ:

პირიფორმული ქერქის შუა ზონის I შრის გლიური უჯრედები იზრდება: 4 საათის შემდეგ 8.2%-ით (კ.-109±16, ექს.-118±7. P=0.45), 2 დღის შემდეგ 24.7%-ით (კ.-109±16, ექს.-136±26. P=0.38), 1 თვის შემდეგ 96%-ით (კ.-109±16, ექს.-214±6. P=0.009).
II შრის გლიური უჯრედები იზრდება: 4 საათის შემდეგ 28%-ით (კ.-127±8, ექს.-163±31. P=0.19), 2 დღის შემდეგ 54%-ით (კ.-127±8, ექს.-196±25. P=0.046), 1 თვის შემდეგ 100%-ით (კ.-127±8, ექს.-255±11. P=0.000).
III შრეში გლიური უჯრედების რიცხვი იზრდება: 4 საათის შემდეგ 5.8%-ით (კ.-103±8, ექს.-109±7. P=0.63), 2 დღის შემდეგ 22%-ით (კ.-103±8, ექს.-126±25. P=0.29), 1 თვის შემდეგ 113%-ით (კ.-103±8, ექს.-210±8. P=0.013).

უკანა ზონა (დიაგრამა 8. გ)
მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად, პირიფორმული ქერქის უკანა ზონის ყველა შრეში გამოხატულია მაკროგლიის რაოდენობის ზრდის ტენდენცია. ეს ტენდენცია უფრო ძლიერად 1 თვიან ჯგუფშია გამოხატული, სადაც სტატისტიკურად სარწმუნო ზრდა ფიქსირდება. კერძოდ:

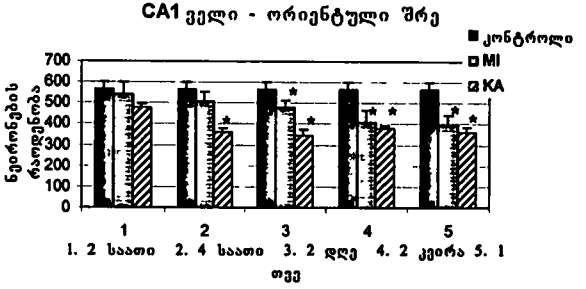
პირიფორმული ქერქის უკანა ზონის I შრის გლიური უჯრედები იზრდება: 4 საათის შემდეგ 12.9%-ით (კ.-93±12, ექს.-105±5. P=0.22), 2 დღის შემდეგ 27.9%-ით (კ.-93±12, ექს.-119±14. P=0.085), 1 თვის შემდეგ 100%-ით (კ.-93±12, ექს.-186±11. P=0.002).
II შრის გლიური უჯრედების რიცხვი იზრდება: 4 საათის შემდეგ 16%-ით (კ.-118±23, ექს.-137±14. P=0.3), 2 დღის შემდეგ 14.4% (კ.-118±23, ექს.-135±17. P=0.37), 1 თვის შემდეგ 79.6%-ით (კ.-118±23, ექს.-212±24. P=0.017).

III შრის გლიური უჯრედების რიცხვი იზრდება: 4 საათის შემდეგ 1%-ით (კ.-105±21, ექს.-106±10. P=0.98), 2 დღის შემდეგ 10.5%-ით (კ.-105±21, ექს.-116±10. P=0.5), 1 თვის შემდეგ 74%-ით (კ.-105±21, ექს.-183±15. P=0.013).

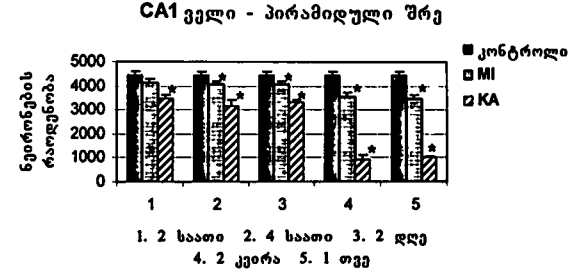
4.3. ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგი

ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგის ხარისხის დასადგენად გამოყენებული იყო თიმის ჰისტოქიმიური მეთოდი, რომელიც დაკბილული ფასციის მარცელოვანი უჯრედების აქსონებში (ხავსისებურ ბოჭკოებში) თუთიის მაღალ შემცველობაზე დაფუძნებული. მეტალ-სულფიდის კომპლექსის წარმოქმნის გზით ხდება ხავსისებური ბოჭკოების შერჩევით შეღებვა.

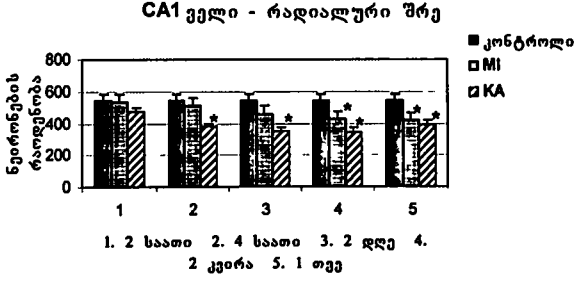
საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგის ხარისხი სარწმუნოდ იყო გაზრდილი როგორც კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებიდან 6 კვირის შემდეგ – (კ.- 13±2.6, ექს.-40.7±1.5, P =0 001); ასევე მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის ადმინისტრირებიდან 6 კვირის შემდეგ (კ.-13±2.6, ექს.-37.7±2.5, P =0.001). ჯგუფებს შორის სისტემურის სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება არ იღინიშნებოდა (ექს.-40.7±1.5, ექს.-37.7±2.5, P =0.17). ორივე ექსპერიმენტულ ჯგუფში საკმაოდ მსგავსი სურათი იყო დაფიქსირებული, რაც გვაფიქრებინებს რომ, მიოინოზიტოლის ერთჯერედი, წინასწარი ადმინისტრირება არ ახდენს მნიშვნელოვან გაელენას კაინის მჟავის მოქმედებით გამოწვეულ ხავსისებური ბიჭკოების სპრაუტინგზე.



ა)

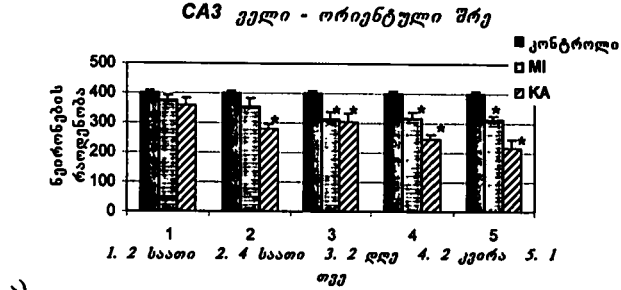


ბ)

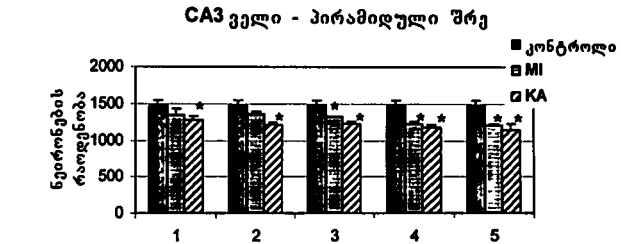


გ)

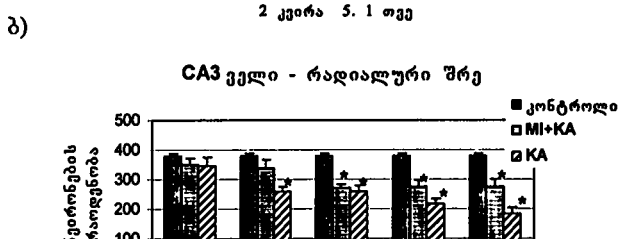
დიაგრამა 1. ნეირონების რაოდენობის ცვლილება CA1 ველში ეპილეფსიური სტატუსის განვითარებიდან 2 საათის, 4 საათის, 2 დღის, 2 კვირის და 1 თვის შემდეგ. ა) ორიენტული შრე; ბ) პირამიდული შრე; გ) რადიალური შრე. Y-ღერძზე აღნიშნულია ნეირონების რაოდენობა. ვერტიკალური ხაზები სვეტებზე აღნიშნავს საშუალო მნიშვნელობების სტანდარტულ გადახრებს. $P<0.05$



ა)

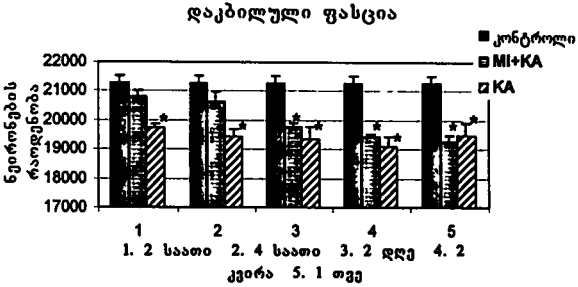


ბ)

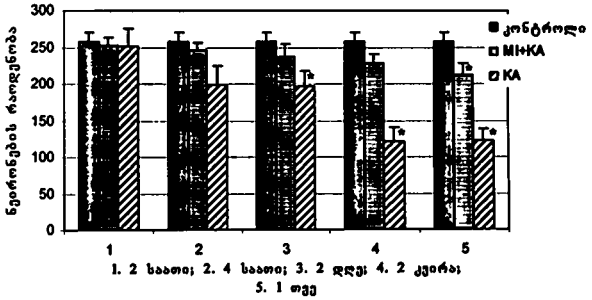


გ)

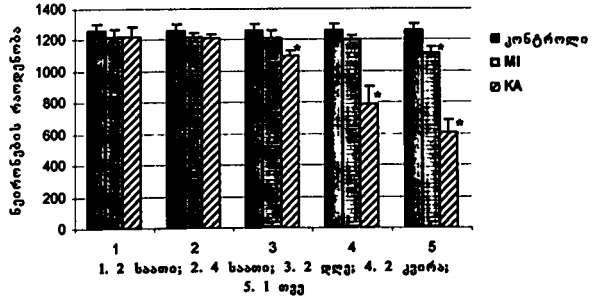
დიაგრამა 2. ნეირონების რაოდენობის ცვლილება CA3 ველში ეპილეფსიური სტატუსის განვითარებიდან 2 საათის, 4 საათის, 2 დღის, 2 კვირის და 1 თვის შემდეგ. ა) ორიენტული შრე; ბ) პირამიდული შრე; გ) რადიალური შრე. Y-ღერძზე აღნიშნულია ნეირონების რაოდენობა. ვერტიკალური ხაზები სვეტებზე აღნიშნავს საშუალო მნიშვნელობების სტანდარტულ გადახრებს. $P<0.05$



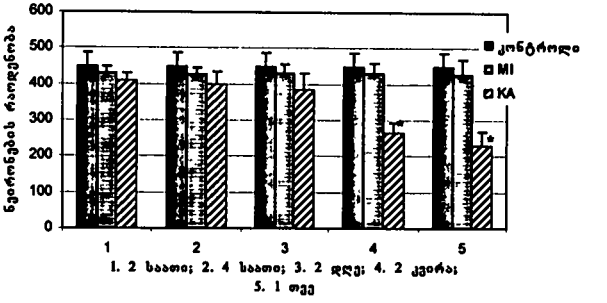
დიაგრამა 3. ნეირონების რაოდენობის ცვლილება დაკბილულ ფასციაში. Y-ღერძზე აღნიშნულია ნეირონების რაოდენობა. ვერტიკალური ხაზები სვეტებზე აღნიშნავს საშუალო მნიშვნელობების სტანდარტულ გადახრებს. P<0.05



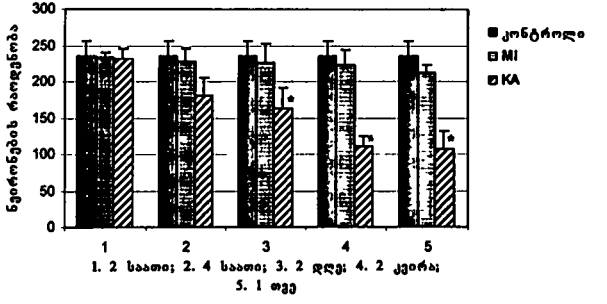
ა)



ბ)

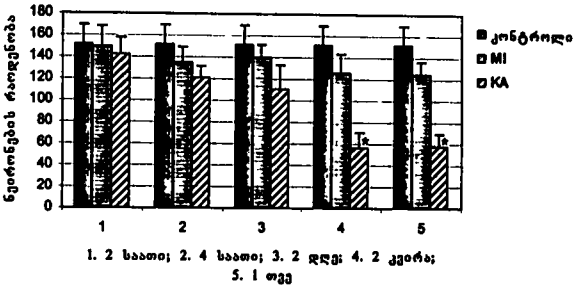


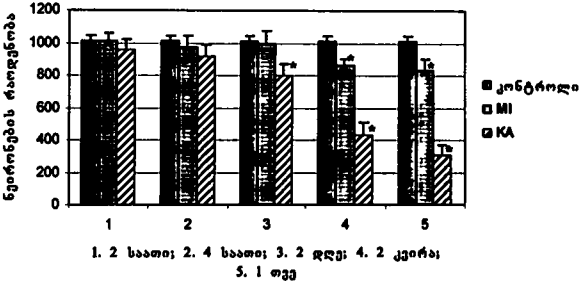
გ)



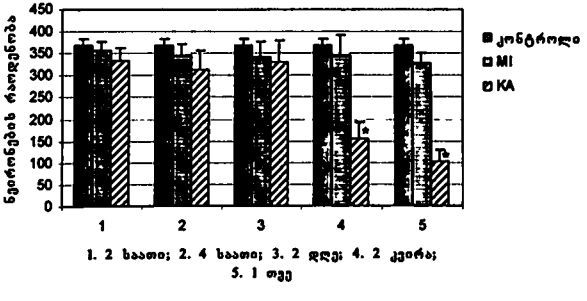
დ)

დიაგრამა 4. ნეირონების რაოდენობის ცვლილება პირიფორმული ქერქის წინა ზონაში. ა) წინა ზონის I შრე; ბ) წინა ზონის II შრე; გ) წინა ზონის III შრის ნახევარმთვარისებრი უჯრედები; დ) წინა ზონოს III შრის ინტერნეირონები. Y-ღერძზე აღნიშნულია ნეირონების რაოდენობა. ვერტიკალური ხაზები სვეტებზე აღნიშნავს საშუალო მნიშვნელობების სტანდარტულ გადახრებს. $P<0.05$

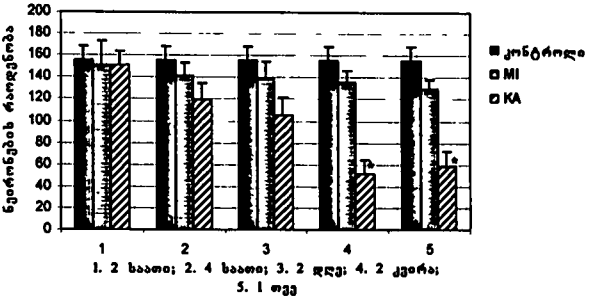

ნეირონების რაოდენობა
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
1
2
3
4
5
კონტროლი
MI
KA
*
1. 2 საათი; 2. 4 საათი; 3. 2 დღე; 4. 2 კვირა;
5. 1 თვე


ნეირონების რაოდენობა
1200
1000
800
600
400
200
0
1
2
3
4
5
კონტროლი
MI
KA
*
1. 2 საათი; 2. 4 საათი; 3. 2 დღე; 4. 2 კვირა;
5. 1 თვე

ბ)

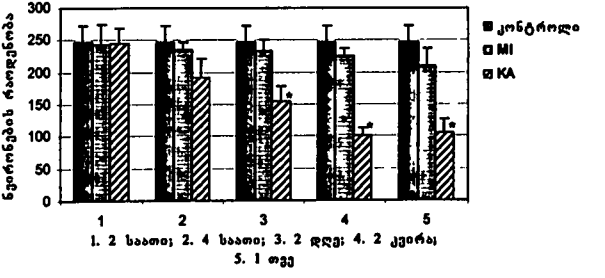

ნეირონების რაოდენობა
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
1
2
3
4
5
კონტროლი
MI
KA
*
1. 2 საათი; 2. 4 საათი; 3. 2 დღე; 4. 2 კვირა;
5. 1 თვე

გ)

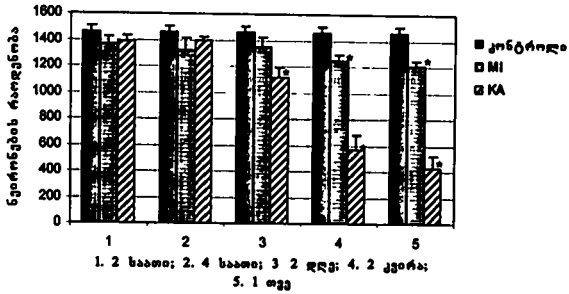


დ)

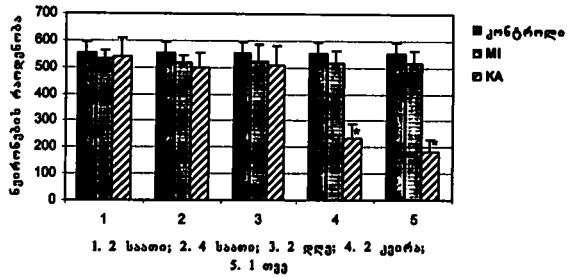
დიაგრამა 5. ნეირონების რაოდენობის ცვლილება პირიფორმული ქერქის შუა ზონაში. ა) შუა ზონის I შრე; ბ) შუა ზონის II შრე; გ) შუა ზონის III შრის ნახევარმთვარისებრი უჯრედები; დ) შუა ზონოს III შრის ინტერნეირონები. Y-ღერძზე აღნიშნულია ნეირონების რაოდენობა. ვერტიკალური ხაზები სვეტებზე აღნიშნავს საშუალო მნიშვნელობების სტანდარტულ გადახრებს. P<0.05



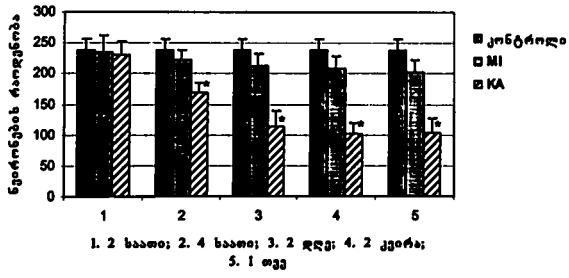
ა)



ბ)

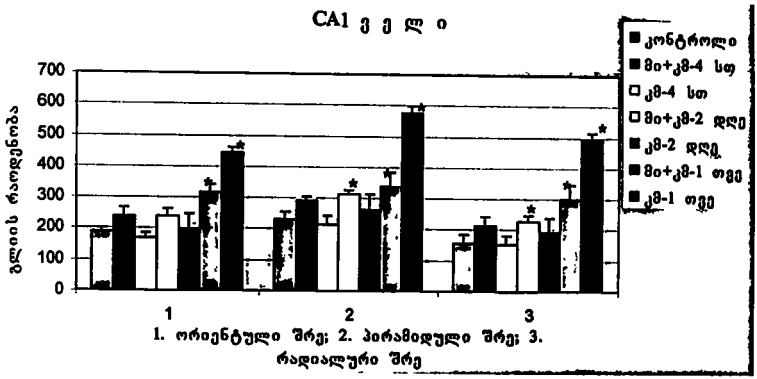


გ)

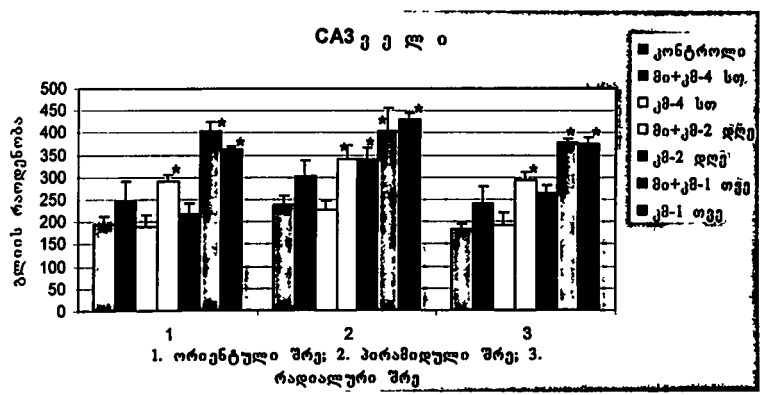


დ)

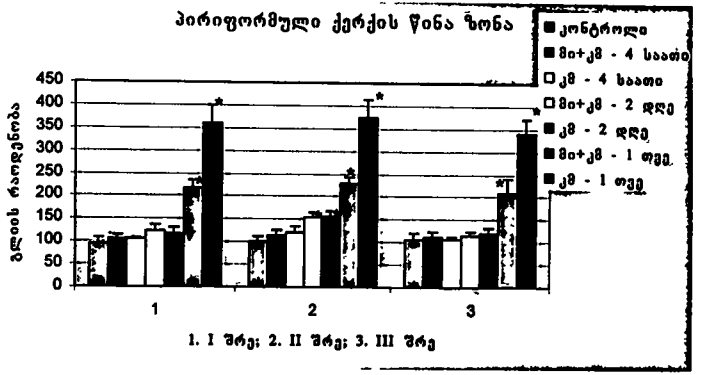
დიაგრამა 6. ნეირონების რაოდენობის ცვლილება პირიფორმული ქერქის უკანა ზონაში. ა) უკანა ზონის I შრე; ბ) უკანა ზონის II შრე; გ) უკანა ზონის III შრის ნახევარმთვარისებრი უჯრედები; დ) უკანა ზონის III შრის ინტერნეირონები. Y-ღერძზე აღნიშნულია ნეირონების რაოდენობა. ვერტიკალური ხაზები სვეტებზე აღნიშნავს საშუალო მნიშვნელობების სტანდარტულ გადახრებს. P<0.05

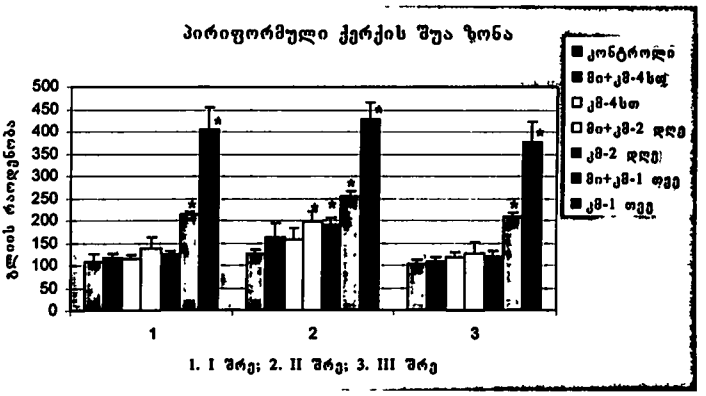


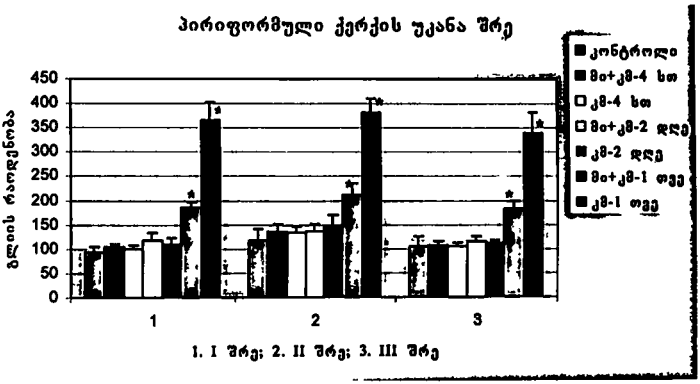
დიაგრამა 7. გლიური უჯრედების რაოდენობის ცვლილება Ca1 ველში. Y-ღერძზე აღნიშნულია ნეირონების რაოდენობა. ვერტიკალური ხაზები სვეტებზე აღნიშნავს საშუალო მნიშვნელობების სტანდარტულ გადახრებს. P<0.05



დიაგრამა 8. გლიური უჯრედების რაოდენობის ცვლილება Ca3 ველში. Y-ღერძზე აღნიშნულია ნეირონების რაოდენობა. ვერტიკალური ხაზები სვეტებზე აღნიშნავს საშუალო მნიშვნელობების სტანდარტულ გადახრებს. P<0.05


პირიფორმული ქერქის წინა ზონა
ბლეთის რაოდენობა
კონტროლი
მი+კმ - 4 საათი
კმ - 4 საათი
მი+კმ - 2 დღე
კმ - 2 დღე
მი+კმ - 1 თვე
კმ - 1 თვე
1
2
3
1. I შრე; 2. II შრე; 3. III შრე


პირიფორმული ქერქის შუა ზონა
ბლეთის რაოდენობა
კონტროლი
მი+კმ-4სთ
კმ-4სთ
მი+კმ-2 დღე
კმ-2 დღე
მი+კმ-1 თვე
კმ-1 თვე
1
2
3
1. I შრე; 2. II შრე; 3. III შრე

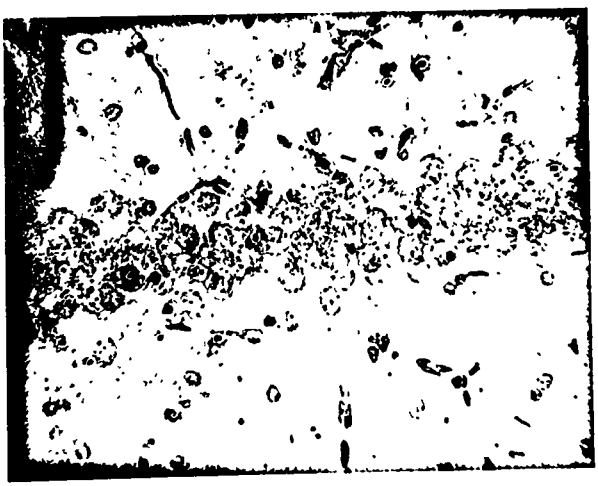


გ)

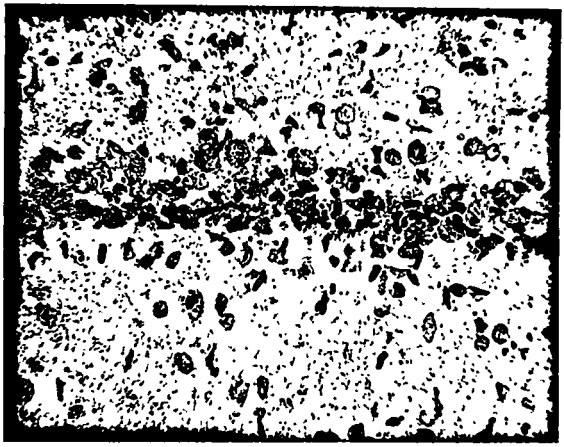
დიაგრამა 9. გლიური უჯრედების რაოდენობის ცვლილება პირიფორმული ქერქში: ა) წინა ზონა; ბ) შუა ზონა; გ) უკანა ზონა. Y-ღერძზე აღნიშნულია ნეირონების რაოდენობა. ვერტიკალური ხაზები სვეტებზე აღნიშნავს საშუალო მნიშვნელობების სტანდარტულ გადახრებს. $P<0.05$

გ.

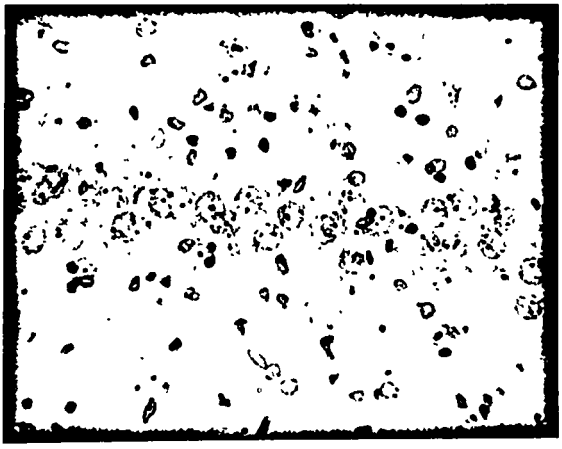
სურათი 1. კრეზილ-ვიოლეტით შეღებილი პრეპარატები; ჰიპოკამპი CA1 ველი (5×40 გადიდება). ა.კონტროლი (ინტაქტური ცხოველი); ბ.კაინი მჟავის ადმინისტრირებისას; გ. მიო-ინოზიტოლისა და კაინის მჟავის ადმინისტრირებისას.



ა.



ბ.



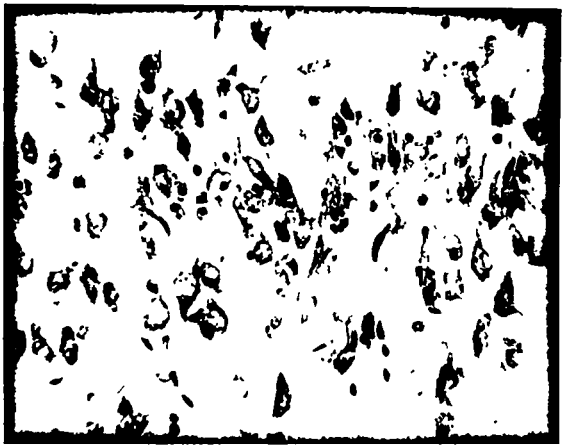
გ.

სურათი 2. ვერცხლით იმპრეგნირებული პრეპარატები; პიპოკამპი CA1 ველი (5×40 გადიდება). ა.კონტროლი (ინტაქტური ცხოველი); ბ.კაინი მჟავის ადმინისტრირებისას; გ. მიო-ინოზიტოლისა და კაინის მჟავის ადმინისტრირებისას.

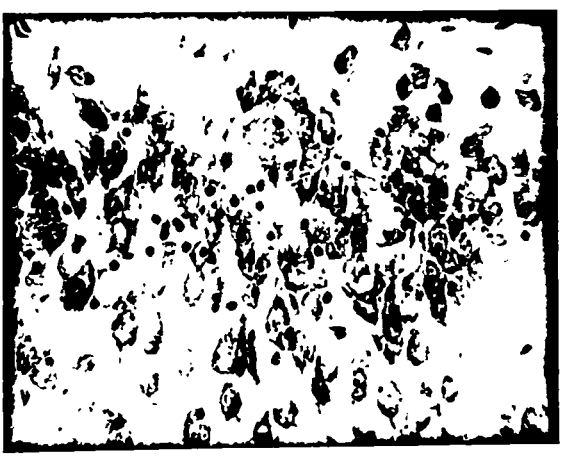
გ.

სურათი 3. Timm-ით შეღებილი პრეპარატები; დაკბილული ფასცია (5×10 გადიდება). ა.კონტროლი (ინტაქტური ცხოველი); ბ.კაინი მჟავის ადმინისტრირებისას; გ. მიო-ინოზიტოლისა და კაინის მჟავის ადმინისტრირებისას.

ა.



ბ.



გ.

სურათი 4. კრეზილ-ვიოლეტით შეღებილი პრეპარატები; პირიფორმული ქერქის შუა ზონა (5×40 გადიდება). ა.კონტროლი (ინტაქტური ცხოველი); ბ.კაინი მჟავის ადმინისტრირებისას; გ. მიო-ინოზიტოლისა და კაინის მჟავის ადმინისტრირებისას.

თავი V. მიღებული შედეგების განხილვა

ჩვენს მიერ ჩატარებული ექსპერიმენტების მიზანი იყო, ეპილეფსიური სტატუსით გამოწვეული, დაზიანებული უჯრედების სიერცითი და ტემპორალური გავრცელების დეტალური გაშუქება ვირთაგვას ჰიპოკამპის და პირიფორმული ქერქის სხვადასხვა დანაყოფებში და მიოინოზიტოლის შესაძლო გავლენა კაინის მჟავით გამოწვეულ შესაძლო ცვლილებებზე ეპილეფსიური სტატუსი განპირობებული იყო კაინის მჟავის ინტრაპერიტონიალური ადმინისტრირებით; უჯრედების დაზიანება/დაღუპვა შეისწავლებოდა ეპილეფსიური სტატუსიდან 2 საათის, 4 საათის, 2 დღის, 2 კვირის და 1 თვის შემდეგ მიოინოზიტოლის გავლენა შეისწავლებოდა ანალოგიური ვადების მქონე ექსპერიმენტულ ჯგუფებში. გამოყენებულმა მეთოდებმა - კლასიკური პისტოლოგიის ნისლის მეთოდი, რომელიც საკვლევი სტრუქტურების საზღვრების, და ნეირონებისა და გლიური უჯრედების რაოდენობრივი ანალიზისთვის გამოვიყენეთ; დაზიანებული უჯრედების გამოვლენის ვერცხლით იმპრეგნაციის გალიას მეთოდმა; ხაესიანი ბოჭკოების სპრაუტინგის გამოსავლენად Timm-ის პისტოქიმიურმა მეთოდმა; ეპილეფსიური სტატუსის გამოწვევის შემდეგ ექსპერიმენტული ცხოველების ქცევაზე ყოველდღიური დაკვირვებამ საშუალება მოგვცა დინამიკაში გამოგვეკვლია ის რაოდენობრივი ძვრები, რომლებსაც ჰიპოკამპის და პირიფორმული ქერქის სხვადასხვა ტიპის ნეირონებში და მაკროგლიაში ეპილეპტოგენეზის სხვადასხვა სტადიები იწვევენ და პასუხი გაგვეცა შემდეგ კითხვებზე: (1) როგორია ეპილეფსიური სტატუსით (განპირობებული კაინის მჟავის ინტრაპერიტონიალური ადმინისტრირებით) გამოწვეული, დაზიანებული უჯრედების გავრცელება/დაღუპვის ტემპორალური და სივრცითი მახასიათებლები ჰიპოკამპის და პირიფორმული ქერქის სხვადასხვა დანაყოფებში? (2) არის თუ არა, ყოველ კონკრეტულ ქვეზონაში უჯრედების დაზიანება/დაღუპვა დაკავშირებული ეპილეფსიური კრუნჩხვითი აქტივობის ხანგრძლივობასთან? (3) როგორია ეპილეფსიური სტატუსიდან 2 კვირის შემდეგ, ჰიპოკამპის CA1 ველის ნეირონების და სინაფსების ულტრასტრუქტურული ცვლილებები; არის თუ არა აღნიშნულ ნეირონებში აპოპტოზური ან ნეკროზული სიკვდილის ნიშნები (როგორც ნაჩვენები იყო, უჯრედების რიცხვის განსაკუთრებით

გამოხატული შემცირება - 80%-ით - სწორედ ამ ველში, ეპილეფსიური სტატუსიდან 2 კვირის შემდეგ აღინიშნებოდა); (4) როგორ რეაგირებდა პიოპოკამპის და პირიფორმული ქერქის მაკროგლია უჯრედების დაღუპვაზე? (5) როგორ მოქმედებს ანტიეპილეფსიური თვისებების მქონე ნივთიერება, მიოინოზიტოლი, ეპილეფსიური სტატუსით გამოწვეული, ჰიპოკამპის და პირიფორმული ქერქის ნეირონების დაზიანება/დაღუპვაზე? (6) Timm-ით შეღებვის პისტოქიმიურმა მეთოდამა საშუალება მოგვცა გაგვერკვია თუ როგორ იცვლება ხავსიანი ბოჭკოების რეორგანიზაციის ხარისხი კაინის მჟავით გამოწვეული ექსპერიმენტული ეპილეფსიისას, და როგორია მიოინოზიტოლის ზეგავლენა ამ პროცესზე.

მიღებული მონაცემებიდან, ჩვენი განსაკუთრებული ყურადღება რამოდენიმე ფაქტმა მიიპყრო. პირველ რიგში: ეპილეფსიური სტატუსიდან უკვე 2 საათის შემდეგ, ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველის პირამიდულ შრეებში ძირითადი უჯრედების რიცხვი სარწმუნოდ მცირდება, ხოლო 4 საათის შემდეგ ძირითადი უჯრედების და ინტერნეირონების სარწმუნო შემცირება ჰიპოკამპის ყველა შრეებში ფიქსირდება. კაინის მჟავის ინტრაპერიტონიალური ადმინისტრირებიდან 1-4 საათის შემდეგ, ჰიპოკამპის უჯრედების დაღუპვა ადრეც იყო ცნობილი (Covolan, Mello, 2000; Abi-Habib, Mikati, Sabban et al. 2003). წინა ავტორებისგან განსხვავებით, ჩვენ დეტალურად ავღწერეთ, ჰიპოკამპის თუ რომელი დანაყოფის, რომელი შრის უჯრედების რა პროცენტი ირთვება ეპილეფსიური სტატუსით განპირობებულ პათოლოგიურ პროცესში. რაც შეეხება პირიფორმულ ქერქს, კაინის მჟავის ადმინისტრირების შემთხვევაში, უჯრედების დაღუპვის დაწერილებითი ანალიზი პირველად ჩვენს მიერ არის მოცემული.

ჰიპოკამპისგან განსხვავებით პირიფორმულ ქერქში ძირითადი უჯრედების და ინტერნეირონების სტატისტიკურად სარწმუნო დაკარგვა უფრო მოგვიანებით, ეპილეფსიური სტატუსის განვითარებიდან, 2 დღის ან 2 კვირის შემდეგ ვლინდება. ამასთანავე აღმოჩნდა, რომ უჯრედების დაღუპვა ყველაზე მეტად პირიფორმული ქერქის შუა ზონაშია გამოხატული. აღსანიშნავია ის ფაქტიც, რომ II შრე, რომელიც პირამიდული უჯრედების შრეა პირიფორმული ქერქის ყველა ზონაში სხვა შრეებთან შედარებით უფრო მეტადაა დაზიანებული.

ამგვარად, ეპილეფსიური სტატუსის თითქმის დამთავრებისთანავე, უჯრედების დაღუპვის საკმაოდ ინტენსიური პროცესი ორ უმნიშვნელოვანეს ეპილეპტოგენურ წარმონაქმნში: ჰიპოკამპში და პირიფორმულ ქერქში მიმდინარეობს.

უჯრედების რაოდენობრივი ცვლილებები, რომლებიც ჰიპოკამპის და პირიფორმული ქერქის დანაყოფებში ეპილეფსიური სტატუსისადნ 2 საათის და 4 საათის შემდეგ აღინიშნებოდა, უშულოდ კრუნჩხვითი აქტივობის შედეგს უნდა წარმოადგენდნენ, რომელიც, როგორც ცნობილია, კაინის მჟავის ინტრაპერიტონიალური ადმინისტრირების შემთხვევაში, 1-6 საათი გრძელდება, რაც შესაბამის მოტორულ აქტივობაში და ელექტროენცეფალოგრაფიულ მახასიათებლებში (მაღალი სიხშირის ეპილეფსიური განმუხტვების აღმოცენება) ვლინდება. მაგრამ, ასევე ცნობილია, რომ ეპილეფსიური სტატუსის განვითარებიდან 6-8 საათის შემდეგ, ელექტროენცეფალოგრამაზე უკანასკნელი ასეთი განმუხტვა აღინიშნება, რაც იმის მანიშნებელია, რომ, როგორც ქცევით, ასევე ელექტროენცეფალოგრამის დონეზე, ეპილეფსიური კრუნჩხვითი აქტივობა დამთავრებულია. ჩვენი ექსპერიმენტული ცხოველებიც, რომელთა პერფუზია ეპილეფსიური სტატუსის განვითარებიდან 48 საათის შემდეგ მოხდა, 6-8 საათის შემდეგ, მოტორულ კრუნჩხვით აქტივობას არ ავითარებდნენ. ამასთანავე, როგორც ჰიპოკამპის ყველა გამოკვლეულ უბანში, ისე პირიფორმული ქერქის ყველა ზონაში, სხვადასხვა ტიპის უჯრედების დაღუპვა და დაზიანებული უჯრედების რიცხვის მატება 48 საათის შემდეგ, ანუ უკანასკნელი განმუხტვიდან საკმაოდ დიდი ხნის შემდეგაც აღინიშნება.

გამოკვლეულ სტრუქტურათაგან, კაინის მჟავის ზემოქმედების შედეგად, ყველაზე ნაკლებ დაზიანებული იყო დაკბილული ფასცია, ხოლო ყველაზე მეტად დაზიანებული – CA1 ველი, კერძოდ კი პირამიდული უჯრედების შრე. ცნობილია, რომ ჰიპოკამპის CA1, CA3 ველებში და დაკბილული ფასციის ჰილუსში გლუტამატის რეცეპტორების რიცხვი ძალიან მაღალია. აქტივაციისას ეს რეცეპტორები აპირობებენ Ca^{2+}-ის შესვლას პოსტსინაფსურ ტერმინალებში და Ca^{2+}-ის კონცენტრაციამ შეიძლება ისეთ დონეს მიაღწიოს, რომ ნეირონების დაზიანება გამოიწვიოს. გარდა ამისა ცნობილია, რომ CA1 და CA3 ველების პირამიდული უჯრედები არ შეიცავენ, ან შეიცავენ ძალინ მცირე რაოდენობის Ca^{2+}

დამაკავშირებელ პროტეინებს (კალბინდინი, ქრომქტოგრანინი A), რის გამოც ეს ველები აველენენ ტოქსიკურობისადმი დაბალ რეზისტენტობას. პიპოკამპის ინტერნეირონებსაც ამის მსგავსად ახასიათებთ Ca^{2+}დამაკავშირებელი პროტეინის – პარვალბუმინის მცირე რაოდენობა. CA1 და CA3 ველების ინტერნეირონების და პირამიდული უჯრედების ასეთი სპეციფიურობა შეძლება იყოს კრუნჩხვითი აქტივობისადმი მათი დიდი მგრძნობელობის მიზეზი. CA1 ველს, რომელიც ყველაზე უფრო შეცვლილი ველია, ახასიათებს სპეციფიკური სინაფსოარქიტექტურული სტრუქტურა: ქიმიურ სინაფსებთან ერთად აქ ნანახია ელექტრული სინაფსებიც. მსგავსი სინაფსოარქიტექტურული სტრუქტურა შეიძლება განაპირობებდეს ინტერნეირონებისა და ძირითადი უჯრედების დიდი რაოდენობით დაღუპვას ეპილეფსიისას, ორივე ტიპის სინაფსური კავშირების დაზიანებამ შეიძლება გამოიწვიოს პათოლოგიური, ეპილეფსიური კრუნჩხვითი აქტიეობის განვითარება. CA1 ველისთვის ასევე დამახასიათებელია ინტერნეირონების აშკარა ფუნქციური და ბიოქიმიური ჰეტეროგენულობა. ინტერნეირონების ყველა ტიპი ჯერ კიდევ არ არის იდენტიფიცირებული. მოცემულ ველში უჯრედების მნიშვნელოვანი დაღუპვა შეიძლება ამ ჰეტეროგენულობაზეც იყოს დამოკიდებული. შემდგომმა კვლევებმა უნდა დაადგინოს თუ ნეირონების რომელი ქიმიური და მორფოლოგიური ტიპი არის კაინის მჟავისადმი ყველაზე უფრო მგრძნობიარე პიპოკამპის თითოეულ შრეში.

იმ ექსპერიმენტულ ჯგუფებში რომლებშიც ცხოველებს კაინის მჟავის სისტემურ ადმინისტრაციამდე ნახევარი საათით ადრე მიოინოზიტოლით ვამუშავებდით, სურათი ცოტა სხვაგვარია. უჯრედების დაღუპვის პროცესი პიპოკამპის ყველა დანაყოფში შენელებულია კერძოდ, სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლებას CA1 ველის პირამიდულ შრეში 4 საათის შემდეგ, ხოლო პიპოკამპის ყველა სხვა უბანში 2 დღის შემდეგ აქვს ადგილი, ხოლო დაღუპული უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი შემცირებულია. ეს განსაკუთრებით შესამჩნევია CA1 ველის პირამიდულ შრეში რომელიც ერთ-ერთ ყველაზე დაზიანებულ უბნად შეიძლება ჩაითვალოს პიპოკამპში. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებისას პირამიდული უჯრედების დაკლება 80%-ს აღწევს და სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლება უკვე 2 საათიდან ფიქსირდება. ამასთანავე, მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინსტრირებისას სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლებას ასევე

ადრეულ ეტაპზე – 4 საათის შემდეგ აქვს ადგილი, მაგრამ დაღუპული უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი გაცილებით დაბალია და 22%-ს არ აღემატება. მიო-ინოზიტოლის ამგვარი მოქმედება ახსნა მომავალ კვლევას საჭიროებს. თუმცა ბოლო წლებში უკვე გაჩნდა მონაცემები მიო-ინოზიტოლის პროტექტორულ ეფექტზე კრუნჩხვით აქტივობაზე, რაც ალბათ გამა-ერგულ რეცეპტორებზე ზემოქმედების გზით უნდა ხორციელდებოდეს.

ვერცხლით იმპრეგნაციის ჰისტოლოგიური მეთოდი საკმაოდ ინფორმაციულია დაზიანებული უჯრედების გამოსაველენად. იმპრეგნაციის მექანიზმები ბოლომდე გარკვეული არ არის. ის საკითხი არგიროფილური ნეირონების ციტოჩონჩხის აღდგენა შესაძლებელია თუ ეს პროცესი შეუქცევადია ასევე არ არის ზუსტად ცნობილი. არ არის ჩამოყალიბებული ერთიანი აზრი ხდება თუ არა ყველა არგიროფილური ნეირონის დაღუპვა. თუმცა, არის მონაცემები, რომ არგიროფილურიბა კორელირებს ნეირონების დეგენერაციის ელექტრონმკვრივ სტადიასთან (Heimer L. and Peters A, 1968).

საინტერესოა გარკვევა: არის თუ არა 48 საათის შემდეგ აღწერილი უჯრედების დაზიანების და დაღუპვის სრული "კასკადი" განპირობებული ადრე განვითარებული ეპილეფსიური სტატუსით (კაინის მჟავის ადმინისტრირებიდან პირველი 1-7 საათი) ან მისი ნაწილის აქტივაცია ხდება მოგვიანებით: კაინის მჟავის ადმინისტრირებიდან 4 საათსა და 48 საათს შორის. მცირერიცხოვანი ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, კაინის მჟავის ადმინისტრირებიდან 48 საათის შემდეგ (ანუ იმ დროს, როდესაც ელექტროენცეფალოგრაფული და მოტორული კრუნჩხვითი აქტივობა უკვე დამთავრებულია) ნუშისებრი კომპლექსის განსაკუთრებით დაზიანებულ დანაყოფებში აღინიშნება TUNEL-პოზიტური ბირთვების სიმკვრივის პროგრესული ან ბიფაზური მატება; ეს. შესაძლებელია, მიუთითებს იმაზე, რომ აპოპტოზური კასკადის გარკვეული აქტივაცია უკანასკნელი ეპილეფსიური განმუხტვის შემდეგაც მიმდინარეობს: ცნობილია, რომ ინსულტის შემდეგ, საჭიროა რამოდენიმე საათი, რათა ინტერნუკლეოსომური დნმ-ის ფრაგმენტაცია განვითარდეს. ამგვარად, შესაძლებელია, რომ უჯრედების დაღუპვის პირველი ტალღა (აპოპტოზის ან ნეკროზის გზით) განვითარდეს პირველი 6-8 საათის განმავლობაში, ხოლო შემდეგ კი (48 საათამდე), უჯრედების დაღუპვის

მეორე ეტაპი დაიწყოს. არ არის ცნობილი, თუ რამდენი ხნის განმავლობაში აპოპტოზური უჯრედული სხეულები ტვინში რჩებიან, თუმცა, არსებობს მონაცემები, რომ აპოპტოზური ბირთვების ელიმინაცია, in vivo, დაახლოებით 72 საათს საჭიროებს. გარდა ამისა, ნაჩვენებია, რომ კაინის მჟავის ინტრაპერიტონიალური ადმინისტრირების შემთხვევაში, ნუშისებრი კომპლექსის განსაკუთრებით დაზიანებულ ლატერალურ ბირთვში, ციტოპლაზმური ნეიროპათოლოგიური ცვლილებები, რომლებიც ვერცხლით იმპრეგნაციის გალიას მეთოდიკის გამოყენებით ვლინდება, ძირითადად, წინა საფეხურია ბირთვების იმ მოდიფიცირებისა, რომელთა გამოვლენა მოგვიანებით TUNEL-ის მეთოდიკითაა შესაძლებელი. ასევე ცნობილია, რომ კაინის მჟავის ინტრაამიგდალური ინექციისას, ჰიპოკამპის CA3 ველში პირამიდული უჯრედების ნაწილი უკვე 6 საათის შემდეგ არგიროფილური ხდება, მაგრამ მხოლოდ 12-18 საათის შემდეგ ეს უჯრედები TUNEL-პოზიტურები ხდებიან. ამიტომ, შესაძლებელია დაშვება, რომ დეგენერირებული უჯრედები, რომლებიც ჰიპოკამპში და პირიფორმულ ქერქში ეპილეფსიური სტატუსიდან 48 საათის შემდეგ აღვწერეთ, ორივე ტალღით დაღუპული უჯრედების ჯამს უნდა წარმოადგენდნენ. აღსანიშნავია, რომ

ჩვენი შედეგების თანახმად კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებისას ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში შეინიშნება უჯრედების დეგენერაციის მსგავსი ტენდენცია. პროცესის პროგრესი მიმდინარეობს ეპილეფსიური სტატუსის განვითარებისა და პერფუზიას შორის დროის ზრდის პარალელურად. საინტერესოა, რომ პროცესის განვითარება უკვე 2 საათიან ჯგუფში შეინიშნება. ოსმიოფილურობის მაქსიმალური კონცენტრაცია ძირითადი უჯრედების შრეში ვლინდება, მიუხედავად ამისა ეს ცვლილება Freund-ის შკალის მიხედვით არ აისახება (ოსმიოფილურობის შეფასება ყველა შრეებში ერთნაირია). 4 და 48 საათის შემდეგ დგენერირებული უჯრედების პროცენტი 2 საათიან ექსპერიმენტულ ჯგუფთან შედარებით ერთგვარად მომატებულია, მაგრამ Freund-ის შკალის მიხედვით განსხვავება ასევე არ არის გამოხატული. ამისგან განსხვავებით კაინის მჟავის ინექციიდან 2 კვირისა და 1 თვის შემდეგ დგენერირებული ნეირონების დონეს Freund-ის შკალის მიხედვით მაქსიმალური შეფასება აქვს, ამ

შემთხვევაშიც მაქსიმალური ოსმიოფილურობა პირამიდული უჯრედებისთვის შრისთვის არის დამახასიათებელი.

იმ ექსპერიმენტულ ჯგუფებში რომლებშიც ცხოველებს კაინის მჟავის სისტემურ ადმინისტრაციამდე ნახევარი საათით ადრე მიოინოზიტოლით ვამუშავებდით Freund-ის შკალის მაქსიმალური შეფასება ჰიპოკამპის არც ერთ უბანში არ დაფიქსირებულა და როგორც ინტერნეირონების, ისე ძირითადი უჯრედების დეგენერაცია II ხარისხს არ აღემატებოდა.

ამგვარად, კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებისას ერთი მხრივ ხდება ჰიპოკამპის განსხვავებული დონეების ნეირონების პროგრესირებადი ჩართვა პათოლოგიურ პროცესებში, ხოლო მეორე მხრივ ყველა ექსპერიმენტულ ჯგუფებში როგორც CA1, ისე CA3 ველებში დაზიანებული ნეირონების მაქსიმალური რაოდენობა პირამიდულ შრეშია ნანახი. ამგვარად, მიმდინარეობს როგორც ინტერნეირონების, ისე ძირითადი უჯრედების დეგენერაცია, მაგრამ ამ უკანასკნელთა დეგენერაცია ჭარბობს. შესაძლებელია, ამის ერთ-ერთი მიზეზი მოცემული ველების ძირითადი უჯრედების ციტოქიმიური თავისებურებების იყოს. როგორც უკვე აღვნიშნეთ CA1 და CA3 ველების ძირითად უჯრედებზე და ასევე ჰილუსის ნეირონებზე განსაკუთრებით დიდი რაოდენობითაა წარმოდგენილი გლუტამატის - NMDA და კაინატის რეცეპტორები. მათი აქტივაცია ხელს უწყობს კალციუმის იონების შედინებას პოსტსინაფსურ ნეირონებში, რაც რიგ შემთხვევებში განაპირობებს ამ უკანასკნელთა დაზიანებას (Connor JA et al., 1988). ასევე საინტერესოა ამ უბნებში კალციუმ-დამაკავშირებელი პროტეინების სპეციფიკური განლაგება, რაც ზევით არის აღწერილი.

ეპილეპტოგენეზი დაკავშირებულია ნეირონების დაკარგვასთან ტემპორალური ქერქის სხვადასხვა "ეპილეპტოგენურ" ზონებში. პირველადი ოლფაქტორული ქერქი – პირიფორმული ქერქი არის უმნიშვნელოვანესი უბანი, გენერალიზებული მოტორული კრუნჩხვების განვითარებისა და გაერცელებისას ტემპორალური წილის ეპილეფსიის დროს. მიუხედავად ამისა, ბევრი რამ არ არის ცნობილი უჯრედების დაზიანების იმ ტემპორალური და სივრცითი მახასიათებლების შესახებ, რომლესაც სხვადასხვა ეპილეპტოგენური ფაქტორები იწვევენ.

ჩვენი შედეგები აჩვენებენ, რომ კაინის მჟავის აღმინისტრირების შედეგად ციტოარქიტექტონიკული ცვლილებები მიმდინარეობს ეირთაგვას პირიფორმული ქერქის ყველა უბნებში, თუმცა ყოველი უბანი ხასიათდებოდა სხვადასხვა ტიპის უჯრედების პათოლოგიურ პრიცესებში ჩართვის საკუთარი ტემპორალური და სივრცითი სურათით. პირიფორმული ქერქის წინა, შუა და უკანა ზონებს შორის ამგვარი განსხვავება უნდა ასახავდეს მათ განსხვავებულ ფუნქციურ, მორფოლოგიურ და ბიოქიმიურ მახასიათებლებს (Wilson, D.A., 2000a; Wilson, D.A,. 2000b).

კერძოდ, აღსანიშნავია, რომ წინა ზონა, რომელიც არის პირიფორმული ქერქის "ყველაზე უფრო ოლფაქტორული" ნაწილი (Wilson, D.A. 2000a; Haberly, L.B., 1985; Haberly L.B., 1998; Shipley, M.T., 1996), ხასიათდება უჯრედების სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლებით ეპილეფსიური სტატუსის განვითარებიდან 2 დღიდან, უჯრედების დაკლების ხარისხი დროის ზრდის პარალელურად იზრდება. შუა ზონაში, რომელიც ხასიათდება მრავალი, კარგად განვითარებული გზებით ტვინის სხვადასხვა ლიმბურ და მოტორულ უბნებთან და ასევე ნეოკორტექსთან (Schwabe K., 2000), უჯრედების დაკლება ყველაზე უფრო ძლიერაქდ იყო გამოხატული, განსაკუთრებით II შრე იყო დაზიანებული სადაც ძირითადი უჯრედებია განლაგებული. უახლეს შრომებში ნავარაუდები იყო, რომ შუა ზონა თამაშობს ძირითად როლს თაგის ტვინის სხვა უბნების კრუნჩხვით აქტივობაში ჩართვისას და კრუნჩხვების გენერალიზირებისას. ჩვენი მონაცემები ამყარებს ამ ვარაუდს. ცნობილია, რომ ტრანზიტორული ზონას ახასიათებს ინჰიბიტორული ინტერნეირონების დიდი რაოდენობა, რომლებიც განსხვავდებიან ბიოქიმიური, ფუნქციური და მორფოლოგიური თავისებურებებით. ძალიან მნიშვნელოვანია იმის გარკვევა, თუ პირიფორმული ქერქის ამ ყველაზე "ეპილეპტოგენური" ზონის რა ტიპის ინტერნეირონები არიან უფრო მეტად ჩართული ეპილეპტოგენეზის პროცესში.

როგორც აღინიშნა, კაინის მჟავის მიმართ პირიფორმულ ქერქში ყველაზე მგრძნობაირენი აღმოჩნდნენ უკანა ზონის II შრის ძირითადი უჯრედები და III შრის ნახევრადმთვარისებრი უჯრედები: მათი სარმწუნო დაკლება უკვე 2 დღიდან ფიქსირდება, თუმცა განსაკუთრებით ძლიერად ეს ცვლილება უფრო ძლიერად

გრძელვადიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებშია გამოხატული. ვარაუდობენ რომ უკანა ზონას აქვს გარკვეული კავშირები ასოციაციურ ნეოკორტიკალურ არესთან (Losher K., 1998).

მიღებული შედეგები გვაჩვენებს, რომ იმ ექსპერიმენტულ ჯგუფებში რომლებშიც ცხოველებს კაინის მჟავის სისტემურ ადმინისტრაციამდე ნახევარი საათით ადრე მიოინოზიტოლით ვამუშავებდით ყველაზე ადრე, 2კვირის შემდეგ ეპილეფსიური სტატუსის განვითარებიდან, სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლებას ადგილი შუა და უკანა ზონების II შრეში აქვს, სადაც ძირითადი უჯრედებია განლაგებული, სხვა შრეებში უჯრედების სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლებას ადგილი ან საერთოდ არ აქვს ან 1 თვიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში ფიქსირდება.

ამგვარად, კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებისას, ეპილეფსიური სტატუსი და ეპილეპტოგენეზი პირიფორმული ქერქის წინა, შუა და უკანა ზონებში იწვევს ცვლილებებს სხვადასხვა ნეირონულ წრეებში. ტემპორალური წილის ეპილეფსიაში პირიფირმული ქერქის როლის გასარკვევად აუცილებელია უფრო დეტალური ინფორმაციის არსებობა ნეირონების იმ ტიპებისა და წრეების შესახებ, რომლებიც ეპილეპტოგენეზის პროცესში არიან ჩართულები.

როგორც ცნობილია გლიოზი ეპილეფსიის კლინიკური და ექსპერიმენტული ფორმების მნიშვნელოვანი კორელატია. რომელიც ძირითადად ასტროციტების ჰიპერტროფიითა და პროლიფერაციით, ასევე მიკროგლია-მაკროფაგების რეაქციით არის წარმოდგენილი. გლიოზი უფრო მეტად იმ ეპილეპტოგენური უბნებისთვის არის დამახასიათებელი სადაც ნეირონების დაღუპვა ძლიერად არის გამოხატული (Bachoo R.M. et al. 2004; Girardi E. et al. 2004; Seifert G. et al. 2004; Vessal M. 2005). თუმცა არის მონაცემები, რომ უჯრედების დაღუპვა არ არის ასტროგლიოზის განვითარების აუცილებელი პირობა (Girardi E., 2004). კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირების შედეგად ჩვენ ავღწერეთ ჰიპოკამპისა და პირიფორმული ქერქის სახვადასხვა უბნებში ძირითადი უჯრედებისა და ინტერნეირონების დაღუპვის სურათი. ჩვენთვის მნიშვნელოვანი იყო, დაგვედგინა ორი ძირირითადი საკითხი: აღინიშნებოდა თუ არა გარკვეული კორელაცია ნეირონების დაღუპვასა და გლიის პროლიფერაციის ხარისხს შორის და როგორია მიო-ინოზიტოლის ზემოქმედება ამ პროცესზე. მაკროგლიის რაოდენობრივი ცვლილებები შეისწავლებოდა

ეპილეფსიური სტატუსიდან 4 საათის, 2 დღის და 30 დღის შემდეგ. მიო-ინოზიტოლის გავლენა შეისწავლებოდა ანალოგიური ვადების მქონე ექსპერიმენტულ ჯგუფებში. ეს ვადები ჩვენთვის საინტერესი იყო რადგან უჯრედების დაღუპვის პირველი სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილებები ჩვენ ძირითადად 4 საათიან ექსპერიმენტულ ჯგუფში გვქონდა დაფიქსირებული, 2 დღიანი ვადა კრუნჩხვითი აქტივობიდან მცირე დროის გასვლასთან ასოცირდება, ხოლო 1-თვიანი ექსპერიმენტული ჯგუფი საინტერესო იყო, რადგან ამ დროისთვის ორგანიზმში სპონტანური კრუნჩხვითი აქტივობის აღმოცენებაა დამახასიათებელი.

მიღებული მონაცემებიდან საყურადღებო იყო ის ფაქტი, რომ ჰიპოკამპის CA1 ველში კაინის მჟავის ადმინისტრირების შედეგად მაკროგლიის სტატისტიკურად სარწმუნო მატებას ადგილი უმთავრესად 1 თვიან ჯგუფში ჰქონდა (დიაგრამა 6), მაშინ როცა მიო-ინოზიტოლით დამუშავებული ცხოველების პირამიდულ და რადიალურ შრეებში გლიის მატებას უკვე 2 დღის შემდეგ აქვს ადგილი. მსგავსი სურათია ჰიპოკამპის CA3 ველშიც (დიაგრამა 7), კაინის მჟავით დამუშავებულ ცხოველებში გლიური უჯრედების რაოდენობის სტატისტიკურად სარწმუნო მატებას პირამიდულ შრეში 2 დღის შემდეგ, ხოლო სხვა შრეებში 1 თვის შემდეგ აქვს ადგილი. მაშინ როცა მიო-ინოზიტოლით დამუშავებულ ცხოველებში CA3 ველის ყველა შრეში გლიური უჯრედების რაოდენობის სტატისტიკურად სარწმუნო მატებას ადგილი უკვე 2 დღის შემდეგ აქვს. აქედან გამომდინარე შეგვიძლია ვთქვათ, რომ კაინის მჟავის ჯგუფისგან განსხვავებით, მიოინოზიტოლის და კაინის მჟავის ადმინისტრირებისას, გლიის აქტივაცია ჰიპოკამპში აღინიშნება საწყის სტადიებზეც, ამასთანავე, არ არის კორელაცია ნეირონების დაღუპვასა და გლიის რაოდენობრივ მატებას შორის.

სხვაგვარი სურათი გვაქვს პირიფორმულ ქერქში (დიაგრამა 8), სადაც გლიური უჯრედების რაოდენობის სტატისტიკურად სარწმუნო მატება როგორც კაინის მჟავით, ისე მიო-ინოზიტოლიტოლით დამუშავებულ ცხოველებში ძირითადად თანხვდება. ორივე ექსპერიმენტულ ჯგუფში მაკროგლიის რაოდენობის სარწმუნო ზრდა ყველაზე ადრე, 2 დღის შემდეგ, წინა და შუა ზონების II შრეშია ნანახი, სადაც ძირითადი უჯრედებია განლაგებული. სხვა შრეებში გლიის სტატისტიკურად სარწმუნო მატება 1 თვიან ჯგუფებშია დაფიქსირებული. მიუხედავად ასეთი

თანხვედრისა გლიური უჯრედების რაოდენობა პროცენტულად კაინი მჟავის ჯგუფში გაცილებით მეტად არის მომატებული.

კაინის მჟავის ინტრაპერიტონული ადმინისტრირებით გამოწვეულ მორფოლოგიურ ცვლილელებზე მიოინოზიტოლის გაელენის შესაფასებლად დღეისათვის არ არის საკმარისი ინფორმაცია და აუცილებელია კელეევის შემდგომი გაგრძელება. განსაკუთრებით დიდი მნიშვნელობა აქვს იმის გარკვევას თუ მორფოლოგიურად, ბიოქიმიურად და ფუნქციურად რა ტიპის უჯრედებზე ახდენს ზემოქმედებას ეს ნაერთი.

კარგადაა ცნობილი, რომ კაინის მჟავის ადმინისტრირება დაკბილული ფასციის მარცელოვანი უჯრედების აქსონების – ხავსიანი ბოჭკოების – პათოლოგიურ რეორგანიზაციას, სპრაუტინგს იწვევს. ჩვენმა კელეევამ აჩვენა, რომ საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგის ხარისხი სარწმუნოდ იყო გაზრდილი როგორც კაინის მჟავის, ასევე მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის ადმინისტრირებისას. ჯგუფებს შორის სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება არ იღინიშნებოდა. ორიევ ექსპერიმენტულ ჯგუფში საკმაოდ მსგავსი სურათი იყო დაფიქსირებული, რაც გვაფიქრებინებს რომ, მიოინოზიტოლის ერთჯერედი, წინასწარი ადმინისტრირება არ ახდენს მნიშვნელოვან გაელენას კაინის მჟავის მოქმედებით გამოწვეულ ხავსისებური ბიჭკოების სპრაუტინგზე.

თავი VI. დასკვნები

1. კაინის მჟავას სისტემური შეყვანის შედეგად, ვირთაგვას CA1 და CA3 ველებში, დაკბილულ ფასციასა და პირიფორმული ქერქის სხვადასხვა დანაყოფებში ადგილი აქვს უჯრედების დაღუპვას. სხვადასხვა შრეების უჯრედები დროის განსხვავებულ მონაკვეთში იღუპებიან. განსაკუთრებით ადრე (ეპილეფსიური სტატუსიდან 2 საათის შემდეგ) ეპილეპტოგენეზის პროცესში CA1 და CA3 ველების და დაკბილული ფასციის ძირითადი უჯრედები, შემდეგ კი, ინტერნეირონები (4 საათის შემდეგ) ირთვებიან. მიოინოზიტოლის და კაინის მჟავას შეყვანის შემთხვევაში უჯრედების დაღუპვის პროცესი ჰიპოკამპის ყველა დანაყოფში შენელებულია, დაღუპული უჯრედების რაოდენობის პროცენტი კი, შემცირებულია.
2. კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებისას, პირიფორმულ ქერქში, ჰიპოკამპის დანაყოფებთან შედარებით, უჯრედების კლების ტენდენცია უფრო მეტად გამოხატულია გრძელვადიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში (2 დღის და 2 კვირის შემდეგ). მიოინოზიტოლისა და კაინის მჟავის სისტემური ადმინსტრირებისას სტატისტიკურად სარწმუნო დაკლება არ აღინიშნება ან 1 თვიან ექსპერიმენტულ ჯგუფებში ფიქსირდება.
3. ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგის ხარისხი სარწმუნოდ იზრდება კაინის მჟავის სისტემური ადმინისტრირებიდან 6 კვირის შემდეგ. კაინის მჟავამდე მიოინოზიტოლის ადმინისტრირება კაინის მჟავით გამოწვეული ხავსიანი ბოჭკოების სპრაუტინგის ხარისხს არ ცვლის.
4. კაინის მჟავის ადმინისტრირებიდან 1 თვის შემდეგ ჰიპოკამპის და პირიფორმული ქერქის ყველა დანაყოფში სარწმუნოდ იზრდება მაკროგლიის რაოდენობა. ორივე სტრუქტურაში აღინიშნება გარკვეული კორელაცია ნეირონების დაღუპვასა და გლიის პროლიფერაციის ხარისხს შორის. მიოინოზიტოლის და კაინის მჟავის ადმინისტრირებისას, გლიის აქტივაცია ჰიპოკამპში აღინიშნება საწყის სტადიებზევე, ამასთანავე, არ არის კორელაცია ნეირონების დაღუპვასა და გლიის რაოდენობრივ მატებას შორის.

1. Babb T.L., Pretorius J.K. Pathologic substrates of epilepsy. In: The Treatment of epilepsy: Principles and practice. Ed: Wylilie E., Lea & Febiger, Philadelphia, 1993, 55-70.
2. Babb, T.L., J.K. Pretorius, W.R. Kupfer, and P.H. Crandall (1989) Glutamate decarboxylase-immunoreactive neurons are preserved in human epileptic hippocampus. J. Neurosci. *9*:2562–2574.
3. Babb, T.L., W.J. Brown, J. Pretorius, C. Davenport, J.P. Lieb, and P.H. Crandall (1984) Temporal lobe volumetric cell densities in temporal lobe epilepsy. Epilepsia *25*:729–740.
4. Babb, T.L., W.R. Kupfer, J.K. Pretorius, P.H. Crandall, and M.F. Levesque (1991) Synaptic reorganization by mossy fibers in human epileptic fascia dentata. Neuroscience *42*:351–363.
5. Bachoo R.M., Kim R.S., Ligon K.L., Maher E.A., Brennan C., Billingers N., Chan S., Li Ch., Rowitch D.H., Wong, W.H., DePinho R.A. Molecular diversity of astrocytes with implications for neurological disorders. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2004, 101, 22, 8384-8389.
6. Bazil C. Anticonvulsant Drug Treatment in the Elderly. Epilepsy Curr. 2001 Nov;1(2):52..
7. Ben-Ari J, Merlob P, Mimouni F, Reisner SH.Characteristics of the male genitalia in the newborn: penis.J Urol. 1985 Sep;134(3):521-2
8. Ben-Ari Y, Gho M. Long-lasting modification of the synaptic properties of rat CA3 hippocampal neurones induced by kainic acid. *J Physiol* 1988;404: 365–84.
9. Ben-Ari Y, Krnjevic K, Reiffenstein RJ, Reinhardt W. Inhibitory conductance changes and action of gamma-aminobutyrate in rat hippocampus. Neuroscience. 1981; 6(12):2445-63.
10. Ben-Ari Y, Tremblay E, Ottersen OP. Injections of kainic acid into the amygdaloid complex of the rat: an electrographic, clinical and histological study in relation to the pathology of epilepsy. Neuroscience. 1980;5(3):515-28
11. Ben-Ari Y. Cell death and synaptic reorganizations produced by seizures. *Epilepsia* 2001;42(suppl 3):5–7.
12. Ben-Ari Y. Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid: mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 1985;14: 375–403.

13. Ben-Ari Y., Tremblay E, Riche D, Ghilini G, Naquet R. Electrographic, clinical and pathological alterations following systemic administration of kainic acid, bicuculline or pentetrazole: Metabolic mapping using deoxyglucose method with special reference to the pathology of epilepsy. Neuroscience, 1981, 6, 1361-1391.

14. Benveniste M, Mayer ML.Effect of extracellular pH on the potency of N-methyl-D-aspartic acid receptor competitive antagonists.Mol Pharmacol. 1992 Oct;42(4):679-86.

15. Best N, Mitchell J, Baimbridge KG, *et al*. Changes in parvalbumin-immunoreactive neurons in the rat hippocampus following a kainic acid lesion. *Neurosci Lett* 1993;155: 1–6.

16. Blasco-Ibanez JM, Freund TF. Synaptic input of horizontal interneurons in stratum oriens of the hippocampal CA1 subfield: structural basis of feed-back activation. *Eur J Neurosci* 1995;7: 2170–80.

17. Bolqvadse T., Dzhaparidze N.D., Zhvaniia M.G., Kotaria N. T., Tsitsishvili A.Sh. Cellular composition of the rat piriform cortex in experimental epilepsy. Morfologiia. 2005;127(1):14-7. Russian.

18. Bonfoco, E., Krainc, D., Ankarcrona, M., Nicotera, P. and Lipton, S.A. (1995) Apoptosis and necrosis: two distinct events indused, respectively, by mild and intense insults with *N*-methyl-D-aspartate or nitric oxide/superoxide in cortical cell cultures. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92: 7162-7166

19. Bruce EN. Accessing chemosensitivity and ventilatory stability from transient stimuli. Sleep. 1996 Dec;19(10 Suppl):S157-9.

20. Buckmaster PS, Dudek FE (1997) Neuron loss, granule cell axon reorganization and unctional changes in the dentate gyrus of epileptic kainatetreated rats. J Comp Neurol 385:385– 404.

21. Buckmaster PS, Dudek FP. Network properties of the dentate gyrus in epileptic rats with hilar neurons loss and granule cell axons reorganization. J. neurophysiol., 1997, 77: 2685-2696.

22. Buckmaster PS.,Zhang GF., Yamawaki R. Axon spouting in a model of temporal lobe epilepsy creates a predominantly excitatory feedback circit. The Journal of Neuroscience, August 1, 2002, 22(15): 6650-6658.

23. Campbell V, Lynch MA. Biphasic modulation of intracellular Ca2+ concentration by interleukin-1beta in cortical synaptosomes: involvement of a pertussis toxin-sensitive G-protein and mitogen-activated protein kinase. Neuroreport. 1998 Jun 22;9(9):1923-7.

24. Castillo, P. E., Malenka, R. C. & Nicoll, R. A. *Nature* **388**, 182–186 (1997).

25. Cavazos J.E., Golarai G., Sutula T.P. Mossy fiber synaptic reorganization induced by kindling. Time course of development, progression and permanence. J. Neuroscience, 1991, 11: 2795-2803.

26. Charriaut-Marlangue, C. and Ben-Ari, Y. (1995) A cautionary note on the use of the TUNEL stain to determine apoptosis.*Neuroreport*, 7: 61-64.

27. Colbert CM, Levy WB. Electrophysiological and pharmacological characterization of perforant path synapses in CA1: mediation by glutamate receptors. *J Neurophysiol* 1992;68: 1–8.

28. Collins F., Dawson A. An effect of nerve growth factor on parasympathetic neurite outgrowth. Proc Natl Acad Sci U S A. 1983 Apr;80(7):2091-4.

29. Connor J.A., Wadman W.J., Hockberger P.E., Wong R.K.S. Sustained dendritic gradients of Ca^{2+} induced by excitatory amino acid in CA 1 hippocampal neurons. Science, 1988, 240, 649-653.

30. Cossart R., Dinocourt C., Hirsch J.C., *et al.* Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental epilepsy. *Nat Neurosci* 2001;4: 52–62.

31. Cossart R., Esclapez M., Hirsch J.C., *et al.* GluR5 kainate receptor activation in interneurons increases tonic inhibition of pyramidal cells. *Nat Neurosci* 1998;1: 470–8.

32. Cossart, R., Dinocourt C., Hirsch, J.C. et al. Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental epilepsy. *NatureNeurosci.* 2001; 4:52-62.

33. Covolan L, Mello LE. Temporal profile of neuronal injury following pilocarpine or kainite-induced status epilepticus. Epilpesy Research, 2000, 39, 2, 133-152.

34. Covolan L., Ribeiro L.T., Longo B.M. and Mello L.E. (2000a). Cell damage and neurogenesis in the dentate granule cell layer of adult rats after pilocarpine or kainate-induced status epilepticus. *Hippocampus*, 10: 169-180.

35. Covolan L., Smith R.L. and Mello L.E. (2000b) cell layer of adult rats after pilocarpine or kainate-induced status epilepticus. *Hippocampus*, 10: 169-180.

36. Cronin J, Dudek FE. Chronic seizures and collateral sprouting of dentate mossy fibers after kainic acid treatment in rats. Brain Res. 1988 Nov 22;474(1):181-4.

37. Culmsee, C., Zhu, X., Yu, Q.S., Chan, S.L., Camandola, S., Guo, L., Greig, N.H. and Mattson, M.R (2001) A synthetic inhibitor of p53 protects neurons against death induced by ischemic and excitotoxic insults, and amyloid beta-peptide. J. *Neurochem.* 77: 220-228.

38. Datiche F, Litaudon P, Cattarelli M. Intrinsic association fiber system of the piriform cortex: a quantitative study based on a cholera toxin B subunit tracing in the rat. J. Comp Neurol. 1996 Dec 9; 376 (2):265-77.

39. De Lanerello N.C., Tomiyasu U., Gott P.S., Treiman D.M. Hippocampal pyramidal cell loss in human temporal lobe epilepsy.Brain Res., 1989, 495: 387-395.

40. de Lanerolle, N.C., J.H. Kim, R.J. Robbins, and D.D. Spencer (1989) Hippocampal interneuron loss and plasiticity in human temporal lobe epilepsy. Brain Res. *495*:387–395.

41. De Lorenzo AJ. Electron microscopy of the cerebral cortex. I. The ultrastructure and histochemistry of synaptic junctions. Bull Johns Hopkins Hosp. 1961 Apr;108:258-79.

42. Ebert J. Utilizing the nursing "team model" to enhance the role of the case manager. Lippincotts Case Manag. 2000;5(5):199-201.

43. Ebert U, Loscher W. Differences in mossy fibre sprouting during conventional and rapid amygdale kindling of the rat. Neurosci Lett. 1995 May 12;190(3):199-202.

44. Eddleston M, Mucke L. Molecular profile of reactive astrocytes--implications for their role in neurologic disease. Neuroscience. 1993 May;54(1):15-36.

45. Ekdahl, C.T., Mohapel, P., Elmdr, E. and Lindvall, O. (2001) Caspase inhibitors increase short-term survival of progenitor cell progeny in the adult rat dentate gyrus following status epilepticus. *Fur. J. Neurosci.*, 14: 937-945.

46. Engel, J., Jr. (1989) Seizures and Epilepsy. Philadelphia: F.A. Davis.

47. Esclapez M, Hirsch JC, Khazipov R, *et al.* Operative GABAergic inhibition in hippocampal CA1 pyramidal neurons in experimental epilepsy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94: 12151–6.

48. Esclapez M, Houser CR. Up-regulation of GAD65 and GAD67 in remaining hippocampal GABA neurons in a model of temporal lobe epilepsy. *J Comp Neurol* 1999;412: 488–505.

49. Faherty, C.L., Xanthoudakis, S. and Smeyne, R.J. (1999) Caspase-3-dependent neuronal death in the hippocampus following kainic acid treatment. *Brain Res. Mol Brain Res.*, 70:159-163.

50. Fawcett JW. Astrocytic and neuronal factors affecting axon regeneration in the damaged central nervous system.Cell Tissue Res. 1997 Nov;290(2):371-7.

51. Fisher RS, Alger BE. Electrophysiological mechanisms of kainic acid-induced epileptiform activity in the rat hippocampal slice. *J Neurosci* 1984;4: 1312–23.

52. Fisher S. K. and Agranoff B. W. (1987) Receptor activation and inositol lipid hydrolysis in neural tissues. J. Neurochem. 48, 999-1017

53. Fisher S. K., Heacock A. M., Agranoff B. W. (1992) Inositol lipids and signal transduction in the nervous system: an update. J. Neurochem. 58, 18-38.

54. Franck J.E., Pokorny J.E., Kunkel D.D., Schwartzkroin P.A. Physiologic and morphologic characteristics of granulle cell circuitry in human epileptic hippocampus. Epilepsia, 1995, 36: 543-558.

55. Franck JE, Kunkel DD, Baskin DG, *et al.* Inhibition in kainate-lesioned hyperexcitable hippocampi: physiologic, autoradiographic, and immunocytochemical observations. *J Neurosci* 1988; 8:1991–2002.

56. Franck JE, Schwartzkroin PA. Do kainate-lesioned hippocampi become epileptogenic? *Brain Res* 1985; 329: 309–13.

57. Frerking M, Malenka RC, Nicoll RA. Synaptic activation of kainate receptors on hippocampal interneurons. *Nat Neurosci* 1998;1: 479–86.

58. Frotscher M, Soriano E, Misgeld U. Frotscher M, Soriano E, Misgeld U. Divergence of hippocampal mossy fibers. Synapse. 1994 Feb;16(2):148-60.

59. Frotscher M, Zimmer J. Lesion-induced mossy fibers to the molecular layer of the rat fascia dentata: identification of postsynaptic granule cells by the Golgi-EM technique. J Comp Neurol. 1983 Apr 10;215(3):299-311.

60. Fujikawa, D.G. (2000) Confusion between neuronal apoptosis and activation of programmed cell death mechanisms in acute necrotic insults. *Trends Neurosci.*, 23:410-411.

61. Fujikawa, D.G., Shinmei, S.S. and Cai, B. (1999) Lithiumpilocarpine-induced status epilepticus produces necrotic neurons with internucleosomal DNA fragmentation in adult rats. *Eur. J. Neurosci.*, 11: 1605-1614.

62. Fujikawa, D.G., Shinmei, S.S. and Cai, B. (2000) Kainic acidinduced seizures produce necrotic, not apoptotic, neurons with internucleosomal DNA cleavage: implications for programmed cell death mechanisms. *Neuroscience*, 98: 41-53.

63. Gadient RA, Otten UH. Interleukin-6 (IL-6)--a molecule with both beneficial and destructivepotentials. //Prog Neurobiol. 1997 Aug;52(5):379-90.

64. Gastaut H. Dictionary of Epilepsy. Part I, definition, World Health organization, Geneva, 1973. Olney JW, Rhee V, Ho OL.Kainic acid: a powerful neurotoxic analogue of glutamate. Brain Res. 1974 Sep 13;77(3):507-12

65. Gebicke-Haerter PJ, Christoffel F, Timmer J, Northoff H, Berger M, Van Calker D. Both adenosine A1- and A2-receptors are required to stimulate microglial proliferation. Neurochem Int. 1996 Jul;29(1):37-42.

66. Gehrmann J, Banati RB. Microglial turnover in the injured CNS: activated microglia undergo delayed DNA fragmentation following peripheral nerve injury. J.Neuropathol. Exp. Neurol.1995 Sep;54(5):680-8

67. George J, Rutecki PA. The impact of microglia-derived cytokines upon gliosis in the CNS. //Dev Neurosci. 1994;16(3-4):128-36

68. Girardi E., Ramos AJ., Vanore G., Brusco A. Astrocytic response in hippocampus and cerebral cortex in an experimental epilepsy model. Neuroschem. Res., 2004, 2, 371-377.

69. Giulian D, Vaca K. Inflammatory glia mediate delayed neuronal damage after ischemia in the central nervous system.Stroke. 1993 Dec;24(12 Suppl):I84-90.

70. Graham, S.H. and Chen, J. (2001) Programmed cell death in cerebral ischemia. *J. Cereb Blood Flow Metab.*, 21: 99-109.

71. Gruol DL, Nelson TE. Physiological and pathological roles of interleukin-6 in the central nervous system. Mol Neurobiol. 1997 Dec;15(3):307-39.

72. Haberly L.B. Olfactory cortex. In Shepherd, G.M. (ed.), The Synaptic Organization of the Brain. Oxford University Press, New York, 1998.pp. 377–416.

73. Haberly, L.B. (1985) Neuronal circuitry in olfactory cortex: anatomy and functional implications. Chem. Senses, 10, 219–238

74. Hatten ME, Liem RK, Shelanski ML, Mason CA Astroglia in CNS injury. Glia. 1991;4(2):233-43.

75. Haug S, Eberspacher J, Lingens F. Enzymatic and chemical preparation of 5-amino-4-chloro-2-(2,3-dihydroxyphen-1-yl)-3(2H)-pyridazinone. Biochem Biophys Res Commun. 1973 Sep 18;54(2):760-3.

76. Heimer L., Peters A. An electron microscope study of a silver stain for degenerating boutons. Brain Res., 1968, 8, 337-346.

77. Hellier JL, Patrylo PR, Buckmaster PS, Dudek FE (1998) Recurrent spontaneous motor seizures after repeated low-dose treatment with kainate: assessment of a rat model of temporal lobe epilepsy. Epilepsy Res 31:73– 84.

78. Henshall, D.C., Chen, J. and Simon, R.E (2000a) Involvementof caspase-3-1ike protease in the mechanism of cell death following focally evoked limbic seizures. *J Neurochem.*, 74:1215-1223.

79. Houser CR, Esclapez M. Vulnerability and plasticity of the GABA system in the pilocarpine model of spontaneous recurrent seizures. *Epilepsy Res* 1996;26: 207–18.

80. Houser, C.R., J.E. Miyashiro, B.E. Swartz, G.O. Walsh, J.R. Rich, and A.V. Delgado-Escueta (1990) Altered patterns of dynorphin immunoreactivity suggest mossy fiber reorganization in human hippocampal epilepsy. J. Neurosci. *10*:267–282.

81. Huang C.F., Voglmaier S.V., Bembenek M.E., Saiardi A. and Snyder S.H. (1998) Identification and purification of diphosphoinositol pentakisphosphate kinase, which synthesizes the inositol pyrophosphate bis (diphospho) inositol tetrakisphosphate. *Biochemistry* 37, 14998-15004.

82. International League Against Epilepsy Commission report. The epidemiology of the epilpesies: future directions. Epilepsia, 1997, 38: 614-618.

83. Irvine R.F. and Schell M.J. (2001) Back in the water: the return of the inositol phosphates. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2, 327-338.

84. Isokawa, M., M.F. Levesque, T.L. Babb, and J. Engel, Jr. (1993) Single mossy fiber axonal systems of human dentate granule cells studied in hippocampal slices from patients with temporal lobe epilepsy. J. Neurosci. *13*:1511–1522.

85. Isokawa-Akesson, M., C.L. Wilson, and T.L. Babb (1989) Inhibition in synchronously firing human hippocampal neurons. Epilepsy Res. *3*:236–247.

86. Istvan Mody (1998) Interneurons and the ghost of the sea. Nature neuroscience. Volume 1 no 6.

87. Kelly ME, Staines WA, McIntyre DC. Secendary generalization of hippocampal kindled seizures is examinig the role of the piriform cortex. Brain Res, 2002, 957, 1, 152-179.

88. Kerr, J.F., Wyllie, A.H. and Currie, A.R. (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br. J. Cancer, 26: 239-257.

89. Khurgel M, Ivy GO. Astrocytes in kindling: relevance to epileptogenesis. Epilepsy Res. 1996 Dec;26(1):163-75

90. Knowles, W.D., I.A. Awad, and M.H. Nayel (1992) Differences in in vitro electrophysiology of hippocampal neurons from epileptic patients with mesiotemporal sclerosis vs. structural lesions. Epilepsia *33*:601–609.

91. Kondratyev, A. and Gale, K. (2000) Intracerebral injection of caspase-3 inhibitor prevents neuronal apoptosis after kainic acid-evoked status epilepticus. *Brain Res. Mol. Brain Res*, 75:216-224.

92. Kuchiashvili N, Apkhasava D, Bolkvadze T, Berulava A, Solomonia R. Effects of myoinositol on pentilentetrasol induced convulsios in rets. Proc. Georgian Acad. Sci., Biol. Ser. A, 2004; 30(5): 643-646.

93. Lacaille JC, Mueller AL, Kunkel DD, *et al.* Local circuit interactions between oriens/alveus interneurons and CA1 pyramidal cells in hippocampal slices: electrophysiology and morphology. *J Neurosci* 1987;7: 1979–93.

94. Loscher W, Ebert U. The role of the piriform cortex in kindling. Prog Neurobiol. 1996 Dec; 50(5-6):427-81.

95. Loscher W, Rohlfs A, Rundfeldt C. Reduction in firing rate of substantia nigra pars reticulata neurons by valproate: influence of different types of anesthesia in rats. Brain Res. 1995 Dec 8;702(1-2):133-44.

96. Loscher W. Genetic animal models of epilepsy as a unique resource for the evaluation of anticonvulsant drugs. A review. Meth. Find. Exp. Clin. Pharm., 1984; 6, 531-547.

97. Losher K., Lehmann H., Ebert U. (1998); Differences in the distribution of GABA- and GAD-immunoreactive neurons in the anterior and posteror piriform cortex of rats. Brain Res., 800, 1, 21-31.

98. Lothman EW, Collins RC. Kainic acid induced limbic seizures: metabolic, behavioral, electroencephalographic and neuropathological correlates.Brain Res. 1981 Aug 10;218 (1-2):299-318.

99. Lothman EW. Functional anatomy: a challenge for the decade of the brain.Epilepsia. 1991;32 Suppl 5:S3-13.

100. Low M.G. (2000) Glycosylphosphatidylinositol-ancored proteins and their phospholipases, in *Biology of Phosphoinositides* (Cockroft S., ed.), pp. 210-239. Oxford University Press, Oxford.

101. Maccaferri G, McBain CJ. Passive propagation of LTD to stratum oriens-alveus inhibitory neurons modulates the temporoammonic input to the hippocampal CA1 region. *Neuron* 1995;15: 137–45.

102. Margerison, J.H., and J.A.N. Corsellis (1966) Epilepsy and the temporal lobes. Brain *89:*499–530.

103. Masukawa, L.M., W.M. O'Connor, J. Lynott, L.J. Burdette, K. Uruno, P. McGonigle, and M.J. O'Connor (1995) Longitudinal variation in cell density and mossy fiber reorganization in the dentate gyrus from temporal lobe epileptic patients. Brain Res. *678* 65–75.

104. Mathern G.W., Babb T.L., Pretorius J.K., Leite J.P. Reactive synaptogenesis and neuron densities for neuropeptide Y, somatostatin and glutamate decarboxylase immunoreactivity in the epileptogenic human facscia dentata. J. Neuroscience, 1995, 15: 3990-4004.

105. Mathern, G.W., T.L. Babb, B.G. Vickrey, M. Melendez, and J.K. Pretorius (1995). The clinical-pathogenic mechanisms of hippocampal neuron loss and surgical outcomes in temporal lobe epilepsy. Brain *118:*105–118.

106. Mathern, G.W., T.L. Babb, J.K. Pretorius, and J.P. Leite (1995) Reactive synaptogenesis and neuron densities for neuropeptide Y, somatostatin, and glutamate decarboxylase immunoreactivity in the epileptogenic human fascia dentata. J. Neurosci. *15*·3990–4004.

107. Mielke, K., Brecht, S., Dorst, A. and Herdegen, T. (1999) Activity and expression of JNK1, p38 and ERK kinases, c-Jun N-terminal phosphorylation, and c-jun promoter binding in the adult rat brain following kainate-induced seizures. *Neuroscience,*91: 471-483.

108. Mikati MA, Abi-Habib RJ, El Sabban ME, Dbaibo GS, KurdiRM, Kobeissi M, Farhat F, Asaad W. Hippocampal programmed cell death after status epilpeticus: evidence for NMDA-receptor and ceramide-mediated mechanisms. Epilepsia, 2003, 44, 3, 282-291.

109. Milgram, N.W., T. Yearwood, M. Khurgel, G.O. Ivy, and R. Racine (1991) Changes in inhibitory processes in the hippocampus following recurrent seizures induced by systemic administration of kainic acid. Brain Res. *551.*236–246.

110. Mody I. Synaptic plassticity and kindling. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsy. Third Edition: Advances in Neurology. v.79, p.631-643.1999.

111. Morin F, Beaulieu C, Lacaille JC. Cell-specific alterations in synaptic properties of hippocampal CA1 interneurons after kainate treatment. *J Neurophysiol* (1998a);80: 2836–47.

112. Morin F, Beaulieu C, Lacaille JC. Selective loss of GABA neurons in area CA1 of the rat hippocampus after intraventricular kainate. *Epilepsy Res* (1998b);32: 363–9.

113. Mouritzen Dam, A. (1980) Epilepsy and neuron loss in the hippocampus. Epilepsia *21*:617–629.

114. Mulle, C. *et al. Nature* 392, 601–605 (1998).

115. Nadler JV, Cuthbertson GJ. Kainic acid neurotoxicity toward hippocampal formation: dependence on specific excitatory pathways. Brain Res. 1980 Aug 11;195(1):47-56.

116. Nadler JV. Minireview: kainic acid as a tool for the study of temporal lobe epilepsy. *Life Sci* 1981;29: 2031–42.

117. Nakajima S., Franck JE, Bilkey D, Schwartzkroin P. Local circuit synaptic interactions between CA1 pyramidal cells and interneurons in the kaoinate-lesioned hyperexcitable hippocampus. Hippocampus. 1991, 1, 67-78.

118. Niquet J, Jorquera I, Ben-Ari Y, Represa A. Proliferative astrocytes may express fibronectin-like protein in the hippocampus of epileptic rats. Neurosci Lett. 1994 Oct 10;180(1):13-6.

119. Nissinen J, Halonen T, Koivisto E, Pitkanen A.A new model of chronic temporal lobe epilepsy induced by electrical stimulation of the amygdala in rat. Epilepsy Res. 2001 Feb; 38(2-3):177-205.

120. Oliet SH, Plotsky PM, Bourque CW. Effects of activin-A on neurons acutely isolated from the rat supraoptic nucleus.J Neuroendocrinol. 1995 Sep;7(9):661-3.

121. Perez Y, Morin F, Beaulieu C, *et al.* Axonal sprouting of CA1 pyramidal cells in hyperexcitable hippocampal slices of kainate-treated rats. *Eur J Neurosci* 1996;8: 736–48.

122. Plata-Salaman CR, Ffrench-Mullen JM. Intracerebroventricular administration of a specific IL-1 receptor antagonist blocks food and water intake suppression induced by interleukin-1beta. //Physiol Behav. 1992 Jun;51(6):1277-9.

123. Pollard, H., Cantagrei, S., Charriaut-Marlangue, C., Moreau, J. and Ben-Ari, Y. (1994a) Apoptosis associated DNA fragmentation in epileptic brain damage. Neuroreport, 5: 1053-1055.

124. Pollard, H., Charriaut-Marlangue, C., Cantagrei, S., Represa, A., Robain, O., Moreau, J. and Ben-Ari, Y. (1994b) Kainate-induced apoptotic cell death in hippocampal neurons. Neuroscience, 63: 7-18.

125. Racine R.J. Modification of seizure activity by electrical stimulation. 1. After-discharge threshold. Electroencephalogr Clin Neurophysiol., 1972, 32: 269-279.

126. Reed, J.C. (1998) Bcl-2 family proteins. *Oncogene*, 17: 3225-3236.

127. Renaud J, Emond M, Meilleur S, *et al.* A class I metabotropic glutamate-receptor antagonist limits kainate-induced hippocampal dysfunction. *Epilepsia* 2002;43: 1306–17.

128. Reunolds E.S. The use of lead citrate et high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol., 1963, v. 17, p.208-212.*

129. Ribak CE, tran PH, Spigelman I, Okazaki MM, Nadler JV. Status epilepticus-induced hilar basal dendrites in rodent granule cells contribute to recurrent excitatory circuitry. J. Comparative Neurology, 2000, 428, 240-253.

130. Ridet JL, Malhotra SK, Privat A, Gage FH. Reactive astrocytes: cellular and molecular cues to biological function.Trends Neurosci. 1997 Dec;20(12):570-7. Review. Erratum in: Trends Neurosci 1998 Feb;21(2):80.

131. Robbins, R.J., M.L. Brines, J.H. Kim, T. Adrian, N. de Lanerolle, S. Welsh, and D.D. Spencer (1991) A selective loss of somatostatin in the hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy. Ann. Neurol. *29*:325–332.

132. Robinson JH, Deadwyler SA. Intracellular correlates of morphine excitation in the hippocampal slice preparation. Brain Res. 1981 Nov 16;224(2):375-87.

133. Roux, EE, Colicos, M.A., Barker, P.A. and Kennedy, T.E. (1999) p75 neurotrophin receptor expression is induced in apoptotic neurons after seizure. *J. Neurosci.*, 19: 6887-6896.

134. Sanon N., Carmant L., Emond M., Congar P and Lacaille J. (2005) Short-term effects of kainic acid on CA1 hippocampal interneurons differentially vulnerable to excitotoxicity. *Epilepsia,* 46(6):837-848.

135. Savinainen, A., Garcia, E.P., Dorow, D., Marshall, J. and Liu,Y.F. (2001) Kainate receptor activation induces mixed lineage kinase-mediated cellular signaling cascades via post-synaptic density protein 95. *J. Biol. Chem*, 276: 11382-11386.

136. Schanwecker, EE. (2000) Seizure-induced neuronal death is associated with induction of c-Jun N-terminal kinase and is dependent on genetic background. *Brain Res*, 884:116-128.

137. Schwabe K, Ebert U, Loscher W. Bilateral lesions of the central but not anterior or posterior parts of the piriform cortex retard amygdala kindling in rats. Neuroscience. 2000;101(3):513-21

138. Schwabe K, Ebert U., Losher K. 2000 Bilateral lessions of the central but not anterior or posterior zones of the piriform cortex retarded amygdala kindling in rats. Neuroscience, 101,3,513-521.

139. Schwabe KG, Terracio L. Ultrastructural and thermocouple evaluation of rapid freezing technique. Cryobiology. 1980 Dec;17(6):571-84.

140. Schwartzkroin, P.A. (1994) Cellular electrophysiology of human epilepsy. Epilepsy Res. *17*:185–192.

141. Schwob JE., Fuller T., Price JL., Olney JW. Widespread patterns of neuronal damage following systemic and intracerebral injection of kainic acid: A hystological study. Neuroscience, 1980, 5, 991-1014.

142. Seifert G., Huttman K., Schramm J., Steinhauser Ch. Enhanced relative expression of glutamate receptor 1 flip AMPA receptor subunits in hippocampal astrocytes of epilepsy patients with Ammon's Horn sclerosis. Neuroscience, February 25, 2004, 24(8). 1996-2003.

143. Shinozaki H, Konishi S, Otsuka M. [Cell membrane in synaptic transmission, with special reference to acetylcholine receptor] Saishin Igaku. 1970 Dec;25(12):2461-9.

144. Shipley, M.T. and Ennis, M. (1996) Functional organization of the olfactory system. J. Neurobiol., 30, 123–176.

145. Silva JG, Mello LE. The role of mossy cell death and activation of protein synthesis in the sprouting of dentate mossy fibers: evidence from calretinin and neo-timm staining in pilocarpine-epileptic mice. Epilepsia .2000; 41 Supp l6 : S18-23.

146. Sjostrand F.S. Electron Microscopy of cells and tissues. N-Y, "Acad. Press", 1967.

147. Sloviter R.S. Possible functional consequences of synaptc reorganization in the dentate gyrus of kainte-treated rats. Neuroscience,1994, 137: 91-96.