

**კაინის მჟავას ეფექტი ჰიპოკამპის ცოცხალი ნეირონის დენდრიტულ
ხორკლებზე: მრავალფოტონიან-მიკროსკოპული კვლევა**

მაია კილაძე

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

სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა სადოქტორო პროგრამა

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ია ჟვანია – ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,
თანახელმძღვანელი: თამარ ლორთქიფანიძე – აკადემიური დოქტორი

**ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი
თბილისი, 2013**

როგორც წარდგენილი სადისერტაციო ნაშრომის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.

მაია კილაძე

19.07.2013

აბსტრაქტი

სადისერტაციო კვლევაში შესწავლილი იყო: (1) ორ-ფოტონიანი მიკროსკოპის გამოყენებით - გლუტამატის ანალოგის, კაინის მჟავას ეფექტი პოსტნატალური განვითარების სხვადასხვა სტადიებზე მყოფი (P10 და P30) Thy1-YFPH ტრანსგენული თაგვების ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდული უჯრედების დენდრიტული ხორკლების რაოდენობასა და დინამიკაზე; (2) ელექტრონული მიკროსკოპის გამოყენებით - კაინის მჟავას ეფექტი ზრდასრული ვირთაგვების ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდული უჯრედების დენდრიტების, დენდრიტული ხორკლების და აქსო-ხორკლოვანი სინაფსების ნატიფ აღნაგობაზე.

(1) ორ-ფოტონიან-მიკროსკოპული კვლევა: კვლევის პირველ ნაწილში გამოყენებული იყო Thy1-YFPH ტრანსგენული თაგვები. ასეთი თაგვების დამახასიათებელი თავისებურება ჰიპოკამპის პირამიდული ნეირონების მწვანე ფლუორესცენციაა. კვლევა ჩატარდა 40 ცხოველზე: 8 საკონტროლო და 32 ექსპერიმენტული. ჰიპოკამპის მწვავე ანათლების დამუშავება ხდებოდა კაინის მჟავას ორი კონცენტრაციით (50 μ M და 100 μ M), სხვადასხვა დროის განმავლობაში (30 წთ და 100 წთ). საკონტროლო და ექსპერიმენტულ მასალაზე ჩატარდა დენდრიტული ხორკლების (ა) საერთო რაოდენობის, (ბ) ცალკეული ფორმების (კუნძის ფორმის, სოკოს ფორმის, გრძელი და წვრილი ფორმის, დატოტვილი ხორკლების და ფილოპოდიების) რაოდენობის და (გ) ძვრადობის ანალიზი.

საკონტროლო მასალაზე, განვითარებასთან ერთად, გამოვლინდა ფილოპოდიების რიცხვის სარწმუნო დაკლება და დენდრიტული ხორკლების საერთო რაოდენობის სარწმუნო მატება (თანხვედრაშია ლიტერატურულ მონაცემებთან). ასეთი ცვლილება კუნძის ფორმის ხორკლების ხარჯზე უნდა მიმდინარეობდეს: ხორკლების სხვადასხვა ტიპებს შორის, სარწმუნო ცვლილებები - მათი რიცხვის მატება - მხოლოდ ასეთი ტიპის ხორკლებში აღინიშნა. ამასთანავე, განვითარებასთან ერთად, სარწმუნოდ მცირდება ხორკლების ძვრადობა (თანხვედრაშია ლიტერატურულ მონაცემებთან).

ექსპერიმენტულ მასალაზე ნაჩვენები იქნა, რომ კაინის მჟავას ზემოქმედების შედეგად, ორივე ასაკის ცხოველებში სარწმუნოდ იზრდება ხორკლების საერთო

რაოდენობა. ამასთანავე, კაინის მჟავას ეფექტი „ასაკდამოკიდებულია“: P10 -ის შემთხვევაში წამყვანია ზემოქმედების ხანგრძლივობა, ხოლო P30-ის შემთხვევაში - კაინის მჟავას კონცენტრაცია.

ხორკლების რაოდენობრივი ცვლილებების გარდა, კაინის მჟავას ეფექტი ხორკლების ძვრადობაზეც გამოვლინდა. ეს ეფექტი განსაკუთრებით გამოხატულია P10 თავგებში, რომლებშიც ხორკლების ძვრადობის სარწმუნო მატება აღინიშნა. ამასთანავე, აღმოჩნდა, რომ დენდრიტული ხორკლების ძვრადობაზე უფრო გამოხატულ ეფექტს ახდენს არა კაინის მჟავას კონცენტრაცია, არამედ კაინის მჟავას ზემოქმედების ხანგრძლივობა.

(2) ელექტრონულ-მიკროსკოპული კვლევა: გამოყენებული იყო ვისტარის ხაზის მამრი ვირთაგვები, რომლებსაც კაინის მჟავას ინტრაპერიტონიული შეყვანის შედეგად, განვითარებული ჰქონდათ ეპილეფსიური სტატუსი. ელექტრონულ-მიკროსკოპული კვლევისთვის მასალა მზადდებოდა კაინის მჟავას შეყვანიდან 14 დღის შემდეგ [ჩვენი ჰისტოლოგიური კვლევის მონაცემების თანახმად, ამ ვადისთვის ჰიპოკამპის CA1 ველში პირამიდული უჯრედების და ინტერნეირონების რაოდენობა სარწმუნოდ შემცირებულია (Kotaria et al. 2013)]. შესწავლილი იყო 200 ანათალი: 115 - ექსპერიმენტული და 85 - საკონტროლო ცხოველიდან.

კაინის მჟავას ზემოქმედების შედეგად, ცვლილებები 30%-მდე ნეირონში გამოვლინდა. ნეირონების უმრავლესობა პირამიდული ტიპის უჯრედებია. განსაკუთრებით ხშირია მიტოქონდრიების ცვლილებები. ვლინდება ასევე ენდოპლაზმური ბადის მოდიფიცირებული ცისტერნები, ციტოპლაზმური ვაკუოლები, ვარიკოზული ან გაჯირჯვებული დენდრიტები, დეზორგანიზებული დენდრიტული მილაკები, ნაწილობრივად დემიელინიზირებული აქსონები, და გაფართოებული ასტროციტული პროფილები. აღინიშნა ასევე სხვადასხვა ტიპის ხორკლები და სინაფსური ტერმინალები აქტიურ ზონასთან კონცენტრირებული მრავალრიცხოვანი სინაფსური ვეზიკულებით. ასეთი ცვლილებები მიუთითებენ ნეირონული კომუნიკაციების დარღვევებზე, რომლებიც კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის შედეგად, ჰიპოკამპის CA1 ველში ვითარდებიან.

დისერტაციაში (თავი: განსჯა) გამოთქმულია მოსაზრებები კვლევაში გამოვლენილი ხორკლების ცვლილებების შესაძლო მექანიზმების და მიზეზების თაობაზე.

საკვანძო სიტყვები: დენდრიტული ხორკლი, ჰიპოკამპი, კაინის მჟავა, ეპილეფსია, ორ-ფოტონიანი მიკროსკოპი, ელექტრონული მიკროსკოპი.

Abstract

In the present two-photon and electron-microscopic study we evaluated the effect of structural analogue of glutamate, kainic acid (1) on the number and motility of hippocampal dendritic spines in the transgenic Thy1-YFPH mice at different stages of development (P10 and P30), (2) on the ultrastructure of spines and axo-spine synapses in the hippocampal CA1 area of adult rats.

(1)Two-photon microscopic study. In the first series of experiments the Thy1-YFPE transgenic mice were used. The peculiarity of such mice is the expression of green fluorescent in the hippocampal pyramidal neurons. 8 control and 32 experimental animals were used (in total: 40 animals). Hippocampal slices were treated during 30 or 100 min with kainic acid of 50 μ M or 100 μ M concentration. The “time-lapse imaging” and analysis of (i) total number of spines, (ii) number of different forms of spines (stubby spines, mushroom spines, spines with long and thin neck, branched spines and filopodia) and (iii) motility of spines was performed.

Control material: With the brain development the significant decrease of the number of filopodia and significant increase of the number of spines was shown (results correspond to literature data). Such effect might be related with alterations in the number of stubby spines: in comparing with P10, in the P30 mice, the number of stubby spines (only) was significantly increased. Besides, in parallel with brain development significant decrease of spine motility was described (results correspond to literature data).

Experimental material: As a result of kainic acid treatment in both age groups the number of spines is significantly increased. Such effect is age-dependent. Thus, in the P10 animals the alterations depend mostly on the duration of treatment, while in the P30 animals – mostly on concentration of kainic acid. Kainic acid treatment affects also the motility of spines. Such effect is the most strong in P10 mice where significant increase of spines motility was revealed. It was also shown that the effect of kainic acid on spine motility depends mostly on the duration of treatment and to lesser degree on the concentration of kainic acid.

(2) Eelectron-microscopic study: For electron microscopic studies adult male Wistar rats with status epilepticus provoked by kainic acid intraperitoneal administration were used (in total 9 animals: 4 control and 5 experimental). The material was processed 14 days after status epilepticus [according to our histological data, at this time-point in the hippocampal CA1 area significant pyramidal and interneuron cell loss was observed (Kotaria et al. 2013)]. The 200 sections: 115 - from experimental animals and 85 – from control animals were processed. As a result of kainic acid effect, the alterations were observed at approximately 30% of cells, mostly in pyramidal neurons. The most numerous were alterations in mitochondria. Besides the modified cystem of endoplasmic network, cytoplasmic vacuoles, varicose or swelled dendrites, the dezorganization of dendritic tubules, partly demyelinated axons, or enlarged astrocytic profiles were seen. Different types of spines and synaptic terminals with numerous synaptic vesicles concentrated close to active zone were observed. Such alterations point to the desorganization of neuronal communications that are developed in the hippocampal CA1 area as a result of kainic acid-provoked status epilepticus.

In the part “Discussion” I discuss possible causes and mechanisms of such, kainic acid-provoked spine alterations.

Key Words: Dendritic spine, Hippocampus, Kainic acid, Epilepsy, Two-photon microscopic study, Eelectron-microscopic study.

სარჩევი

სარჩევი.....	viii
სურათების ჩამონათვალი.....	5
1. შესავალი: საკითხის აქტუალობა.....	8
2. ლიტერატურის მიმოხილვა.....	12
2.1. ეპილეფსიები. ზოგადი დახასიათება; მკურნალობის სტრატეგიები.....	12
2.2. ხორკლების სტრუქტურა და ფუნქცია. ზოგადი დახასიათება.....	16
2.2.1. დენდრიტული ხორკლების ფორმები: სტრუქტურა და ფუნქცია.....	17
2.2.2. სხვადასხვა ფორმის ხორკლების პლასტიურობა.....	22
2.2.3. ხორკლების ძვრადობა და მისი რეგულაცია.....	25
2.3. ხორკლები და დასწავლა.....	32
2.4. დენდრიტული ხორკლები და ხანგრძლივი პოტენციალი.....	33
2.5. დენდრიტული ხორკლები და გონებრივი ჩამორჩენა.....	36
2.6. დენდრიტული ხორკლები და ეპილეფსია.....	38
2.6.1. დენდრიტული ხორკლების ცვლილებები და ადამიანის ეპილეფსია.....	39
2.6.2. დენდრიტული ხორკლების პათოლოგიები ეპილეფსიის ცხოველურ მოდელებზე. კონვენციური და თანამედროვე მიდგომები.....	41
2.6.3. კრუნჩხვითი აქტივობით განპირობებული დენდრიტული ხორკლების ცვლილებების მექანიზმები.....	43
2.6.4. დენდრიტული ხორკლების ძვრადობა და ეპილეფსია.....	48
2.7. დასკვნის სახით.....	48
3. მასალა და მეთოდები.....	53
3.1 ორფოტონიან-მიკროსკოპული კვლევა.....	53
3.1.1. ცხოველები.....	53
3.1.2. მწვავე ანათლების მიღება. შესწავლილი ექსპერიმენტული და საკონტროლო მასალა.....	53

3.1.3. დროის გარკვეულ მონაკვეთში მწვავე ანათლების გამოსახულების (Time-lapse imaging) მიღება; გამოსახულების ანალიზი.....	55
3.1.4. ხორკლების დინამიკის ანალიზი.....	56
3.1.5. ხორკლების საერთო რაოდენობრივი ანალიზი.....	57
3.1.6. სხვადასხვა ფორმის ხორკლების რაოდენობრივი ანალიზი.....	59
3.1.7. სტატისტიკური ანალიზი.....	60
3.2. ელექტრონულ-მიკროსკოპული კვლევა.....	61
3.2.1. ცხოველები.....	61
3.2.2. ეპილეფსიური სტატუსის გამოწვევა.....	61
3.2.3. პერფუზია და მასალის დამუშავება.....	62
4. შედეგები.....	64
4.1. დენდრიტული ხორკლების რაოდენობა საკონტროლო მასალაში (ნორმაში).....	64
4.1.1. დენდრიტული ხორკლების საერთო რაოდენობრივი ანალიზი.....	64
4.1.2. დენდრიტული ხორკლების სხვადასხვა ფორმების რაოდენობრივი ანალიზი.....	65
4.2. დენდრიტულ ხორკლების რაოდენობაზე კაინის მჟავას ეფექტი.....	67
4.2.1. დენდრიტული ხორკლების საერთო რაოდენობრივი ანალიზი.....	67
4.2.1.1. P10 ცხოველები.....	67
4.2.1.2. P30 ცხოველები.....	68
4.2.2. დენდრიტული ხორკლების სხვადასხვა ფორმების რაოდენობრივი ანალიზი.....	72
4.2.2.1. კუნძულის ფორმის ხორკლები.....	72
4.2.2.1.1. P10 ცხოველები.....	72
4.2.2.1.2. P30 ცხოველები.....	73
4.2.2.2. წვრილი ხორკლები.....	74
4.2.2.2.1. P10 ცხოველები.....	74
4.2.2.2.2. P30 ცხოველები.....	75
4.2.2.3. სოკოს ფორმის ხორკლები.....	76

4.2.2.3.1. P10 ცხოველები.....	76
4.2.2.3.2. P30 ცხოველები.....	76
4.2.2.4. დატოტვილი ხორკლები.....	77
4.2.2.4.1. P10 ცხოველები.....	77
4.2.2.4.2. P30 ცხოველები.....	79
4.2.2.5. ფილოპოდიები.....	80
4.2.2.5.1. P10 ცხოველები.....	80
4.2.2.5.2. P30 ცხოველები.....	81
4.3. დენდრიტული ხორკლების ძვრადობა.....	83
4.3.1. ხორკლების ძვრადობის ინდექსი საკონტროლო მასალაში (ნორმაში).....	83
4.3.2. ხორკლების ძვრადობის ინდექსი კაინის მჟავათი დამუშავებულ მასალაში....	85
4.3.2.1. P10 ცხოველები.....	85
4.3.2.2. P30 ცხოველები.....	86
4.4. ელექტრონულ-მიკროსკოპული კვლევის შედეგები.....	87
5. მონაცემების განსჯა.....	91
5.1. საკონტროლო მასალა.....	92
5.2. კაინის მჟავას ეფექტი დენდრიტული ხორკლების რაოდენობაზე.....	96
5.3. „სხვადასხვა ასაკის“ დენდრიტული ხორკლები განსხვავებულად რეაგირებენ კაინის მჟავას კონცენტრაციასა და ზემოქმედების დროზე.....	104
5.4. ხორკლების ძვრადობა ნორმაში და კაინის მჟავას ზემოქმედების დროს.....	105
6. გამოყენებული ლიტერატურის ჩამონათვალი.....	111

სურათების ჩამონათვალი

სურათი 1: Thy1-YFPH თაგვის ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდული ნეირონის დენდრიტი და დენდრიტული ხორკლები.....	55
სურათი 2: დენდრიტული ხორკლის ძვრადობის გამომწვევა.....	57
სურათი 3: ხორკლების სიმჭიდროვე P10 საკონტროლო თაგვის CA1 ველის ნეირონის დენდრიტის 15 მკმ-იან მონაკვეთზე.....	58
სურათი 4: ჰიპოკამპის დენდრიტული ხორკლების ფორმები.....	60
სურათი 5: P10 და P30 საკონტროლო თაგვების დენდრიტული ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.....	64
სურათი 6: P30 და P10 საკონტროლო თაგვების დენდრიტები.....	65
სურათი 7: სხვადასხვა ფორმის ხორკლების და ფილოპოდების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.....	66
სურათი 8: P10 თაგვების დენდრიტული ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.....	68
სურათი 9: P30 თაგვების დენდრიტული ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.....	69
სურათი 10: დენდრიტული ხორკლები P30 თაგვის CA1 ველის ანათაზზე.....	70

სურათი 11: დენდრიტული ხორკლები P10 თავის CA1 ველის ანათაზზე.....	71
სურათი 12: P10 თავის კუნძის ფორმის ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.....	72
სურათი 13: P30 თავის კუნძის ფორმის ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.....	73
სურათი 14: P10 თავის წვრილი ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.....	74
სურათი 15: P30 თავის წვრილი ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.....	75
სურათი 16: სოკოს ფორმის ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე P10 და P30 თავისებში.....	77
სურათი 17: P10 თავის დატოტვილი ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.....	78
სურათი 18: P30 თავის დატოტვილი ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.....	79
სურათი 19: P10 თავის ფილოპოდების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.....	81
სურათი 20: P30 თავის ფილოპოდების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.....	82

სურათი 21: დენდრიტული ხორკლები P10 საკონტროლო თავვიდან.....	83
სურათი 22: დენდრიტული ხორკლები P30 საკონტროლო თავვიდან.....	83
სურათი 23: P10 და P30 თავგების ხორკლების ძვრადობის ინდექსის დიაგრამა.....	84
სურათი 24: P10 თავგების ხორკლების ძვრადობის ინდექსის დიაგრამა.....	85
სურათი 25: P30 თავგების ხორკლების ძვრადობის ინდექსის დიაგრამა.....	86
სურათი 26: კაინის მჟავას მოქმედებით გამოწვეული ულტრასტრუქტურული ცვლილებები ვირთავას ჰიპოკამპის CA1 ველის დენდრიტებში.....	90

1. შესავალი: საკითხის აქტუალობა

ეპილეფსიები ნევროლოგიური დარღვევების ფართო ჯგუფს შეადგენენ. მსოფლიოში ეპილეფსიით დაავადებულია მოსახლეობის დაახლოებით 1%. ეპილეფსიის რიგი ფორმების ერთ-ერთი მთავარი მახასიათებელი კრუნჩხვებია. ორგანიზმში კრუნჩხვები მნიშვნელოვან უარყოფით ეფექტს იწვევენ. ამასთანავე, უშუალოდ კრუნჩხვების უარყოფითი შედეგების გარდა, ეპილეფსიით დაავადებულები ხშირად ხასიათდებიან რიგი ნევროლოგიური, ფსიქოლოგიური და ქცევითი ხასიათის პრობლემებით: ვლინდება მნიშვნელოვანი კოგნიტური დეფიციტი, მეხსიერების დარღვევები, სირთულეები დასწავლაში, აუტიზმი, გონებრივი ჩამორჩენა და სხვა ნეიროფსიქიატრიული მოშლილობები. რიგ შემთხვევებში ისინი პროგრესირებენ და კრუნჩხვების გაძლიერებასთან კორელირებენ (Dodrill, 2002; Elger et al., 2004). ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი ასეთი ტიპის ნევროლოგიური, ფსიქოლოგიური და ქცევითი სიმპტომების გამოძვევი მიზეზები მრავალგვარია; ძირითადად, ადგილი აქვს ბიოლოგიური, გარემოს და ფსიქოსოციალური ფაქტორების კომპლექსურ მოქმედებას.

ეპილეფსიის სხვადასხვა ფორმების გავლენით, თავის ტვინის აღნაგობაში გარკვეული ცვლილებები ვითარდებიან. უმნიშვნელოვანესი სტრუქტურული კორელატი თავის ტვინის ეპილეპტოგენური უბნების ნეირონების დაღუპვაა, რაც, პირველ რიგში, ჰიპოკამპსა და ახალ ქერქში ეპილეფსიური სტატუსის დროს, რიგ შემთხვევებში კი, ერთეული და ხანმოკლე კრუნჩხვების საპასუხოდც ვლინდება (Meldrum et al. 1973; Sloviter and Damiani 1981; Turski et al. 1983; Nevander et al. 1985; Bengson et al. 1997). კრუნჩხვებით გამოწვეული ნეირონების დაღუპვას უნდა უკავშირდებოდეს საფეთქლის წილის ეპილეფსიისა და ჰიპოკამპური სკლეროზისთვის დამახასიათებელი პროგრესული ეპილეპტოგენუზი და მეხსიერების დისფუნქცია.

ამასთანავე, ნეიროიმიჯინგის და კლინიკური მასალის რიგი სხვა კვლევების თანახმად, ეპილეფსიით დაავადებულ მრავალ პაციენტს, მკვეთრად გამოხატული

ნევროლოგიური და ქცევითი დეფიციტის მიუხედავად, ეპილეპტოგენურ კერაში ნეირონების დაღუპვა არ აღენიშნათ. გარდა ამისა, კლინიკურ მონაცემებზე დაყრდნობით, გამოითქვა მოსაზრება, რომ უჯრედების დაღუპვა ეპილეფსიით დაავადებულთა მხოლოდ გარკვეულ სუბპოპულაციას ახასიათებს. ამგვარად, ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი პათოლოგიური ცვლილებები უჯრედების დაკარგვასთან ყოველთვის არ ასოცირდება (Alcaraz et al. 2003; Elger et al. 2004). ასეთი მონაცემების საფუძველზე, გამოითქვა მოსაზრება, რომ ეპილეფსიის დროს, უჯრედების დაღუპვის გამომწვევი მექანიზმების გარდა, პათოლოგიური პროცესის განვითარებაში ირთვება ტვინის დაზიანების სხვა, უფრო ნატიფი მექანიზმები. ასეთი მექანიზმები გავლენას უნდა ახდენდნენ ნეირონების სტრუქტურასა და ფუნქციაზე, და სავარაუდოდ, მონაწილეობას იღებდნენ ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი კოგნიტური დეფიციტის განვითარებაში. ვინაიდან უმაღლეს კოგნიტურ ფუნქციებს, ძირითადად, განაპირობებს განსაკუთრებით რთულ ქერქულ ქსელებში გაერთიანებულ ნეირონებს შორის არსებული კომუნიკაციები, გაჩნდა საფუძვლიანი ვარაუდი, რომ ეპილეფსიის ნეგატიური ეფექტი კოგნიციაზე და ქცევაზე, პირველ რიგში, დაკავშირებული უნდა იყოს იმ პოტენციურ პათოლოგიურ ცვლილებებთან, რომლებიც კრუნჩხვითი აქტივობის შედეგად, აღნიშნულ ნეირონებს შორის არსებულ სინაფსურ გადაცემაში შეიძლება განვითარდნენ. ცნობილია, რომ უმაღლეს კოგნიტურ ფუნქციებს დიდწილად განაპირობებს განსაკუთრებით რთულ ქერქულ წრეებში გაერთიანებულ ნეირონებს შორის არსებული კომუნიკაციები. ამიტომ გაჩნდა საფუძვლიანი ვარაუდი, რომ ეპილეფსიის ნეგატიური ეფექტი კოგნიტურ ფუნქციებზე დაკავშირებული უნდა იყოს ასეთი კომუნიკაციების შესაძლო პათოლოგიურ ცვლილებებთან.

უკანასკნელ წლებში ეპილეპტოლოგიების განსაკუთრებული ინტერესის ცენტრშია ხორკლები – სპეციფიური ნეირონების დენდრიტებზე არსებული მცირე ზომის გამონაზარდები. სინაფსურ გადაცემაში მათი როლი უმნიშვნელოვანესია. ქერქული, ამაგზნებელი, გლუტამატერგული სინაფსური შესასვლელების უმრავლესობა სწორედ ხორკლებზე თავდება. ვინაიდან დენდრიტული ხორკლები სინაფსური პლასტიურობის და მეხსიერების/დასწავლის მექანიზმებში (Segal, 2005; Kasai et al., 2010)

უმნიშვნელოვანეს როლს ასრულებენ, ვარაუდობენ, რომ ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი კოგნიტური დეფიციტის განვითარება ხორკლების შესაძლო ცვლილებებთან უნდა ასოცირდებოდეს (Swann et al. 2000; Wong 2005; Wong, Guo 2012). ეპილეფსიის სხვადასხვა ფორმების დროს, ხორკლების კვლევის აუცილებლობა, პირველ რიგში, სწორედ ამ მოსაზრებას უკავშირდება. გარდა ამისა, ეპილეფსიის დროს, ხორკლებისადმი ინტერესი უკავშირდება კიდევ ერთ უმნიშვნელოვანეს ფაქტს: უკანასკნელ პერიოდში ეპილეფსიის კვლევასა და მკურნალობაში მკვიდრდება ახალი სტრატეგია, რომელიც მიმართულია “ეპილეფსიური ნეირონის” აღნაგობის სტაბილიზაციაზე (Wong 2008; Yin et al. 2011). ასეთი სტრატეგია ეფუძნება შემდეგ ცნობილ მოსაზრებას: კრუნჩხვით აქტივობას რეაქტიული სინაპტოგენეზის გარდა, განაპირობებს ნეირონული დეგენერაციის უწყვეტი მდგომარეობა (Rempe et al. 1997; Rothman and Samaie 1985). შესაბამისად, ეპილეფსიის მკურნალობის ოპტიმიზაციისთვის უმნიშვნელოვანესია არა მარტო იმის დადგენა, თუ რამდენად წარმატებით ახდენს ესა თუ ის ანტიეპილეფსიური საშუალება ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი მოლეკულური და ელექტროფიზიოლოგიური ცვლილებების და/ან კრუნჩხვების პრევენციას, არამედ ასევე იმის გაშუქება, თუ როგორია მისი ეფექტი კრუნჩხვებით განპირობებული უჯრედების დაზიანება/დაღუპვაზე (Pitkanen 1996; Pitkanen et al. 1996; Wong 2005). საკითხის ასეთი დაყენება კი მოითხოვს, “ეპილეფსიური ნეირონის” სპეციფიკური აღნაგობის დაწვრილებით შესწავლას, დენდრიტული ხორკლების ჩათვლით.

„ეპილეფსიური ნეირონის“ დენდრიტული ხორკლების ცვლილებები აღწერილია სხვადასხვა მოდელებზე და სხვადასხვა მეთოდების გამოყენებით. ზოგიერთი მონაცემი განხილულია თავში „ლიტერატურული მიმოხილვა“. კვლევები მიუთითებენ საკითხის არა მარტო განსაკუთრებულ მნიშვნელობაზე, არამედ შემდგომი გაშუქების აუცილებლობაზეც (რიგი მონაცემები ურთიერთსაწინააღმდეგოა).

წარმოდგენილ კვლევაში ვაგრძელებთ “ეპილეფსიური ნეირონის” დენდრიტული ხორკლების შესწავლას. კერძოდ, გაშუქებული იყო: (1) ორ-ფოტონიანი მიკროსკოპის

გამოყენებით - გლუტამატის ანალოგის, კაინის მჟავას ეფექტი განვითარების სხვადასხვა სტადიაზე მყოფი Thy1-YFPH ტრანსგენული თაგვების ჰიპოკამპის პირამიდული ნეირონების დენდრიტული ხორკლების რაოდენობასა და მვრადობაზე; (2) ელექტრონული მიკროსკოპის გამოყენებით - კაინის მჟავას ეფექტი ზრდასრული ვირთაგვების ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდული უჯრედების დენდრიტების, დენდრიტული ხორკლების და აქსო-ხორკლოვანი სინაფსების ნატივ ადნაგობაზე.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1. ეპილეფსიები. ზოგადი დახასიათება; მკურნალობის სტრატეგიები

როგორც აღინიშნა, ეპილეფსიები ქრონიკული ნევროლოგიური დაავადებების ფართო და მრავალფეროვან ჯგუფს შეადგენენ. რიგი ფორმების ერთ-ერთი მთავარი მახასიათებელი კრუნჩხვებია. ზოგიერთი ფორმის დროს, კრუნჩხვები ხშირია და მოულოდელი, სხვა შემთხვევებში კი, აღინიშნება მხოლოდ ერთი, ხანმოკლე კრუნჩხვა (რამოდენიმე წამის განმავლობაში). რიგ შემთხვევებში ვითარდება თავის ტვინის ისეთი დაზიანებები, რომელთა შედეგად, იზრდება კრუნჩხვების შემდგომი განვითარების ალბათობა. ეპილეფსიის გამომწვევი მიზეზები ხშირად დაუდგენელია. ვარაუდობენ მრავალი ფაქტორის გავლენას, მათ შორისაა: თავის ტვინის ტრავმა, თავის ტვინის სისხლის მიმოქცევის მნიშვნელოვანი დარღვევები, თავის ტვინის სიმსივნე, ალკოჰოლის და სხვა ადიქციური ნივთიერებების უკონტროლო მოხმარება და სხვ. თავის მხრივ, ეპილეფსიური კრუნჩხვები ზედმეტად მოჭარბებული ან ჰიპერსინქრონული ნეირონული აქტივობის შედეგია.

მსოფლიოში ეპილეფსიით დაავადებული პაციენტები მოსახლეობის საერთო პოპულაციის დაახლოებით 1%-ს შეადგენენ. ამასთანავე, პაციენტების დაახლოებით ერთ მესამედს გააჩნია წამალ-რეზისტენტული ფორმა, რაც სიკვდილის საშიშროებასთან, უკეთეს შემთხვევაში კი, უარყოფით ფსიქოსოციალურ შედეგებთან ასოცირდება. მართალია, ზოგიერთ ასეთ პაციენტს უკეთდება ქირურგიული ოპერაცია, მაგრამ ასეთ შემთხვევებშიც კი, მკურნალობა მეტწილად დაგვიანებულია და პაციენტებს მაინც უვითარდებათ ეპილეფსიის თანმხლები, შეუქცევადი, ბიოლოგიური და ფსიქოსოციალური, დარღვევები. მიუხედავად იმისა, რომ ყოველწლიურად კლინიკაში რამოდენიმე ახალი ანტიეპილეფსიური საშუალება ინერგება, ეპილეფსიის მკურნალობა მაინც შეზღუდულია. ცნობილი ანტიეპილეფსიური საშუალებების უმრავლესობას გააჩნია უარყოფითი ეფექტები. ასეთი ეფექტები განსაკუთრებით ვლინდებიან იმ პაციენტებში, რომლებიც წამლების დიდ დოზებს იღებენ. გარდა ამისა, კრუნჩხვების

საწინააღდეგო რიგი ახალი საშუალებები, რომლებიც, ძველ პრეპარატებთან შედარებით, ნაკლებად გამოხატულ გვერდით ეფექტებს იწვევენ, ხშირ შემთხვევებში მაინც არ იძლევიან სათანადო პოზიტურ ეფექტს (Pati and Alexopoulos 2010; Schmidt 2011; Schmidt and Loscher 2005; Walker et al. 2002; Wong 2005). აღსანიშნავია ასევე, რომ ძალიან ცოტა საშუალებაა ეპილეფსიის თანმხლები ისეთი სპეციფიური მდგომარეობების სამკურნალოდ, როგორიცაა კოგნიტური დარღვევები და მეხსიერების დეფიციტი; ასეთი დარღვევები ხშირად პაციენტისთვის არანაკლებ უარყოფითი შედეგის მომტანია, ვიდრე საკუთრივ კრუნჩხვები (Schubert 2005; Kanner 2004; Vazques, Devinsky 2003; Elger et al., 2004; Wong, 2005). ამიტომ გამოითქვა საფუძვლიანი ვარაუდი, რომ ამჟამად არსებული და განსაკუთრებით გავრცელებული ანტიეპილეფსიური პრეპარატების უმრავლესობის არაეფექტურობის მიზეზია ის, რომ ეს პრეპარატები საკუთრივ ანტიეპილეფსიური ან ანტიეპილეპტოგენური არ არიან: ისინი მხოლოდ თრგუნავენ კრუნჩხვებს და არ მოქმედებენ არც ეპილეპტოგენუზის გამომწვევ მექანიზმებზე და არც ეპილეფსიის თანმხლებ ტვინის დაზიანებაზე (Aroniadou-Anderjaska et al. 2008; Baulac et al. 2009; Wong 2005). შემდგომმა კვლევებმა უნდა განაპირობონ ისეთი ახალი ანტიეპილეფსიური საშუალებების შემუშავება, რომელთა გამოყენებით შესაძლებელი გახდება ეპილეფსიის უფრო წარმატებული მკურნალობა და მისი შეწყვეტაც კი.

უკანასკნელ წლებში ეპილეფსიის სამკურნალო საშუალებების შემუშავებაში გაჩნდა ახალი სტრატეგია. ეს სტრატეგია გულისხმობს ისეთი ახალი ტიპის წამლების შექმნას, რომლებიც მიზნობრივად იმოქმედებენ ეპილეფსიის გამომწვევ მექანიზმებზე, ეპილეფსიასთან დაკავშირებულ თავის ტვინის დაზიანებებზე და ეპილეფსიის თანმხლებ გართულებებზე (Wong 2008). ამ მიმართულებით მრავალრიცხოვანი კვლევები მიმდინარეობს, მიღწეული წარმატებები კი იძლევიან მყარ საფუძველს იმისა, რომ უახლოეს მომავალში პოტენციური სამიზნეები ასეთი ტიპის თერაპიული საშუალებებისთვის განსაზღვრული იქნება.

ვინაიდან ეპილეფსიის რიგი ფორმებისთვის დამახასიათებელი კრუნჩხვების აღმოცენება სინაფსების ჰიპერაგზონებას უკავშირდება, თანამედროვე კვლევებში დიდი ყურადღება ეთმობა „ეპილეფსიური ნეირონის“ ფიზიოლოგიურ აქტივობას. ასევე უმნიშვნელოვანესი მიმართულება ეპილეფსიის განვითარებაში ჩართული გენების მუტაციების შესწავლაა. მუტაციურ გენებს უკავშირებენ სპეციფიურ ცვლილებებს ეპილეფსიის პათოგენეზში ჩართულ რიგ რეცეპტორებში (Stafstrom 2006; Anderson 2010; Kang 2010; Hill et al. 2011). შესაბამისად, კრუნჩხვების საწინააღმდეგო უახლესი საშუალებების დიდი ნაწილი მიმართულია „ეპილეფსიური ნეირონის“ ფიზიოლოგიური აქტივობის უშუალო რეგულაციაზე, სინაფსური გადაცემის, იონური არხების ან ნეიროტრანსმიტერების მოდულაციის გზით (Christensen et al. 2010; Rogawski and Taylor 2006). ამასთანავე, უკანასკნელ დროს სულ უფრო მეტი ყურადღება ეთმობა „ეპილეფსიური ნეირონის“ აღნაგობის სტაბილიზაციას (Wong 2005, 2012; Jeffrey 2010). მართლაც, ადამიანის პათოლოგიურ მასალაზე და ეპილეფსიის მრავალრიცხოვან ექსპერიმენტულ მოდელებზე აღწერილია თავის ტვინის „ეპილეფსიური უბნების“ რიგი სტრუქტურული დარღვევები. ამასთანავე, ჯერ კიდევ შედარებით ადრეულ შრომებში გამოითქვა ვარაუდი, რომ ასეთი დარღვევები მონაწილეობას იღებენ ნეირონულ დისფუნქციებში, ეპილეპტოგენეზში და ეპილეფსიური პაციენტებისთვის დამახასიათებელი სხვადასხვა ნევროლოგიური დეფიციტების განვითარებაში (Rempe et al., 1997; Rothman and Samaie, 1985).

მართალია, ეპილეფსიის ერთ-ერთ მთავარ სტრუქტურულ მახასიათებლად თავის ტვინის ეპილეპტოგენურ ზონებში ნეირონების დაღუპვაა მიჩნეული, მაგრამ, მრავალრიცხოვანი ექსპერიმენტული და კლინიკური კვლევების საფუძველზე სულ უფრო ნათელი ხდება, რომ ასეთი ცვლილება ეპილეფსიის მხოლოდ ზოგიერთი ფორმის დროს ვითარდება (Elger et al. 2004; Zeng et al. 2008; Wong, Guo 2012). ამასთანავე, მრავალ პაციენტში, რომლებსაც უჯრედების დაღუპვა არ აღენიშნებოდათ, ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი კოგნიტური დეფიციტი და რიგი მენტალური დარღვევები მაინც მკვეთრად იყო გამოხატული. ამიტომ გამოითქვა მოსაზრება, რომ ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელ თავის ტვინის დაზიანებაში, უჯრედების დაღუპვის გამომწვევი

მექანიზმების გარდა, მონაწილეობას იღებენ სხვა მექანიზმებიც, რომლებიც თავის ტვინის აღნაგობის გაცილებით ნატიფ ცვლილებებს უნდა იწვევდნენ. ასეთი ნატიფი ცვლილებების როლი ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი რიგი კოგნიტური, გონებრივი და სხვა ტიპის ცვლილებების განვითარებაში მნიშვნელოვანი უნდა იყოს (Wong 2005, 2008, Wong, Guo 2012; Zeng et al. 2007; Grohn et al. 2011). ამგვარად, გამოითქვა აზრი, რომ ეპილეფსიის მკურნალობისთვის ელექტროფიზიოლოგიური კრუნჩხვების მოხსნა და ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი მოლეკულური ცვლილებების პრევენცია საკმარისი არ არის: აუცილებელია ასევე იმის გარკვევა, თუ რა ეფექტს ახდენს ესა თუ ის სამკურნალო ნივთიერება „ეპილეფსიური ნეირონის“ შეცვლილ აღნაგობაზე ან მის დაღუპვაზე (Pitkanen, 1996; Pitkanen et al, 1996; Wong 2005). ამგვარად, ისეთი თერაპიული საშუალებების შემუშავება, რომლებიც იმოქმედებენ „ეპილეფსიური ნეირონის“ შეცვლილ აღნაგობაზე მისი სტაბილიზაციის ან აღმოფხვრის მიზნით, ეპილეფსიის მკურნალობის ერთ-ერთ უახლოეს თერაპიულ მიდგომას უნდა წარმოადგენდეს (Wong 2005). საკითხის ასეთი დაყენება კი, აუცილებლად მოითხოვს „ეპილეფსიური ნეირონის“ აღნაგობის დაწვრილებით შესწავლას.

უკანასკნელ დეკადაში „ეპილეფსიური ნეირონის“ სტრუქტურის კვლევა განსაკუთრებით მაღალინფორმატული ტექნიკური ხელსაწყოების საშუალებით ხდება, მათ შორის, ორ-ფოტონიანი, კონფოკალური, ატომურ-ძალოვანი და ელექტრონული მიკროსკოპიის სხვადასხვა მიდგომების გამოყენებით. კერძოდ, ორ-ფოტონიანი, კონფოკალური და ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპების გამოყენებით, შესაძლებელია ცოცხალ ნეირონზე დაკვირვება ეპილეფსიის გამომწვევი ნივთიერების ზემოქმედებამდე, ზემოქმედების დროს და ზემოქმედებიდან გარკვეული დროის გავლის შემდეგ. სამივე შემთხვევაში შესაძლებელია „ეპილეფსიური ნეირონის“ აღნაგობის უნატიფესი დეტალების გამოვლენა. რაც შეეხება ელექტრონულ მიკროსკოპს, მისი საშუალებით შესაძლებელია „ეპილეფსიური ნეირონის“ ცალკეული დანაყოფების და ქვედანაყოფების ნანომეტრის დონეზე აღწერა.

იმ ნატივ ცვლილებებს შორის, რომლებიც ეპილეფსიური ნივთიერებების გავლენით, თავის ტვინის ეპილეპტოგენური ზონების ნეირონებში ვითარდებიან, განსაკუთრებული მნიშვნელობა დენდრიტული ხორკლების ცვლილებებს ენიჭებათ. უკვე აღინიშნა (თავი „შესავალი“), რომ ხორკლების შესაძლო ცვლილებებმა წამყვანი როლი უნდა შეასრულონ ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი კოგნიტური დეფიციტის განვითარებაში. ამასთან დაკავშირებული რიგი საკითხები განხილულია შემდეგ თავში.

2.2. ხორკლების სტრუქტურა და ფუნქცია. ზოგადი დახასიათება

ხორკლები – ძუძუმწოვრების ცენტრალური ნერვული სისტემის რიგი ნეირონების, პირველ რიგში, ახალი ქერქის და ჰიპოკამპის ძირითადი (პირამიდული) უჯრედების დენდრიტებზე არსებული სუბმიკრონული სპეციფიური გამონაზრდები – ამაგზნებელი გლუტამატერგული შესასვლელების მთავარ სამიზნეს წარმოადგენენ (Wong 2005; Sugiura et al. 2009).

მართალია, დენდრიტული ხორკლები პირველად ჯერ კიდევ მე-19 საუკუნეში აღწერეს (Ramon y Cahal, 1888), მაგრამ მათი ტიპების, ფუნქციის და რეგულაციური მექანიზმების გაშუქება მხოლოდ უკანასკნელ წლებში გახდა შესაძლებელი.

ლიტერატურაში აღწერილია სხვადასხვა აღნაგობის დენდრიტული ხორკლები: ვიწრო გრძელი ფილოპოდიებიდან დაწყებული, მოკლე, განიერი სოკოსმაგვარი გამონაზრდებით დამთავრებული. ფიქსირებული ქსოვილის კონვენციური ელექტრონული მიკროსკოპით ან გოლჯის ვერცხლის იმპრეგნაციის მეთოდის გამოყენებისას, ხორკლები ვლინდებიან როგორც სტაბილური, ფიქსირებული მიკროანატომიური სტრუქტურები. ამასთანავე, გამოსახულების მიღების უახლესი საშუალებებით, მაგალითად, ორ-ფოტონიანი მიკროსკოპით, აღწერილი იქნა მათი პლასტიკური ბუნება – ხორკლების ძვრადობის სხვადასხვა ხარისხი (Dunaevsky et al. 1999; Tashiro and Yuste 2004; Lippman et al. 2010).

ხორკლების ფუნქციის შესწავლა ინტენსიურად მიმდინარეობს. მათი საშუალებით ხდება ცალკეული სინაფსური შესასვლელებიდან ელექტრული სიგნალების გადატანა უჯრედის დენდრიტზე და საბოლოოდ, პერიკარიონაზე. მათ ასევე განიხილავენ, როგორც უმნიშვნელოვანეს ბიოქიმიურ კომპარტამენტებს, რეცეპტორების, მეორადი მესენჯერების და სხვა სასიგნალო მოლეკულების რეგულაციისთვის (McKinee et al. 2005; Yuste et al. 2000; Matsizaki et al. 2001; Tsay and Yuste 2004). ცნობილია მათი მნიშვნელოვანი გავლენა კალციუმის ლოკალურ კონცენტრაციასა და კინეტიკაზე (Gamble and Koch 1987; Koch and Zador 1993; Yuste et al. 2000; Majewska et al. 2000a,b; Noguchi et al. 2005). ასეთ და სხვა მრავალრიცხოვან კვლევებზე დაყრდნობით, ვარაუდობენ, რომ ხორკლები წამყვან როლს ასრულებენ სინაფსურ პლასტიურობაში, დასწავლასა და მეხსიერების მექანიზმებში.

ერთ-ერთი ჰიპოთეზის თანახმად, დასწავლა იწვევს ახალი ხორკლების წარმოქმნას, ან უკვე არსებული ხორკლების მოდიფიცირებას. ხორკლების მოდიფიკაციები, განსაკუთრებით თუ ისინი ახალი სინაფსების ფორმირებასთან ასოცირდებიან, ვლინდება ორგანიზმის მთელი სიცოცხლის მანძილზე. ასეთ ცვლილებებს მეხსიერების შენახვას უკავშირებენ (ხორკლების, როგორც მეხსიერების ბიოლოგიური სუბსტრატის როლი ჯერ კიდევ რამონ-ი-კახალმა დაუშვა, 1888). მართალია, ამ ჰიპოთეზის უპირობო დამტკიცება არ მოხდა, მაგრამ სხვადასხვა მოდელურ სისტემებზე ხორკლების წამყვანი როლი სინაფსურ პლასტიურობასა და დასწავლის მექანიზმებში მართლაც დადასტურდა (Matsuzaki et al. 2001; Segal 2001; Bonhoeffer and Yuste 2002; Nimchinsky et al. 2002; Wong 2005, 2008).

2.2.1. დენდრიტული ხორკლების ფორმები: სტრუქტურა და ფუნქცია

ამ ქვეთავში განხილულია დენდრიტული ხორკლების (განსაკუთრებით, ჩვენი კვლევის ობიექტის - ჰიპოკამპის) ძირითადი ფორმების მთავარი მახასიათებლები.

კლასიკური დენდრიტული ხორკლი შედგება თავის ნაწილისგან და ვიწრო ყელისგან, რომლის საშუალებით ხორკლი დენდრიტულ ღეროს უკავშირდება. ამასთანავე, დენდრიტული ხორკლები (განსაკუთრებით, ჰიპოკამპის პირამიდული ნეირონის) მორფოლოგიური მრავალფეროვნებით ხასიათდებიან. ერთ-ერთი, ყველაზე გავრცელებული კალსიფიკაციის მიხედვით, ხორკლის თავის და ყელის ზომების შეფარდების საფუძველზე (von Bohlen und Halbach, 2009), გამოყოფილია ხორკლების სამი ძირითადი კატეგორია:

1. სოკოს ფორმის ხორკლები, გაფართოებული დაბოლოებით (თავი) (დიამეტრი - 0.6 მიკრონი ან მეტი) და ვიწრო ღეროთი (ყელი).
2. ვიწრო ხორკლები, შედარებით მცირე ზომის თავით და ვიწრო ყელით.
3. კუნძულის ფორმის ხორკლები, რომლებშიც თითქმის არ ვლინდება თავის და ყელის დაკავშირების ადგილი (თავის ნაწილის სიგანე და ყელის სიგრძე თითქმის თანაბარია).

ზოგიერთი ავტორი გამოყოფს კიდევ ერთ კატეგორიას: ფილოპოდიებს, რომლებსაც, აქსონური ფილოპოდიების ანალოგიურად, თმის ღეროს მსგავსი ფორმა (წაგრძელებული, წვრილი, გამოხატული „თავის“ გარეშე) გააჩნიათ (Harris et al., 1992; Skoff and Hamburger, 1974). ხშირ შემთხვევებში ფილოპოდიები აქსონებს უკავშირდებიან. აქსონის ტიპზე დამოკიდებულებით, ასეთი კავშირი ხანმოკლე, ან სტაბილურია (Lohmann and Bonhoeffer, 2008). ამგვარად, ფილოპოდიებს შესწევთ უნარი შეარჩიონ პოტენციური სინაფსური პარტნიორი (Lohmann and Bonhoeffer, 2008). ზრდასრული ორგანიზმის დენდრიტებზე, ძირითადად, ხორკლებია, ახალგაზრდა დენდრიტებზე კი - ფილოპოდიები (Dailey and Smith, 1996). მიუხედავად იმისა, რომ ფილოპოდიებს ხორკლების წინამორბედად განიხილავენ (Ziv and Smith, 1996; Fiala et al., 1998; Harris, 1999), ყველა ხორკლის წარმოქმნა ფილოპოდიების ტრანსფორმაციას არ უკავშირდება (Engert and Bonhoeffer, 1999; Marrs et al., 2001). ხორკლების ფორმირება რეგულირდება, როგორც გარე (აფერენტები), ასევე შიდა ფაქტორებით (გენეტიკური

პროგრამა). ვარაუდობენ, რომ ასეთი რეგულაციები უჯრედსპეციფიკურია (Yuste and Bonhoeffer, 2004).

ჰიპოკამპში ხორკლების ყველა ზევით ჩამოთვლილი ფორმა არსებობს. ამასთანავე, აღინიშნება კიდევ ერთი ტიპი - დატოტვილი ხორკლები: ერთ საერთო საწყისთან დაკავშირებული ორი ან რამდენიმე თავი. დაკბილულ ფასციასა და CA1 ველში ასეთი ფორმები ხორკლების საერთო რაოდენობის დაახლოებით 2%-ს შეადგენს (Harris et al., 1992; Fiala and Harris, 1999). თითოეული თავი „საკუთარ“ პრესინაფსურ აქსონს უკავშირდება, ზოგიერთს კი, პრესინაფსური პარტნიორი შეიძლება საერთოდ არ ჰქონდეს (Sorra et al., 1998).

ელექტრონული მიკროსკოპით, ხორკლებში, პრესინაფსური მემბრანის უშუალოდ ქვეშ იდენტიფიცირდება პოსტინაფსური მემბრანის ფუნქციურად უმნიშვნელოვანესი მცირე უბანი - პოსტინაფსური სიმკვრივე: სინაფსურ გადაცემაში უშუალოდ ჩართული, გლუტამატის იონოტროპული და მეტაბოტროპული რეცეპტორების, ციტოქრომების, ადაპტორული ცილების და მათთან დაკავშირებული სასიგნალო მოლეკულების შემცველი მატრიქსი (Nimchinsky et al., 2002). მატრიქსის შიგნით, ამაგზნებელი სინაფსური გადაცემა, ძირითადად, NMDA (N- მეთილ- D-ასპარტატი) და AMPA (α -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლ-პროპინის მეჟავა) რეცეპტორების საშუალებით ხდება. განვითარების პროცესში NMDA და AMPA რეცეპტორების თანაფარდობა იცვლება. პოსტნატალური განვითარების ადრეულ სტადიებზე ჰიპოკამპის სინაფსების დიდ ნაწილში, ძირითადად, მხოლოდ NMDA რეცეპტორებია. ასეთი ხორკლები განსაკუთრებით მოძრავია, რაც სინაფსების ფორმირებაში მათ აქტიურ როლზე მიუთითებს. შესაბამისი პრესინაფსური „პარტნიორის“ პოვნამდე, ისინი გარდამავალ ფორმებს წარმოადგენენ. სინაფსის ფორმირებასა და მომწიფებასთან ერთად (რაც, ნაწილობრივ, AMPA რეცეპტორების ჩასმით და, შესაძლებელია, სინაფსთან დაკავშირების ადგილას ადჰეზიური მოლეკულების ჩართვით ხდება), ისინი ნაკლებად ძვრადი ან სტაბილურებიც კი ხდებიან. ხორკლების განვითარების ამ ეტაპზე NMDA

რეცეპტორების რაოდენობა მცირდება. ამგვარად, მომწიფებული და სტაბილური სინაფსების უმრავლესობაში AMPA რეცეპტორები დომინირებენ (McKinney, 2010). ამ რეცეპტორებზე მოქმედებით, სინაფსურად გამონთავისუფლებული გლუტამატი ხორკლებზე ტროფიკულ ეფექტს ახდენს (იწვევს რა მინიატურულ ამაგზნებელ პოსტსინაფსურ დენებს), რაც საკმარისია ხორკლების შენარჩუნებისთვის. აღსანიშნავია, რომ NMDA რეცეპტორების აქტივაცია არ არის აუცილებელი ხორკლების და სინაფსების ფორმირებისთვის, მაგრამ საჭირო და საკმარისია ნერვული ქსელის მომწიფებისთვის და სინაფსური კონტაქტების რაოდენობის შემცირებისთვის (McKinney, 2010).

ხორკლების აღნაგობის უმნიშვნელოვანესი მახასიათებელია თავის ზომის კორელირება პოსტსინაფსური სიმკვრივის ზომასა და ფორმასთან: რაც უფრო მცირეა ხორკლის თავი, მით უფრო მცირე და მომგრვალეებულია პოსტსინაფსური სიმკვრივე. თავის მხრივ, ფართო თავის მქონე სოკოს ფორმის ხორკლებს შედარებით ფართო პოსტსინაფსური სიმკვრივე შეესაბამება (შეიცავს გლუტამატის რეცეპტორების, განსაკუთრებით კი, AMPA რეცეპტორების უფრო დიდ რაოდენობას). როგორც წესი, ის არაერთგვარონი და პერფორირებულია (von Bohlen und Halbach, 2009; McKinney, 2010). პოსტსინაფსური სიმკვრივის განსხვავებული ზომა და ფორმა შესაბამისი სინაფსების განსხვავებულ ფიზიოლოგიაში ვლინდება (Bourne and Harris, 2008).

ჰიპოკამპის CA1 ველში პირამიდული უჯრედების დისტალური სინაფსების უმრავლესობაში პოსტსინაფსური სიმკვრივე პერფორირებულია. აღსანიშნავია, რომ პოსტსინაფსური სიმკვრივის მატება და მისი პერფორაცია ვლინდება ხანგრძლივი პოტენციაციის ინდუქციისთანავე. ეს ფაქტი შეესაბამება შეხედულებას, რომლის თანახმად, პოსტსინაფსური სიმკვრივის პერფორაცია, აქტივაციაზე საპასუხოდ, სინაფსის გარდამავალი სტრუქტურული პერტურბაციაა (Bourne and Harris, 2008).

რიგი მონაცემების თანახმად, დიდი ზომის ხორკლები AMPA და NMDA რეცეპტორების მნიშვნელოვანი რაოდენობით, გლუტამატის მიმართ განსაკუთრებით მგრძნობიარენი არიან (Takumi et al., 1999a,b; Matsuzaki et al., 2001). თავის მხრივ, პატარა

ზომის ხორკლების „ჩუმი“ სინაფსები შეიცავენ მხოლოდ NMDA რეცეპტორებს. ხანგრძლივი პოტენციაციის შედეგად, ასეთი სინაფსები აქტივირდებიან, მეტწილად, პოსტსინაფსურ სიმკვრივეში AMPA რეცეპტორების ეგზოციტოზით ჩართვის გზით (Isaak et al., 1995; Petralia et al., 1999; Kopec et al., 2006). ამის საპირისპიროდ, ხანგრძლივი დეპრესიის დროს, ენდოციტოზის საშუალებით, ხდება AMPA რეცეპტორების აქტიური მოცილება (Man et al., 2000; Lee et al., 2002; Brown et al., 2005), რაც ხორკლის და შესაბამისი სინაფსის ზომის შემცირებასთან ასოცირდება.

გავრცელებული შეხედულების თანახმად, ხორკლების ზომა და ფორმა კორელაციაშია მათ უნართან განიცადონ სტრუქტურული ცვლილებები. კერძოდ, ფართოთავიანი ხორკლები სტაბილური და ნაკლებად პლასტიკურია; მათ ძირითადი წვლილი შეაქვთ „ძლიერი“ სინაფსური კავშირების ფორმირებაში. თავის მხრივ, პატარა „თავის“ მქონე ხორკლები არასტაბილურია, გააჩნიათ ძვრადობის მაღალი ხარისხი. ასეთი ხორკლები, ძირითადად, სუსტ, „ჩუმი“ სინაფსურ კავშირებთან ასოცირდებიან. ამიტომ ზოგიერთი ავტორი ფართოთავიან ფორმებს (სოკოს და კუნძულის ფორმის ხორკლები) „მეხსიერების ხორკლებს“, ხოლო მცირე ზომის ფორმებს (ფილოპოდოები და წვრილი ხორკლები) - „დასწავლის ხორკლებს“ უწოდებს (Kassai et al., 2003).

ჰიპოკამპის CA1 ველის ნეირონების ხორკლების საერთო რაოდენობის დაახლოებით ნახევარი გლუვი ენდოპლაზმური ბადის ცისტერნას შეიცავს (Spacek and Harris, 1997). მიჩნეულია, რომ ასეთი ცისტერნა კალციუმის იონების შენახვა-ტრანსპორტში მონაწილეობს (Nimchinsky et al., 2002). კალციუმის ნაკადს გარედან შიგნით აღნიშნული ცისტერნადან კალციუმის გამონთავისუფლება შეუძლია. ამრიგად, სტიმულირებადი ხორკლის თავში აღნიშნული იონის კონცენტრაცია იზრდება (Sabatini et al., 2001). თავის მხრივ, კალციუმის კონცენტრაციის ზრდა აადვილებს ციტოქრომჩხის აქტინის რემოდელირებას (Oertner and Matus, 2005). როგორც ხორკლებში გლუვი ენდოპლაზმური ბადის რამოდენიმე ელემენტია და ისინი შრეულ სტრუქტურას - ხორკლის აპარატს ჰქმნიან. ჰიპოკამპის CA1 ველში, სოკოს ფორმის ხორკლების 80%-მდე ასეთ აპარატს

შეიცავს. პოსტინაფურ სიმკვრივესთან ხორკლის აპარატის ცისტერნების რაოდენობა დადებითად კორელირებს (Spacek and Harris, 1997).

უკანასკნელ პერიოდში ნათელი გახდა, რომ ხორკლების ფორმირება, მორფოლოგია და სტაბილურობა/ძვრადობა აქტინის ფილამენტებით რეგულირდება (Matus, 2000; Zito et al., 2004). ხორკლის ყელში ძაფისებრი აქტინი (F-აქტინი) ორგანიზებულ კონებს ჰქმნის; მათი პოლიმერიზაცია-დეპოლიმერიზაციის ფაზების ცვლილებები ხორკლის თავის ფორმის ალტერაციებთან ასოცირდება (Star et al., 2002). კერძოდ, ხანგრძლივი პოტენციაციის ინდუქცია აქტინის ფილამენტების ხანმოკლე დეპოლიმერიზაციას იწვევს, ხოლო ხანგრძლივი პოტენციაციის შესანარჩუნებლად და ხორკლის ზომის ასევე ხანგრძლივი მატებისთვის საჭიროა F-აქტინის პოლიმერიზაცია (Bourne and Harris, 2008). თავის მხრივ, ხანგრძლივი დეპრესიის შედეგად, აქტინი დეპოლიმერიზდება, ამასთანავე, ხორკლი გრძელდება ან მისი თავი იკუმშება (Chen et al., 2004; Nagerl et al., 2004). აქტინის ციტოჩონჩხი მთელი რიგი აქტინ-დაკავშირებული ცილებით რეგულირდება (Ethel and Pasquale, 2005; Tada and Sheng, 2006).

2.2.2. სხვადასხვა ფორმის ხორკლების პლასტიკურობა

ხორკლების პლასტიკურობის შესწავლისას, არსებითი როლი ხორკლის ფორმას, კერძოდ კი სიგრძესა და ყელის სიგანეს ენიჭება. მიჩნეულია, რომ გრძელი და ვიწრო ყელის მქონე წვრილ ხორკლებში მოლეკულების დიფუზია შედარებით შენელებულია, ვინაიდან თავის ნაწილი მშობლიური დენდრიტისგან შედარებით იზოლირებულია (Kato et al., 2004; Biesset et al., 2007). გრძელი ყელის მცირე გამტარობა მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ასეთი ხორკლების პლასტიკურობაში. კერძოდ, NMDA რეცეპტორების აქტივაციის შემთხვევაში, Ca^{2+} -ის დენდრიტის ღეროს მიმართულებით დიფუზია მცირდება, შედეგად კი, ხორკლის თავში ამ იონის კონცენტრაცია იზრდება (Noguchi et al., 2005). ეს ყოველივე ზრდის აღნიშნულ ხორკლებში პოტენციაციის ალბათობას. მეორეს მხრივ, ხორკლის თავიდან დენდრიტში Ca^{2+} -ის დიფუზიის სიჩქარეზე (ე.ი.

ყელის სიგრძეზე) დამოკიდებულია აქტივობით გამოწვეული, GluA1 შემცველი AMPA რეცეპტორების პოსტსინაფსურ სიმკვრივეში ჩასმის სიჩქარე (Korkotian and Segal, 2007). მოკლე ხორკლებში GluA1-ის დაგროვება ასოცირდება უჯრედშიდა Ca^{2+} -ის ლოკალურ ზრდასთან ხორკლის თავის ნაწილში, ხოლო გრძელ ხორკლებში (>1.5 მკმ) - ყელის ძირში. შესაბამისად, სტიმულაციაზე საპასუხოდ, სოკოს ფორმის ხორკლები უფრო ადვილად იერთებენ AMPA რეცეპტორების GluA1 სუბერთეულებს, ვიდრე ამას სხვა ტიპის ხორკლები ახდენენ (Matsuo et al., 2008). გარდა ამისა, ხანგრძლივი პოტენციალის შემთხვევაში, მოკლე ხორკლები, გრძელ ხორკლებთან შედარებით, უფრო მიდრეკილება GluA1 სუბერთეულების ექსპრესიისადმი, ვინაიდან მათი თავები დენდრიტულ ღეროსთან განსაკუთრებით ახლოს არიან (Korkotian and Segal, 2007). თავის მხრივ, გრძელყელიანი და გამოხატული თავის მქონე წვრილი ხორკლები, ფართო ხორკლებთან შედარებით, უკეთ „იკავებენ“ F-აქტინის „ნაკრებს“, ამიტომ უფრო ადვილად ინარჩუნებენ გაფართოებულ მდგომარეობას (Honkura et al., 2008).

ამგვარად, დენდრიტული ხორკლის მორფოლოგია მნიშვნელოვნად განაპირობებს სინაფსის უნარს განიცადოს პლასტიკური ცვლილებები. შესაბამისად, ხორკლების სხვადასხვა ტიპებს განსხვავებული პლასტიურობა უნდა ახასიათებდეთ.

რიგი მონაცემების თანახმად, ხორკლების სხვადასხვა ტიპებს შორის, განსაკუთრებით არაპლასტიური კუნძის ფორმის ხორკლებია. როგორც აღინიშნა, ხორკლის სიგრძე და თავის უბანი ის პარამეტრებია, რომლებიც მნიშვნელოვნად იცვლებიან სოკოს ფორმის და წვრილ ხორკლებში, და სტაბილურია კუნძის ფორმის ხორკლებში. თუმცა, არსებობს მოსაზრება, რომლის თანახმად, კუნძის ფორმის ხორკლები სოკოს ფორმის და წვრილი ხორკლების შეკუმშვის შედეგს (Parnass et al., 2000; Majewska and Sur, 2003) ან დენდრიტულ ღეროზე განლაგებულ სინაფსსა და თავის მქონე ხორკლს შორის გარდამავალ სტადიას წარმოადგენენ (Marss et al., 2001). პირველ შემთხვევაში, კუნძის ფორმის ხორკლი სტაბილური სტრუქტურაა, მეორე შემთხვევაში კი – დროებითი.

როგორც აღინიშნა, ვინაიდან კუნძის ფორმის ხორკლებს შევიწროებული ყელი არ გააჩნიათ, მათში არ ხდება ჰომოსინაფსური აქტივაციით გამოწვეული Ca^{2+} -ის დაგროვება: იონები სწრაფად დიფუნდირებენ ხორკლის თავის ნაწილიდან დენდრიტის ღეროში, რასაც შეიძლება მოჰყვეს ამ იონების პასიური გავრცელება მთავარი დენდრიტიდან მეზობელი ხორკლების თავებში. გარდა ამისა, კუნძის ფორმის ხორკლების სინაფსებში სწრაფად ხდება აქტივაციის შემდგომი AMPA რეცეპტორების ჩაშენება (Korkotian and Segal, 2007). ამგვარად, კუნძის ფორმის ხორკლები მომიჯნავე აქტივობის განსაკუთრებით კარგი სენსორებია.

ხორკლებში ყელის არსებობა/არარსებობაზეა დამოკიდებული სინაფსური პლასტიკურობის სხვა მახასიათებლებიც, მათ შორის - დიფუზიის სიჩქარე ხორკლიდან დენდრიტულ ღეროში და პირიქით (Noguchi et al., 2005), მემბრანასთან დაკავშირებული ცილების ლატერალური დიფუზია (Hugel et al., 2009) და სხვ. ამასთანავე, არსებობს არცთუ უსაფუძვლო ვარაუდი, რომლის თანახმად, სხვადასხვა ფორმის ხორკლები ერთ საერთო კონტინიუმს ქმნიან, ეს კი უნდა ართულებდეს ხორკლების ცალკეული ტიპების ერთმნიშვნელოვან გამოყოფას.

ამგვარად, ზევით მოყვანილი მონაცემების თანახმად, პლასტიკურობასთან მიმართებაში ხორკლების ყველა მორფოლოგიური ტიპი თანაბარი არ არის. მართალია, არსებობს გამოხატული კორელაცია ხორკლის თავის ზომასა და სინაფსის ძალას შორის, მაგრამ ხორკლის პლასტიკურობა მეტწილად ყელის არსებობაზეა დამოკიდებული. მაგალითად, როგორც აღინიშნა, კუნძის ფორმის ხორკლების ანატომია ხელს არ უწყობს შესაბამისი სინაფსების პოსტსინაფსურ უბანში Ca^{2+} -ის კონცენტრაციის ზრდას. ვინაიდან ასეთი იონების კონცენტრაციის მატება პლასტიკურობის აუცილებელი წინაპირობაა, კუნძის ფორმის ხორკლები ნაკლებად პლასტიკურები უნდა იყვნენ.

2.2.3. ხორკლების ძვრადობა და მისი რეგულაცია

დისოცირებული უჯრედების კულტურაში (Fischer et al., 1998) და პოსტნატალური ტვინის ცოცხალ ანათლებზე (Dunaevsky et al., 1999) ჰიპოკამპის უჯრედების ხორკლების და ფილოპოდიების ძვრადობის მაღალი ხარისხი გამოვლინდა. ამასთანავე, ძვრადობის ფორმები განსხვავებულია. ხორკლების უმრავლესობის ქცევა ე.წ. „მორფინგი“ ანუ ტრანსფორმაციაა - ხორკლის თავის არათანაბარი გადანაცვლება, ან „ქანაობა“. მისგან განსხვავებით, ფილოპოდიებს ხაზური გამოწევა და შეტაცება ახასიათებთ. მიუხედავად იმისა, რომ ხორკლების ძვრადობა ასაკთან ერთად მცირდება, ხორკლების დიდი ნაწილი ტრანსფორმაციის უნარს გვიან პოსტნატალურ პერიოდშიც ინარჩუნებს (P20 თაგვებიდან აღებული ანათლები) (Dunaevsky et al., 1999). ხორკლების ძვრადობის მაღალი ხარისხი ასევე აღინიშნება რამდენიმე კვირის ასაკის ჰიპოკამპურ უჯრედულ კულტურასა (Fischer et al., 1998) და ორგანოტიპულ ანათლებშიც (Fischer et al., 2000). ძვრადობის ორივე ტიპის არსებობა დადასტურდა ინტაქტური ახალგაზრდა ცხოველების ტვინშიც (Lendvai et al., 2000). ამასთანავე, ზრდასრულ ტვინში ხორკლის ფორმის ცვლილებები რეგისტრირებული არ არის.

ხორკლის დინამიკური ქცევის კიდევ ერთი მაგალითი ახალი ხორკლების ფორმირებაა. ახალი ფილოპოდიების და ხორკლების ფორმირება როგორც სპონტანურად, ასევე ექსპერიმენტის პირობებში - აქტივაციის სტიმულირების შედეგად ხდება (Dunaevsky and Mason, 2003). ხორკლები ვითარდებიან დენდრიტული ფილოპოდიებისგან, ან ჩნდებიან *de novo*, უშუალოდ დენდრიტული ღეროდან. მართალია, ხორკლების ფორმირება დინამიკური პროცესია, მაგრამ მისი კავშირი ხორკლების ძვრადობის დანარჩენ ფორმებთან არ არის ნათელი. მაგალითად, სენსორული დეპრივაციის შედეგად, აღინიშნა ფილოპოდიების და ხორკლების ძვრადობის შემცირება, ამასთანავე, მათი რაოდენობა და მორფოლოგია არ შეიცვალა. ასეთი ტიპის მონაცემები მიუთითებენ, რომ ხორკლების ძვრადობა და მათი წარმოქმნა მკაცრად ურთიერთდაკავშირებული პროცესები არ უნდა იყოს (Lendvai et al., 2000).

შემდგომში, მრავალრიცხოვანი კვლევების საფუძველზე დადგინდა, რომ ხორკლების და ფილოპოდების ძვრადობა ის აქტიური მექანიზმია, რომლის მეშვეობით ხდება პრესინაფსური აქსონის მოძებნა და სინაფსური კავშირების დამყარების ინიციატია. ამგვარად, დენდრიტულ ხესა და „სწორ“ აქსონურ აფერენტებს შორის, კავშირების ჩამოყალიბება დიდწილად ხორკლების ძვრადობაზე უნდა იყოს დამოკიდებული.

ზევით უკვე აღინიშნა, რომ სინაფსის მატარებელი, შედარებით სტაბილური ხორკლი ინარჩუნებს მორფოლოგიურ დინამიკურობას. ამგვარად, სინაფსური კონტაქტი არ ზღუდავს ხორკლის ძვრადობას, ამასთანავე, შესაძლებელია, რომ ასეთი ძვრადობა გარკვეულ როლს ასრულებს სინაფსის ფორმირების შემდგომ ეტაპებზე. მაგალითად, ცნობილია, რომ ხორკლის მორფოლოგიის, მათ შორის, ძვრადობის და ზომების ცვლილებები კორელირებს ხორკლის შიგნით Ca^{2+} -ის დინამიკის ცვლილებებთან (Majewska et al., 2000). გარკვეულწილად, ძვრადობასთან უნდა ასოცირდებოდეს ხორკლში სასიგნალო მოლეკულებისა და რეცეპტორების გადაწყობაც (Halpain, 2000; Marrset et al., 2001; Matsuzaki et al., 2001; Malinow and Malenka, 2002). ამგვარად, პრესინაფსურ კონტაქტთან დაკავშირებული ხორკლის დინამიკა ფიზიოლოგიურად მნიშვნელოვანია. ამაზე მიუთითებს ისიც, რომ ხორკლების ძვრადობა ძლიერ ითრგუნება AMPA და NMDA რეცეპტორების აქტივაციის შედეგად (Fischer et al., 2000).

ხორკლების რაოდენობის, ფორმის და ძვრადობის რეგულაციაში მრავალი მოლეკულური „ოჯახი“ მონაწილეობს. მათ შორისაა რეცეპტორები, პლატფორმული და ციტოჩონჩხის მარეგულირებელი ცილები და სხვა.

რიგი მონაცემების თანახმად, ხორკლებზე არსებული გლუტამატის რეცეპტორების აქტივაცია აქტინის ფილამენტების სტაბილიზაციასთან და, შესაბამისად, ხორკლის ძვრადობის შემცირებასთან ასოცირდება. მაგალითად, ჰიპოკამპის კულტურაში AMPA-ს დამატება ხორკლებისა და აქტინის დინამიურობის შემცირებას იწვევს. ამასთანავე,

ძვრადობის AMPA-დამოკიდებული შემცირება ვლინდება მხოლოდ მემბრანის დეპოლარიზაციის შემთხვევაში და მისი ბლოკირება შესაძლებელია პოტენციალდამოკიდებული კალციუმის არხების შეკავებით (Fischer et al., 2000). ხორკლების სტაბილიზაციის გარდა, AMPA რეცეპტორები ხორკლების ზრდასა და შენარჩუნებაში უნდა მონაწილეობდნენ (McKinney et al., 1999; Passafaro et al., 2003). თავის მხრივ, გარკვეულ პირობებში NMDA რეცეპტორების აქტივაცია იწვევს ხორკლების სწრაფ შეზიდვას F-აქტინის დაშლის გამო (Halpain et al., 1998), სხვა პირობებში კი, პირიქით, ხორკლის ზომის ზრდა აღინიშნება (Lin et al., 2004). AMPA-ს აქტივაციის მსგავსად, NMDA აქტივაცია ხორკლების სტაბილიზაციას აქტინის ციტოჩონჩხში ცვლილებების გზით განაპირობებს (Ackermann and Matus, 2003). გლუტამატის რეცეპტორების ლოკალურ აქტივაციაზე საპასუხოდ, ხორკლების არაერთგვაროვანი ცვლილებები ჰიპოკამპის პირამიდულ ნეირონებშიც აღინიშნა. მაგალითად, ერთ-ერთ კვლევაში აღწერილია ხორკლის თავის მატება (Matsuzaki et al., 2004), მეორეში კი, პირიქით – ხორკლის ზომიერი შეკუმშვა და დამოკლება (Korkotian and Segal, 2001b). ამრიგად, ხორკლების პასუხი ნეირონულ აქტივობაზე განსხვავებულია, რასაც დიდწილად აქტივაციის ფორმას და/ან ხორკლის ზომას უკავშირებენ (უკანასკნელი წინა აქტივაციის ამსახველი შეიძლება იყოს) (Lippman and Dunaevsky, 2005). თავის მხრივ, პასუხებში განსხვავება სხვადასხვა მოლეკულების აქტივაციასთან უნდა ასოცირდებოდეს. მაგალითად, კალცინევრინის აქტივაცია იწვევს ხორკლების შეტყლევას (Halpain et al., 1998), ხოლო მათი ზომაში ზრდა (რაც, სავარაუდოდ, პოსტსინაფსურ მემბრანაში AMPA რეცეპტორების დიდი რაოდენობით ჩასმის შედეგია) კალციუმ/კალმოდულინ-დამოკიდებული პროტეინკინაზა II-ს (CAMKII) საჭიროებს (Jourdain et al., 2003; Matsuzaki et al., 2004; Lin et al., 2004). ასეთი მოდელი ხანგრძლივი დეპრესიის და ხანგრძლივი პოტენციაციის რეგულაციის მსგავსია და, სავარაუდოდ, აღნიშნული პროცესის ბოლო საფეხურს წარმოადგენს. ამას ადასტურებს ის ფაქტი, რომ აქტინის დინამიკის ბლოკირება ხანგრძლივი პოტენციაციის დათრგუნვასთან ასოცირდება (Krucker et al., 2000).

პოსტსინაფსურ სიმკვრივეში CAMKII მრავლადაა წარმოდგენილი. ის ჩართულია სინაფსური ეფექტურობის კონტროლში და სინაფსური ძალისა და ხორკლის ზომის რეგულაციაში. მაგალითად, ნაჩვენებია, რომ CAMKII –ის აქტივობის ბლოკადა ხელს უშლის სინაფსურ გაძლიერებას, ფილოპოდების ზრდას და ახალი ხორკლების წარმოქმნას (Jourdain et al., 2003). ვინაიდან CAMKII F-აქტინთანაა დაკავშირებული (Ohta et al., 1986; Shen and Meyer, 1999), კარაუდობენ, რომ აღნიშნული მოლეკულა, სიგნალის ტრანსდუქციის გარდა, სინაფსის სტრუქტურულ ელემენტსაც წარმოადგენს. შესაბამისად, CAMKII-ის უარყოფითი რეგულაცია იწვევს ხორკლის მოცულობის შემცირებას, გაშუალებულს F-აქტინის დინამიკით (Okamoto et al., 2007). ამგვარად, ნეირონულ პლასტიკურობაში CAMKII გადამწყვეტ როლს უნდა ასრულებდეს.

რიგი მონაცემების თანახმად, NMDA რეცეპტორის აქტივაციის შედეგად, აქტინის გადანაწილებაზე ზოგიერთი მოლეკულა მოქმედებს, მათ შორისაა პროფილინი (Ackermann and Matus, 2003) და კორტაქტინი (Hering and Sheng, 2003). ჰიპოკამპის კულტურაში, NMDA რეცეპტორის აქტივაციის შემთხვევებში, ეს მოლეკულები გადაინაცვლებენ ხორკლის თავის ნაწილში. პროფილინი თრგუნავს აქტინის დინამიკას, რასაც ხორკლის სტაბილიზაცია მოყვება. თავის მხრივ, კორტაქტინის მოლეკულების დაშლა (მაკოდირებელ რნმ-ზე ზემოქმედებით) იწვევს ხორკლების განლაგების სიმკვრივის (მათი რაოდენობის) შემცირებას, მათი მოჭარბებული ექსპრესია კი – ხორკლების დაგრძელებას. აქტინის საიტის გარდა, კორტაქტინში ასევე Shank პლატფორმული ცილის შემადგენელი საიტია. Shank პლატფორმული ცილა პოსტსინაფსურ სიმკვრივეში ვლინდება და NMDA რეცეპტორს უკავშირდება. შედეგად იქმნება ფიზიკური კავშირი NMDA რეცეპტორსა და აქტინს შორის – კავშირი, რომელიც ხორკლის მორფოლოგიას აკონტროლებს (Naisbitt et al., 1999). Shank-ის აქტივობის შეკავება შესაძლებელია ენდოგენურად, პოსტსინაფსური ცილა Homer 1a-ს მეშვეობით, რომელიც ხორკლის ზრდის და სინაფსური გადაცემის უარყოფით რეგულაციას ახდენს (Sala et al., 2003).

ხორკლების ძვრადობისა და მორფოგენეზის რეგულაციაში მონაწილეობენ, აგრეთვე, მცირე გტფ-აზები: Ras, Rho და Rap ოჯახების უჯრედული სასიგნალო ცილები. მაგალითად: Rap-ის გაძლიერებული აქტივაცია იწვევს ხორკლების თავების გადიდებას და ხორკლების ფორმის არანორმალურ ცვლილებებს (Pak et al., 2001), RhoA-ის შეკავება – ხორკლების სიმჭიდროვის ზრდას (Tashiro et al., 2000), Rac1-ის შეკავება კი – პირიქით, სიმჭიდროვის შემცირებას (Tashiro and Yuste, 2004; Nakayama et al., 2000). RhoA-ის ეფექტორის Rho კინაზას ბლოკადა განაპირობებს ხორკლების დაგრძელებას და ზრდის მათ ძვრადობას, მაგრამ არ ახდენს გავლენას ხორკლის თავის ფორმაზე (Tashiro and Yuste, 2004). Rho-ს ოჯახის კიდევ ერთი წარმომადგენლის, Rnd1-ის მოჭარბებული ექსპრესია ხორკლის ყელის დაგრძელებასთან ასოცირდება (Ishikawa et al., 2003). ამასთანავე, მისი სპეციფიკური დათრგუნვისას, მცირდება ხორკლების სიმჭიდროვე და სიგანე, და იზრდება უთავო ხორკლების რაოდენობა (Ishikawa et al., 2003).

ხორკლების სტაბილურობაზე გავლენას ახდენენ ასევე ადჰეზიური მოლეკულები. ასეთია, მაგალითად, კადჰერინ-ასოცირებული ცილა α N-კატენინი, რომლის მუტაციები ხორკლის მორფოლოგიის ცვლილებებთან ასოცირდებიან, თუმცა ასეთ ხორკლებს ჯერ კიდევ შეუძლიათ სიცოცხლისუნარიანი სინაფსების ფორმირება (Togashi et al., 2002). დროის გარკვეულ მონაკვეთში მწვავე ანათლების გამოსახულების (*Time-lapse imaging*) მიღებით და ამ გამოსახულების ანალიზით (კონფოკალური მიკროსკოპიის საშუალებით), α N-კატენინის არმქონე თავგების ჰიპოკამპის კულტურაში ხორკლების ძვრადობის მატება გამოვლინდა (Abe et al., 2004). ამის საპირისპიროდ, აღნიშნული მოლეკულის ჭარბი ექსპრესია იწვევდა ხორკლების განახლების შემცირებას, რაც ჰიპოკამპის ნორმალური განვითარების დროს, ხორკლების ფიზიოლოგიურ მომწიფებას შეესაბამება (Dailey and Smith, 1996). ასეთი მონაცემების თანახმად, α N-კატენინი შემაკავებლად მოქმედებს ხორკლების პლასტიურობაზე და ხელს უწყობს მათ მომწიფებას.

ხორკლების ფორმირებასა და მორფოგენეზში ჩართული მოლეკულების კიდევ ერთი კლასი სასქესო სტეროიდებია. თავგებში, რომლებსაც ამოკვეთილი ჰქონდათ საკვერცხეები, ჰიპოკამპის CA1 ველში აღწერილი იქნა ხორკლების განლაგების შემცირებული სიმკვრივე (Gould et al., 1990). ასეთ ცვლილებას NMDA რეცეპტორებთან კავშირში მყოფ ესტრადიოლს უკავშირებენ (Gould et al., 1990; Woolley and McEwen, 1994). ლის და კოლეგების მონაცემების თანახმად, საკვერცხეამოკვეთილი თავგების ესტრადიოლით *in vivo* დამუშავების შედეგად, ჰიპოკამპში სოკოს ფორმის ხორკლების რაოდენობა იზრდება. ეს შეიძლება მოხდეს დენდრიტებზე ხორკლების განლაგების სიმკვრივის ცვლილებების გარეშე (Li et al., 2004).

ხორკლების დინამიკის კიდევ ერთი მარეგულირებელი ელემენტი გლიური უჯრედებია. ელექტრონული მიკროსკოპიით გამოვლინდა მჭიდრო ფიზიკური კავშირი ასტროციტებსა და სინაფსებს შორის (Peters et al., 1976). ვინაიდან ცნობილია, რომ ხორკლის სტაბილიზაციისთვის მხოლოდ სინაფსური კონტაქტი არ არის საკმარისი (Fischer et al., 1998; Dunaevsky et al., 2001), გამოითქვა მოსაზრება, რომ ზრდასრულ ასაკში ხორკლების ძვრადობის შემცირება მეტწილად დამოკიდებულია გლიურ ფაქტორზე. ორ-ფოტონიანი და ელექტრონული მიკროსკოპების კომბინირებით, ნათხემის ცოცხალ ანათლებზე, დუნაევსკის და კოლეგების მიერ ნაჩვენები იყო, რომ ხორკლები, რომლებსაც ძვრადობის მაღალი ხარისხი ახასიათებთ, როგორც წესი, გარშემოტყმული არიან გლიის შემცველი უჯრედგარეთა სივრცით (ასეთი თავისებურება დაბალი ძვრადობის ხორკლებში არ ვლინდება) (Dunaevsky et al., 2001).

გლიური უჯრედების სასიგნალო მოლეკულების ერთ-ერთი ჯგუფი, რომელიც სავარაუდოდ ხორკლების მორფოგენეზში მონაწილეობს, Eph- (ეფრინ) რეცეპტორები (თიროზინ კინაზები) და მათი ლიგანდები ეფრინებია. ჰიპოკამპში ნეირონული მემბრანის ეფრინ A4-სა და გლიური მემბრანის ეფრინ-A3-ს შორის ურთიერთკავშირის ბლოკირება ხორკლების სრულ დეზორგანიზაციასთან - მათი გადანაწილების და სიგრძის მკვეთრ არევასთან ასოცირდება (Murai et al., 2003; Nishida and Okabe, 2007).

ამასთანავე, ეფრინ A4-ის აქტივაცია იწვევს ხორკლების რეტრაქციას (Murai et al., 2003). ეს მონაცემები მიუთითებენ ასტროციტების მნიშვნელოვან როლზე ხორკლების ფორმირებასა და შენარჩუნებაში. ამ იდეას კიდევ უფრო ამყარებს ხორკლების სიმჭიდროვისა და გლიის მორფოლოგიის კორელაციური კვლევები. ხორკლების სიმჭიდროვის შემცირება ადამიანის ისეთი დაავადებების დამახასიათებელი სიმპტომია, რომლებსაც თან ახლავს გლიური უჯრედების ჰიპერტროფია. თავის მხრივ, ზოგიერთი მკურნალობა, რომელიც იწვევს ხორკლების რაოდენობის ზრდას, ასტროციტული გამონაზარდების რეტრაქციასთან ასოცირდება (Woolley and McEwen, 1994; Klintsova et al., 1995; Thomson, 2003).

ცნობილია თავის ტვინის სხვადასხვა უბნების ასტროგლიის რეაქცია ჰორმონალურ ცვლილებებზე. აღმოჩნდა ასევე, რომ გლიური უჯრედები, ჰორმონული მექანიზმების საშუალებით, ხორკლების რეგულაციას ახდენენ (Zimmermann, 1982; Mong et al., 1999). მაგალითად, ჰიპოთალამუსის ერთ-ერთ უბანში ჰორმონულად გამოწვეული ასტროციტების მორფოლოგიური კომპლექსურობა ხორკლების რაოდენობის შემცირებასთან ასოცირდება. სხვა შრომაში კი პირიქით, ჰიპოთალამუსის ნეირონებზე ესტრადიოლის ან პროსტაგლანდინ-E2-ს მოქმედებისას, ხორკლების რაოდენობის ზრდა გამოვლინდა. პროსტაგლანდინ-E2 ასევე იწვევს ლოკალური ასტროციტებიდან გლუტამატის გამოყოფას (Nicol et al., 1992). შემდეგ კვლევაში აღწერილია AMPA/კაინატის რეცეპტორების აქტივაციით გამოწვეული ხორკლების ინდუქცია (McKinney et al., 1999). შესაბამისად, ვარაუდობენ, რომ პროსტაგლანდინ-E2-ის საპასუხოდ, გლიური უჯრედების მიერ გამოყოფილი გლუტამატი ააქტიურებს დენდრიტულ AMPA/კაინატის რეცეპტორებს და ხორკლების ინდუქციას იწვევს (Amateau and McCarthy, 2002).

2.3. ხორკლები და დასწავლა

ხორკლების პოტენციური როლი დასწავლასა და მეხსიერებაში, ძირითადად, ცხოველურ მოდელებზეა შესწავლილი. კერძოდ, სხვადასხვა პირობითი პარადიგმების კვლევისას, ფიქსირებულ ქსოვილზე, კონვენციური ჰისტოლოგიური მეთოდების გამოყენებით, ნაჩვენები იქნა, რომ დასწავლის პარალელურად, თავის ტვინის კრიტიკულ უბნებში იზრდება როგორც დენდრიტული ხორკლების რიცხვი, ასევე შესაბამისი სინაფსების რაოდენობაც. მაგალითად, საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით, წყლის ავზში სივრცითი დასწავლის ტესტის შესრულების შემდეგ, ვირთაგვას ჰიპოკამპის CA1 ველში ზომიერად, მაგრამ სარწმუნოდ, იზრდება დენდრიტებზე ხორკლების განლაგების სიმკვრივე (Moser et al. 1994). ასევე: მომღერალ ჩიტებში „სიმღერების“ ფართო რეპერტუარის დასწავლის შედეგად, დასწავლაში ჩართულ თავის ტვინის ბირთვებში 35%-ით იზრდება ხორკლების განლაგების სიმკვრივე (Airay et al. 2000). ანალოგიურად, ცხოველების სხვადასხვა მოდელებზე განრიდების და ყნოსვის ქცევის, ასევე დასწავლის სხვა პარადიგმების კვლევისას, აღწერილია დენდრიტული ხორკლების სიმკვრივის სარწმუნო ზრდა (Patel, Stewart 1988; Geinsman et al. 2000; Knfao et al. 2005).

მაგრამ, მიუხედავად იმისა, რომ სულ უფრო იზრდება იმ შრომების რიცხვი, სადაც დასწავლასა და ახალი ხორკლების და სინაფსების წარმოქმნას შორის პირდაპირი კავშირია ნაჩვენები, მონაცემები დასწავლასთან დაკავშირებული ხორკლების “up-regulation”-ის უნივერსალობის და პერსისტენტობის შესახებ, ურთიერთსაწინააღმდეგოა. პირველ რიგში, აღსანიშნავია, რომ დასწავლის დროს, ხორკლების რაოდენობრივი ცვლილებები ყოველთვის არ ვლინდება (Van Harreveld and Fifkova 1975; Hayashi and Majewska 2005; Knfao et al. 2005), ზოგიერთ შემთხვევებში კი, ასეთი ცვლილებები გარდამავალია (Popov et al. 1992; O'Malley et al. 1998). ამგვარად, მართალია ახალი ხორკლების წარმოქმნა შესაძლებელია განხილული იქნეს, როგორც სინაფსურ ეფექტურობაში მიმდინარე ხანმოკლე ცვლილებების სტრუქტურულ მოდიფიკაციებში

კონვერტირების უმნიშვნელოვანესი სუბსტრატი, დენდრიტული ხორკლების რიცხვის თუნდაც ხანგრძლივი მატება მეხსიერების უნივერსალური მექანიზმის მხოლოდ ფრიად გამარტივებულ მოდელს უნდა წარმოადგენდეს. გასათვალისწინებელია ასევე, რომ ნორმალურ ორგანიზმში დენდრიტული ხორკლების სიმკვრივე რეგულირდება რიგი სხვა ფიზიოლოგიური სტიმულებით, როგორცაა სენსორული შესასვლელები, ჰიბერნაციასთან დაკავშირებული ჰიპოთერმია, სტრესით და ესტრალური ციკლით გამოწვეული ჰორმონული ფლუქტუაციები და სხვ. (Parnavelas et al. 1973; Roeladse and Matus 2004; Shors et al. 2001; Woolley and McEwen 1993). ამგვარად, დასწავლის დროს განვითარებული დენდრიტული ხორკლების ცვლილებები სპეციფიური არ არის. მეორე მხრივ, დენდრიტული ხორკლების აბსოლუტური რაოდენობის და განლაგების სიმკვრივის ცვლილებების გარდა, დასწავლა ასევე ასოცირდება ხორკლების გაცილებით ნატიფ ძვრებთან, როგორცაა ცალკეული ხორკლების მორფოლოგიური ალტერაციები – მაგალითად, ხორკლების „თავის“ გაფართოება (Van Harrevel and Fifkova 1975; Fifkova and Anderson 1981), ან პირიქით – ხორკლების „დამოკლება“ (Grutzendler et al. 2002; Trachtenberg et al. 2002; Holtmaat et al. 2005) და ძვრადობის ცვლილებები (Dunaevsky et al. 1999; Lendvai et al. 2000; Holtmaat et al. 2005). მართალია, ასეთი სტრუქტურული ალტერაციების ფუნქციური მნიშვნელობა ყოველ კონკრეტულ შემთხვევაში ბოლომდე გარკვეული არ არის, მაგრამ უეჭვოა, რომ ხორკლების მორფოლოგიის ცვლილებებმა გავლენა უნდა მოახდინონ სინაფსური შესასვლელების სიგნალების ელექტრული და ბიოქიმიური მახასიათებლების ტრანსდუქციაზე (Hayashi and Majewska 2005; Segal 2005), და შედეგად, სინაფსური პლასტიკურობის და დასწავლის მექანიზმებზე.

2.4. დენდრიტული ხორკლები და ხანგრძლივი პოტენციალი

ქცევითი პარადიგმების გარდა, დასწავლასა და მეხსიერებაში დენდრიტული ხორკლების შესწავლა სინაფსური პლასტიკურობის უჯრედულ მოდელებზეც მიმდინარეობს. მაგალითად, ხორკლების ალტერაციები აღწერილია ხანგრძლივი პოტენციალის დროს. ამ შემთხვევაშიც, ისევე, როგორც დასწავლის ქცევითი

პარადიგმების კვლევისას, კონვენციური ჰისტოლოგიური მეთოდებით აღწერილია ჰიპოკამპის ხორკლების რაოდენობრივი და სტრუქტურული ცვლილებები – ძირითადად, ხორკლების ზომის მატება (Segal, 2005), ან ხორკლების რაოდენობრივი ლატერაციები მორფოლოგიური ცვლილებების გარეშე (Malatic-Savatic et al. 1999; Engert and Bonhoeffer 1999; Matsuzaki et al. 2004; Lang et al. 2004).

ვინაიდან დასწავლის ქცევითი პარადიგმების და ხანგრძლივი პოტენციაციის პირობებში, ხორკლების ცვლილებები მრავალფეროვანია, ძნელია ერთი, უნიფიცირებული მოდელის შედგენა, რომლითაც შესაძლებელი იქნება დენდრიტულ ხორკლებსა და დასწავლას შორის არსებული კორელაციის ახსნა. ამას ასევე ართულებს ის გარემოებაც, რომ აღნიშნული შრომები, ძირითადად, შესრულებულია ფიქსირებულ მასალაზე, კონვენციური ჰისტოლოგიური მეთოდების გამოყენებით; ამ შემთხვევებში კი, ხშირად რთულია ხელოვნური, არაპირდაპირი, დამატებითი ეფექტების გამოვლენა. გარდა ამისა, შედეგები ხშირად მიღებულია სხვადასხვა სახეობის, სქესის და/ან ასაკის, და შესაბამისად, განსხვავებული ჰორმონული სტატუსის მქონე ცხოველებზე, რაც ხელს უშლის მონაცემების შედარებას და საერთო სურათის შექმნას. აღსანიშნავია ასევე, რომ ფიქსირებული ქსოვილის მომზადება და კვლევა ხშირად მოითხოვს საკმაოდ ხანგრძლივ დროს: რამოდენიმე საათიდან რამოდენიმე დღის ჩათვლით, რაც თავისთავად არ უწყობს ხელს სწორი დასკვნის გამოტანას.

უკანასკნელ წლებში უჯრედის გამოსახულების მიღების რიგი მაღალინფორმატული ტექნოლოგიების – მაგალითად, მრავალფოტონიანი, კონფოკალური და ატომურ-ძალოვანი მიკროსკოპიის, ასევე უჯრედის ფლუორესცენტული მოლეკულური მარკერებით მონიშვნის გამოყენებით, შესაძლებელი გახდა ცოცხალი ინდივიდუალური ნეირონის დენდრიტულ ხორკლებზე „time-lapse“ დაკვირვება. როგორც აღინიშნა, ასეთი მიდგომებით ინტაქტურ ცხოველში ერთი და იგივე ხორკლის უშუალო მონიტორინგი შესაძლებელია ფიზიოლოგიურ მანიპულაციამდე, მანიპულაციის დროს და მანიპულაციის შემდეგ; ამასთანავე,

დაკვირვება ეფექტზე შეიძლება, როგორც რამოდენიმე წამის და წუთის, ასევე გაცილებით ხანგრძლივი დროის განმავლობაში. სწორედ ასეთი ტიპის კვლევებში, ჰიპოკამპის ნეირონულ კულტურაზე და ცოცხალ ანათლებზე ნაჩვენები იქნა, რომ ზრდასრულ ცხოველებშიც კი, ხორკლების ძვრადობა განსხვავებულია (ადრე ითვლებოდა, რომ ხორკლები ძვრადობის უნარს ორგანიზმის განვითარების მხოლოდ ადრეულ სტადიებზე ავლენენ) (Dunaevsky et al. 1999; Majewska et al. 2000 a,b; Yuste et al. 2000). ანალოგიურად: *in vivo* პირობებში, ზრდასრული თაგვის ნეოკორტექსში, ტექნიკურად ინოვაციური მეთოდების გამოყენებით, აღწერილი იქნა ხორკლების ძვრადობა და მათი მორფოლოგიური ცვლილებები, ახალი ხორკლების წარმოქმნის და არსებული ხორკლების დაღუპვის ჩათვლით (Holtmaat et al. 2005; Trachtenberg et al. 2002; Dunaevsky et al. 1999; Segal 2005). ამასთანავე, აღსანიშნავია, რომ ხორკლების ძვრადობა ზრდასრულ ორგანიზმში ამჟამადც დებატების საგანია. მეცნიერების უმრავლესობა იზიარებს აზრს, რომ პლასტიკური ხორკლები (ანუ ხორკლები ძვრადობის მაღალი ხარისხით) გაცილებით მრავალრიცხოვანია ორგანიზმის განვითარების ადრეულ სტადიებზე, შემდეგ კი მათი რაოდენობა თანდათანობით მცირდება (Dunaevsky et al. 1999; Lendvai et al., 2003). როგორც აღინიშნა, მოლეკულურ-ბიოლოგიური და ნეირონის მექანიკის კვლევების თანახმად, დენდრიტული ხორკლების ძვრადობა დიდწილად დამოკიდებულია დენდრიტების ციტოქონჩში შემავალი ფილამენტური აქტინის დინამიურ ცვლილებებზე (Kim and Lisman 1999; Krucker et al. 2000; Fikazawa et al. 2003; Okamoto et al. 2004).

ჰიპოკამპის ცოცხალ ანათლებზე ხორკლების ცვლილებების „*time-lapse*” მონიტორინგი ჩატარებულია ხანგრძლივი პოტენციაციის პირობებშიც. შრომების ნაწილში ახალი ხორკლების წარმოქმნა აღწერილია პოტენციაციის ინდუქციიდან უკვე რამოდენიმე წუთში (Maletic-Savarik et al. 1999; Lang et al. 2004; Okamoto et al. 2004), სხვა კვლევებში კი, ახალი ხორკლების წარმოქმნა არ აღინიშნა, თუმცა გამოვლინდა უკვე არსებული ხორკლების გარდამავალი, ან ხანგრძლივი მორფოლოგიური ალტერაციები – მეტწილად, მათი გაფართოება (Engert et al. 1999; Matsuzaki et al. 2004). მართალია, ასეთი

მონაცემები არ იძლევა საფუძველს დასკვნისთვის, თუ რა კავშირია ხორკლების ალტერაციებსა და ხანგრძლივი პოტენციაციის ფორმირებას შორის, მაგრამ აღნიშნული ფენომენის ახსნისას, ხორკლების რაოდენობის და ფართობის ალტერაციების გათვალისწინება მაინც მართებულია. ამასთანავე, ყურადსაღებია შემდეგი ცნობილი ფაქტი: ხანგრძლივი პოტენციაცია დამოკიდებულია აქტინის პოლიმერიზაციაზე, კერძოდ, იწვევს პოლიმერიზებული (ფილამენტური) აქტინის მატებას, რაც განსაკუთრებით კარგად ხორკლებში ვლინდება (Matsuzaki et al. 2004; Krucker et al. 2000; Fukasawa et al. 2003; Okamoto et al. 2004). შესაბამისად, გამოითქვა მართებული მოსაზრება: ხორკლების ციტოჩონჩხის აღნაგობის სპეციფიური ცვლილებები ხანგრძლივი პოტენციაციის აუცილებელ პირობას წარმოადგენენ.

2.5. დენდრიტული ხორკლები და გონებრივი ჩამორჩენა

თუ ხორკლების მონაწილეობა დასწავლის და მეხსიერების მექანიზმებში ეჭვს არ იწვევს, მონაცემები ადამიანის კოგნიციაში ხორკლების ჩართვის თაობაზე გაცილებით მცირერიცხოვანი და არაპირდაპირია (ადამიანებზე უჯრედული პროცესების კვლევის პრაქტიკული ხასიათის შეზღუდვების გამო). შედარებით კარგად შესწავლილია მხოლოდ გონებრივი ჩამორჩენის, ან მნიშვნელოვანი კოგნიტური დეფიციტის მქონე პაციენტების post mortem მასალა. შედეგად აღმოჩნდა, რომ სხვადასხვა ტიპის სინდრომული და არასინდრომული გონებრივი ჩამორჩენის ფორმები დენდრიტების მნიშვნელოვანი დარღვევებით ხასიათდება (Newey et al. 2005; Hinton et al. 1991; Ramakers 2002). მაგალითად, არასინდრომული, იზოლირებული მენტალური ჩამორჩენის მქონე პაციენტების თავის ტვინის ქერქის პრეპარატებზე აღინიშნა ხორკლების განლაგების სიმკვრივის მნიშვნელოვანი შემცირება და მათი მორფოლოგიური ცვლილებები („დისგენეზი“) (Huttenlocher 1974; Purpura 1974; Marin-Padilla 1976; Takashima et al. 1981; Kaufman and Moser 2000). ჰიპოკამპსა და ახალ ქერქში დენდრიტული პათოლოგიები ასევე აღწერილია მენტალურ ჩამორჩენასთან ასოცირებული რიგი გენეტიკური დარღვევების, მათ შორის, დაუნის, რეტის და ფრაგილური X სინდრომების

შემთხვევებში (Belichenko et al. 2009; Suetsugu and Mehraein 1980; Ferrer, Gullotta 1990; Hinton et al. 1991; Wisniewski et al. 1991), თუმცა post mortem მასალის განხილვისას, ძნელია ზუსტი დიფერენცირება, თუ რას წარმოადგენენ ასეთი დენდრიტული ალტერაციები: კოგნიტური ცვლილებების მიზეზს, შედეგს თუ მეორად, შესაძლოა უმნიშვნელო, ფაქტს. ამასთანავე, ყველა ასეთი დაავადების დროს, ხორკლების პათოლოგია, ძირითადად, მსგავსია. ამ ფაქტმა მისცა მეცნიერებს საფუძველი დაეშვათ, რომ მენტალური ჩამორჩენის სხვადასხვა ფორმების გამომწვევი განსხვავებული ფაქტორები გავლენას ახდენენ დენდრიტული ციტოჩონჩხის მარეგულირებელ საერთო უჯრედულ გზებზე. ასეთ დაშვებას კიდევ უფრო ამყარებს მონაცემები, რომელთა თანახმად, იზოლირებული, არასინდრომული მენტალური ჩამორჩენის სხვადასხვა გენეტიკური ფორმების შემთხვევებში ადგილი აქვს იმ ცილების სინთეზისთვის საჭირო გენების მუტაციას, რომლებიც მონაწილეობას იღებენ GTP-ზების RhO ოჯახის რეგულაციაში (Ramakers et al. 2002; Newey et al. 2005). როგორც ზევით აღინიშნა, ეს უკანასკნელები, აქტინის ციტოჩონჩხთან ურთიერთქმედების შედეგად, დენდრიტული ხორკლის მორფოლოგიურ ცვლილებებს განსაზღვრავენ (Ramakers et al. 2002; Newey et al. 2005). ამიტომ გამოითქვა მოსაზრება, რომ აღნიშნული დაავადებები შეიძლება განხილული იყოს, როგორც პირდაპირი მექანიკური „კავშირი“ გენეტიკურ დეფექტებს, დენდრიტულ ხორკლებსა და მენტალურ ჩამორჩენას შორის. აღსანიშნავია ასევე მონაცემების მეორე ჯგუფიც, რომელთა თანახმად, გენები, რომლებიც ჩართული არიან მენტალური ჩამორჩენის ისეთი სინდრომული ფორმების აღმოცენებაში, როგორიცაა ფრაგილური X და ვილიამსის სინდრომები, იმავდროულად დენდრიტული ხორკლების პლასტიურობის განმაპირობებელ სიგნალირებაში მონაწილეობენ (Hinton et al. 1991; Armstrong et al. 1995).

ამგვარად: დასწავლისა და მეხსიერების ნეირობიოლოგიის და კლინიკური ნევროლოგიის მიღწევები ნათლად მიუთითებენ, რომ სინაფსური პლასტიურობისა და დასწავლისთვის ხორკლების არსებობა აუცილებელი პირობაა. დენდრიტული ხორკლების საოცარი პლასტიურობის და მათი სტრუქტურული, ბიოქიმიური და

ელექტროფიზიოლოგიური მოდულაციების გამოხატული ფლექსიურობის გამო, მათ განიხილავენ, როგორც ლოდიკურ კანდიდატებს დასწავლისა და სხვა რთული კოგნიტური ფუნქციების ბიოლოგიური მექანიზმების ხელშეწყობისთვის. ამავე მიზეზების გამო, სხვადასხვა ნევროლოგიური დაავადებებისთვის, მათ შორის, ეპილეფსიებისთვის დამახასიათებელ დენდრიტული ხორკლების ალტერაციებს ამ დაავადებების თანმხლებ მეხსიერების და დასწავლის დარღვევებს უკავშირებენ.

2.6. დენდრიტული ხორკლები და ეპილეფსია

კლინიკური და ექსპერიმენტული ეპილეფსიის დროს, ჰიპოკამპის პრეპარატების შესწავლა თითქმის 40 წელია მიმდინარეობს (Kandel et al., 1961). საწყისი კვლევები, ძირითადად, ფიქსირებულ ქსოვილზე ტარდებოდა, შემდგომში კი, *in vitro* მოდელებისა და ცოცხალი ცხოველების ნეირონების „time-lapse imaging“-ის შედეგად, მაღალინფორმატული შედეგები იქნა მიღებული (ზოგიერთი ასეთი მონაცემი მოყვანილია ქვემოთ).

ეპილეფსიის დროს განვითარებულ დენდრიტული ხორკლების ალტერაციებს, ხშირად განიხილავენ, როგორც შესაძლო სტრუქტურულ სუბსტრატს ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი კოგნიტური დეფიციტის განვითარებისთვის. ერთის მხრივ, ცნობილია, რომ ეპილეფსიით დაავადებული პაციენტების დენდრიტულ ხორკლებზე პოტენციურ ეფექტს სხვადასხვა ტიპის გენეტიკური, განვითარების და გარემოს ფაქტორები ახდენენ; მეორეს მხრივ, სინქრონული ელექტრული აქტივობა (მაგალითად, ხანგრძლივი პოტენციალის შემთხვევაში) ასევე მოქმედებს ხორკლებზე (Matsuzaki et al., 2004). შესაბამისად, დაშვებული იქნა, რომ ხორკლებზე უშუალო ეფექტი კრუნჩხვებმაც შეიძლება მოახდინონ. მართლაც, ელექტრონული მიკროსკოპის გამოყენებით მიღებული მრავალრიცხოვანი კლინიკური და ექსპერიმენტული მონაცემების თანახმად, ეპილეფსიის დროს იცვლება, როგორც დენდრიტების, ასევე დენდრიტული ხორკლების რაოდენობა და აღნაგობა.

2.6.1. დენდრიტული ხორკლების ცვლილებები და ადამიანის ეპილეფსია

ადამიანის ეპილეფსიის შემთხვევაში დენდრიტული ხორკლების შესწავლა შეზღუდულია: აღწერილია მხოლოდ უკუზრუნავი ეპილეფსიის პაციენტების თავის ტვინიდან, ქირურგიული ჩარევის დროს, აღებული მასალა. ძირითადად, განხილულია ეპილეფსიური კერის – ახალი ქერქის და/ან ჰიპოკამპის, შედარებით იშვიათად, სხვა ლიმბური წარმონაქმნების პრეპარატები. პრეპარატების უმრავლესობაში მართლაც ვლინდება დენდრიტების და დენდრიტული ხორკლების რიგი დარღვევები, განსაკუთრებით ხშირად კი, დენდრიტული ხორკლების დაკარგვა (Scheibel et al. 1974; Isokawa and Levesque 1991; Isokawa 1997; Belichenko and Dahlstrom 1995; von Campe et al. 1997; Blumcke et al. 1999; Freiman et al. 2011). საფეთქლის წილის ეპილეფსიის დროს, ასეთი ცვლილებები, პირველ რიგში, ჰიპოკამპის პირამიდულ ნეირონებსა და დაკბილული ფასციის მარცვლოვან უჯრედებზეა აღწერილი (Scheibel et al. 1974; Isokawa 1997; Blumcke et al. 1999; Freiman et al. 2011). შესაბამის დენდრიტებს, როგორც ვარიკოზული, ასევე ნორმალური აღნაგობა გააჩნიათ (von Campe et al. 1997; Santos et al. 2011; Isokawa 1997; Isokawa, Levesque 1991; Jiang et al. 1998). რიგ შემთხვევებში დენდრიტების და დენდრიტული ხორკლების ანალოგიური ცვლილებები აღწერილია ეპილეპტოგენეზის საწყისი “წერტილიდან” საკმაოდ დიდ მანძილზე, მაგალითად, ფოკუსის ჰიპოკამპში არსებობის შემთხვევაში – ახალი ქერქის პირამიდულ უჯრედებზე (Multani et al. 1994). ხორკლებთან შედარებით, გაცილებით იშვიათია ჰიპოკამპის და ახალი ქერქის დენდრიტების ცვლილებები, მაგალითად, მათი დატოტვის და/ან ფორმის მნიშვნელოვანი ალტერაციები (Isokawa and Levesque 1991; Jiang et al. 1998; Santos et al. 2011; von Campe et al. 1997). რამოდენიმე შრომაში ასევე აღწერილია დენდრიტული ხორკლების ფოკალური მატება (Belichenko et al. 1994; Multani et al. 1994).

ვინაიდან ეპილეფსიით დაავადებულ პაციენტებში დენდრიტული ხორკლების ცვლილებები, განსაკუთრებით კი, მათი შემცირება, აღინიშნება ჰიპოკამპში და ახალ

ქერქში, ანუ თავის ტვინის იმ წარმონაქმნებში, რომლებიც მეხსიერების და დასწავლის პროცესებში წამყვან როლს ასრულებენ, დენდრიტული ხორკლების აღნიშნული ალტერაციები უშუალოდ დაუკავშირეს ასეთი პაციენტებისთვის დამახასიათებელი დასწავლის და მეხსიერების დეფიციტის განვითარებას. აღსანიშნავია, რომ ეპილეფსიური პაციენტების თავის ტვინიდან ამოკვეთილი ქსოვილის პრეპარატებზე იდენტიფიცირებულია კორელაცია დენდრიტული ხორკლების დაკარგვასა და გლუტამატზე პასუხს შორის; ამგვარად, ეპილეფსიის დროს განვითარებული ხორკლების რაოდენობრივი ცვლილებები სინაფსების ფიზიოლოგიაზე მნიშვნელოვან ეფექტს უნდა ახდენენ (Isokawa and Levesque 1991; Isokawa et al. 1997).

მაგრამ კლინიკური კვლევებისთვის დამახასიათებელი შეზღუდვების გამო, უშუალო კავშირი ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელ ქცევით და კოგნიტურ დარღვევებსა და დენდრიტული ხორკლების ცვლილებებს შორის, მხოლოდ მცირერიცხოვან შრომებშია ნაჩვენები. ამგვარად, ადამიანის ეპილეფსიის დროს, დენდრიტული ხორკლების პათოლოგიური ალტერაციების ფუნქციური შედეგის გარკვევა მარტივი არ არის. გარდა ამისა, კლინიკურ მასალაზე ხშირად ძნელია ხორკლების ალტერაციების სპეციფიური მიზეზების ზუსტი დადგენა: დარღვევები შესაძლებელია წარმოადგენდეს, როგორც უშუალოდ კრუნჩხვების შედეგს, არამედ ასევე განპირობებული იყოს სხვა თანმხლები ფაქტორებით, მაგალითად, ნევროლოგიური ინსულტით, რომელიც ეპილეფსიის საწყისი მიზეზი შეიძლება იყოს, ანტიეპილეფსიური საშუალებების გამოყენებით ან გარემოს სხვა ფაქტორებით (Wong 2005, 2008; Wong, Guo 2012). შესაბამისად, ეპილეფსიის დროს, ხორკლების ცვლილებების შესწავლა გაცილებით უფრო ხელსაყრელია კარგად კონტროლირებად ცხოველთა ექსპერიმენტულ მოდელებზე.

2.6.2. დენდრიტული ხორკლების პათოლოგიები ეპილეფსიის ცხოველურ მოდელებზე. კონვენციური და თანამედროვე მიდგომები

ცხოველების ეპილეფსიურ მოდელებზე მიღებული შედეგები მნიშვნელოვნად აფართოებენ დენდრიტული ხორკლების ცვლილებების კლინიკური კვლევის მონაცემებს. პირველ რიგში: ასეთი მოდელების გამოყენებით, შესაძლებელია ეპილეფსიის თანმხლები ზოგიერთი ისეთი ფაქტორის გაკონტროლება, რომელთა არსებობა მნიშვნელოვნად ართულებს ადამიანებზე მიღებული მონაცემების სწორ ინტერპრეტაციას. კლინიკური კვლევების მსგავსად, ეპილეფსიის სხვადასხვა ცხოველურ მოდელებზე განსაკუთრებით ხშირად ვლინდება ხორკლების დაკარგვა, რასაც შეიძლება თან ახლდეს დენდრიტების ვარიკოზული გაჯირჯვება. მაგალითად, ჯერ კიდევ შედარებით ადრეულ შრომებში ნაჩვენებია, რომ (ა) პილოკარპინით გამოწვეული მწვავე კრუნჩხვები, ზრდასრული ვირთაგვას დაკბილულ ფასციაში, 24 საათის განმავლობაში, იწვევენ დენდრიტებზე ხორკლების განლაგების სიმკვრივის მნიშვნელოვან შემცირებას (Isokawa 1998); (ბ) ტეტანოსის ტოქსინით გამოწვეული ქრონიკული ეპილეფსიის შედეგად, ზრდასრული ვირთაგვას ჰიპოკამპში სარწმუნოდ მცირდება დენდრიტული ხორკლების რიცხვი (Jiang et al. 1998).

ხორკლების დაკარგვა გამოვლინდა ჰიპოკამპური და ნეოკორტიკალური კრუნჩხვების სხვა მოდელებზეც (Willmore et al. 1980; Nishizuka et al. 1991; Gonzalez-Burgos et al. 2004; Ampuero et al. 2007; Santos et al. 2011). ამასთანავე, ერთეული მონაცემების თანახმად, ლიმბური კრუნჩხვების შედეგად, ჰიპოკამპში დენდრიტული ხორკლების რაოდენობა სარწმუნოდ იზრდება (Bundman et al. 1994; von Campe et al. 1997; Suzuki et al. 1997; Spigelman et al. 1998; Freiman et al. 2011).

მაგრამ ადრეული შრომების დიდი ნაწილი შესრულებულია ფიქსირებულ ქსოვილზე, კონვენციური მეთოდების გამოყენებით, სხვადასხვა ასაკის და სახეობის ცხოველებზე, ამასთანავე, გამოყენებული იყო ეპილეფსიური აქტივობის გამომწვევი ნივთიერებების სხვადასხვა დოზები, რომელთა ზეგავლენას სწავლობდნენ დროის

განსხვავებულ მონაკვეთებში. შედეგად, ძნელი იყო იმის დადგენა, თუ რომელი ცვლილებაა უშუალოდ კრუნჩხვების ეფექტი და რომელია არაპირდაპირი, კომპენსატორული ან თანმხლები. უკანასკნელ წლებში მკვლევარები იყენებენ *in vivo* მოდელებს, *time-lapse imaging*” მეთოდებთან ერთად. ამ მიდგომებით შესაძლებელია ცოცხალი ორგანიზმის „ეპილეფსიური ნეირონის” ერთსა და იმავე დენდრიტულ ხორკლზე უშუალო დაკვირვება რამოდენიმე საათის განმავლობაში, ამგვარად, ცალკეულ ხორკლზე კრუნჩხვების შესაძლო პათოლოგიური ეფექტის რეალურ დროში გამოვლენა (Rensing et al. 2005; Kurz et al. 2008; Zeng et al. 2007). ამასთანავე, თუ კონვენციური მეთოდებით ხორკლების ცვლილებების შესწავლა შესაძლებელია კრუნჩხვების აღმოცენებიდან მხოლოდ რამოდენიმე საათის ან დღის შემდეგ, უახლესი მეთოდების გამოყენებით, ცოცხალ ქსოვილზე (ცოცხალ ორგანიზმზე) კრუნჩხვების მომენტალური ეფექტის გამოვლენაა შესაძლებელი. დენდრიტული ხორკლების შესასწავლად ამჟამად ასევე გამოიყენება ისეთი მაღალინფორმატული მეთოდები, როგორიცაა შიდა სიგნალების ოპტიკური გამოსახულების მიღება, კალციუმ-მგრძნობიარე ინდიკატორები, პოტენციალ-დამოკიდებული საღებავები და სხვ. (Sorra and Harris, 2000; Nikonenko et al., 2002).

ასეთი მაღალინფორმატული მიდგომების გამოყენებით კიდევ ერთხელ დადასტურდა კონვენციური მეთოდებით მიღებული შედეგები, რომელთა თანახმად, კრუნჩხვითი აქტივობის შედეგად, ხორკლების მრავალგვარი რაოდენობრივი და თვისობრივი ცვლილებები ვითარდება; ასეთი ცვლილებების ბუნება დიდწილად კრუნჩხვების (ეპილეფსიის) მოდელზე უნდა იყოს დამოკიდებული. გამოვლინდა ასევე განსხვავება ხორკლებზე კრუნჩხვითი აქტივობის და ხანგრძლივი პოტენციალის ეფექტებს შორის. კერძოდ: თუ კონვენციური მეთოდებით ორივე შემთხვევაში დენდრიტული ხორკლების თითქმის მსგავსი ცვლილებებია აღწერილი, უახლესი მეთოდებით ნათელი გახდა, რომ კრუნჩხვების აღმოცენების შემთხვევაში, ეფექტი, მართალია, ჩქარი, მაგრამ შედარებით ხანმოკლეა, ხოლო ხანგრძლივი პოტენციალის ეფექტი გაცილებით ხანგრძლივი და გამოხატულია (Hill and Zito 2013; Molnar 2011). ჰიპოკამპის ცოცხალ ანათლებზე ასევე ნაჩვენებია იქნა, რომ კრუნჩხვითი აქტივობა

ინტერფერირებს ექსპერიმენტულად აღმოცენებულ ხანგრძლივ პოტენციაციის ეფექტთან, თუმცა ხორკლების მონაწილეობა ან ფენომენში უცნობია (Abegg et al., 2004; Hu et al. 2005). ამგვარად, დაშვებული იქნა, რომ მექანიზმები, რომელთა მეშვეობით კრუნჩხვები და ელექტრული აქტივობის სხვა პატერნები დენდრიტულ ხორკლებზე მოქმედებენ, კომპლექსურია (Abegg et al., 2004; Hu et al. 2005).

ამასთანავე, *in vivo* მოდელებზე „*time-lapse imaging*“-ის გამოყენებისას, გასათვალისწინებელია მთელი რიგი გარემოებები, მაგალითად, ანესთეზიის ეფექტი, ორგანიზმზე და, შესაბამისად, თავის ტვინზე. არ არის გამორიცხული, რომ „არასწორი“ ანესთეტიკის გამოყენება გამოიწვევს ნეირონული აქტივობის შემცირებას, პოტენციურ ეფექტს რეცეპტორებზე და სხვ. ამიტომ განსაკუთრებულად აუცილებელია ანესთეტიკის შერჩევა. მხედველობაშია ასევე მისაღები საკვლევი უბნის ლოკალიზაცია. კერძოდ, ზოგიერთი მეცნიერი მართებულად არ მიიჩნევს ასეთი მეთოდების გამოყენებას თავის ტვინის ქერქის ზედაპირული შრეების და დანაყოფების შესწავლისას, ვინაიდან კვლევის პროცესში ამ უბნებში შეიძლება ადგილი ჰქონდეს სინათლის სხივის ადსორბციას, მის განფანტვას ან სხვა ოპტიკურ ცვლილებებს. ისინი პრიორიტეტს კონფოკალური ან მრავალფოტონიანი მიკროსკოპიით, ცოცხალი ანათლების (და არა ცხოველების *in vitro*) კვლევას ანიჭებენ.

2.6.3. კრუნჩხვითი აქტივობით განპირობებული დენდრიტული ხორკლების ცვლილებების მექანიზმები

ცოცხალი უჯრედის გამოსახულების მიღების უახლესი მეთოდების დანერგვის შედეგად, შესაძლებელი გახდა, არა მარტო დაკვირვება კრუნჩხვებით გამოწვეული დენდრიტული ხორკლების ცვლილებებზე, არამედ ასევე ხორკლების პათოლოგიური ალტერაციების გამომწვევი უჯრედული და მოლეკულური მექანიზმების გაშუქება. ზევით ციტირებული იყო რამოდენიმე სტატია, სადაც ასეთ ალტერაციებში კალცინერინის სავარაუდო როლია განხილული. ამ ქვეთავში მოცემულია ეპილეფსიის დროს ხორკლების დაღუპვის მექანიზმებთან დაკავშირებული რიგი სხვა მონაცემები.

პირველ რიგში: კრუნჩხვებით გამოწვეული თავის ტვინის დაზიანების მექანიზტური მოდელების უმრავლესობა – განსაკუთრებით, ნეირონების დალუპვის შემთხვევებში - გლუტამატის ექსაიტოტოქსიურობაზე მიუთითებს (ეპილეფსიის განვითარებაში გლუტამატის როლიდან გამომდინარე). ამასთანავე, ვარაუდობენ, რომ ექსაიტოტოქსიური მექანიზმები განაპირობებენ არა მარტო რიგი ნეირონების ნეკროზს (Fujikawa et al. 2000; Lemus-Molina et al. 2009; Kotaria et al. 2013), არამედ გადარჩენილი უჯრედების უფრო ნატივ დაზიანებებს (Fujikawa et al. 2000; Kotaria et al. 2013).

კრუნჩხვების შედეგად, ხორკლების ცვლილებების გამომწვევ მექანიზმებს განსაკუთრებით სრულყოფილად ცხოველების *in vitro* მოდელებზე იკვლევენ. კერძოდ, უკვე შედარებით ადრეულ ასეთ შრომებში, GABA-ანტაგონისტით გამოწვეული ეპილეპტოფორმული აქტივობის აღმოცენებიდან რამოდენიმე დღის შემდეგ, ჰიპოკამპის ცოცხალ ანათლებზე დენდრიტების გაჯირჯვება და დენდრიტული ხორკლების 40%-იანი დაკლება ღწერეს (Muller et al. 1993; Thompson et al. 1996). ასეთი ცვლილება ნაწილობრივ პრევენცირდება გლუტამატის ანტაგონისტების ზემოქმედებით (Thompson et al. 1996). დენდრიტების ანალოგიურ გაჯირჯვებას და ხორკლების 40%-მდე შემცირებას ასევე იწვევდა ნეირონულ კულტურაში გლუტამატის აგონისტების პირდაპირი დამატება (Thompson et al. 1996). თითქმის ანალოგიური მონაცემებია მიღებული ადამიანის ტვინიდან აღებულ პათოლოგიურ მასალაზე და ეპილეფსიის *in vivo* ექსპერიმენტულ მოდელებზე (Muller et al. 1993). ასეთი, მონაცემები თანახმად, კრუნჩხვებით გამოწვეულ ხორკლების დაკარგვა/ცვლილებებში გლუტამატ-ექსაიტოტოქსირებული მექანიზმები მონაწილეობენ.

მაგრამ, თუ თითქმის უეჭვოა, კრუნჩხვებით გამოწვეული ნეირონების ჭარბი სტიმულაციის შედეგად, სინაფსურად გამოყოფილი გლუტამატის მონაწილეობა დენდრიტული ხორკლების ალტერაციებში, გაცილებით მცირე ინფორმაციაა იმ დადმავალი უჯრედული და მოლეკულური გზების შესახებ, რომლებიც უშუალოდ

განპირობებენ დენდრიტების და დენდრიტული ხორკლების სტრუქტურულ ალტერაციებს. ძირითადად, ითვლება, რომ ექსაიტოტოქსიური მექანიზმების ცენტრალური ჩართვა ხდება NMDA-რეცეპტორების მეშვეობით, გლუტამატ-აქტივირებული უჯრედშიდა კალციუმის ზრდის შედეგად (Delorenzo et al., 2005; McNamara et al. 2006). სწორედ ამ გზით უნდა ხდებოდეს კალციუმ-დამოკიდებული რიგი ისეთი ენზიმების ტრიგერირება, რომლებიც სპეციფიურად იმოქმედებენ უჯრედის ციტოქონჩხზე და მის დეგრადაციას გამოიწვევენ. Kurz et al. (2008)-ის მონაცემების თანახმად, NMDA-თი განპირობებული დენდრიტული ხორკლების დაკარგვა მნიშვნელოვნად მცირდება კალციუმ-დამოკიდებული ფოსფატაზას ანტაგონისტის, კალცინევერინის მოქმედებით და პრევენცირდება F-აქტინის მასტაბილიზირებელი ფარმაკოლოგიური მოდულატორების გავლენით. ამგვარად, გამოითქვა მოსაზრება, რომ გლუტამატის ექსაიტოტოქსიურობა იწვევს ხორკლების დაკარგვას დენდრიტების ციტოქონჩხში შემავალი აქტინის კალცინევერინ-მედიტირებული დეგრადაციის გზით.

ამასთანავე, აქტინის გარდა, კრუნჩხვებით განპირობებულ დენდრიტების პათოლოგიაში, მონაწილეობას ასევე უნდა იღებდნენ სხვა სტრუქტურული და მოლეკულური ელემენტები. კერძოდ, მართალია, დენდრიტული ხორკლების ციტოქონჩხის მთავარ ცილად ტრადიციულად აქტინი განიხილება, მაგრამ უკანასკნელ წლებში დენდრიტის სტრუქტურის რეგულაციაში მნიშვნელოვან როლს ასევე მიოზინსაც აკუთვნებენ (Ryu et al. 2006). მართალია, კრუნჩხვებით განპირობებულ ცვლილებებში მიოზინის მონაწილეობა ცნობილი არ არის, მაგრამ ვარაუდობენ, რომ, მაღალსიხშირიანი ელექტრული სტიმულაციის შემთხვევებში, მიოზინი ურთიერთმოქმედებს აქტინის ფილამენტებთან, “ეხმარება” რა მათ სინაფსური პლასტიურობის სტაბილიზაციაში და მეხსიერების კონსოლიდაციაში ხანგრძლივი პოტენციალის ინდუქციის მიზნით (Rex et al. 2010). იმ მსგავსებიდან გამომდინარე, რომელიც კრუნჩხვებსა და ხანგრძლივი პოტენციისთვის დამახასიათებელ მაღალსიხშირიან ელექტრულ აქტივობას შორის არსებობს, გამოითქვა მოსაზრება, რომ ორივე შემთხვევაში მსგავსი მექანიზმების მონაწილეობაა შესაძლებელი, თუმცა

კრუნჩხვების დროს – უფრო გამოხატული, რამაც დენდრიტების აღნაგობის პათოლოგიური ცვლილებები უნდა გამოიწვიოს.

გარდა ამისა, არ არის გამორიცხული, რომ დენდრიტული ხორკლების ციტოჩონჩხში შემავალი აქტინის რეგულირებას ფიზიოლოგიური აქტივობით მოდულირებული სხვა აქტინ-დამაკავშირებელი ცილებიც ახდენენ. ამ პროცესში სხვადასხვა უჯრედული სასიგნალო “ნაკადები”, მაგალითად, RhO ცილები უნდა მონაწილეობდნენ (Tashiro and Yuste 2004; Penzes and Rafalovich 2012; Fortin et al. 2012) (განხილულია ზევით).

ამასთანავე, კალციუმ-მედიტირებული ექსაიტოტოქსიური მექანიზმების ჩართვის ჰიპოთეზის გარდა (ისეთი ენზიმების აქტივაცია, რომლებიც ხორკლების ციტოჩონჩხის F -აქტინზე მოქმედების შედეგად, გამოიწვევენ მის უფრო პლასტიურ ფორმაში გადაყვანას), ეპილეფსიის დროს, დენდრიტების და ხორკლების ცვლილებების ასახსნელად სხვა ჰიპოთეზებიც გამოიყენება. მაგალითად, დენდრიტების ვარიკოზული გაჯირჯვება ან მათი მძივისმაგვარი აღნაგობა (კრუნჩხვებით და სხვა ნევროლოგიური ინსულტებით გამოწვეული ხორკლების დაკარგვის თანმხლები ხშირი პათოლოგია), შეიძლება დაკავშირებული იყოს ოსმოსური წონასწორობის დარღვევასთან, და არა/ნაკლებად კალციუმ-დამოკიდებული გზების აქტივაციასთან (Al-Noori, Swann 2000).

ინტრაცელულარული სტრუქტურული ცილების გარდა, დენდრიტების და დენდრიტული ხორკლების აღნაგობა გარკვეულწილად, უჯრედგარე მატრიქსითაც უნდა მოდულირდებოდეს. მაგალითად, ვარაუდობენ, რომ კრუნჩხვების შედეგად აქტივირდებიან და დენდრიტული ხორკლების დაკარგვაში მონაწილეობენ მეტალოპროტეინაზები – ენზიმები, რომლებიც უჯრედგარე მატრიქსის რემოდელირებაში მონაწილეობენ (Wilczynski et al. 2008; Takacs et al. 2010). კრუნჩხვები ასევე ახდენენ ეფექტს ინტეგრინების ექსპრესიაზე – ტრანსმემბრანულ რეცეპტორებზე, რომლებიც ექსტრაცელულარული მატრიქსის ცილებთან ურთიერთმოქმედების გზით, ციტოჩონჩხის მოდულაციას ახდენენ (Pinkstaff et al. 1998; Gall and Lynch 2004).

არის ასევე მონაცემები, რომელთა თანახმად, გლუტამატის აგონისტებით გამოწვეული დენდრიტების ექსაიტოტოქსიური მძივისმაგვარი აღნაგობა უკავშირდება არა კალციუმის, არამედ ნატრიუმის, ქლორიდის და ასოცირებული წყლის ფართო ნაკადების ჩართვას. ასეთი ცვლილებები პრევენცირდება ნატრიუმის ან ქლორიდის შესაბამისი კათიონებით ან ანიონებით ჩანაცვლებით (თუმცა კრუნჩხვების შემთხვევაში ეს საკითხი შესწავლილი არ არის) (Rothman 1985; Hasbani et al. 1998; Swann et al. 2000).

შემდეგი ჰიპოთეზის თანახმად, ეპილეფსიის დროს პოსტსინაფსურ დენრიტებზე ხორკლების დაკარგვა არა ექსაიტოტოქსიური ეფექტების, არამედ ხორკლებზე პრესინაფსური შესასვლელების დეინერვაციის შედეგია. კერძოდ, ვინაიდან ქერქული სინაფსური აფერენტების ელიმინაცია თავისთავად იწვევს დენდრიტული ხორკლების დაკარგვას, კრუნჩხვების შედეგად ხორკლების რაოდენობის შემცირება შეიძლება ასახავდეს სინაფსური წრეების კრუნჩხვებით განპირობებულ რეორგანიზაციას და შესაბამისი ნეირონების დეაფერენტაციას და არა ექსაიტოტოქსიური დაზიანების უშუალო ეფექტს (Paravelas et al. 1974; Swann et al. 2000; Fiala et al. 2002).

სავარაუდოდ, ამჟამად იდენტიფიცირებულია ეპილეფსიური აქტივობით გამოწვეული დენდრიტული ხორკლების პათოლოგიების პოტენციური მექანიზტური მედიატორების - “upstream” სასიგნალო გზების და “downstream” სტრუქტურული ელემენტების მხოლოდ ნაწილი; კრუნჩხვების ეთიოლოგიის შესაბამისად, დენდრიტების ცვლილებებში სხვადასხვა მექანიზმები უნდა მონაწილეობდნენ. ასევე შესაძლებელია, რომ ეპილეფსიის სხვადასხვა ფორმების დროს, ადგილი ჰქონდეს მექანიზმების “გადაფარვას”, რაც განსაკუთრებით სტრუქტურულ კომპონენტებში უნდა გამოვლინდეს. ეპილეფსიების ახალი თერაპიული სამიზნეების გამოსავლენად, ასეთი მექანიზმების და მათი „გადაფარვის“ გაშუქება უმნიშვნელოვანესია.

2.6.4. დენდრიტული ხორკლების ძვრადობა და ეპილეფსია

როგორც აღინიშნა (თავი 2.2), ეპილეფსიის მკურნალობის ახალი სტრატეგიის შემუშავებისას, დიდ მნიშვნელობას ანიჭებენ “ეპილეფსიური ნეირონის” სტრუქტურის სტაბილიზაციას, რაც თავისთავად გულისხმობს ასეთი ნეირონის აღნაგობის დაწვრილებით შესწავლას. ხორკლების შემთხვევაში, აუცილებელია გამოვლენილი იყოს პათოლოგიური პირობების (კრუნჩხვითი აქტივობის) ეფექტი არა მარტო მათ რაოდენობაზე, არამედ სხვა სტრუქტურულ მახასიათებლებზეც, მათ შორის, ძვრადობაზე. ეს საკითხი ლიტერატურაში გაშუქებული არ არის, თუმცა საფუძვლიანად მიჩნეულია, რომ თერაპიულ საშუალებებს, რომლებიც უშუალოდ მოახდენენ „ეპილეფსიური ნეირონის“ ხორკლების რაოდენობის და ძვრადობის მოდულაციას, ექნებათ პრევენციული ეფექტი კრუნჩხვებით გამოწვეულ კოგნიტურ დეფიციტზე.

2.7. დასკვნის სახით

მრავალრიცხოვანი კლინიკური და ექსპერიმენტული მონაცემების თანახმად, ეპილეფსიის დროს, ვითარდება დენდრიტული ხორკლების მნიშვნელოვანი რაოდენობრივი და მორფოლოგიური ცვლილებები. თუ ადამიანის შემთხვევაში, დენდრიტული ხორკლების ცვლილებებს გარემოს რიგი ფაქტორები იწვევენ, ექსპერიმენტები ცხოველებზე ცხადყოფენ, რომ ხორკლების ცვლილებების გამოწვევა საკუთრივ კრუნჩხვებსაც შეუძლიათ. ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელ ხორკლების ცვლილებებს შორის, განსაკუთრებით ხშირია ხორკლების „დაკარგვა“. აღსანიშნავია, რომ ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი ხორკლების ცვლილებების ფუნქციური და კლინიკური მნიშვნელობა ზუსტად დადგენილი არ არის. იმის გათვალისწინებით, რომ (ა) ხორკლების პლასტიურობა კრიტიკულ როლს ასრულებს დასწავლისა და მეხსიერების სინაფსური მექანიზმებში, (ბ) ეპილეფსიის შედეგად, დენდრიტული ხორკლების ცვლილებები, ძირითადად, ჰიპოკამპსა და ახალ ქერქში ვითარდება, ანუ თავის ტვინის იმ სტრუქტურებში, რომლებიც მეხსიერების, დასწავლის და სხვა

კოგნიტურ ფუნქციებში კრიტიკულ როლს ასრულებენ, (გ) ეპილეფსიით დაავადებულ პაციენტებში კოგნიტური დეფიციტი ხშირია - ვარაუდობენ, რომ კრუნჩხვებით გამოწვეული ხორკლების პათოლოგიები ეპილეფსიური პაციენტებისთვის დამახასიათებელ კოგნიტურ ცვლილებებთანაა დაკავშირებული. მაგრამ მონაცემები, რომლებიც კრუნჩხვებით გამოწვეულ კოგნიტურ დეფიციტში დენდრიტული ხორკლების მონაწილეობაზე მიუთითებენ, ძირითადად, არაპირდაპირია. ამგვარად, მაინც უცნობი რჩება, თუ როგორია დენდრიტული ხორკლების ცვლილებების კონკრეტული მნიშვნელობა ეპილეფსიისთვის დამახასიათებელი კოგნიტური დეფიციტის განვითარებაში. დიდწილად ასეთი გაურკვეველობა მეთოდოლოგიურ უზუსტობებს უკავშირდება, რომელთა გამორიცხვა (განსაკუთრებით, კლინიკური კვლევების დროს, ექსპერიმენტული მოდელების შემთხვევებში კი, ფიქსირებული მასალის შესწავლისას), ძირითადად, ძნელი ან შეუძლებელია.

უკანასკნელ პერიოდში, ექსპერიმენტული მიდგომების სრულყოფის და სპეციფიკური ფარმაკოლოგიური მოდულატორების გამოყენების შედეგად, სულ უფრო შესაძლებელი ხდება იმ პოტენციური კავშირის გამოვლენა, რომელიც ეპილეფსიის დროს, კოგნიტური დეფიციტის განვითარებასა და ხორკლების პათოლოგიურ ცვლილებებს შორის უნდა არსებობდეს. აუცილებელია მომავალი კვლევები შესაბამისი უჯრედული მექანიზმების გასაშუქებლად. ამასთანავე, გასათვალისწინებელია, რომ კრუნჩხვების სხვადასხვა მოდელები მეტწილად ხორკლების განსხვავებული პათოლოგიებით ხასიათდებიან. უმნიშვნელოვანესია ასეთი განსხვავებების გამომწვევი მექანიზმების გამოვლენა და იმის დადგენა, თუ აღნიშნული მექანიზმებიდან რომელია ფუნქციურად უფრო მნიშვნელოვანი და კლინიკურად რელევანტური. მაგალითად, საკითხი, თუ რა არის უფრო საყურადღებო: ხორკლების რაოდენობის თუ მათი მორფოლოგიის ცვლილებები – ამჟამად გაურკვეველია. ასევე: პრაქტიკულად არ არის გაშუქებული ეპილეფსიის ეფექტი დენდრიტული ხორკლების მვრადობაზე. აღსანიშნავია ასევე ისიც, რომ დასწავლის დროს ხორკლების რაოდენობის ხანგრძლივი მატება, ხოლო კოგნიტური დეფიციტის დროს (მათ შორის, ეპილეფსიის შემთხვევებში), მათი რიცხვის საგრძნობი შემცირება მეხსიერების მექანიზტური საფუძვლების

ასახსნელად, მართალია, მიმზიდველი კონცეფციაა, მაგრამ ფრიად გამარტივებული: როგორც ხანგრძლივი პოტენციალით (Lang et al. 2004), ასევე კრუნჩხვებით (Muller et al. 1993; Isokawa 1998) გამოწვეული ხორკლების ცვლილებები შეიძლება გარდამავალი იყოს და ამგვარად, მეხსიერების პერმანენტულ კვალს არ ასახავდეს. ალტერნატიულად: სინაფსური პლასტიურობის გათვალისწინებით, არ არის გამორიცხული, რომ კრუნჩხვებით გამოწვეული დენდრიტული ხორკლების აღნაგობის უნატიფესი ცვლილებები უშუალოდ დაკავშირებული არიან სასიგნალო ტრანსდუქციის შესაბამის ელექტრულ და ბიოქიმიურ ალტერაციებთან. ასევე შესაძლებელია, რომ კრუნჩხვებით ინდუცირებული ხორკლების ცვლილებები კონკურირებენ კრუნჩხვების ეფექტთან სასიგნალო მოლეკულებზე – მაგალითად, ნეიროტრანსმიტერების რეცეპტორების ექსპრესიასთან.

ამგვარად, კრუნჩხვებით გამოწვეული ხორკლების ცვლილებების მოლეკულური მექანიზმების დაწვრილებითი ცოდნა საფუძველი უნდა იყოს კრუნჩხვების მკურნალობასა და ეპილეფსიებისთვის დამახასიათებელი კოგნიტური დეფიციტის პრევენციაზე მიმართული, ახალი თერაპიული სტრატეგიების შემუშავებისთვის. თუ ამჟამად არსებული ეპილეფსიის სამკურნალო საშუალებების უმრავლესობა მიზნობრივად მოქმედებს ეპილეპტოგენეზში ჩართულ ნეიროტრანსმიტერების რეცეპტორებსა და იონურ არხებზე, ინოვაციურმა თერაპიულმა მიდგომამ უნდა მოახდინოს სინაფსური პლასტიურობის ისეთი სტრუქტურული კომპონენტების მოდულირება, როგორიცაა, მაგალითად, ხორკლების აქტივობა-დამოკიდებული ძვრადობა ან ხორკლების რაოდენობის სტაბილიზაცია. მაგალითად, კრუნჩხვების დროს პოტენციური თერაპიული საშუალებებით ციტოქინების აქტინის სელექციურმა სტაბილიზაციამ უნდა მოახდინოს კრუნჩხვებით ინდუცირებული ხორკლების ცვლილებების პრევენცია, შედეგად კი, უნდა შემცირდეს ეპილეფსიასთან ასოცირებული კოგნიტური დეფიციტი (Wong 2008; Wong, Guo 2012). ასეთი მიდგომა მოითხოვს კრუნჩხვებით განპირობებული დენდრიტული ხორკლების ცვლილებების ღრმა ცოდნას, რასაც ხელს უწყობს უჯრედის გამოსახულების მიღების განსაკუთრებით მაღალინფორმატული მეთოდები: კონფოკალური, მრალვაფოტონიანი, ატომურ-

მაღოვანი მიკროსკოპია. ელექტრონული მიკროსკოპია და სხვ. ასეთი მიდგომებით მიღებული არსებული მონაცემები, მართალია, მაღალინფორმატულია, მაგრამ არასაკმარისი. ხორკლების კვლევისას, გასათვალისწინებელია ასევე შემდეგი უმნიშვნელოვანესი ფაქტი: სხვადასხვა ასაკის ორგანიზმებში ხორკლები განსხვავებულ პლასტიკურობას ავლენენ (Dunaewsky et al. 1999; Dunaewsky and Mason 2003; Tashiro and Yuste 2004). შესაბამისად, პათოლოგიურ/და/ან ექსპერიმენტულ პირობებზე სხვადასხვა ასაკის ორგანიზმებში ხორკლები განსხვავებულად რეაგირებენ. ამგვარად, უმნიშვნელოვანესია არა მარტო იმის გარკვევა, ვლინდება თუ არა კრუნჩხვითი აქტივობის ეფექტი დენდრიტული ხორკლების ძვრადობაზე, არამედ ასევე - არის თუ არა ეს ეფექტი „ასაკდამოკიდებული“.

წარმოდგენილ კვლევაში ვაგრძელებთ “ეპილეფსიური ნეირონის” დენდრიტული ხორკლების შესაძლო ცვლილებების გაშუქებას. კერძოდ, შევოსწავლეთ გლუტამატის ანალოგის, კაინის მჟავას ეფექტი: (1) ორ-ფოტონიანი მიკროსკოპის გამოყენებით - განვითარების სხვადასხვა სტადიაზე მყოფი Thy1-YFPH ტრანსგენული თაგვების ჰიპოკამპის პირამიდული ნეირონების დენდრიტული ხორკლების რაოდენობასა და ძვრადობაზე; (2) ელექტრონული მიკროსკოპის გამოყენებით - ზრდასრული ვირთაგვების ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდული უჯრედების დენდრიტების, დენდრიტული ხორკლების და აქსო-ხორკლოვანი სინაფსების ნატივ აღნაგობაზე.

ჩამოყალიბებული იყო შემდეგი კონკრეტული ამოცანა:

1. კაინის მჟავას 50 μ M და 100 μ M კონცენტრაციების 30 და 100 წუთიანი ზემოქმედების ეფექტის შესწავლა P10 თაგვის ჰიპოკამპის ცოცხალი ნეირონის სხვადასხვა ფორმის დენდრიტული ხორკლების რაოდენობაზე;

2. კაინის მჟავას 50 μM და 100 μM კონცენტრაციების 30 და 100 წუთიანი ზემოქმედების ეფექტის შესწავლა P10 თაგვის ჰიპოკამპის ცოცხალი ნეირონის სხვადასხვა ფორმის დენდრიტული ხორკლების მოტილობაზე;
3. კაინის მჟავას 50 μM და 100 μM კონცენტრაციების 30 და 100 წუთიანი ზემოქმედების ეფექტის შესწავლა P30 თაგვის ჰიპოკამპის ცოცხალი ნეირონის სხვადასხვა ფორმის დენდრიტული ხორკლების რაოდენობაზე;
4. კაინის მჟავას 50 μM და 100 μM კონცენტრაციების 30 და 100 წუთიანი ზემოქმედების ეფექტის შესწავლა P30 თაგვის ჰიპოკამპის ცოცხალი ნეირონის სხვადასხვა ფორმის დენდრიტული ხორკლების მოტილობაზე.
5. კაინის მჟავას ინტრაპერიტონეული შეყვანით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის ეფექტი ზრდასრული ვირთაგვას ჰიპოკამპის CA1 ველის დენდრიტების, დენდრიტული, ხორკლების და აქსო-დენდრიტული სინაფსების აღნაგობაზე.

პირველი ოთხი ამოცანა ორიგინალურია. მეხუთე ამოცანაში დასმული საკითხი ლიტერატურაში ნაწილობრივ გაშუქებულია.

3. მასალა და მეთოდები

3.1. ორფოტონიან-მიკროსკოპული კვლევა

3.1.1. ცხოველები.

კვლევა ჩატარდა პოსტნატალური განვითარების სხვადასხვა სტადიებზე (P10 და P30) სტადიებზე მყოფ Thy1-YFPH (*Tg(Thy1-YFPH)H/Is/J*) ტრანსგენული თაგვების ჰიპოკამპიდან მიღებულ მწვავე ანათლებზე. ასეთი ცხოველების მთავარი მახასიათებელი – ჰიპოკამპის პირამიდული ნეირონების მიერ *ყვითელი ფლუორესცენციური ცილის (YFP)* ექსპრესიაა (სურ.1). გამოყენებული იყო 40 ცხოველი: 8 - საკონტროლო და 32 – ექსპერიმენტული. ექსპერიმენტის დაწყებამდე ცხოველები იმყოფებოდნენ ვივარიუმის კონტროლირებად გარემოში. კვლევა ჩატარდა ნებრასკას სახელმწიფო უნივერსიტეტში (აშშ), ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის ქიმიური ბიოლოგიის ინსტიტუტში და ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრში. ექსპერიმენტული პროცედურები შეესაბამებოდნენ აღნიშნული სამეცნიერო დაწესებულებების ცხოველებზე კვლევების ჩატარების მოთხოვნებს.

3.1.2. მწვავე ანათლების მიღება. შესწავლილი ექსპერიმენტული და საკონტროლო მასალა.

დეკაპიტაციის დროს, P10 ასაკის თაგვები იმყოფებოდნენ ჰიპოთერმული ზემოქმედების ქვეშ, ხოლო P30 ასაკის თაგვებს უკეთდებოდათ ანესთეზია კეტამინ/დორმიტორით (შესაბამისად 70 მგ/კგ და 0,5 მგ/კგ). სწრაფი დეკაპიტაციის და თავის ქალადან ტვინის ამოღების შემდეგ ხდებოდა ჰიპოკამპის ამოკვეთა და ვიბრატომზე (Leica) მზადდებოდა ჰიპოკამპის 300-350 მკმ სისქის საგიტალური ანათლები. ანათლები თავსდებოდა ჟანგბადით გამდიდრებულ CMF-PBS-ში (ნატრიუმ-ფოსფატურ ბუფერში, რომელიც არ შეიცავდა კალციუმს და მაგნიუმს), ერთი საათით. შემდეგ ანათლების სხვადასხვა სერიები ინკუბირდებოდა კაინის მჟავას (Sigma, USA,

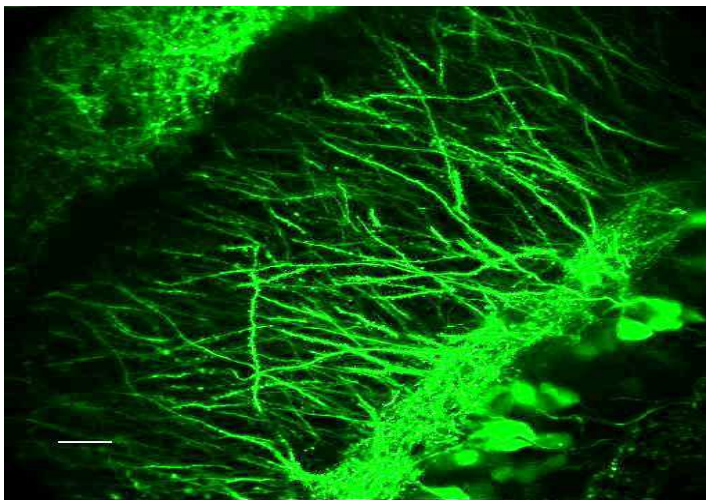
K0250) შემცველ CMF-PBS-ში: კაინის მჟავას (1) 50 μ M კონცენტრაციით, 30 წუთის განმავლობაში; (2) 50 μ M კონცენტრაციით, 100 წუთის განმავლობაში; (3) 100 μ M კონცენტრაციით, 30 წუთის განმავლობაში; (4) 100 μ M კონცენტრაციით 100 წუთის განმავლობაში. საკონტროლო ანათლები იმყოფებოდა CMF-PBS-ში, 30 და 100 წუთის განმავლობაში.

ამგვარად, შესწავლილი იყო შემდეგი ექსპერიმენტული და საკონტროლო მასალა:

- 1 - P10 თავგების ჰიპოკამპის ანათლები, ინკუბირებული კაინის მჟავას 50 μ M კონცენტრაციით, 30 წუთის განმავლობაში;
- 2 - P10 თავგების ჰიპოკამპის ანათლები, ინკუბირებული კაინის მჟავას 100 μ M კონცენტრაციით, 30 წუთის განმავლობაში;
- 3 - P10 თავგების ჰიპოკამპის ანათლები, ინკუბირებული კაინის მჟავას 50 μ M კონცენტრაციით, 100 წუთის განმავლობაში;
- 4 - P10 თავგების ჰიპოკამპის ანათლები, ინკუბირებული 100 μ M კონცენტრაციით, 100 წუთის განმავლობაში;
- 5 - P30 თავგების ჰიპოკამპის ანათლები, ინკუბირებული კაინის მჟავას 50 μ M კონცენტრაციით, 30 წუთის განმავლობაში;
- 6 - P30 თავგების ჰიპოკამპის ანათლები, ინკუბირებული კაინის მჟავას 100 μ M კონცენტრაციით, 30 წუთის განმავლობაში;
- 7 - P30 თავგების ჰიპოკამპის ანათლები, ინკუბირებული კაინის მჟავას 50 μ M კონცენტრაციით, 100 წუთის განმავლობაში;
- 8 - P10 თავგების ჰიპოკამპის ანათლები, ინკუბირებული 100 μ M კონცენტრაციით, 100 წუთის განმავლობაში;
- 9 - P10 თავგების ჰიპოკამპის ანათლები, ინკუბირებული CMF-PBS-ში, 30 წუთის განმავლობაში.

10 - P30 თაგვების ჰიპოკამპის ანათომები, ინკუბირებული CMF-PBS-ში, 100 წუთის განმავლობაში.

თითო ექსპერიმენტულ და საკონტროლო ჯგუფში გამოყენებული იყო ოთხი ცხოველი; ცალკეული შემთხვევისთვის გაანალიზებული ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდული უჯრედების 5–დან 16–მდე დენდრიტი და 87–დან 758–მდე დენდრიტული ხორკლი.



სურ. 1. დაბალ გადიდებაზე (40× ობიექტივი; გადიდება 2) გადაღებული Thy1-YFPH თაგვის ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდული ნეირონის დენდრიტი და დენდრიტული ხორკლები. პირამიდულ ნეირონებში ექსპრესირდება YFP. მასშტაბი = 22 მკმ.

3.1.3. დროის გარკვეულ მონაკვეთში მწვავე ანათომების გამოსახულების (Time-lapse imaging) მიღება; გამოსახულების ანალიზი.

დენდრიტული ხორკლების შესწავლა ხდებოდა ჰიპოკამპის CA1 ველის პირამიდული ნეირონების “time-lapse” გამოსახულებებზე. გამოსახულების მისაღებად, გამოყენებული იყო მრავალფოტონიანი ლაზერული მასკანირებელი მიკროსკოპი (Movable Objective Microscope, Sutter; Radiance,200; BioRad; NikonE-600FN) ტიტანი–საფირონის ლაზერით (Chameleon Vision II, Coherent) 920 ნანომეტრზე. მაღალი

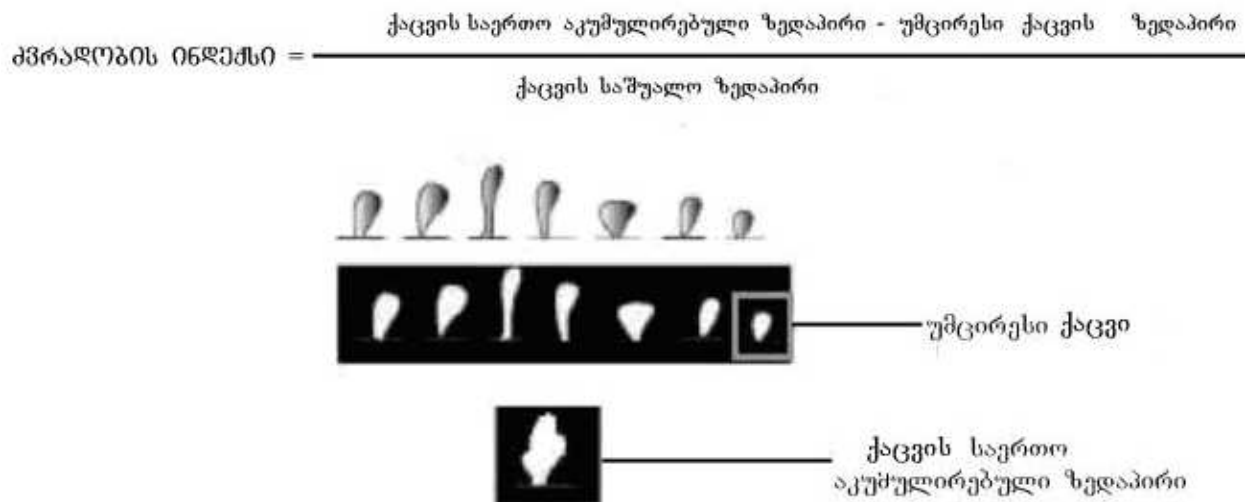
გარჩევადობისთვის გამოყენებული იყო „წყლის“ (ანათლის საინკუბაციო) ობიექტივი 60×, NA 1. უჯრედების გამოსახულების გადაღება ხდებოდა ყოველ 30 წამში, 15 წთ-ის განმავლობაში. ციფრული გადიდება უდრიდა ოთხს (პიქსელის ზომა 0.14 მკმ x 0.14 მკმ). სკანირების თითოეულ მონაკვეთში ვილებდით უჯრედის შრეობრივ გამოსახულებას 7–დან 11–მდე ფოკალურ სიბრტყეში. სიბრტყეებს შორის მანძილი იყო 0.5 მკმ. გარდა ამისა, უჯრედის სრული სურათის მისაღებად, ვახდენდით მის ვრცელ, შრეობრივ Z განზომილებაში გადაღებას 5-10 მკმ სიღრმეზე. გადაღების პროცესში, ანათალი, რომელიც იმყოფებოდა „გადაღების“ კამერაში (Warner Instruments), პერფუზირდებოდა ჟანგბადით გამდიდრებული ხელოვნური თავზურგტვინის (ACSF) სითხით. მთელი პროცესის განმავლობაში, ტემპერატურა შენარჩუნებული იყო (35-37°C). ანათალი ადგილზე ფიქსირდებოდა პლატინის და ნეილონის ბადით.

3.1.4. ხორკლების დინამიკის ანალიზი.

მიღებული გამოსახულებების დამუშავება და ანალიზი ხდებოდა ImageJ და NIH/Scion Image პროგრამის macros-ს საშუალებით. კერძოდ, ცალკეული დენდრიტის გამოსახულებიდან (7–11 სხვადასხვა მხედველობის არე Z განზომილებაში), ImageJ-ს საშუალებით მიიღებოდა პროექციული გამოსახულება და ხდებოდა მისი ბინარიზაცია. ანალიზის პროცესში არ იყო ცნობილი, თუ რომელ უჯრედთან (საკონტროლო თუ ექსპერიმენტული) გვაქვს საქმე.

კაინის მჟავას ზემოქმედებით, ხორკლების დინამიურობის – ძვრადობის – შესაძლო ცვლილების გამოსავლენად, გამოყენებული იყო “მოტილობის ინდექსი” (Dunaevsky et al., 1999) (სურ.2), რომელიც საშუალებას იძლევა, რაც შეიძლება სრულად გაიზომოს დენდრიტული გამონაზარდის (ხორკლი, ფილოპოდია) ძვრადობა. კერძოდ, ძვრადობის ინდექსი გამოხატავს ხორკლის მდებარეობის შეცვლას. თავდაპირველად იზომება ხორკლის ზედაპირის გარშემოწერილობა მხედველობის 7 სხვადასხვა არეში. შემდეგ ხორკლის საერთო აკუმულირებული ზედაპირის მნიშვნელობას აკლდება უმცირესი

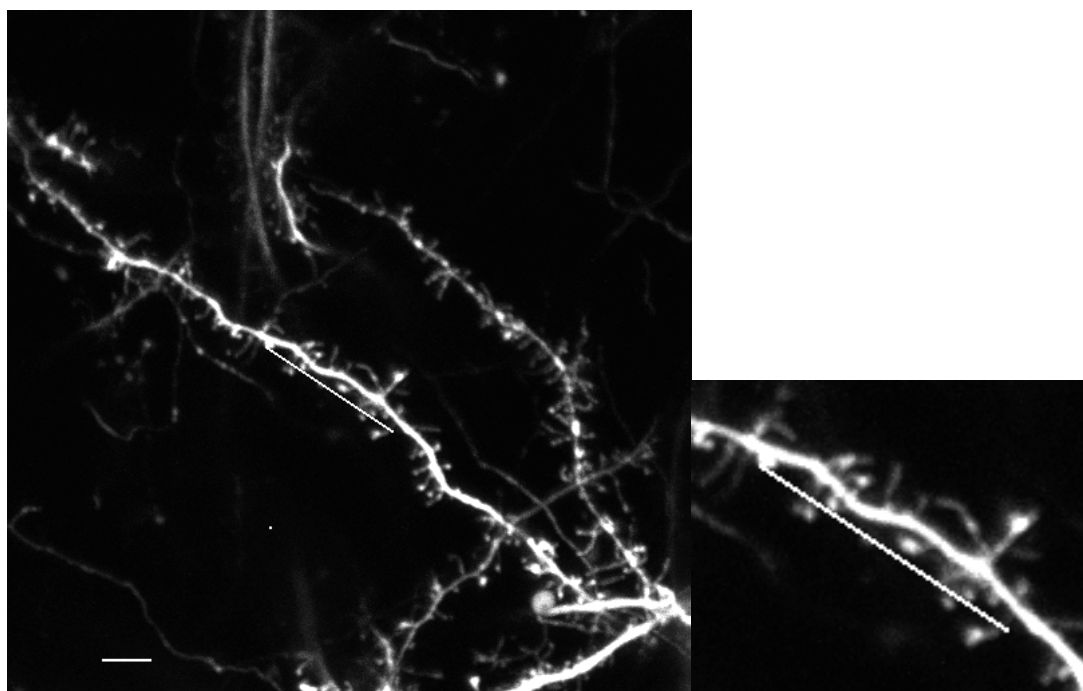
ხორკლის ზედაპირის გარშემოწერილობა, მიღებული სიდიდე კი იყოფა ხორკლის საშუალო გარშემოწერილობაზე.



სურ. 2. დენდრიტული ხორკლის ძვრადობის გამოანგარიშება.

3.1.5. ხორკლების საერთო რაოდენობრივი ანალიზი.

ხორკლების რაოდენობას ვითვლიდი დენდრიტის ერთ ან ორ შემთხვევითად შერჩეულ 15 მკმ-იან მონაკვეთზე (სურ.3). ყველა გაზომვა ხდებოდა უჯრედის 7–11 სხვადასხვა მხედველობის არეში, Z განზომილებაში მიღებულ გამოსახულებების პროექციებზე. ანალიზში ჩართული იყო დენდრიტის არჩეულ მონაკვეთზე არსებული ყველა ხორკლი.

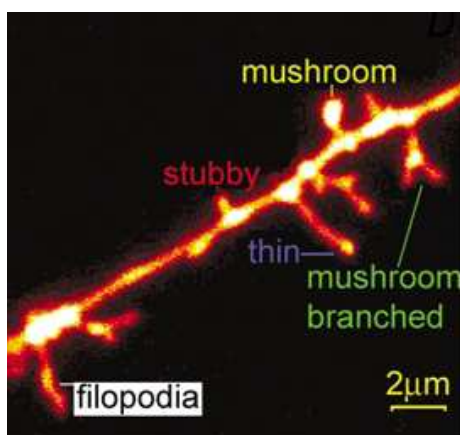


სურ.3. ხორკლების სიმჭიდროვე P10 საკონტროლო თაგვის CA1 ველის ნეირონის დენდრიტის 15 მკმ-იან მონაკვეთზე. (60× ობიექტივი; გადიდება 4; მასშტაბი = 5 მკმ).

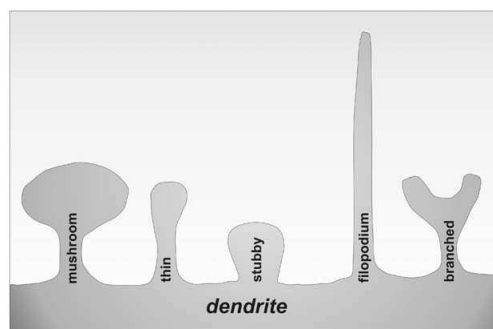
3.1.6. სხვადასხვა ფორმის ხორკლების რაოდენობრივი ანალიზი.

ხორკლების საერთო რაოდენობის გარდა, ასევე ჩატარებული იყო ხორკლების სხვადასხვა ფორმებს რაოდენობრივი ანალიზი. ამისთვის გამოყენებული იყო განსაკუთრებით კარგი გარჩევადობის გამოსახულებები, რომლებზეც ნათლად ვლინდებოდა ხორკლების კონტურები. სხვადასხვა ფორმის ხორკლების განაწილების ანალიზი ხდებოდა დენდრიტის იმ 15 მკმ-იან მონაკვეთ(ებ)ზე, სადაც ითვლებოდა ხორკლების საერთო რაოდენობა. ის ხორკლები, რომელთა ფორმა არ იდენტიფიცირდებოდა, მხედველობაში არ მიიღებოდა.

ლიტერატურაში არსებული მონაცემების მიხედვით (De Simoni et al. 2003; Matsuo et al. 2008 და von Bohlen und Halbach 2009) (სურ.4), დენდრიტული ხორკლები დავყავით 5 კატეგორიად: (1) კუნძის ფორმის ხორკლები, რომელთა ყელის დიამეტრი უტოლდება ხორკლის მთლიან სიგრძეს; (2) წვრილი ხორკლები, რომლებშიც მკაფიოდ გამოირჩევა თავის ნაწილი, ხორკლის სიგრძე აღემატება ყელის დიამეტრს, ხოლო თავის და ყელის დიამეტრები თითქმის ერთნაირია; (3) ფილოპოდიები, რომლებიც წვრილი ხორკლების მსგავსია, მაგრამ არ გააჩნიათ მკაფიოდ გამოხატული თავი; (4) სოკოს ფორმის ხორკლები, რომელთა თავის დიამეტრი ბევრად (≈ 2 -ჯერ) აღემატება ყელის დიამეტრს; (5) დატოტვილი ხორკლები, რომელთაც გააჩნიათ ორი (იშვიათად მეტი) განშტოება, და კარგად გამოხატული ერთი (ძირითადი/მთავარი) ღერძი.



De Simoni et al. (2003)



von Bohlen und Halbach (2009)

სურ.4 ჰიპოკამპის დენდრიტული ხორკლების ფორმები: სოკოს ფორმის, წვრილი, კუნძულის ფორმის, დატოტვილი ხორკლები და ფილოპოდები De Simoni et al. (2003) და von Bohlen und Halbach (2009) მიხედვით.

3.1.7. სტატისტიკური ანალიზი.

ხორკლების ძვრადობაზე ფაქტორების (კაინის მჟავას კონცენტრაცია და კაინის მჟავას ზემოქმედების დრო) შესაძლო ეფექტის გამოსავლენად, გამოყენებული იყო SPSS კომპიუტერული პროგრამა. მიღებული რაოდენობრივი მონაცემების ანალიზი ხდებოდა ცალმხრივი ANOVA-ს საშუალებით. სარწმუნო ეფექტის შემთხვევაში, ჯგუფებს შორის განსხვავება ვლინდებოდა სტუდენტის t -ტესტის საშუალებით. განსხვავება ითვლებოდა სარწმუნოდ, თუ $p < 0.05$. მონაცემები წარმოდგენილია, როგორც საშუალო $\pm$ საშუალოს სტანდარტული გადახრა (SEM).

დენდრიტული ხორკლების საერთო და ცალკეული ფორმის ხორკლების რაოდენობაზე ფაქტორების (კაინის მჟავას კონცენტრაცია და კაინის მჟავას ზემოქმედების დრო) ეფექტის გამოსავლენად, გამოყენებული იყო ორ-ფაქტორიანი ANOVA, ხოლო მონაცემთა დისპერსიულობის ტოლობის დასადგენად - Levene-ის

ტესტი. ჯგუფებს შორის შედარება ჩატარდა პოსტ ჰოკის შეფეს ტესტით (Post Hoc, Sheffe Test). ეს ტესტი ასევე იძლევა ცალკეული დამოუკიდებელი ცვლადების (კონცენტრაცია და დრო) ჯგუფებს შორის განსხვავებათა ერთმნიშვნელოვან სურათს.

3.2. ელექტრონულ-მიკროსკოპული კვლევა

3.2.1. ცხოველები.

ელექტრონულ-მიკროსკოპული კვლევისთვის გამოყენებული იყო ვისტარის ხაზის მამრი ზრდასრული თეთრი ვრითაგვები (P85-90), წონით 280-300 გ. ექსპერიმენტის განმავლობაში ცხოველები იმყოფებოდნენ ვივარიუმის კონტროლირებად გარემოში (ტემპერატურა 20-22 °C, ნესტიანობა - 55-60%, სინათლე 07.30 -19.30). საკვები და წყალი მიეწოდებოდათ შეუზღუდავად. ექსპერიმენტების პროტოკოლი დამტკიცებული იყო ი. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრის ცხოველებზე კვლევების ჩატარების კომიტეტის მიერ.

3.2.2. ეპილეფსიური სტატუსის გამოწვევა.

ექსპერიმენტულ ცხოველებს (8 ვირთაგვა) ინტრაპერიტონეულად უკეთდებოდათ ფიზიოლოგიური ხსნარის ინექცია, ხოლო 30-წუთიანი ინტერვალის შემდეგ – ფიზიოლოგიურ ხსნარში გახსნილი კაინის მჟავას (10 მგ/კგ) (Sigma Aldridge) ინექცია. ეპილეფსიური სტატუსის მქონედ მივიჩნევდით იმ ცხოველებს, რომლებსაც კაინის მჟავას ინექციიდან 10 საათის განმავლობაში უვითარდებოდათ განმეორებითი, კრუნჩხვები (Tuunanen et al. 1996). ელექტრონულ-მიკროსკოპულ კვლევაში მხოლოდ ასეთ ცხოველებს ვიყენებდით.

საკონტროლო ცხოველებს (5 ვირთაგვა) ინტრაპერიტონეულად უკეთდებოდათ მხოლოდ ფიზიოლოგიური ხსნარის ინექცია. არც ერთ საკონტროლო ცხოველს კრუნჩხვები არ განუვითარდა.

მასალას ვიღებდით კაინის მჟავას შეყვანიდან 14 დღის შემდეგ. ასეთი ვადის არჩევა ეფუძნებოდა ჩვენს ჰისტოლოგიურ კვლევას, რომლის თანახმად, დროის აღნიშნულ წერტილში ჰიპოკამპის სხვადასხვა ველებში განსაკუთრებით (სარწმუნოდ) მცირდებოდა პირამიდული ნეირონების და ინტერნეირონების რაოდენობა (Kotaria et al. 2013). ვინაიდან ნეირონების ასეთი ცვლილებები განსაკუთრებით გამოხატული CA1 ველში იყო, ელექტრონულ-მიკროსკოპულ კვლევაშიც CA1 ველზე შევჩერდით.

3.2.3. პერფუზია და მასალის დამუშავება.

საკონტროლო და ექსპერიმენტული ცხოველების პერფუზია ხდებოდა ინტრაკარდიალურად, პენტობარბიტალის ინექციის ქვეშ (100 მგ/კგ): თავდაპირველად 0,9% NaCl-ით, შემდეგ კი 0.1 M PB -ზე დამზადებული 4% პარაფორმალდეჰიდის და 2,5% გლუტარალდეჰიდის ხსნარით (500 მლ, pH-7.4, პერფუზიის წნევა - 120 მმ Hg). თავის ტვინს თავის ქალადან ვიღებდით და ვათავსებდით იგივე ფიქსატორში, 12 საათით. ფიქსაციის შემდეგ, ჰემისფეროების ქსოვილიდან მზადდებოდა ჰიპოკამპის შემცველი 400 მიკრონის სისქის კორონალური ანათომები. ანათომები ირეცხებოდა 0.1M PB-ში და ინახებოდა 0.1 M PB-ზე დამზადებულ 2.5%-იან გლუტარალდეჰიდის ხსნარში. შემდეგ ეტაპზე ანათომები ირეცხებოდა 0.1 M PB-ში, ფიქსირდებოდა ორი საათის განმავლობაში 1%-იან ოსმიუმის ტეტროქსიდში და ისევ ირეცხებოდა 0.1 M PB-ში. პოსტფიქსაციის შემდეგ, ოპტიკური მიკროსკოპის Leica MM AF-ის გამოყენებით, კორონალურ ანათომებზე ვახდენდით ჰიპოკამპის იდენტიფიცირებას და მის იზოლაციას; ჰიპოკამპის შემცველ ქსოვილის უმცირესი ნაჭრები გადაგვქონდა მზარდი კონცენტრაციის ეთანოლსა და აცეტონში და ვაყალიბებდით არალდიტში. არალდიტში ჩაყალიბებული მასალისგან Reichert-ის ფირმის ულტრამიკროტომზე მზადდებოდა 50-75 ნმ სისქის ანათომები. ანათომები გადაგვქონდა 200-დანაყოფიან სპილენძის ბადეებზე, სადაც მათ ვღებავდით ურანილ-აცეტატით და ტყვიის ციტრატით. ანათომებს ვსწავლობდით ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპების

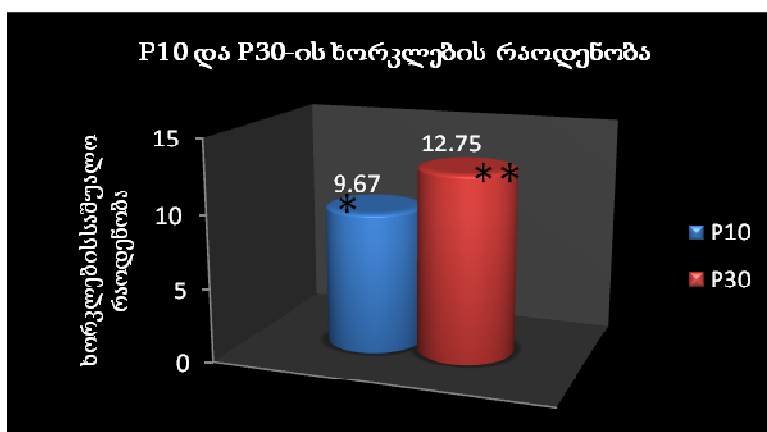
JEM 100 C (Jeol) და Tesla BS 340 საშუალებით. შესწავლილი იყო 200 ანათალი: 115 - ექსპერიმენტული და 85 - საკონტროლო ცხოველიდან.

4. შედეგები

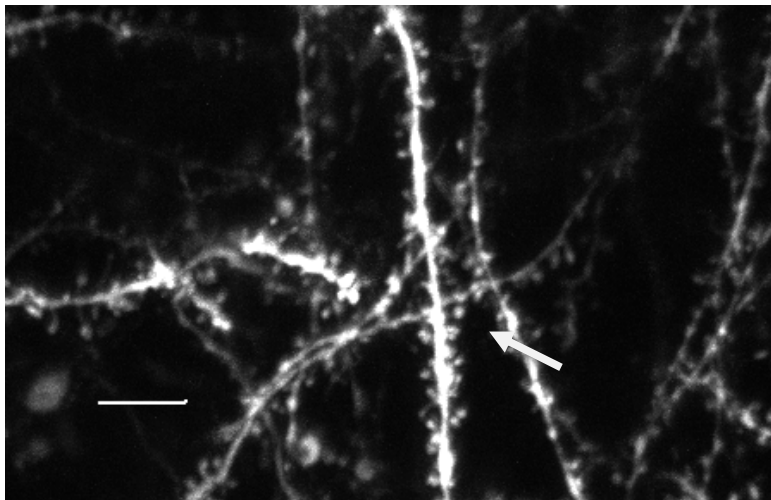
4.1. დენდრიტული ხორკლების რაოდენობა საკონტროლო მასალაში (ნორმაში)

4.1.1. დენდრიტული ხორკლების საერთო რაოდენობის ანალიზი

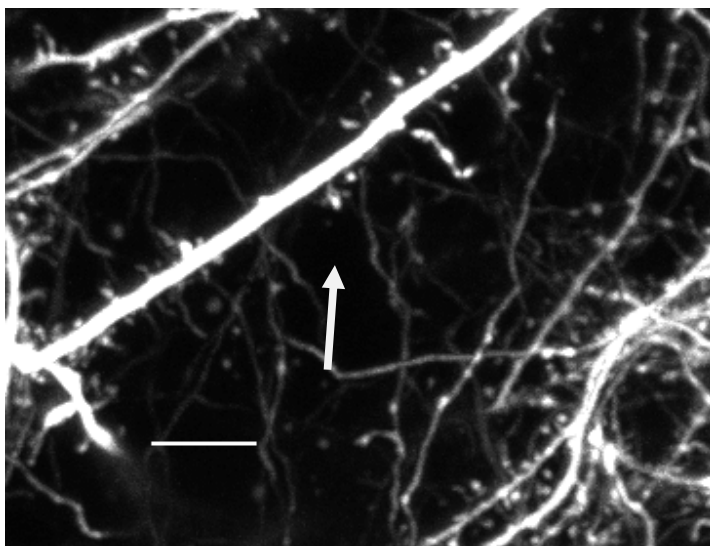
საკონტროლო მასალაში (ნორმა), P30 ცხოველებში, P10 ცხოველებთან შედარებით, სარწმუნოდ იზრდება დენდრიტული ხორკლების საერთო რაოდენობა ($P10 - 9.67 \pm 3.226$; $P30 - 12.75 \pm 3.223$; $p=0.011$) (სურ. 5 და 6).



სურ.5. P10 (ცისფერი სვეტი) და P30 (წითელი სვეტი) საკონტროლო თავგების დენდრიტული ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე.



A)



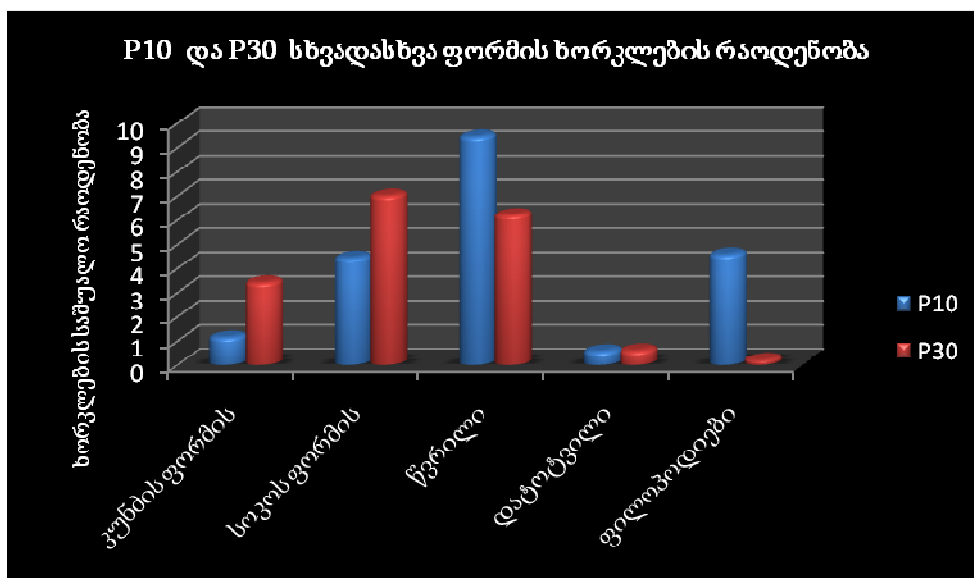
B)

სურ. 6. (A) P30 და (B) P10 საკონტროლო თაგვების დენდრიტები. ხორკლების რაოდენობა სარწმუნოდ იზრდება P30 თაგვებში P10 თაგვებთან შედარებით (ნორმაში); $p=0.011$; მასშტაბი = 7.5 მკმ.

4.1.2. დენდრიტული ხორკლების სხვადასხვა ფორმების რაოდენობრივი ანალიზი

საკონტროლო P30 ცხოველებში, P10 ცხოველებთან შედარებით, სარწმუნოდ იზრდება კუნძულის ფორმის ხორკლების რაოდენობა (P10 – 1.14 ± 1.345 ; P30 – 3.40 ± 1.517 ; $p=0.021$)

(სურ.4) და მცირდება ფილოპოდიების რიცხვი ($P10 = 4.57 \pm 3.259$; $P30 = 0.20 \pm 0.447$; $p=0.015$) (სურ. 5). გამოვლინდა ასევე სოკოს ფორმის ($P10 = 4.43 \pm 2.573$; $P30 = 7.00 \pm 3.317$; $p=0.16$) და დატოტვილი ხორკლების ($P10 = -0.57 \pm 0.787$; $P30 = 0.60 \pm 0.894$; $p=0.954$) არასარწმუნო ზრდა და წვრილი ხორკლების არასარწმუნო შემცირება ($P10 = -9.43 \pm 4.429$; $P30 = 6.20 \pm 2.864$; $p=0.186$) (სურ. 7).



სურ.7. კუნძულის ფორმის, სოკოს ფორმის, დატოტვილი, წვრილი ხორკლების და ფილოპოდიების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე; ცისფერი სვეტი – P10 საკონტროლო თავგები, წითელი სვეტი – P30 საკონტროლო თავგები. კუნძულის ფორმის ხორკლების რაოდენობა სარწმუნოდ იზრდება P30-ში, P10-თან შედარებით ($p=0.021$); ფილოპოდიების რაოდენობა სარწმუნოდ მცირდება P30-ში, P10-თან შედარებით ($p=0.015$).

ამგვარად: ამგვარად, ნორმაში, ასაკთან ერთად, ხორკლების რაოდენობა სარწმუნოდ იზრდება. ასეთი ცვლილება კუნძულის ფორმის ხორკლების რიცხვის სარწმუნო ზრდის ხარჯზე ხდება. პარალელურად, სარწმუნოდ მცირდება ფილოპოდიების რიცხვი.

4.2. კაინის მჟავას ეფექტი დენდრიტული ხორკლების რაოდენობაზე

4.2.1. დენდრიტული ხორკლების საერთო რაოდენობის ანალიზი

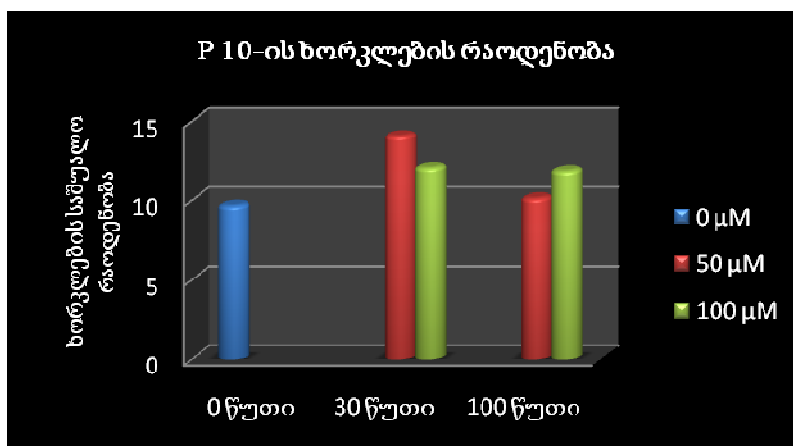
კაინის მჟავას ზემოქმედების შედეგად, ორივე ასაკის (P10 და P30) ცხოველებში დენდრიტული ხორკლების საერთო რაოდენობა იცვლება. ასეთი ცვლილებები ასაკდამოკიდებულია. კერძოდ:

4.2.1.1. P10 ცხოველები

P10 ცხოველებში დენდრიტული ხორკლების საერთო რაოდენობაზე სარწმუნო ეფექტს ახდენს კაინის მჟავას ზემოქმედების დრო ($p=0.002$). კერძოდ: 30-წუთიანი ზემოქმედების შემთხვევაში, ხორკლების საერთო რაოდენობა, კონტროლთან შედარებით, იზრდება ($50 \mu\text{M}$ კაინის მჟავას შემთხვევაში – 14.08 ± 3.059 ; $100 \mu\text{M}$ კაინის მჟავას შემთხვევაში – 12.08 ± 2.620 ; კონტროლის შემთხვევაში – 9.67 ± 3.226 ; $p=0.000$). ამასთანავე, 100-წუთიანი ზემოქმედებისას, დროის 30-წუთიან წერტილთან შედარებით, მათი რაოდენობა სარწმუნოდ შემცირებულია ($50 \mu\text{M}$ კაინის მჟავას შემთხვევაში – 10.13 ± 1.963 ; $100 \mu\text{M}$ კაინის მჟავას შემთხვევაში – 11.88 ± 2.754 ; $p=0.011$) (თუმცა კონტროლთან შედარებით, მაინც არასარწმუნოდ გაზრდილია – $p=0.261$).

ასეთი ცვლილებები კაინის მჟავას კონცენტრაციაზე დამოკიდებული არ არის, ანუ, კაინის მჟავას კონცენტრაციის ფაქტორის გავლენა ხორკლების საერთო რაოდენობაზე არასარწმუნოა ($p=0.848$). კერძოდ, საკონტროლო მასალასთან შედარებით, $50 \mu\text{M}$ კაინის მჟავას ზეგავლენით, ხორკლების საერთო რიცხვი არასარწმუნოდ იზრდება ($p=0.51$), ხოლო $100 \mu\text{M}$ კაინის მჟავას შემთხვევაში – $50 \mu\text{M}$ კონცენტრაციასთან შედარებით, უმნიშვნელოდ მცირდება ($p=0.674$). თუმცა კონტროლთან შედარებით სარწმუნოდ გაზრდილია ($p=0.005$).

გარდა ამისა, გამოვლინდა ფაქტორების (კონცენტრაცია და დრო) ზეგავლენა სარწმუნოა ($p=0.005$) (სურ. 8).



სურ. 8. P10 თაგვების დენდრიტული ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 50 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; კაინის მჟავით მოქმედებისას ხორკლების რაოდენობა იზრდება კონტროლთან შედარებით; სარწმუნო ეფექტს ახდენდს კაინის მჟავას ზემოქმედების დრო ($p=0.002$); კაინის მჟავას კონცენტრაციის ფაქტორის გავლენა არასარწმუნოა ($p=0.848$).

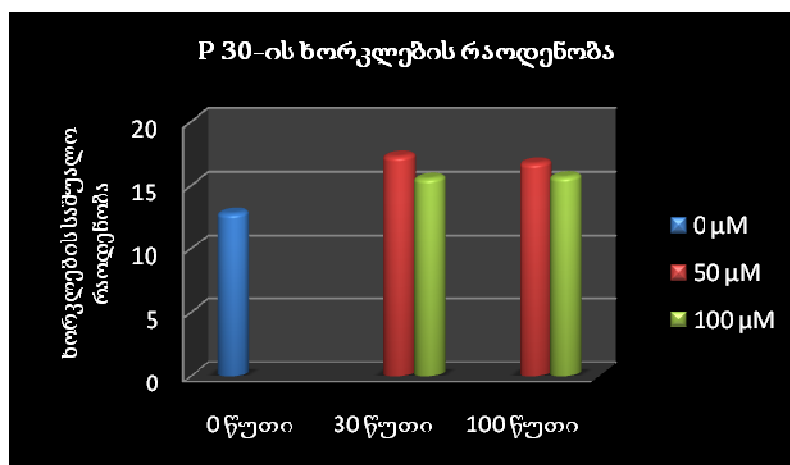
4.2.1.2. P30 ცხოველები

P10 ცხოველებისგან განსხვავებით, P30 ცხოველებში ხორკლების საერთო რაოდენობაზე სარწმუნო გავლენას კაინის მჟავას კონცენტრაციის ფაქტორი ახდენს ($p=0.050$). კერძოდ, კონტროლთან შედარებით, 50 μM კაინის მჟავას დამატებისას, ხორკლების რაოდენობა სარწმუნოდ იზრდება (30-წუთიანი ინკუბაციის შემთხვევაში – 17.23 ± 3.450 ; 100-წუთიანი ინკუბაციის შემთხვევაში – 16.70 ± 2.386 ; კონტროლი – 12.75 ± 3.223 ; $p=0.000$). ხორკლების რიცხვი ასევე სარწმუნოდ გაზრდილია კაინის მჟავას 100 μM კონცენტრაციის შემთხვევაშიც (30 წუთიანი ინკუბაციის შემთხვევაში – 15.53 ± 4.125 ; 100 წ.-ნი ინკუბაციის შემთხვევაში – 15.65 ± 2.661 ; $p=0.035$) (თუმცა 50 μM კონცენტრაციასთან შედარებით, მაინც არასარწმუნოდ შემცირებულია: $p=0.096$).

აღსანიშნავია, რომ ასეთი ასაკის ცხოველებში სარწმუნო ეფექტს კაინის მჟავას ორივე კონცენტრაცია ზემოქმედების ხანგრძლივობისგან დამოუკიდებლად ახდენს;

სხვაგვარად რომ ვთქვათ, ამ ჯგუფის თავგებში კაინის მჟავას ზემოქმედების ხანგრძლივობა ხორკლების საერთო რაოდენობაზე არასარწმუნო ეფექტს ახდენს ($p=0.770$). კერძოდ, როგორც 30-წუთიანი, ასევე 100-წუთიანი ზემოქმედებისას, ხორკლების რაოდენობა, კონტროლთან შედარებით, სარწმუნოდ იზრდება ($p=0.001$ და $p=0.007$); ამასთანავე, 100-წუთიანი ზემოქმედებისას, 30-წუთიან ზემოქმედებასთან შედარებით, ხორკლების რაოდენობა არასარწმუნოდ შემცირებულია ($p=0.682$).

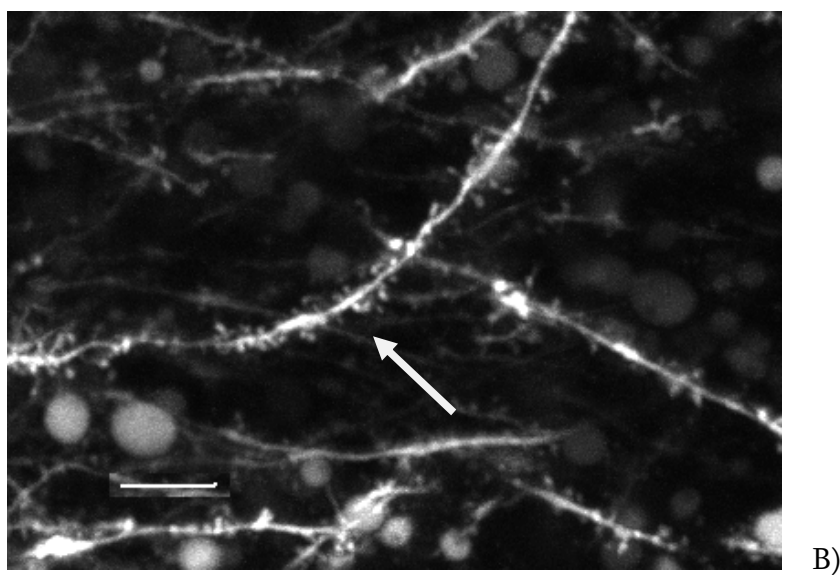
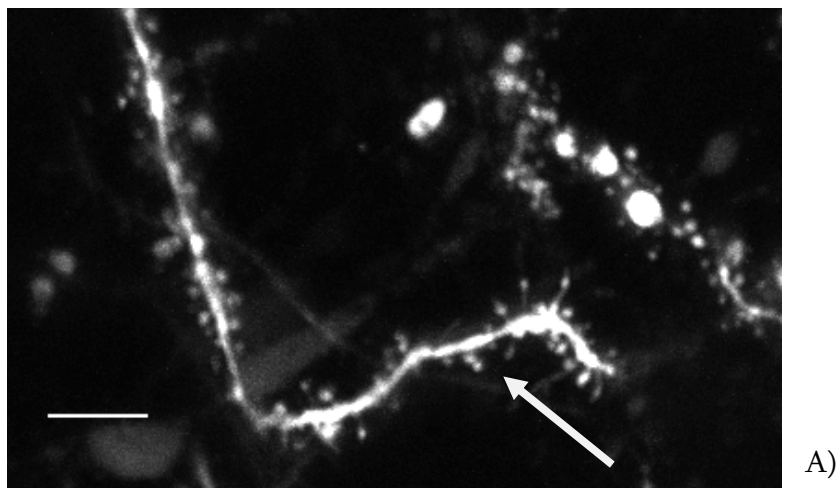
ამ ჯგუფის ცხოველებში ფაქტორების (კონცენტრაცია და დრო) ურთიერთზეგავლენა არასარწმუნოა ($p=0.641$) (სურ.9).



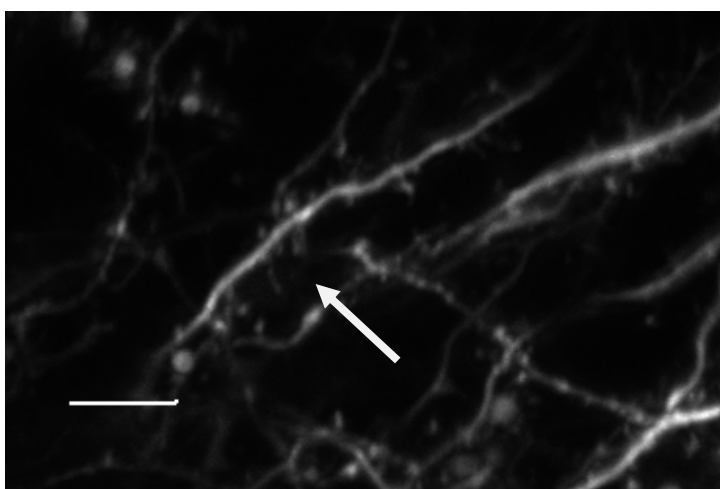
სურ. 9. P30 თავგების დენდრიტული ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (CMF-PBS-ში ინკუბირებული ანათლები); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 50 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; კაინის მჟავით მოქმედებისას ხორკლების რაოდენობა იზრდება კონტროლთან შედარებით; სარწმუნო ეფექტს ახდენს კაინის მჟავას კონცენტრაცია ($p=0.050$); კაინის მჟავას ზეგავლენის დროის ფაქტორის გავლენა არასარწმუნოა ($p=0.770$).

ამგვარად: ჩვენი მონაცემების თანახმად, სხვადასხვა ასაკის ცხოველების ხორკლები კაინის მჟავაზე განსხვავებულად რეაგირებენ: P10 თავგებში რაოდენობრივი ცვლილებები კორელირებს კაინის მჟავას ზემოქმედების ხანგრძლივობასთან, და არა

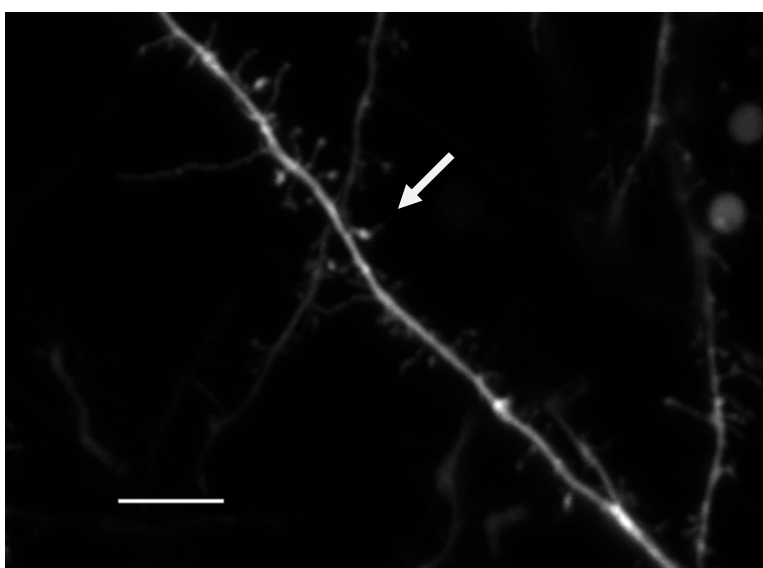
კონცენტრაციასთან, ხოლო P30 თაგვებში, პირიქით - ცვლილებები კორელაციაშია კონცენტრაციის, და არა დროის ფაქტორთან (სურ. 10 და 11).



სურ. 10. დენდრიტული ხორკლები P30 თაგვის CA1 ველის ანათალებზე: (A) საკონტროლო მასალა, (B) 100 წუთის განმავლობაში 100 μ M კაინის მჟავას კონცენტრაციით დამუშავებული ანათალი. კაინის მჟავას ზემოქმედებისას ხორკლების რაოდენობა სარწმუნოდ იზრდება, კონტროლთან შედარებით. მასშტაბი = 7.5 მკმ.



A)



B)

სურ. 11. დენდრიტული ხორკლები P10 თაგვის CA1 ველის ანათალებზე: (A) საკონტროლო მასალა, (B) 30 წუთის განმავლობაში 100 μ M კაინის მჟავას კონცენტრაციით დამუშავებული ანათალი. კაინის მჟავას ზემოქმედებისას ხორკლების რაოდენობა სარწმუნოდ იზრდება, კონტროლთან შედარებით. მასშტაბი = 7.5 მკმ.

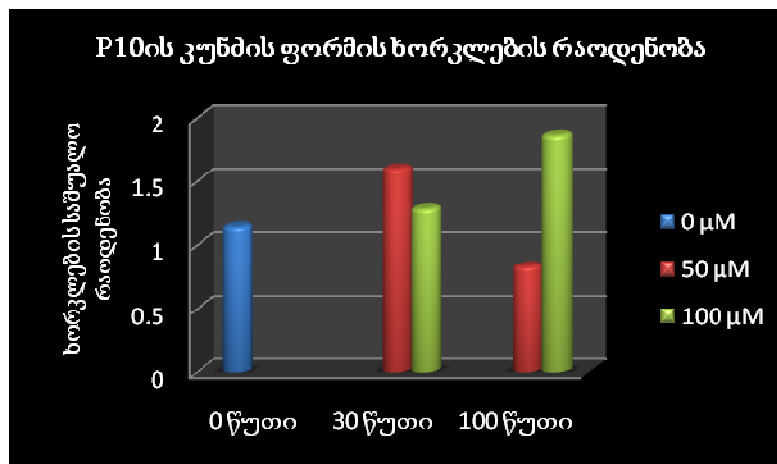
4.2.2. დენდრიტული ხორკლების სხვადასხვა ფორმების რაოდენობრივი ანალიზი

4.2.2.1. კუნძის ფორმის ხორკლები

4.2.2.1.1. P10 ცხოველები

P10 ცხოველებში კუნძის ფორმის ხორკლებზე კაინის მჟავა არასარწმუნო ეფექტს ახდენს ($p > 0.05$). კერძოდ, კონტროლთან შედარებით, აღინიშნა მათი არასარწმუნო მატება: 50 μM კონცენტრაციის შემთხვევაში - 30-წუთიანი ზემოქმედებისას (1.6 ± 1.342), ხოლო 100 μM კონცენტრაციის შემთხვევაში - როგორც 30-, ასევე 100 წუთიანი ზემოქმედებისას (1.29 ± 0.951 და 1.86 ± 2.340) (კონტროლი - 1.14 ± 1.345). ხორკლების რაოდენობა არასარწმუნოდ შემცირდა 50 μM კონცენტრაციის 100 წუთით ზემოქმედებისას (0.83 ± 0.753).

არასარწმუნო იყო ასევე ფაქტორების (კონცენტრაცია და დრო) ურთიერთზეგავლენა ($p = 0.273$) (სურ.12).



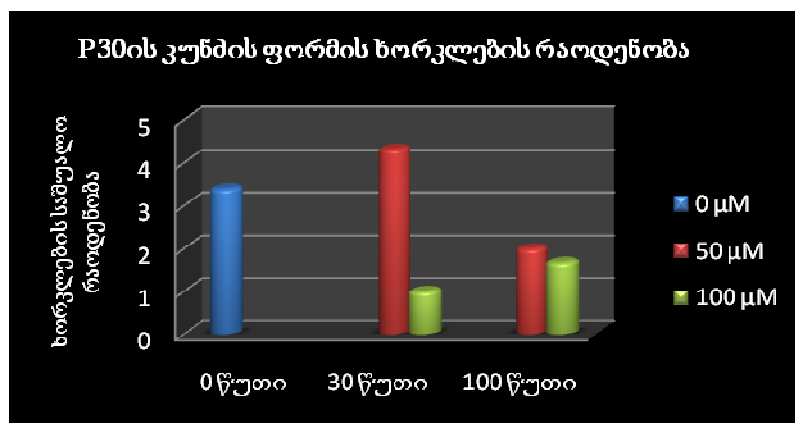
სურ. 12. P10 თაგვების კუნძის ფორმის ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 50 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; კაინის მჟავით მოქმედებისას

ხორკლების რაოდენობა იზრდება კონტროლთან შედარებით, თუმცა არასარწმუნოდ, როგორც კონცენტრაციის ($p=0.558$), ასევე, ზემოქმედების დროის ფაქტორის შემთხვევაში ($p=0.872$).

4.2.2.1.2. P30 ცხოველები

P10 ცხოველებისგან განსხვავებით, P30 ცხოველებში კუნძის ფორმის ხორკლების რაოდენობა, კაინის მჟავას დამატებისას, სარწმუნოდ მცირდება; სარწმუნო გავლენას კაინის მჟავას კონცენტრაციის ფაქტორი ახდენს ($p=0.043$). კერძოდ, კონტროლთან შედარებით (3.40 ± 1.517), ხორკლების რაოდენობა მცირდება: 50 μM კაინის მჟავას 100 წუთიანი ზემოქმედებისას (2.00 ± 2.098), ხოლო 100 μM კაინის მჟავას შემთხვევაში, როგორც 30–წუთიანი (1.00 ± 1.549), ასევე; 100–წუთიანი ინკუბაციის დროს (1.67 ± 1.366), კონტროლთან შედარებით (3.40 ± 1.517). ამასთანავე, 50 μM კაინის მჟავას 30 წუთით დამატებისას, ხორკლების რაოდენობის არასარწმუნო გაზრდა აღინიშნა (4.33 ± 3.266), კონტროლთან შედარებით ($p > 0.05$). ორივე ეფექტი ზემოქმედების ხანგრძლივობაზე დამოკიდებული არ არის (ანუ კაინის მჟავას ზემოქმედების დრო კუნძის ფორმის ხორკლების რაოდენობაზე არასარწმუნოდ მოქმედებს) ($p=0.341$).

ექსპერიმენტული ფაქტორების (კონცენტრაცია და დრო) ურთიერთზეგავლენა ამ ჯგუფში არასარწმუნოა ($p=0.093$) (სურ. 13).



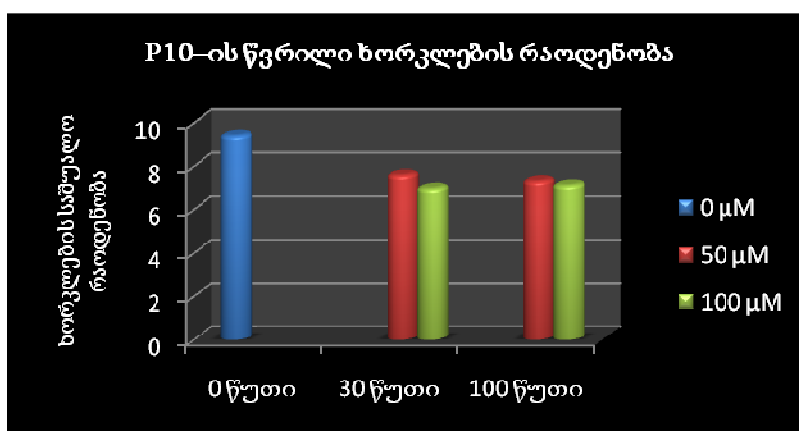
სურ. 13. P30 თაგვების კუნძის ფორმის ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 50 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; კაინის მჟავით მოქმედებისას ხორკლების რაოდენობა მცირდება კონტროლთან შედარებით; სარწმუნო ეფექტს ახდენდს კაინის მჟავას კონცენტრაცია ($p=0.043$); კაინის მჟავას ზეგავლენის დროის ფაქტორის გავლენა არასარწმუნოა ($p=0.341$).

4.2.2.2. წვრილი ხორკლები

4.2.2.2.1. P10 ცხოველები

P10 ცხოველებში წვრილი ხორკლების რაოდენობაზე კაინის მჟავას კონცენტრაციის და დროის ფაქტორების ეფექტი არასარწმუნოა ($p=0.831$ და $p=0.973$, შესაბამისად). კერძოდ, კონტროლთან შედარებით (9.43 ± 4.429), მათი რაოდენობა არასარწმუნოდ მცირდება კაინის მჟავას, როგორც 50 μM (30–წუთიანი ინკუბაცია - 7.60 ± 5.177 ; 100–წუთიანი ინკუბაცია - 7.33 ± 4.179), ასევე 100 μM (30–წუთიანი ინკუბაცია - 7.00 ± 5.164 ; 100–წუთიანი ინკუბაცია - 7.14 ± 3.805) კონცენტრაციების გამოყენებისას. ამასთანავე, 50 μM კონცენტრაციასთან შედარებით, 100 μM კონცენტრაციის 30- და 100 წუთით ზემოქმედებისას, ხორკლების რაოდენობა კიდევ უფრო მცირდება ($p>0.05$).

ექსპერიმენტული ფაქტორების (კონცენტრაცია და დრო) ურთიერთზეგავლენა ამ ჯგუფში არასარწმუნოა ($p=0.912$) (სურ. 14).

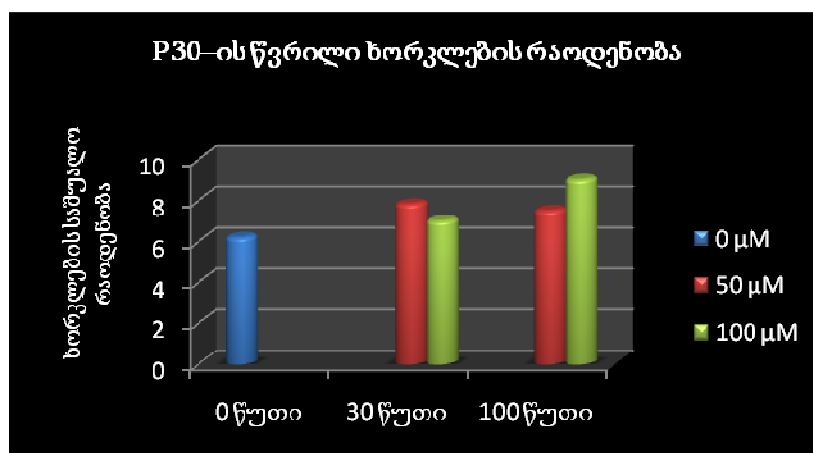


სურ.14. P10 თავგების წვრილი ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 50 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; კაინის მჟავით მოქმედებისას ხორკლების რაოდენობა მცირდება კონტროლთან შედარებით; არასარწმუნო ეფექტს ახდენენ კაინის მჟავას როგორც კონცენტრაციის, ასევე, ზეგავლენის დროის ფაქტორები ($p=0.831$ და $p=0.973$, შესაბამისად).

4.2.2.2. P30 ცხოველები

P30 ცხოველებში წვრილი ხორკლების რაოდენობაზე კონცენტრაციის და დროის ფაქტორების ზეგავლენა არასარწმუნოა ($p=0.864$ და $p=0.669$, შესაბამისად). კონტროლთან შედარებით (6.20 ± 2.864), მათი რიცხვის არასარწმუნო ზრდა აღინიშნა კაინის მჟავას, როგორც 50 μM (30–წუთიანი ინკუბაცია – 7.83 ± 6.494 ; 100–წუთიანი ინკუბაცია – 7.50 ± 5.468), ასევე 100 μM (30–წუთიანი ინკუბაცია – 7.00 ± 0.894 ; 100–წუთიანი ინკუბაცია – 9.00 ± 5.215) გამოყენებისას. ამასთანავე, კაინის მჟავას 100 μM კონცენტრაციის შემთხვევაში, ხორკლების რაოდენობა იზრდება უფრო მეტად, ვიდრე 50 μM კონცენტრაციის შემთხვევაში ($p > 0.05$).

ექსპერიმენტული ფაქტორების (კონცენტრაცია და დრო) ურთიერთზეგავლენა ამ ჯგუფში არასარწმუნოა ($p=0.550$) (სურ. 15).



სურ. 15. P30 თავგების წვრილი ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 50 μ M კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μ M კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; კაინის მჟავით მოქმედებისას ხორკლების რაოდენობა იზრდება კონტროლთან შედარებით; არასარწმუნო ეფექტს ახდენენ კაინის მჟავას როგორც კონცენტრაციის, ასევე, ზეგავლენის დროის ფაქტორები ($p=0.864$ და $p=0.669$, შესაბამისად).

4.2.2.3. სოკოს ფორმის ხორკლები

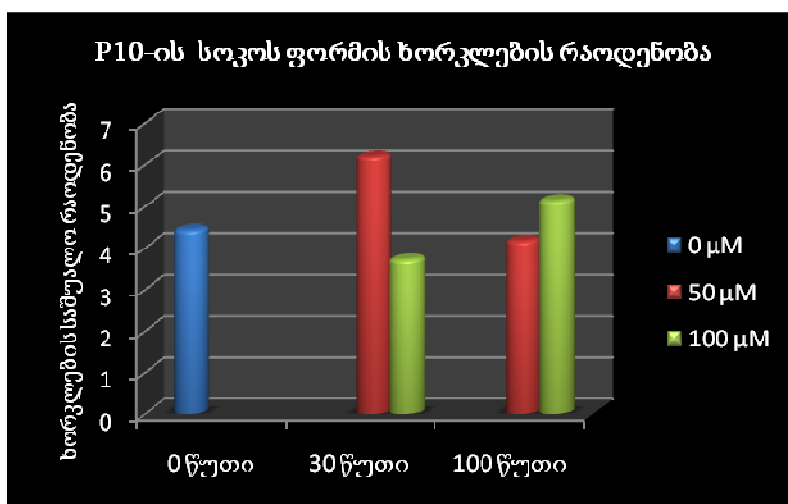
4.2.2.3.1. P10 ცხოველები

4.2.2.3.2. P30 ცხოველები

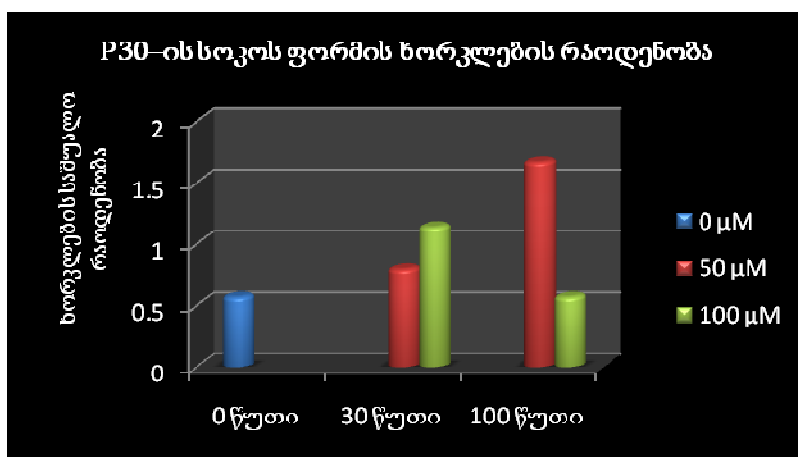
ორივე ასაკობრივ ჯგუფში, კაინის მჟავას ზემოქმედებაზე საპასუხოდ, სოკოს ფორმის ხორკლების რაოდენობის თითქმის მსგავსი ცვლილებები გამოვლინდა. კერძოდ, ორივე შემთხვევაში კაინის მჟავას კონცენტრაციის და ზემოქმედების ხანგრძლივობის ფაქტორების გავლენა არასარწმუნოა (P10: $p=0.482$ და $p=0.777$; P 30-ში: $p=0.176$ და $p=0.575$, შესაბამისად). ასევე: ორივე ჯგუფში, კონტროლთან შედარებით (P10 – 4.43 ± 2.573 ; P30 – 7.00 ± 3.317) ხორკლების რაოდენობა იზრდება 50 μ M კაინის მჟავას 30-წუთიანი ზემოქმედებისას (P10 – 6.20 ± 4.438 ; P30 – 9.33 ± 6.976) და მცირდება 100-წუთიანი ზემოქმედების დროს (P10 – 4.17 ± 1.835 ; P30 – 6.83 ± 1.941) ($p>0.05$).

თავის მხრივ, კაინის მჟავას 100 μ M კონცენტრაციის შემთხვევაში, კონტროლთან შედარებით, ხორკლების რაოდენობა მცირდება: 30-წუთიანი ზემოქმედებისას - ორივე ასაკში (P10-ში - 3.71 ± 1.604 , P30-ში - 5.50 ± 2.510), 100-წუთიანი ზემოქმედებისას - P30 ასაკობრივ ჯგუფში (6.17 ± 2.714 ; $p>0.05$). ამასთანავე, P10 ასაკობრივ ჯგუფში, 100 μ M კაინის მჟავას 100-წუთიანი მოქმედებისას, ხორკლების რაოდენობა, კონტროლთან შედარებით, პირიქით, იზრდება (5.14 ± 2.410 ; $p>0.05$).

ექსპერიმენტული ფაქტორების (კონცენტრაცია და დრო) ურთიერთგავლენა ორივე ჯგუფში არასარწმუნოა (P10 – $p=0.114$; P30 – $p=0.336$) (სურ.16).



A)



B)

სურ. 16. სოკოს ფორმის ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე (A) P10 და (B) P30 თავებში; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 50 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; ხორკლების რაოდენობის ცვლილებებზე არასარწმუნო ეფექტს ახდენენ კაინის მჟავას როგორც კონცენტრაციის, ასევე, ზეგავლენის დროის ფაქტორები (P10-ში: $p=0.482$ და $p=0.777$, შესაბამისად; P30-ში: $p=0.176$ და $p=0.575$, შესაბამისად).

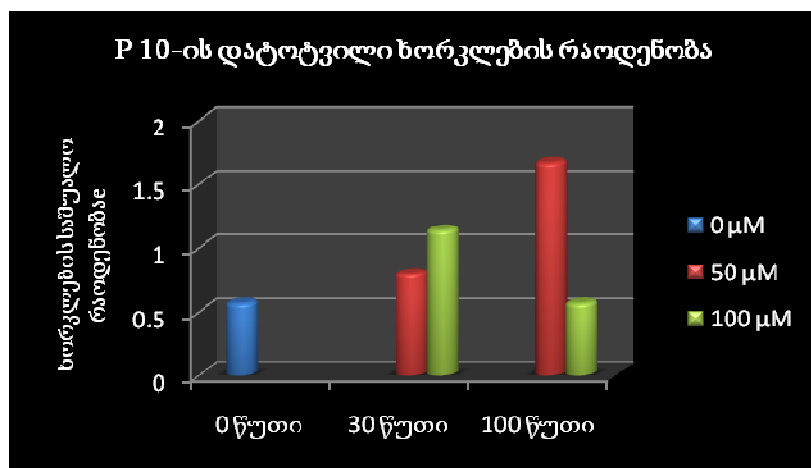
4.2.2.4. დატოტვილი ხორკლები

4.2.2.4.1. P10 ცხოველები

ამ ჯგუფის ცხოველებში კაინის მჟავას ზემოქმედებისას, დატოტვილი ხორკლების რაოდენობა იცვლება. კონცენტრაციის ფაქტორის და დროის ფაქტორის ზეგავლენა

არასარწმუნოა ($p=0.403$ და $p=0.741$, შესაბამისად). $50 \mu\text{M}$ კაინის მჟავას დამატებისას, საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით (0.57 ± 0.787), ხორკლების რაოდენობა იზრდება, როგორც 30-წუთიანი (0.80 ± 1.304), ასევე, 100-წუთიანი ზემოქმედებისას (1.67 ± 1.033) ($p>0.05$). თავის მხრივ, $100 \mu\text{M}$ კონცენტრაციის 30 წუთით ზემოქმედების შემთხვევაში, ხორკლების რაოდენობა იზრდება, როგორც კონტროლთან (1.14 ± 1.215), ასევე $50 \mu\text{M}$ / 30 წთ-იან წერტილთან შედარებით. თავის მხრივ, იგივე კონცენტრაციის 100-წუთიანი ზემოქმედებისას, ხორკლების რიცხვი კონტროლთან შედარებით, არ იცვლება (0.57 ± 1.134). 30 წთ-იანი ზემოქმედებისას, ხორკლების რაოდენობა იზრდება (ორივე კონცენტრაციის შემთხვევაში), კონტროლთან შედარებით; ის ასევე იზრდება 100 წთ-იანი ზემოქმედების შემთხვევაშიც (30-იან დროის წერტილთან შედარებით) $50 \mu\text{M}$ მოქმედებისას.

ექსპერიმენტული ფაქტორების (კონცენტრაცია და დრო) ურთიერთგავლენა ამ ჯგუფში არასარწმუნოა ($p=0.116$) (სურ. 17).



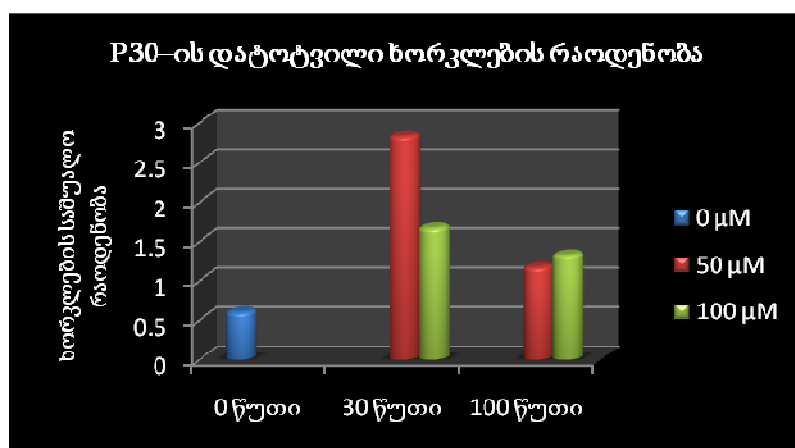
სურ. 17. P10 თავგების დატოტვილი ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული $50 \mu\text{M}$ კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული $100 \mu\text{M}$ კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; კაინის მჟავით მოქმედებისას ხორკლების რაოდენობა იზრდება კონტროლთან შედარებით (გარდა $100 \mu\text{M}$ /100წ. წერტილის, სადაც

ხორკლების რაოდენობა არ იცვლება, კონტროლთან შედარებით); არასარწმუნო ეფექტს ახდენენ კაინის მჟავას როგორც კონცენტრაციის, ასევე, ზეგავლენის დროის ფაქტორები ($p=0.403$ და $p=0.741$, შესაბამისად).

4.2.2.4.2. P30 ცხოველები

P30 ცხოველებში კაინის მჟავას ზეგავლენით, დატოტვილი ხორკლების რაოდენობა იცვლება. კონცენტრაციის ფაქტორის და დროის ფაქტორის ზეგავლენა ამ ჯგუფში არასარწმუნოა ($p=0.429$ და $p=0.120$, შესაბამისად). ხორკლების რაოდენობა $50 \mu\text{M}$ კონცენტრაციის დამატებისას, იზრდება (30-წუთიანი ინკუბაციის შემთხვევაში – 2.83 ± 2.041 ; 100-წუთიანი ინკუბაციის შემთხვევაში – 1.17 ± 1.169), ხოლო $100 \mu\text{M}$ კონცენტრაციის შემთხვევაში მცირდება (30-წუთიანი ინკუბაციის შემთხვევაში – 1.67 ± 1.862 ; 100-წუთიანი ინკუბაციის შემთხვევაში – 1.33 ± 1.211) ($p>0.05$), თუმცა კონტროლთან შედარებით, მაინც გაზრდილია (0.60 ± 0.894) ($p>0.05$). 30 წთ-იანი ზემოქმედებისას, ხორკლების რაოდენობა იზრდება, ხოლო 100 წთ-იანი ზემოქმედების შემთხვევაში, 30 წთ-იან ზემოქმედებასთან შედარებით, მცირდება, მაგრამ გაზრდილი რჩება კონტროლთან შედარებით ($p>0.05$).

ექსპერიმენტული ფაქტორების (კონცენტრაცია და დრო) ურთიერზეთგავლენა ამ ჯგუფში არასარწმუნოა ($p=0.294$) (სურ. 18).



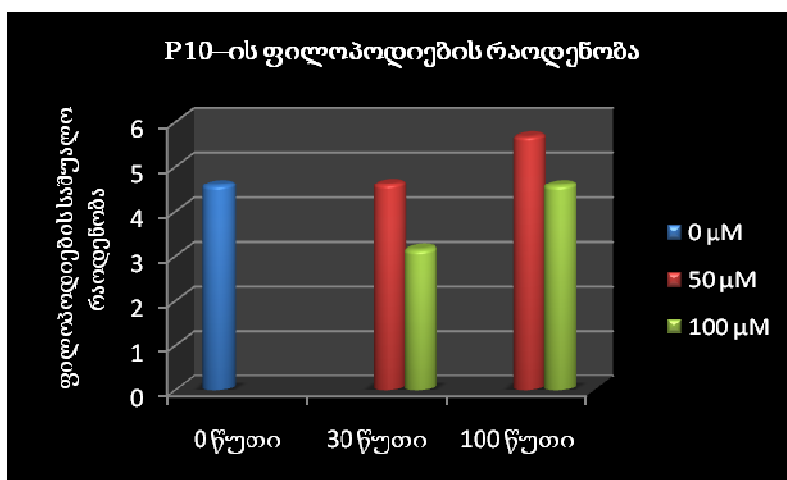
სურ. 18. P30 თაგვების დატოტვილი ხორკლების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 50 μ M კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μ M კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; კაინის მჟავით მოქმედებისას ხორკლების რაოდენობა იზრდება კონტროლთან შედარებით; არასარწმუნო ეფექტს ახდენენ კაინის მჟავას როგორც კონცენტრაციის, ასევე, ზეგავლენის დროის ფაქტორები ($p=0.429$ და $p=0.120$, შესაბამისად).

4.2.2.5. ფილოპოდები

4.2.2.5.1. P10 ცხოველები

აღნიშნულ ჯგუფში კაინის მჟავას ზემოქმედებით, ფილოპოდიების რაოდენობა იცვლება. კონცენტრაციის ფაქტორის და დროის ფაქტორის ზეგავლენა არასარწმუნოა ($p=0.281$ და $p=0.292$, შესაბამისად). ფილოპოდიების რაოდენობა იზრდება კაინის მჟავას 50 μ M დამატების შედეგად (30–წუთიანი ინკუბაციის შემთხვევაში – 4.60 ± 4.037 ; 100–წუთიანი ინკუბაციის შემთხვევაში – 5.67 ± 3.266) და მცირდება 100 μ M კონცენტრაციის 30–წუთიანი ინკუბაციის შედეგად (3.14 ± 1.864); ამასთანავე, 100–წუთიანი ინკუბაციის შემთხვევაში, კონტროლთან შედარებით (4.57 ± 3.259) ხორკლების რაოდენობა არ იცვლება (4.57 ± 1.813) ($p > 0.05$). 30 წთ-იანი ზემოქმედების შემთხვევაში, ხორკლების რაოდენობა მცირდება ($p > 0.05$), ხოლო 100 წთ-იანი ზემოქმედებისას იზრდება 30 წთ-იან დროის წერტილთან შედარებით, 50 μ M კონცენტრაციის ზემოქმედებისას, ასევე, კონტროლთან შედარებით ($p > 0.05$).

ექსპერიმენტული ფაქტორების (კონცენტრაცია და დრო) ურთიერთგავლენა ამ ჯგუფში არასარწმუნოა ($p=0.877$) (სურ. 19).

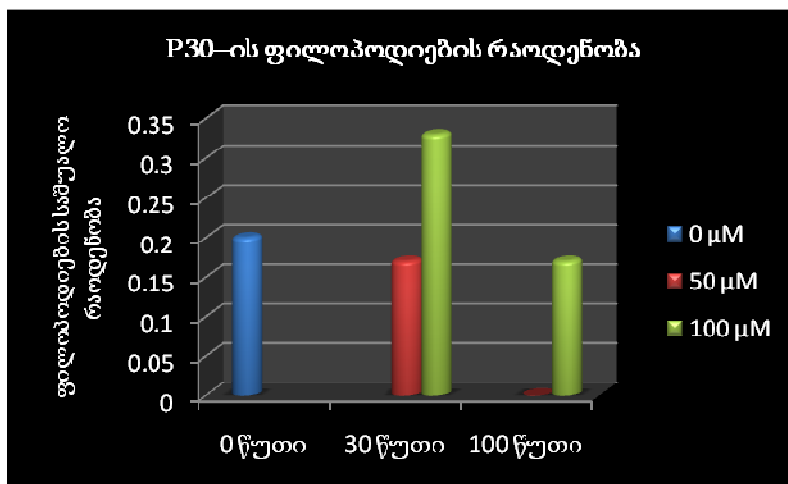


სურ. 19. P10 თავგების ფილოპოდიების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 50 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; კაინის მჟავით მოქმედებისას ფილოპოდიების რაოდენობის ცვლილებებზე არასარწმუნო ეფექტს ახდენენ კაინის მჟავას როგორც კონცენტრაციის, ასევე, ზეგავლენის დროის ფაქტორები ($p=0.281$ და $p=0.292$, შესაბამისად).

4.2.2.5.2. P30 ცხოველები

P30 ცხოველებში, კაინის მჟავას ზემოქმედებით, ფილოპოდიების რაოდენობა იცვლება. კონცენტრაციის ფაქტორის და დროის ფაქტორის ზეგავლენა არასარწმუნოა ($p=0.414$ და $p=0.414$, შესაბამისად). ფილოპოდიების რაოდენობა მცირდება კაინის მჟავას 50 μM კონცენტრაციის დამატებისას (30-წუთიანი ინკუბაციის შემთხვევაში – 0.17 ± 0.408 ; 100-წუთიანი ინკუბაციის შემთხვევაში – 0.00 ± 0.00) და იზრდება 100 μM კაინის მჟავას 30 წთ-ანი ზემოქმედებისას (0.33 ± 0.816); ამასთანავე, 100 μM კაინის მჟავას 100 წთ-ანი ინკუბაციის დროს, ფილოპოდიების რაოდენობა, კონტროლთან შედარებით (0.20 ± 0.447), მცირდება (0.17 ± 0.408) ($p > 0.05$). 30 წთ-იანი ზემოქმედების შემთხვევაში, ფილოპოდიების რიცხვი იზრდება 100 μM კონცენტრაციის შემთხვევაში და მცირდება 50 μM კონცენტრაციის გამოყენებისას, ხოლო ორივე კონცენტრაციის 100 წთ-იანი ზემოქმედებისას მცირდება, როგორც 30 წთ-იან დროის წერტილთან, ასევე კონტროლთან შედარებით ($p > 0.05$).

ექსპერიმენტული ფაქტორების (კონცენტრაცია და დრო) ურთიერთზეგავლენა ამ ჯგუფში არასარწმუნოა ($p=1.00$) (სურ.20).



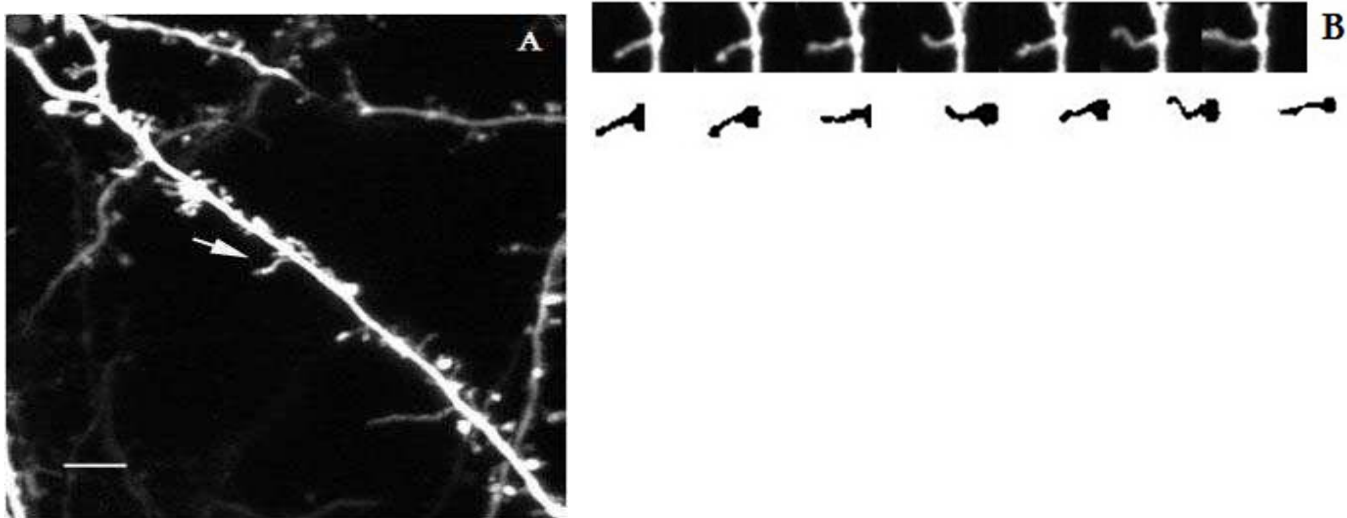
სურ. 20. P30 თაგვების ფილოპოდიების საშუალო რაოდენობა დენდრიტის 15 მკმ მონაკვეთზე; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 50 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μM კაინის მჟავით 30წ. და 100წ. განმავლობაში; კაინის მჟავით მოქმედებისას ფილოპოდიების რაოდენობის ცვლილებებზე არასარწმუნო ეფექტს ახდენენ კაინის მჟავას როგორც კონცენტრაციის, ასევე, ზეგავლენის დროის ფაქტორები ($p=0.414$ და $p=0.414$, შესაბამისად).

ამგვარად: კაინის მჟავას სხვადასხვა კონცენტრაციების განსხვავებული დროით ზემოქმედების შედეგად, დენდრიტული ხორკლების სხვადასხვა ფორმებს შორის, სარწმუნო ცვლილებები, **მხოლოდ კუნძის ფორმის ხორკლებში**, P30-ცხოველებში გამოვლინდა: კერძოდ, აღინიშნა მათი რაოდენობის სარწმუნო შემცირება. ამისგან განსხვავებით, P10-ცხოველებში კუნძის ფორმის ხორკლების რაოდენობა, პირიქით, იზრდება, თუმცა ეს მხოლოდ ტენდენციაა (სარწმუნოება არ აღინიშნა). ასევე არ არის სარწმუნო ხორკლების დანარჩენი ფორმების (წვრილი, სოკოს, დატოტვილი) და ფილოპოდიების რაოდენობრივი ცვლილებები.

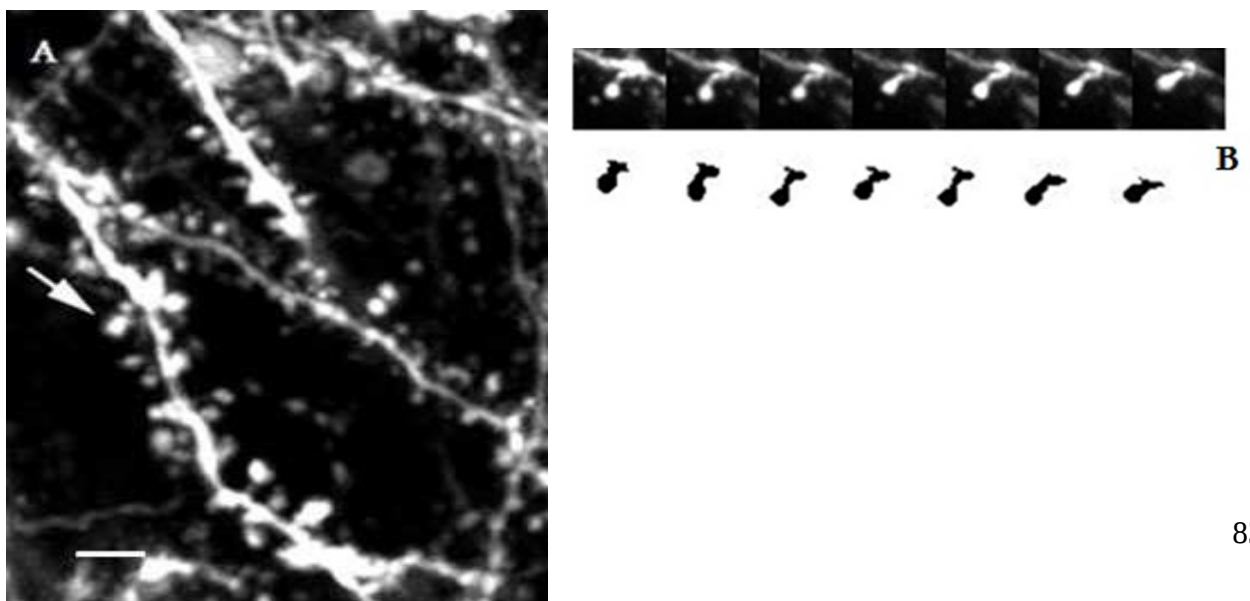
4.3. დენდრიტული ხორკლების ძვრადობა

4.3.1. ხორკლების ძვრადობის ინდექსი საკონტროლო მასალაში (ნორმაში)

ხორკლების ძვრადობის ინდექსი (თავი 3, სურ. 2) განსაზღვრული იქნა პოსტნატალური განვითარების P10 და P30 სტადიებზე (სურ. 21 და 22).



სურ. 21. (A) მაღალ გადიდებაზე გადაღებული დენდრიტული ხორკლები P10 საკონტროლო თავიდან (60× ობიექტივი; გადიდება 4). “Time-lapse” გამოსახულება. ისრით აღნიშნულია ხორკლი, ძვრადობის ინდექსით 2.0. მასშტაბი = 4 მკმ. (B) “მოძრავი” ხორკლის განსაკუთრებით განსხვავებული შვიდი z - “სტეკი”.



სურ. 22. მაღალ გადიდებაზე გადაღებული დენდრიტული ხორკლები P30 საკონტროლო თაგვიდან (60× ობიექტივი; გადიდება 4). “Time-lapse” გამოსახულება. ისრით აღნიშნულია ხორკლი, ძვრადობის ინდექსით 1.6. მასშტაბი = 3 მკმ. (B)“მოძრავი” ხორკლის განსაკუთრებით განსხვავებული შვიდი z - “სტეკი”.

წინა კვლევებიდან ცნობილია, რომ ტვინის სხვადასხვა უბანში ხორკლების დინამიკა განვითარებასთან ერთად, მცირდება. ადრეული განვითარების სტადიაზე ხორკლები და ფილოპოდები ძვრადობის მაღალი ხარისხით ხასიათდებიან (რაც პრესინაფსური სამიზნეების ძეხვით აიხსნება). ჩვენს კვლევაში თითოეული შემთხვევისთვის (საკონტროლო და ექსპერიმენტული ჯგუფები) გაზომილი იქნა 80 ხორკლი (8–10 უჯრედი). როგორც მოსალოდნელი იყო, საკონტროლო P30 თაგვებში, საკონტროლო P10 თაგვებთან შედარებით, ხორკლების ძვრადობის სარწმუნო შემცირება გამოვლინდა ($p=0.01$). კერძოდ, ძვრადობის ინდექსი P10 თაგვებში 0.8780 ± 0.2196 -ს შეადგენდა, ხოლო P30 თაგვებში - 0.7286 ± 0.2110 -ს (სურ. 23). ასეთი შედეგების თანახმად, განვითარების შედარებით გვიან სტადიაზე, ადრეულ სტადიასთან შედარებით, ხორკლების ძვრადობის ინდექსი 15%-ით მცირდება.

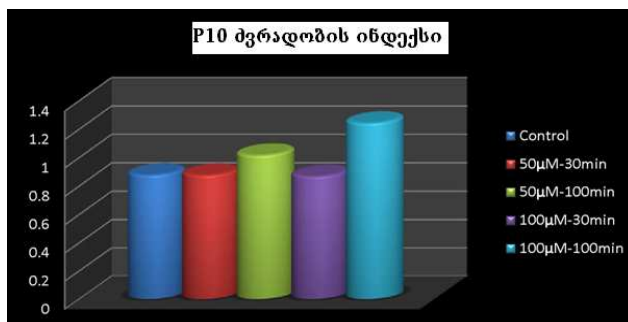


სურ.23. P10 და P30 თაგვების ხორკლების ძვრადობის ინდექსის დიაგრამა; საკონტროლო ჯგუფები (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); 80 ხორკლი (10 უჯრედიდან) თითოეულ ჯგუფში; ცისფერი სვეტი – P10; წითელი სვეტი – P30; ხორკლების ძვრადობა მნიშვნელოვნად შემცირებულია P10 თაგვებში ($p=0.01$).

4.3.2. კაინის მჟავას ეფექტი ხორკლების ძვრადობაზე

4.3.2.1. P10 ცხოველები

სხვადასხვა ასაკობრივ ჯგუფებში გამოვლინდა კაინის მჟავას განსხვავებული ეფექტი. კერძოდ, ხორკლების ძვრადობის მნიშვნელოვანი ცვლილებები აღინიშნა P10 თაგვებში; აღნიშნული ეფექტი, მეტწილად, ზემოქმედების ხანგრძლივობაზეა (და არა კაინის მჟავას კონცენტრაციაზე) დამოკიდებული ($p=0.003$). კონტროლთან შედარებით (0.8780 ± 0.2196), ხორკლების ძვრადობა განსაკუთრებით იზრდება 100 μM კაინის მჟავას 100-წუთიანი ინკუბაციის დროს ($p=0.002$) (1.2429 ± 0.5823) ($p=0.002$) (სურ. 24).



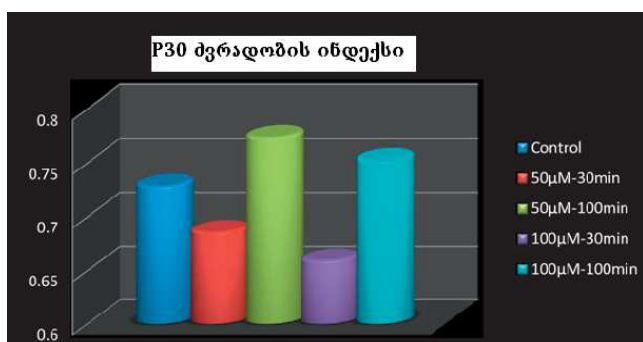
სურ.24. P10 თაგვების ხორკლების ძვრადობის ინდექსის დიაგრამა; 80 ხორკლი (8–10 უჯრედიდან) თითოეულ ჯგუფში; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 50 μM კაინის მჟავით 30წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 50 μM კაინის მჟავით 100წ. განმავლობაში; იისფერი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μM კაინის მჟავით 30წ. განმავლობაში; ღია ცისფერი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μM კაინის მჟავით 100წ. განმავლობაში; ხორკლების ძვრადობის ინდექსი მნიშვნელოვნადაა გაზრდილი 100 μM კაინის მჟავით 100წ. განმავლობაში დამუშავებულ ანათლებში, კონტროლთან შედარებით ($p=0.002$).

საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით, ამ ჯგუფში ძვრადობის ინდექსი 41.5%-ით იზრდება; ხორკლების ძვრადობა ასევე იზრდება კაინის მჟავას 50 μM -ს კონცენტრაციით, 100-წთ-იანი ზემოქმედებისას (1.0167 ± 0.3187), თუმცა ასეთი ცვლილება სტატისტიკურად სარწმუნო არ არის. გარდა ამისა, ხორკლების ძვრადობის

ნაკლებად მნიშვნელოვანი ცვლილებები, კერძოდ, მისი არასარწმუნო შემცირება, აღინიშნა კაინის მჟავას ორივე კონცენტრაციის 30-წთ-იანი ზემოქმედებისას ($50 \mu\text{M}$ კონცენტრაციის შემთხვევაში - 0.8767 ± 0.2897 ; $100 \mu\text{M}$ კონცენტრაციის შემთხვევაში - 0.8683 ± 0.319) (სურ.24).

4.3.2.2. P30 ცხოველები

ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, P30 ცხოველებში სინაფსოგენეზუ დასასრულს უახლოვდება, ხოლო ხორკლების დიდი ნაწილი უკვე სტაბილურია. P10 თავგებთან შედარებით, ასეთ ცხოველებში ხოცლების ძვრადობაზე კაინის მჟავას ეფექტი რამდენადმე განსხვავებულია. კერძოდ, კონტროლთან შედარებით (0.7286 ± 0.2110), კაინის მჟავას $50 \mu\text{M}$ (0.6857 ± 0.2043) და $100 \mu\text{M}$ (0.659 ± 0.2285) კონცენტრაციებით 30-წუთიანი ზემოქმედების შემთხვევაში, ხორკლების ძვრადობა, კონტროლთან შედარებით მცირდება (სურ. 25). გარდა ამისა, კაინის მჟავას $50 \mu\text{M}$ და $100 \mu\text{M}$ კონცენტრაციების 100-წუთიანი ზემოქმედების შემთხვევაში, ხორკლების ზრდა, კონტროლთან შედარებით, მნიშვნელოვანია, მაგრამ, არასარწმუნო (0.7738 ± 0.2490 და 0.7524 ± 0.1784 , შესაბამისად) ($p=0.15$; $p=0.66$) (სურ. 25).



სურ. 25. P30 თავგების ხორკლების ძვრადობის ინდექსის დიაგრამა; 80 ხორკლი (8–10 უჯრედიდან) თითოეულ ჯგუფში; ცისფერი სვეტი – კონტროლი (ანათლები ინკუბირდებოდა CMF-PBS-ში); წითელი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული $50 \mu\text{M}$ კაინის მჟავით 30წ. განმავლობაში; მწვანე სვეტი – ანათლები, დამუშავებული $50 \mu\text{M}$ კაინის მჟავით 100წ. განმავლობაში; იისფერი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული

100 μ M კაინის მჟავით 30წ. განმავლობაში; ღია ცისფერი სვეტი – ანათლები, დამუშავებული 100 μ M კაინის მჟავით 100წ. განმავლობაში; ხორკლების ძვრადობის ინდექსი მნიშვნელოვნადაა გაზრდილი 100 μ M კაინის მჟავით 100წ. განმავლობაში დამუშავებულ ანათლებში, 100 μ M კაინის მჟავით 30წ. განმავლობაში დამუშავებულ ანათლებთან შედარებით ($p=0.04$).

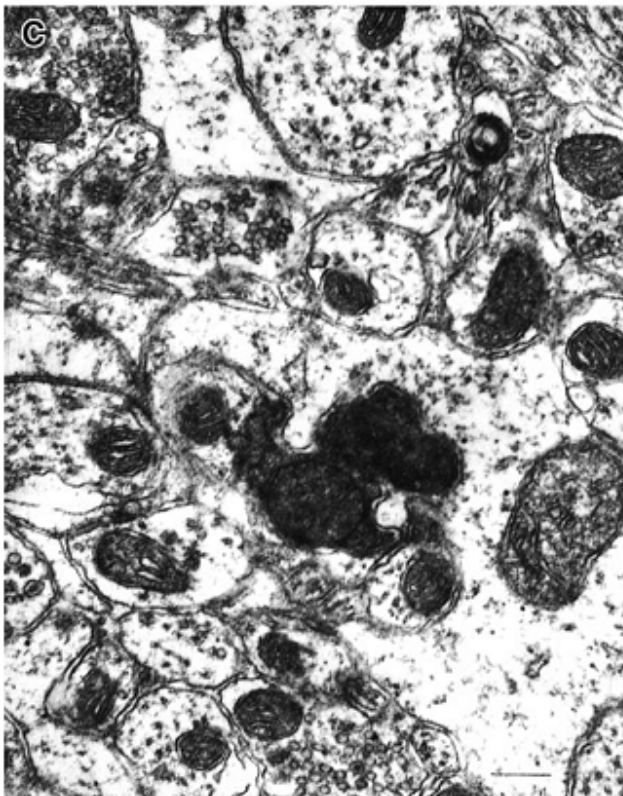
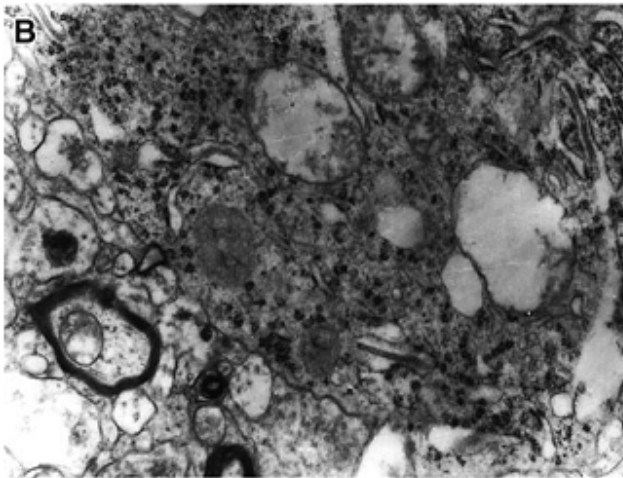
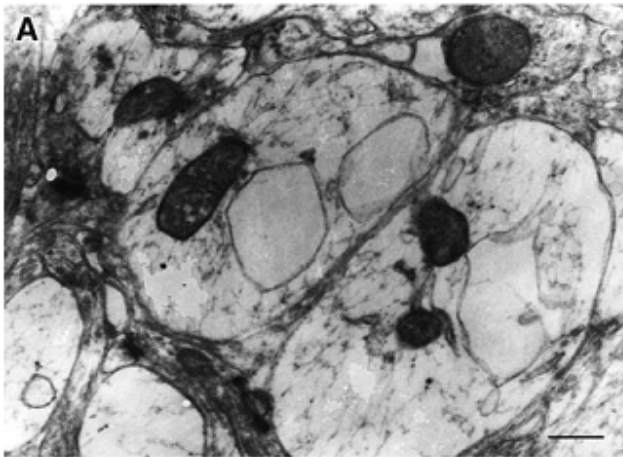
ამგვარად: კაინის მჟავას სხვადასხვა კონცენტრაციების სხვადასხვა ხანგრძლივობით ზემოქმედების შედეგად, დენდრიტული ხორკლების ძვრადობის სარწმუნო ცვლილება, კერძოდ, მატება, გამოვლინდა მხოლოდ P10 ცხოველებში. ეს ეფექტი დადებით კორელაციაშია, როგორც კონცენტრაციის, ასევე ზემოქმედების ხანგრძლივობის ზრდასთან. კაინის მჟავის ხანგრძლივი ზემოქმედებისას (100 წთ) ხორკლების ძვრადობა იცვლება P30 ჯგუფში, თუმცა ასეთი ცვლილება სარწმუნო არ არის.

4.4. ელექტრონულ-მიკროსკოპული კვლევის შედეგები.

კაინის მჟავას ზემოქმედების შედეგად, ცვლილებები უჯრედების დაახლოებით 30%-ია. ულტრასტრუქტურული მახასიათებლებით, მათი აბსოლუტური უმრავლესობა პირამიდული ნეირონებია. პერიკარიონში, ფართო დენდრიტებში და სინაფსურ დაბოლოებებში განსაკუთრებით ხშირად მიტოქონდრიების დარღვევები გამოვლინდა. კერძოდ, აღინიშნა მიტოქონდრიები დაზიანებული ან ერთეული კრისტებით, ზომიერად გაჯირჯებული მიტოქონდრიები, მნიშვნელოვნად ვაკუოლიზირებული ფორმები, ერთეულ შემთხვევებში კი, მიტოქონდრიული მემბრანის მთლიანობის დარღვევები. სხვა უჯრედების ციტოპლაზმაში ენდოპლაზმური ბადის ცისტერნები ზომიერად ან მნიშვნელოვნად გაჯირჯებულია. ციტოპლაზმაში ვლინდებიან ასევე ვაკუოლები; რიგ შემთხვევებში ისინი ციტოპლაზმის საკმაოდ დიდ ტერიტორიას იკავებენ. ასეთი ვაკუოლები შეიძლება წარმოადგენდნენ სრულად ვაკუოლიზირებულ ორგანოებს (მიტოქონდრიებს ან ენდოპლაზმური ბადის კომპონენტებს), თუმცა ასევე შეიძლება ადგილი ჰქონდეს უჯრედში წყლის მეტაბოლიზმის მოშლას, რაც თავისთავად ციტოპლაზმაში ვაკუოლების წარმოქმნასთან ასოცირდება. ზოგიერთ ნეირონში

ციტოპლაზმას ოსმიოფილობა ზომიერად მომატებულია. ბირთვების უმრავლესობას ნორმალური აღნაგობა აქვს, თუმცა რიგი ბირთვების ულტრასტრუქტურა შეცვლილია. კერძოდ, ასეთ ბირთვებში აღინიშნა ქრომატინის ზომიერი, ირეგულარული, დისპერსიული გროვები ან ბირთვული მემბრანის ინვაგინაციები; რიგ შემთხვევებში, ერთ ბირთვში რამოდენიმე ასეთი ინვაგინაციაა, მათ შორის, საკმაოდ გრძელი. იშვიათად ვლინდებოდა მაღალოსმიოფილური უსწორმასწორო პროფილები (შეუქცევადად დეგენერირებული პრესინაფსური დაბოლოებები ან დეგრადირებული ნეირონების ოსმიოფილური ნარჩენები), ნაწილობრივად ან სრულად გარშემორტყმული პროლიფერირებული ასტროგლიით (სურ. 26). შედარებით ხშირი იყო გაჯირჯებული დენდრიტული ღეროები ან დენდრიტები ვარიკოზული გაფართოებებით. ზოგიერთ მათგანში აღინიშნებოდა დენდრიტული მილაკების დეზორგანიზაცია ან მათი რაოდენობა მნიშვნელოვნად შემცირებული იყო. აქსო-დენდრიტული სინაფსები ასეთ დენდრიტებზე იშვიათი იყო. აღინიშნა ასევე მცირერიცხოვანი მაღალოსმიოფილური უფორმო წარმონაქმნები, ნაწილობრივად ან სრულად შემოსაზღვრული ასტროციტების გამონაზარდებით. ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, ასეთი წარმონაქმნები ნეკროზის ტიპით გადაგვარებულ ნეირონებს ან გადაგვარებულ პრესინაფსურ ტერმინალებს წარმოადგენენ. ზოგიერთ აქსონის მიეღინის გარსი ზომიერად დაზიანებული იყო. ვლინდებოდა ასევე ასტროციტების პროლიფერაცია - გამონაზარდები, რომლებიც ნაწილობრივ ან სრულად (იშვიათად) ფარავდნენ ასქონების, დენდრიტების ან სომატურ პროფილებს. სინაფსებს შორის შედარებით ხშირია აქსო-დენდრიტული და აქსო-ხორკლოვანი ფორმები აქტიურ ზონასთან კონცენტრირებული მრავალრიცხოვანი სინაფსური ვეზიკულებით. ამასთანავე, საკონტროლო მასალასთან შედარებით, გაცილებით იშვიათი იყო პოროსომები - პრესინაფსურ მემბრანაზე არსებული სპეციფიური აღნაგობის თასისმაგვარი სტრუქტურები სინაფსური ვეზიკულებით ან ვეზიკულების გარეშე - „საიტები“, რომლებსაც სეკრეტის - ნეიროტრანსმიტერის გამოყოფის პროცესში ტრანზიტულად ერწყმიან სინაფსური ვეზიკულები (Cho et al. 2004, 2011; Jena 2009).

ექსპერიმენტულ მასალაში აღინიშნებოდა სხვადასხვა ფორმის ხორკლები. ამასთანავე, შედარებით ხშირი იყო ჰიპოკამპის პირამიდული ნეირონებისთვის დამახასიათებელი ხორკლები გრძელი და ვიწრო ყელით და ოდნავ გაფართოებული თავით - ზოგიერთ შემთხვევებში, კარგად წარმოდგენილი ხორკლის აპარატით (ერთი ან რამოდენიმე ცისტერნა და ან მცირე ზომის ვაკუოლები).



სურ. 26. (A) ორი დენდრიტული ღერო დიდი ზომის ვაკუოლებით ჰიპოკამპის CA1 ველში; ფიზიოლოგიური ხსნარისა და კაინის მჟავის შეყვანიდან 14 დღის შემდეგ. $\times 25,000$ (მასშტაბი = 0.4 მკმ). (B) დაზიანებული მიტოქონდრიები და ენდოპლაზმური ბადის გაჯირჯებული ცისტერნები ჰიპოკამპის CA1 ველში; ფიზიოლოგიური ხსნარისა და კაინის მჟავის შეყვანიდან 14 დღის შემდეგ. $\times 25,000$ (მასშტაბი = 0.4 მკმ). (C) დეგენერირებული პრესინაფსური დაბოლოება, ნაწილობრივად გარშემორტყმული ასტროციტის მორჩებით ჰიპოკამპის CA1 ველში; ფიზიოლოგიური ხსნარისა და კაინის მჟავის შეყვანიდან 14 დღის შემდეგ. $\times 25,000$ (მასშტაბი = 0.4 მკმ).

5. მონაცემების განსჯა

ჩატარებული კვლევის შედეგად, მიღებული იქნა შემდეგი მონაცემები:

1. საკონტროლო მასალაში, განვითარებასთან ერთად, სარწმუნოდ იზრდება დენდრიტული ხორკლების საერთო რაოდენობა და ასევე სარწმუნოდ მცირდება ფილოპოდიების რაოდენობა.
2. საკონტროლო მასალაში, განვითარებასთან ერთად, ხორკლების ცალკეულ ტიპებს შორის, სარწმუნოდ მხოლოდ კუნძის ფორმის ხორკლების რაოდენობა იზრდება. ამგვარად, ხორკლების საერთო რაოდენობის მატება კუნძის ფორმის ხორკლების რაოდენობის მატებით უნდა იყოს განპირობებული.
3. საკონტროლო მასალაში, განვითარებასთან ერთად, სარწმუნოდ მცირდება ხორკლების ძვრადობის ხარისხი.
4. კაინის მჟავას სხვადასხვა კონცენტრაციების განსხვავებული დროით ზემოქმედების შედეგად, დენდრიტული ხორკლების სხვადასხვა ფორმებს შორის, სარწმუნოდ მხოლოდ კუნძის ფორმის ხორკლები იცვლებიან. კერძოდ, P30-ცხოველებში მათი რაოდენობა სარწმუნოდ მცირდება. ამისგან განსხვავებით, P10-ცხოველებში მათი რაოდენობა, პირიქით, იზრდება, თუმცა ეს მხოლოდ ტენდენციაა (სარწმუნოება არ

აღინიშნება). არ არის ასევე სარწმუნო ხორკლების დანარჩენი ფორმების (წვრილი, სოკოს, დატოტვილი) რაოდენობრივი ცვლილებებიც.

5. განვითარების სხვადასხვა სტადიაზე მყოფი ცხოველების დენდრიტული ხორკლები კაინის მჟავას ზემოქმედებაზე განსხვავებულად რეაგირებენ. კერძოდ, P10 ცხოველებში ხორკლების რაოდენობრივი ცვლილებები უფრო კორელირებს კაინის მჟავას ზემოქმედების ხანგრძლივობასთან და არა მის კონცენტრაციასთან. ამის საპირისპიროდ, P30 ცხოველებში ხორკლების რაოდენობის ზრდა კორელაციაშია კონცენტრაციის, და არა ზემოქმედების ხანგრძლივობის (დროის) ფაქტორთან.
6. კაინის მჟავას სხვადასხვა კონცენტრაციების განსხვავებული ხანგრძლივობით ზემოქმედების შედეგად, დენდრიტული ხორკლების ძვრადობის სარწმუნო ცვლილება, კერძოდ, მატება, გამოვლინდა მხოლოდ P10 ცხოველებში. ეს ეფექტი დადებით კორელაციაშია როგორც კაინის მჟავას კონცენტრაციის, ასევე მისი ზემოქმედების დროის ზრდასთან. კაინის მჟავას ხანგრძლივი ზემოქმედების დროს, დენდრიტული ხორკლების ძვრადობის ზრდა, აღინიშნა P30-ცხოველებშიც, თუმცა ეს ცვლილებები სარწმუნო არ არის.
7. კაინის მჟავათი გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის გავლენით, ზრდასრული ვირთაგვას ჰიპოკამპის ნეირონის დენდრიტების და აქსო-დენდრიტული/აქსო-ხორკლოვანი სინაფსების ნატიფ აღნაგობაში მრავალმხრივი ცვლილებები აღინიშნა, ასეთი ცვლილებები ჰიპოკამპის ნეირონთაშორისი კომუნიკაციების მნიშვნელოვან მოდიფიცირებაზე მიუთითებენ.

ქვემოთ მოცემულია ამ შედეგების განხილვა.

5.1. საკონტროლო მასალა

როგორც მოსალოდნელი იყო, საკონტროლო მასალაში, განვითარებასთან ერთად (P30 ჯგუფი P10 ჯგუფთან შედარებით), ფილოპოდიების რიცხვის დაკლება და დენდრიტული ხორკლების საერთო რიცხვის სარწმუნო მატება გამოვლინდა. ასეთი

მონაცემები შესაბამისობაშია გავრცელებულ შეხედულებასთან, რომლის თანახმად, განვითარების საწყის ეტაპებზე აღმოცენებული ფილოზოდიების დიდი უმრავლესობა დენდრიტული ხორკლების წინამორბედებია (Ziv and Smith, 1996; Fiala et al., 1998; Harris, 1999): ფილოზოდიები, მათი მაღალი პლასტიკურობის გამო, რაც, პირველ რიგში, მათ მაღალ ძვრადობაში აისახება, ავლენენ უნარს იპოვონ „საკუთარი“ პრესინაფსური დაბოლოება, რის შემდეგ იქმნება სინაფსი, ფილოზოდია კი, გაცილებით სტაბილურ ხორკლში ტრანსფორმირდება. მაგრამ ფილოზოდიების გარკვეული ნაწილი „ზრდასრულ“ ნეირონებზეც აღინიშნება, ამასთანავე, „ახალგაზრდა დენდრიტების“ ფილოზოდიების მსგავსად, „ზრდასრული“ ნეირონების ფილოზოდიებიც ძვრადობის უნარს ავლენენ (თუმცა, მეტწილად, ნაკლები ხარისხით) და ამ უნარს საკმაოდ დიდი ხნის განმავლობაში ინარჩუნებენ (Oray et al., 2006). აღსანიშნავია ასევე, რომ ყველა ხორკლის წარმოქმნა ფილოზოდიების ტრანსფორმაციასთან დაკავშირებული არ არის (Engert and Bonhoeffer, 1999; Marrs et al., 2001). კერძოდ, სოკოს და ვიწრო ხორკლების ფორმების ნაწილი შეიძლება ფილოზოდიების სტადიის გარეშეც განვითარდეს. თავის მხრივ, „ახალგაზრდა“ დენდრიტების რიგი ფილოზოდიების ხორკლებად ტრანსფორმაცია შეიძლება არ მოხდეს; ასეთი ტიპის „ზრდასრულ“ დენდრიტებს გლუვი შესახედაობა გააჩნიათ (Wong et al., 2000).

ამგვარად, საკონტროლო მასალაზე გამოვლენილი, განვითარებასთან ერთად მიმდინარე, ხორკლების საერთო რაოდენობის სარწმუნო მატების ახსნა მხოლოდ ფილოზოდიების ხორკლებად ტრანსფორმირებით, ზედმეტად გამარტივებული უნდა იყოს. საჭიროა დამატებითი, სხვა მიმართულების კვლევები ასეთი ცვლილებების გამომწვევი მექანიზმების გამოსავლენად.

აღსანიშნავია, რომ ჩვენს საკონტროლო მასალაზე, განვითარების პროცესში დენდრიტული ხორკლების რაოდენობის ზრდა, ხორკლების ცალკეულ ფორმებს შორის, მხოლოდ კუნძის ტიპის ხორკლების რაოდენობის სარწმუნო ზრდასთან ასოცირდება. ასეთი შედეგი გარკვეულწილად წინააღმდეგობაშია ელექტრონული მიკროსკოპით, ასევე ორგანოტიპულ კულტურასა და მწვავე ანათლებზე მიღებულ რიგ

ლიტერატურულ მონაცემებთან, რომელთა თანახმად, ჰიპოკამპში კუნძის ფორმის ხორკლები განსაკუთრებით მრავალრიცხოვნები პოსტნატალური განვითარების საწყის სტადიებზეა (P10-14), შემდეგ კი (P21 დღისთვის) მათი რაოდენობა პროგრესულად მცირდება და ზრდასრულ ორგანიზმში, კუნძის ფორმის ხორკლები საერთო რაოდენობის მხოლოდ 10%-მდე შეადგენენ (Marrs et al. 2001); ამასთანავე, P21 ასაკის ცხოველებში თითქმის უცვლელი რჩება, ზრდასრულ ორგანიზმში კი, თითქმის ორმაგდება ხორკლების დანარჩენი ფორმების რიცხვი (De Simoni 2003). ასეთი ტიპის მონაცემებზე დაყრდნობით, ზოგიერთმა მეცნერმა გამოთქვა მოსაზრება, რომ კუნძის ფორმის ხორკლები წარმოადგენენ ხორკლების უმნიშვნელოვანეს გარდამავალ ფორმას, აუციელებელს ნეირონული ქსელის ფორმირებისთვის. მეტიც: ისინი ვარაუდობენ, რომ კუნძის ფორმის ხორკლების მნიშვნელოვანი ნაწილი „თავიან“ ხორკლებში ტრანსფორმირდება, ხოლო კიდევ ერთი ნაწილი - შეზიდული ფილოპოდია, რომლებიც განვითარების ადრეულ სტადიებზე მრავალრიცხოვნები და მაღალპლასტიურია (ძვრადობის მაღალი ხარისხით), მაგრამ თუ პოსტინაფსურ პარტნიორს ვერ პოულობენ, განიცდიან შეზიდვას, და, მეტწილად, კუნძის ფორმის ხორკლებად გადაიქცევიან (Mestrallet C.A., 2011). ამასთანავე, კუნძის ფორმის ხორკლების წარმოქმნის თაობაზე, განსხვავებული მოსაზრებებიც არსებობს. ზოგიერთი მათგანი, განსაკუთრებით საინტერესო ჩვენი მონაცემების განსჯის თვალსაზრისით, მოყვანილია ქვევით.

დენდრიტული ხორკლების მაღალპლასტიკური ბუნება კარგად არის ცნობილი. დროის უმცირეს მონაკვეთშიც კი, შესაძლებელია შეიცვალოს მათი ფორმა, მოცულობა/ზომა და/ან რაოდენობა. ასეთი პლასტიკურობის ძირითადი მიზეზი ხორკლის ციტოჩონჩხის მთავარი ცილის - აქტინის რემოდელირების სპეციფიური დინამიკაა. ამასთანავე უეჭვოა, რომ პლასტიკურობის მხრივ, ყველა ტიპის ხორკლი ერთნაირი არ არის: ხორკლის ეს თვისება დიდწილად დამოკიდებულია ხორკლის აღნაგობაზე. როგორც ლიტერატურის მიმოხილვაში აღინიშნა, არსებობს გამოხატული კორელაცია ხორკლის თავის ზომასა და სინაფსის ძალას შორის (Kasai et al, 2010);

არანაკლებ მნიშვნელოვანია ასევე ხორკლის ყელის არსებობა/არარსებობა და ამ უკანასკნელის სიგრძე. ხორკლის ასეთი ანატომია დიდწილად განაპირობებს სინაფსის პლასტიურობისთვის აუცილებელ ისეთ თავისებურებებს, როგორიცაა დიფუზიის სიჩქარე ხორკლიდან დენდრიტულ ღეროში და პირიქით (Bloodgood, Sabatini 2005; Noguchi et al. 2005), მემბრანა-დაკავშირებული ცილების ლატერალური დიფუზია (Ashby et al. 2006; Hugel et al. 2009) და სხვ. შესაბამისად, უყელო, კუნძის ფორმის ხორკლების ფუნქციური თვისებები სპეციფიური თავის და ყელის მქონე (სოკოს ფორმის და წვრილი) ხორკლების ფუნქციური თვისებებისგან განსხვავებული უნდა იყოს (Ashby et al. 2006; Honkura et al. 2008). მაგალითად, ხორკლების კუნძისმაგვარი ფორმა, მათზე ფუნქციური სინაფსების არსებობის შემთხვევაში, არ უნდა უწყობდეს ხელს პოსტსინაფსურ უბანში კალციუმის იონების კონცენტრაციის ზრდას, რაც სინაფსის პლასტიურობის აუცილებელ წინაპირობას წარმოადგენს (Bloodgood, Sabatini 2007). შესაბამისად, გარკვეულ ცვლილებებზე საპასუხოდ, კუნძის ტიპის ხორკლები, „თავიან“ ხორკლებთან შედარებით, ნაკლებად უნდა რეაგირებდნენ. ამიტომ, განიცდიან რა განვითარების პროცესში მცირე პლასტიურ ცვლილებებს (ან საერთოდ არ განიცდიან), კუნძის ფორმის ხორკლები, ძირითადად, თავისივე „სტრუქტურულ“ კატეგორიაში რჩებიან. მაგალითად, პოსტნატალური განვითარების საწყის სტადიებზე მყოფი თავის ჰიპოკამპის ცოცხალ ანათლებზე, CA1 და CA3 პირამიდულ უჯრედებზე „time-lapse“ დაკვირვებით, გამოვლინდა, რომ კუნძის ფორმის დენდრიტული ხორკლები მეტწილად საწყის მორფოლოგიურ თვისებებს ინარჩუნებენ. ამასთანავე, იგივე მასალაზე ნაჩვენები იქნა ფილოპოდების ჩქარი ტრანსფორმაცია კუნძის ფორმის ან „თავიან“ (წვრილი და სოკოს ფორმის) ხორკლებად, თუმცა იშვიათი იყო კუნძის ტიპის ხორკლების გარდაქმნა „თავის“ მქონე ხორკლებად, ან პირიქით (Parnass et al. 2000). ასეთი მონაცემების საფუძველზე, დაშვებული იქნა, რომ განვითარების ადრეულ სტადიებზე კუნძის ფორმის ხორკლების სიჭარბე ხორკლების განვითარების/წარმოქმნის (მორფოგენეზის) გარდამავალ მდგომარეობას მხოლოდ ნაწილობრივ ასახავს. ვლინდებიან რა ზრდასრულ ორგანიზმში, ისინი უნდა ჰქმნიდნენ სინაფსებს, რომელთა მიდრეკილება პლასტიურობისადმი, „თავის“ მქონე ხორკლებისგან (ზრდასრულობაში ხორკლების

განსაკუთრებით გავრცელებული ფორმა), მართალია, განსხვავებულია, მაგრამ ძირითადი სინაფსური ტრანსმისიითვის აუცილებელი (Mestrallet CA., 2011). გარდა ამისა, ცალკეულ ხორკლებზე ან დენდრიტების უბნებზე დაკვირვების შედეგად, გამოითქვა მოსაზრება, რომ „ზრდასრულ“ დენდრიტებზე არსებული, კუნძის ფორმის ხორკლების გარკვეული ნაწილი „თავის“ მქონე ხორკლების შეჭმუხვნის შედეგი უნდა იყოს (Majewska, Sur 2003), ან წარმოადგენდეს გარდამავალ სტადიას ღეროზე განლაგებულ სინაფსებსა და „თავიან“ ხორკლებს შორის (Marss et al. 2001). ასეთ შემთხვევაში კი, კუნძის ფორმის ორი ხორკლი სინამდვილეში ფუნქციურად განსხვავებული ორი ერთეული შეიძლება იყოს; ერთი მათგანი მყარია, ხოლო მეორე - გარდამავალი. თუ ასეთი მოსაზრება სწორია, მაშინ ჩვენს საკონტროლო მასალაში, განვითარებასთან ერთად გამოვლენილი მხოლოდ კუნძის ფორმის ხორკლების რაოდენობის სარწმუნო ზრდა, ნაწილობრივად მაინც განპირობებული უნდა იყოს მყარი ან გარდამავალი, ან ორივე ფუნქციურად განსხვავებული ფორმის შესაბამისი რაოდენობრივი ცვლილებებით. თუმცა ამ ეტაპზე ეს მხოლოდ ვარაუდია და ზემოთ აღნიშნული ფაქტის ახსნა ამჟამად არ შეგვიძლია. ამასთანავე, განვითარების პროცესში კუნძის ფორმის ხორკლების ზრდა სინაფსების პლასტიკურობის თვალსაზრისით, მნიშვნელოვანი ფაქტი უნდა იყოს; საჭიროა უფრო ნატიფი კვლევები ასეთი ხორკლების ყველა მახასიათებლის, მათ შორის, პლასტიკურობის და მორფოგენეზის გამოსავლენად.

5.2. კაინის მჟავას ეფექტი დენდრიტული ხორკლების რაოდენობაზე

ცნობილია, რომ ექსპერიმენტული და კლინიკური ეპილეფსიების სხვადასხვა ფორმები ჰიპოკამპში, ახალ ქერქსა და თავის ტვინის რიგ სხვა უბნებში დენდრიტების ცვლილებებს იწვევენ (იხ. თავი II: *ლიტერატურის განხილვა*). ასეთ ცვლილებებს შორის, უმნიშვნელოვანესია ხორკლების ცვლილებები. უკანასკნელ წლებში ეპილეფსიის ეფექტს დენდრიტულ ხორკლებზე განსაკუთრებულ ყურადღებას ანიჭებენ, მაგრამ მიუხედავად ამისა, სრული გაშუქებისგან საკითხი ჯერ კიდევ შორსაა.

კლასიკური ჰისტოლოგიის (გოლჯის ვერცხლით იმპრეგნაციის მეთოდი) და მაღალინფორმატული, ტექნიკურად ინოვაციური მეთოდების (კონფოკალური და მრავალფოტონიანი მიკროსკოპია) გამოყენებით, „ეპილეფსიურ დენდრიტებზე“ განსაკუთრებით ხშირად ხორკლების განლაგების სიმკვრივის შემცირება (Cruz et al. 2008; Swann 2008; Zeng et al. 2007) ვლინდება, შედარებით იშვიათად – ხორკლების მორფოლოგიის და/ან სხვა ტიპის ცვლილებები (Isokawa M., 2000).

ეპილეფსიური კრუნჩხვების შედეგად, დენდრიტული ხორკლების რაოდენობის შემცირება (რაც დენდრიტებზე მათი განლაგების სიმკვრივის შემცირებაში ვლინდება), გარკვეულწილად, პარადოქსული უნდა იყოს. ერთის მხრივ, კარგად ცნობილია, რომ ხორკლები ის მთავარი საიტებია, სადაც ნეირონზე შემოსული, ამგზნები – გლუტამატერგული შესასვლელების ძირითადი ნაწილი თავდება. შესაბამისად, ლოღიკური იქნებოდა იმის დაშვება, რომ ეპილეფსიის შედეგად, ხორკლების „დაკარგვა“ უნდა ასოცირდებოდეს შესაბამის უჯრედებზე არსებული ამგზნები სინაფსების რაოდენობის შემცირებასთან, ეს კი, თავის მხრივ, უნდა იწვევდეს ასეთი ნეირონების აგზნების შემცირებას. მაგრამ ეპილეფსიის მთავარი მახასიათებელი ნეირონების ქრონიკული ჰიპერაგზნებაა. ამგვარად, ლოგიკურია კითხვა: რით უნდა აიხსნას ეპილეფსიის დროს, ამაგზნებელი სინაფსური გადაცემის შესაძლო შემცირება ან იმ საიტების რაოდენობის დაკლება, სადაც ამაგზნებელი სინაფსების ძირითადი ნაწილი თავდება? (Swann 2008). რიგი მოსაზრებების მიუხედავად (მაგალითად, ჯერ კიდევ შედარებით ადრეულ შრომებში, კრუნჩხვითი აქტივობის შედეგად, ხორკლების რიცხვის შემცირებას უკავშირებდნენ რიგი ნეირონების მცდელობას, მოახდინონ ჭარბი ამაგზნებელი შესასვლელების კომპენსირება), ასეთი კითხვა ამჟამადც პასუხგაუცემელია.

მაგრამ, ასეთი ტიპის საკმაოდ მრავალრიცხოვანი მონაცემებისგან განსხვავებით, ჩვენი კვლევის შედეგები მიუთითებენ, რომ კაინის მჟავას ზემოქმედების შედეგად, ჰიპოკამპში ხორკლების საერთო რაოდენობა კი არ მცირდება, არამედ პირიქით, სარწმუნოდ იზრდება. ამასთანავე, გამოვლინდა, რომ ხორკლების მატება

ასაკდამოკიდებულია (ანუ „ახალგაზრდა“ და „ზრდასრული“ დენდრიტების ხორკლები განსხვავებულად რეაგირებენ: პირველ შემთხვევაში, წამყვანია კაინის მჟავათი ზემოქმედების ხანგრძლივობა, მეორე შემთხვევაში – კაინის მჟავას კონცენტრაცია). ასევე გამოვლინდა, რომ კაინის მჟავას სხვადასხვა კონცენტრაციების განსხვავებული დროით ზემოქმედების შედეგად, დენდრიტული ხორკლების სხვადასხვა ფორმებს შორის, სარწმუნო ცვლილებები (კერძოდ, რაოდენობის დაკლება) მხოლოდ კუნძის ფორმის ხორკლებში აღინიშნა. ასეთი მონაცემების განსჯა მოცემულია ქვევით.

პირველ რიგში, აღსანიშნავია, რომ სხვადასხვა ფიზიოლოგიური, ექსპერიმენტული ან პათოლოგიური პირობების ზემოქმედებით, დენდრიტებზე ხორკლების სიმკვრივის მატება დენდრიტული ცვლილებების გაცილებით იშვიათ ფორმებს განეკუთვნება, თუმცა ვლინდება X სინდრომის, მასტიმულირებელი ნივთიერებების მიღების, ფენილკეტონურიის, გამდიდრებული გარემოს, სტრესის რიგი ფორმების და ზოგიერთი სხვა ზემოქმედების დროს. არ არის ზუსტად ცნობილი, თუ რა იწვევს ყოველ კონკრეტულ შემთხვევაში დენდრიტული ხორკლების სარწმუნო მატებას, ამასთანავე, გამოთქმულია რიგი მოსაზრებები. პირველ რიგში: ცნობილია, რომ ნორმალური განვითარების დროს, ხორკლების რაოდენობა თავდაპირველად მნიშვნელოვნად იზრდება, ხოლო შემდეგ, ორგანიზმის მომწიფებასთან ერთად, ასევე მნიშვნელოვნად იკლებს. ამასთანავე, თუ განვითარებასთან დაკავშირებული ხორკლების შემცირების პროცესი გარკვეული მიზეზების გამო ირღვევა, ეს უმაღლეს და აისახოს ხორკლების რაოდენობაზე: მათი რიცხვი ან უცვლელი უნდა დარჩეს, ან უნდა გაიზარდოს (მაგალითად, ასე ხდება მხედველობის ქერქში, ოვარექტომიის დროს) (Muñoz-Cueto et al., 1990; Tang et al., 2004). ხორკლების რაოდენობის ზრდა, ასევე, შესაძლებელია, თუ გარკვეული მიზეზების გამო, ზიანდებიან ის შესასვლელები, რომლებიც რიგი, ფიზიოლოგიურად საჭირო სინაფსების სუპრესიაში მონაწილეობენ. მაგალითად, ასეთ სუპრესიაზე დიდწილად დამოკიდებულია მცოცავ ბოჭკოებს და პურკინიეს უჯრედებს შორის სწორი ურთიერთდამოკიდებულება (Mathews et al., 2012). ასევე არ გამოირიცხება (თუმცა, ჯერ-ჯერობით ვერც მტკიცდება) შესაძლებლობა, რომ სხვადასხვა

პათოლოგიურ, ექსპერიმენტულ ან ფიზიოლოგიურ პირობებზე საპასუხოდ, ხორკლების რაოდენობის ზრდა კორელირებს აქსონური შესასვლელების ზრდასთან (ანალოგიურად იმისა, რომ შესასვლელების დაკარგვა/დაზიანება ხორკლების რაოდენობის შემცირებას იწვევს) (Woolley et al., 1997). გასათვალისწინებელია ისიც, რომ ზოგიერთ შემთხვევებში, ძლიერმა პათოლოგიურმა ზემოქმედებამ შეიძლება რიგი დენდრიტების ატროფია გამოიწვიოს. ამის საპასუხოდ, დარჩენილი დენდრიტები იწყებენ მეტი ხორკლების ექსპრესიას, ვიდრე ეს ნორმაში ხდება; ხორკლების ასეთი მოჭარბებული ექსპრესია მიმართული უნდა იყოს დენდრიტების ატროფიასთან დაკავშირებული, დიდი რაოდენობით შესასვლელების დაკარგვის კომპენსაციაზე.

ეპილეფსიების შემთხვევაში, დენდრიტების გამოხატული ატროფია გამოვლინდა კლინიკურ კვლევებში, საფეთქლის წილის ეპილეფსიის დროს - მაგნიტური რეზონანსის გამოყენებით. ის ასევე წარმოადგენს გლუტამატის ანალოგის, კაინის მჟავით გამოწვეული ეპილეფსიური კრუნჩხვების უმნიშვნელოვანეს სტრუქტურულ მახასიათებელს [აღსანიშნავია, რომ აღნიშნული პათოლოგია ეპილეფსიების ყველა ფორმისთვის უნივერსალური არ არის. მაგალითად, ასეთი ფენომენი არ ვლინდება პილოკარპინით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის შემთხვევაში (Kurz et al. 2008)]. ამასთანავე, შედარებით ახალ კვლევაში, მრავალფოტონიანი მიკროსკოპის გამოყენებით, მწვანე ფლუორესცენციური ცილის მაექსპრესირებელი ზრდასრული ვირთაგვას ჰიპოკამპში, კაინის მჟავით გამოწვეული ერთსაათიანი ეპილეფსიური სტატუსის შემდეგ, აღწერილი იქნა, არა მარტო ხორკლების სიმკვრივის სარწმუნო შემცირება, არამედ ასევე რიგი დენდრიტების „მძივისმაგვარი“ აღნაგობა (Zeng et al. 2007). მართალია, დენდრიტების ასეთი ცვლილებები გარდამავალია, მაგრამ მაინც ეჭვქვეშ დგება ასეთი შეცვლილი აღნაგობის დენდრიტებზე ყველა ხორკლის გამოვლენის ფაქტი: დენდრიტების „მძივისმაგვარი“ ფორმა, შესაძლებელია, ხორკლების დაკარგვასთან კონკურირებდეს. სავარაუდოდ, ასეთი დენდრიტები „ექსაიტოტოქსიური“ დაზიანების ეფექტს წარმოადგენენ. შესაბამისად, კაინის მჟავით განპირობებული ეპილეფსიური სტატუსით გამოწვეული ხორკლების დაკარგვა, ძირითადად, კრუნჩხვების შედეგი უნდა

იყოს (Guo et al. 2012; Zeng et al. 2007; Segal 2010). ზრდასრული ვირთაგვას ჰიპოკამპში, კლასიკური ჰისტოლოგიის და ელექტრონული მიკროსკოპიის მეთოდების გამოყენებით, რიგი დენდრიტების პათოლოგიური ცვლილებები, პირამიდული უჯრედების რაოდენობის სარწმუნო შემცირების პარალელურად, კაინის მჟავას ზემოქმედებით გამოწვეული ეპილეფსიური სტატუსის განვითარებიდან რამოდენიმე საათის და დღის შემდეგ ჩვენც ავლწერეთ (Kotaria et al., 2013). ულტრასტრუქტურულ დონეზე გამოვლინდა, ერთის მხრივ, რიგი ნეირონების სრული გადაგვარება (სავარაუდოდ, ნეკროზის ტიპის) და ძლიერ გაჯირჯებული პათოლოგიური დენდრიტები (ზოგიერთ შემთხვევებში, თითქმის სრულად იზოლირებული გლიური გამონაზარდებით), მეორე მხრივ კი, ნორმალური აღნაგობის დენდრიტები სხვადასხვა ფორმის ხორკლებით და აქსო-ხორკლოვანი სინაფსები, მეტწილად, აქტიურ ზონასთან კონცენტრირებული საკმაოდ მრავალრიცხოვანი სინაფსური ვეზიკულებით. ამგვარად, ასეთი მონაცემები საშუალებას გვაძლევენ ვივარაუდოთ, ჩვენს კვლევაშიც, დენდრიტული ხორკლების ჭარბი ექსპრესია დენდრიტების ერთი ნაწილის ატროფიაზე საპასუხოდ, გარკვეული რეაქცია უნდა იყოს. არ არის ასევე გამორიცხული, რომ ჩვენს მიერ აღწერილი ხორკლების რაოდენობის ზრდა გარკვეულ კავშირში იყოს ეპილეფსიური აქტივობისთვის დამახასიათებელ ნეირონების ჰიპერაგზნებასთან, რაც, ბუნებრივად, აქსონური შესასვლელების ზრდასთან უნდა ასოცირდებოდეს. ამასთან დაკავშირებით, აღსანიშნავია, რომ ერთეულ კლინიკურ შრომებში, აღწერილია საფეთქლის წილის ეპილეფსიის დროს რიგი დენდრიტების გამოხატული პათოლოგიური ცვლილებები, დენდრიტული ხორკლების სიმკვრივის სარწმუნო შემცირების ჩათვლით (Scheibel et al. 1974; Isokawa and Levesque 1991; Isokawa 1997; Belichenko and Dahlstrom 1995; von Campe et al 1997; Blumcke et al. 1999; Freiman et al. 2011), ამასთანავე ნაჩვენებია, რომ ხორკლებით „გადარიბებული“ დენდრიტული უბნები შეიძლება „მეზობლობდნენ“ ისეთ დენდრიტულ უბნებთან, სადაც ხორკლების განლაგების სიმკვრივე ნორმალური ან გაზრდილიც კია (Belichenko et al. 1994; Multani et al., 1994). ასეთი მონაცემების გათვალისწინებით, მიგვაჩნია, რომ ხორკლებზე კაინის მჟავას უფრო ზუსტი ეფექტის გამოსავლენად, უმნიშვნელოვანესია ხორკლების

სიმკვრივის შესწავლა, როგორც სხვადასხვა ტიპის დენდრიტებზე (აპიკალური, ბაზალური), ასევე ასეთი დენდრიტების სხვადასხვა ნაწილებზე (დისტალური, პროქსიმალური). ამ მხრივ განსაკუთრებით მაღალინფორმატული გოლჯის მეთოდის გამოყენება და იმპრეგნირებული ნეირონის სამგანზომილებიანი რეკონსტრუქცია უნდა იყოს.

ჩვენს მასალაზე ასევე გამოვლინდა კიდევ ერთი საინტერესო ფაქტი: კაინის მჟავას ზემოქმედების შედეგად, ხორკლების სხვადასხვა ფორმებს შორის, სარწმუნოდ იცვლებოდა - *მცირდება* - მხოლოდ კუნძის ფორმის ხორკლების რაოდენობა. ამასთან დაკავშირებით, პირველ რიგში, მინდა ავლნიშნო შემდეგი: (1) მიუხედავად იმისა, რომ ხორკლებზე ეპილეფსიის ეფექტის გაშუქება მრავალი კვლევის საგანია, არც ერთ მათგანში ხორკლების ცალკეული ფორმები სპეციალურად განხილული არ არის. ამასთანავე, მიგვაჩნია, რომ ეპილეფსიის დროს, სინაფსური პლასტიურობის პროცესების გასაშუქებლად, საკითხის ასეთი დაყენება ფრიად მართებული უნდა იყოს. (2) მიუხედავად იმისა, რომ კუნძის ტიპის ფორმები ხორკლების საკმაოდ მრავალრიცხოვან და გავრცელებულ ჯგუფს შეადგენენ, „თავის მქონე“ ხორკლებთან შედარებით, მათი კვლევა გაცილებით შეზღუდულია. ნაწილობრივად, ამის მიზეზი არის ის, რომ კუნძის ფორმის ხორკლს არ გააჩნია ყელი - მორფოლოგიური მახასიათებელი, რომელიც, როგორც არაერთხელ აღინიშნა, დიდწილად უნდა განსაზღვრავდეს ხორკლების პლასტიურობას - მათ უნარს, განიცადონ ცვლილებები გარკვეულ ზემოქმედებაზე საპასუხოდ და/ან მოახდინონ სიგნალების ინტეგრაცია. ასევე: გავრცელებული შეხედულების თანახმად, საკმაოდ დიდი ხნის განმავლობაში ითვლებოდა, რომ ასეთი ფორმები ხორკლების მორფოგენეზში მხოლოდ გარდამავალ საფეხურს წარმოადგენენ. ამიტომ სინაფსური პლასტიურობის კვლევის გარკვეულ ეტაპებზე კუნძის ფორმის ხორკლებს, ყელის მქონე ხორკლებთან შედარებით, ნაკლებ ყურადღებას ანიჭებდნენ. აღნიშნულის მიუხედავად, კითხვა, თუ კონკრეტულად როგორია კუნძის ფორმის ხორკლების პლასტიურობა და როგორი გასხვავებაა მათ და „თავის/ყელის მქონე“ ხორკლების პლასტიურობას შორის, სულ უფრო აქტუალური ხდება.

ამასთან დაკავშირებით, აღსანიშნავია, რომ კუნძის ფორმის ხორკლებში, რომელთა პოსტსინაფსური სიმკვრივე თითქმის იგივეა, რაც ვიწრო „თავიან“ ხორკლებში (Harris et al. 1992), ხოლო პოსტსინაფსურ სიმკვრივესა და დენდრიტს შორის, არავითარი შეზღუდვა (ყელის სახით) არ არსებობს, ადგილი აქვს კალციუმის იონების სწრაფ დიფუზიას; შესაბამისად, ჰომოსინაფსურ აქტივაციაზე საპასუხოდ, კალციუმის იონების მატება პრესინაფსურ უბანში იზღუდება (Sabatini et al. 2002). ერთ-ერთ კვლევაში, ხორკლის ყელით განპირობებული დიფუზური ბარიერის ფოტო-აქტივირებული მწვანე ფლუოროსცენციური ცილით (GFP) შესწავლისას, გამოვლინდა, როგორც ხორკლებსა და დენდრიტის ღეროს შორის იონების დიფუზიის ჰეტეროგენურობა, ასევე, „დიფუზურად“ იზოლირებული ხორკლები. აღმოჩნდა ასევე, რომ ხორკლის ყელით და დიფუზურად იზოლირებული რიგი ხორკლების მიერ შექმნილი დიფუზიის ბარიერი ნეირონული აქტივობით რეგულირდება, რაც ორივე მიმართულებით ხდება. გარდა ამისა, თანამთხვევადი სინაფსური აქტივაცია და პოსტსინაფსური მოქმედების პოტენციალი უმაღლესად ყელის გასწვრივ მოლეკულების დიფუზიას. შესაბამისად, დაშვებული იქნა, რომ დიფუზიის სიჩქარის რეგულაცია უნდა წარმოადგენდეს სავარაუდო მექანიზმს, არა მარტო პოსტსინაფსური პოტენციალის ამპლიტუდის განსასაზღვრად, არამედ, ასევე, ხორკლის თავში პლასტიკურობა-გამომწვევი მოლეკულების დაგროვებისთვის (Bloodgood and Sabatini 2005). აღსანიშნავია ასევე, რომ კუნძის ფორმის ხორკლებს, „თავიან“ ხორკლების მსგავსად, შესწევთ უნარი მოახდინონ სინაფსებში AMPA რეცეპტორების ინკორპორაცია (Korkotian, Segal 2007). ამგვარად, კუნძის ფორმის ხორკლებმა შესაძლებელია იმოქმედონ, როგორც აქტივობის ჰეტეროსინაფსურმა „დამჭერებმა“ - აღიქვან და მიიღონ გარკვეული „ჯილდო“ ახლომდებარე ხორკლების აქტივაციის შედეგად. ასეთი შეხედულება მტკიცდება მონაცემებით, რომელთა თანახმად, ლოკალურად ინდუცირებული და სინაფსებში დაგროვებული CaMKII შესაძლებელია გადაინაცვლოს დენდრიტების გასწვრივ ახლომდებარე სინაფსებში, Ca^{2+} დამოკიდებული გზით (Rose et al. 2009).

ყველაფერი ამის გათვალისწინებით, კაინის მჟავას ზემოქმედების შედეგად, კუნძის ფორმის ხორკლების (მხოლოდ) რაოდენობის სარწმუნო ცვლილებები განსაკუთრებით საინტერესო უნდა იყოს, ამასთანავე, ამ ეტაპზე ჩვენთვის ძნელია იმის ახსნა, თუ რით უნდა იყოს განპირობებული კაინის მჟავას ზემოქმედების შედეგად, ჰიპოკამპში მხოლოდ კუნძის ფორმის (თითქოსდა განსაკუთრებით არაპლასტიური) ხორკლების რაოდენობის სარწმუნო ცვლილება. ამ კითხვაზე პასუხს ხელს შეუწყობს კუნძის ფორმის ხორკლების პლასტიკური თვისებების დაწვრილებითი შესწავლა.

კუნძის ფორმის ხორკლებთან დაკავშირებით, საინტერესოა შემდეგი ლიტერატურული მონაცემები: სტრესის ორი განსხვავებული მოდელის კვლევისას (სოციალური და მოტორიკის მნიშვნელოვან შეზღუდვასთან დაკავშირებული სტრესი), ორ ლიმბურ წარმონაქმნში – აკუმბეალური ბირთვის ნიჟარასა და ნუშისებრი სხეულის ბაზოლატერალური ბირთვში (სტრუქტურებში, რომლებიც ჩართული არიან სტრესის ფორმირებაში და ხასიათის რეგულაციაში), აღწერილი იყო დენდრიტული არბორიზაციის ზრდა და ხორკლების რაოდენობის სარწმუნო მატება, რაც კუნძის ფორმის ხორკლების (მხოლოდ) ხარჯზე მიმდინარეობდა და ამგზნები პოსტსინაფსური დენების ცვლილებებთან ასოცირდებოდა (Christoffel et al. 2011). ავტორებმა ასეთი ცვლილებები ფუნქციური გლუტამატერგული სინაფსების რიცხვის მატებას დაუკავშირეს. განსაკუთრებით საინტერესოა ის ფაქტი, რომ მსგავსი მორფოლოგიური ცვლილებები, მოლეკულური კომპოზიციის მხრივ, განსხვავებულ უჯრედებში აღინიშნა: ერთ შემთხვევაში – პირამიდის ტიპის გლუტამატერგულ ნეირონებზე (ნუშისებრი სხეულის ბაზალური ბირთვი), ხოლო მეორე შემთხვევაში კი - გაემ-ერგულ ინტერნეირონებზე (აკუმბეალური ბირთვის ნიჟარა). აღსანიშნავია ისიც, რომ ნუშისებრი სხეულის მედიალური ბირთვის გაემ-ერგულ უჯრედებზე, რომლებიც თითქოსდა ფუნქციურად უფრო ახლოს არიან აკუმბეალური ბირთვის ნიჟარას საშუალო ზომის გაემ-ერგულ ინტერნეირონებთან, იგივე პირობების ზემოქმედებაზე საპასუხოდ, კუნძის ფორმის ხორკლების სიმკვრივის სარწმუნო შემცირება (და არა მატება, როგორც აკუმბეალური ბირთვის გაემ-ერგულ ნეირონებზე) აღინიშნა.

ამგვარად, ლიტერატურული და ჩვენი მონაცემების შეჯერების შედეგად, შესაძლებელია ითქვას, რომ (1) კუნძის ფორმის ხორკლები გარკვეულ, პათოლოგიურ პირობებზე საპასუხოდ სპეციფიკურად რეაგირებენ და ეს იმ შემთხვევებშიც კი ხდება, როდესაც სხვა, მათ შორის, გაცილებით პლასტიკურ ფორმებად მიჩნეული ხორკლები ასეთ ცვლილებებს არ ავლენენ; (2) პათოლოგიურ პირობებზე საპასუხოდ, კუნძის ფორმის ხორკლებში განვითარებული ცვლილებები უჯრედების მოლეკულურ კომპოზიციაზე დამოკიდებული არ არიან; სავარაუდოდ, ამ ცვლილებებში მნიშვნელოვან როლს მათი ჯერ კიდევ უცნობი, პლასტიკური მახასიათებლები ასრულებენ; (3) კუნძის ფორმის ხორკლების განხილვა ხორკლების განსაკუთრებით „არაპლასტიკურ“ ფორმებად, მართებული არ უნდა იყოს. აუცილებელია მათი ძირითადი მახასიათებლების (სტრუქტურული, ფიზიოლოგიური, მოლეკულური) შემდგომი დაწვრილებითი კვლევა.

5.3. „სხვადასხვა ასაკის“ დენდრიტული ხორკლები განსხვავებულად რეაგირებენ კაინის მჟავას კონცენტრაციასა და ზემოქმედების დროზე

ჩვენი კვლევის შედეგად, გამოვლინდა, რომ სხვადასხვა ასაკის ცხოველების დენდრიტული ხორკლები განსხვავებულად რეაგირებენ კაინის მჟავას ზემოქმედებაზე. კერძოდ, P10 ცხოველებში ხორკლების რაოდენობის ცვლილებები კორელირებს კაინის მჟავას ზემოქმედების ხანგრძლივობასთან, და არა მის კონცენტრაციასთან. ამის საპირისპიროდ, P30 ცხოველებში ხორკლების რაოდენობის ზრდა კორელაციაშია კონცენტრაციის, და არა დროის ფაქტორთან.

ამჟამად, რთულია ახსნა იმისა, თუ რა განსაზღვრავს, ცხოველის ასაკზე დამოკიდებულებით, დენდრიტულ ხორკლებზე კაინის მჟავას განსხვავებულ ეფექტს. ყურადსაღებია რამდენიმე გარემოება. პირველ რიგში: მთელ რიგ კვლევებში ახალ ქერქსა და ჰიპოკამპში (მათ შორის, CA1 ველში) აღწერილია კაინის მჟავას რეცეპტორების (AMPA და კაინის მჟავას რეცეპტორები) ასაკთან დაკავშირებული ცვლილებები (Bettler

and Mullet, 1995; Sanjay et al., 2002; Xu et al., 2009). ამიტომ 'სხვადასხვა ასაკის დენდრიტებზე' კაინის მჟავას განსხვავებული ეფექტი გასაკვირი არ უნდა იყოს. მეორე მხრივ: კაინის მჟავას რეცეპტორების აქტივაციის საბოლოო შედეგი შეიძლება ძალზედ განსხვავებული იყოს - ამ რეცეპტორების ასაკ-, შემადგენლობა- და სამიზნე-დამოკიდებული გადანაწილებიდან გამომდინარე. უშუალოდ CA1-ის პირამიდულ ნეირონებზე ჩატარებულმა კვლევებმა ასევე გამოავლინეს კაინის მჟავას ზემოქმედების უაღრესი მრავალფეროვნება, თუმცა ამ მრავალფეროვნობის შესაბამისობა კაინის მჟავას ეპილეფტოგენურ მოქმედებასთან ბოლომდე ნათელი არ არის (Ben-Ari and Cossart, 2000). ასეთი და ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემებიდან გამომდინარე, მართებულად მიგვაჩნია მომავალში ამ მიმართულებით კვლევის გაგრძელება, უფრო სპეციფიკური მეთოდების გამოყენებით.

5.4. ხორკლების ძვრადობა ნორმაში და კაინის მჟავას ზემოქმედების დროს

როგორც მოსალოდნელი იყო, საკონტროლო მასალაში, განვითარებასთან ერთად (P30 ჯგუფი P10 ჯგუფთან შედარებით), გამოვლინდა ხორკლების ძვრადობის მნიშვნელოვანი დაკლება. სპეციალური ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ თავის ტვინის განვითარების პროცესში, მის სხვადასხვა უბნებში ხორკლების დინამიკა მცირდება; ადრეული განვითარების სტადიაზე ხორკლები და ფილოპოდები ძვრადობის მაღალი ხარისხით (წამების სკალით) ხასიათდებიან (რაც, ძირითადად, პრესინაფსური სამიზნეების ძეგნით აიხსნება). ასეთი ძვრადობა აქტინ-დამოკიდებულია (Bonhoeffer and Yuste, 2002; Dailey and Smith, 1996; Dunaevsky et al., 1999; Fischer et al., 1998). ძვრადობის ხარისხი მცირდება პოსტნატალური განვითარების დროს (Dunaevsky et al., 1999; Grutzendler et al., 2002; Konur and Yuste, 2004; Lendvai et al., 2000; Portera-Cailliau et al., 2003). ხორკლებს ძვრადობის, სულ მცირე, ორი ძირითადი ტიპია: (ა) სიგრძის ექსტენსიური ცვლილებები, რაც გულისხმობს ხორკლის, როგორც დაგრძელებას, ასევე, მის შეზიდვას (წამწვეი ძვრადობა) და (ბ) ხორკლის თავის მორფოლოგიური ცვლილებები (თავის „მორფინგი“) (Dunaevsky et al., 1999; Tashiro და

Yuste, 2004). ძვრადობის ორი ტიპი განსხვავებულად რეგულირდება Rac1 და Rho კინაზების მიერ. ვარაუდობენ, რომ ხორკლების ძვრადობის სხვადასხვა ტიპები სინაპტოგენეზსა და სინაფსების მომწიფებაში განსხვავებულ ფუნქციებს ასრულებენ (Tashiro და Yuste, 2004).

ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, დენდრიტული ხორკლების ძვრადობის მაღალი ხარისხი ვლინდება ახალგაზრდა 4–7–დღიან უჯრედებში. ამ ასაკში ნეირონებში დაბალია კალციუმის სპონტანური ფლუქტუაცია და FM4-64 მონიშვნის ხარისხი. თავის მხრივ, 2-3 კვირიან ნეირონულ კულტურაში ხორკლების ძვრადობა მცირდება აქტიურ პრესინაფსურ დაბოლოებებთან მათი დაკავშირების პარალელურად. მიჩნეულია, რომ აქტიური პრესინაფსური დაბოლოებები ზღუდავენ დენდრიტული ხორკლების ძვრადობას (Korkotian and Segal, 2001). განვითარებასთან ერთად, ხორკლების ძვრადობის შემცირება საერთო თვისებაა ხორკლების ყველა მორფოლოგიური კლასისთვის, მაგრამ არა ფილოპოდებისთვის (Oray et al., 2006). ხორკლების ძვრადობა რეგულირდება გლუტამატის რეცეპტორების აქტივაციით, თუმცა ხორკლების ძვრადობის მოლეკულური მექანიზმი ბოლომდე გაშუქებული მაინც არ არის (Fischer et al., 2000).

გლუტამატის ანალოგი, კაინის მჟავა, უკავშირდება რა AMPA და კაინის მჟავას რეცეპტორებს უკავშირდება, იწვევს აქტინური ციტოჩონჩხის ცვლილებებს და, შესაბამისად, ხორკლების ძვრადობის მოდიფიკაციებს. ჩვენს ექსპერიმენტებში ორ ასაკობრივ ჯგუფში გამოვლინდა კაინის მჟავას განსხვავებული ეფექტი. ხორკლების ძვრადობის მნიშვნელოვანი ცვლილებები, კერძოდ, მათი მატება, გამოვლინდა P10 თაგვებში.

ასეთი შედეგები დადებითად კორელირებს ლიტერატურაში არსებულ მონაცემებთან, რომელთა თანახმად, სომატოსენსორულ ქერქში სენსორული დეპრივაციით გამოწვეული ხორკლების დინამიკის შემცირება სინაფტოგენეზის პიკის დროს ვლინდება, ამასთანავე, მხედველობის ქერქში უკვე ჩამოყალიბებული სინაფსები აქტივობა–დამოკიდებულ გადაწყობას განიცდიან. ამ ინტერპრეტაციას ადასტურებს ასევე ის ფაქტიც, რომ ახალგაზრდა ზრდასრული (young adult) თაგვების

სომატოსენსორულ ქერქში, სადაც სინაფსები უკვე ჩამოყალიბებულია, სენსორული დეპრივაცია იწვევს გარდამავალი წვრილი დენდრიტული ხორკლების რაოდენობის მატებას (Trachtenberg et al., 2002). ამრიგად, სენსორული დეპრივაციით გამოწვეულმა ნეირონების აქტივობის ცვლილებებმა შეიძლება გამოიწვიოს დენდრიტული ციტოჩონჩხის დესტაბილიზაცია და, შედეგად, გაზარდოს დენდრიტული ხორკლების დინამიკა (Lippman and Dunaevsky, 2005).

თაგვების P30 ჯგუფში, კაინის მჟავით ხანგრძლივი ზემოქმედების დროს, ასევე, აღინიშნა დენდრიტული ხორკლების ძვრადობის ზრდა, თუმცა ასეთი ცვლილება სტატისტიკურად არასარწმუნო იყო.

ჩვენს კვლევაში ასევე გამოვლინდა კაინის მჟავას ზემოქმედების ხანგრძლივობის მნიშვნელობა ჰიპოკამპის დენდრიტული ხორკლების ძვრადობაზე: ორივე ასაკობრივ ჯგუფში (P10, P30) ხორკლების ძვრადობის განსაკუთრებით გამოხატული ცვლილებები აღინიშნა კაინის მჟავას ხანგრძლივი - 100-წუთიანი ზემოქმედების დროს. ამრიგად, შეიძლება დავასკვნათ, რომ კაინის მჟავას ეფექტი დენდრიტული ხორკლების ძვრადობაზე, კონცენტრაციაზე მეტად, ზემოქმედების ხანგრძლივობაზეა დამოკიდებული. ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში გლუტამატი ძირითად სწრაფ ამგზნებ ამინომჟავურ ტრანსმიტერს წარმოადგენს, მოქმედებს რა იონური არხის შემცველ რეცეპტორებზე (NMDA რეცეპტორები, AMPA რეცეპტორები, კაინის მჟავას რეცეპტორები) და, სასიგნალო კასკადების მეშვეობით, ასევე, მეტაბოტროპულ რეცეპტორებზე (Bloss and Hunter, 2010). ლიტერატურაში ნაჩვენებია, რომ ჰიპოკამპის ხავსისებრი ბოჭკოების ფილოპოდების ძვრადობა კაინის მჟავას რეცეპტორებით რეგულირდება: ამ რეცეპტორების სინაფსური სტიმულირება ზრდის ძვრადობას შედარებით ახალგაზრდა ცხოველების ანათლებში, თუმცა აკავებს მას მოწიფულ ანათლებში (Tashiro et al., 2003).

როგორც აღინიშნა, ცნობილია ძვრადობის ორი განსხვავებული ტიპი – ვერტიკალური და თავის მორფინგი. განვითარებად ტვინში ფილოპოდები, მეტწილად, ვერტიკალურ ძვრადობას ავლენენ, მაშინ როდესაც მოწიფულ ხორკლებში თავის

მორფინგი დომინირებს. შესაბამისად, ადვილად დასაშვებია, რომ ხორკლების ძვრადობის აღნიშნულ ორ ტიპზე კაინის მჟავა განსხვავებულ ეფექტს ახდენს.

ამგვარად, ჩვენს მონაცემებზე დაყრდნობით, შესაძლებელია ვივარაუდოთ, რომ კაინის მჟავა, გლუტამატის სტრუქტურული ანალოგი, გავლენას ახდენს ხორკლების ძვრადობაზე და ამ ეფექტის რეგულაცია უშუალო კავშირშია თავის ტვინის განვითარების სტადიასთან. მოუმწიფარი ფილოპოდების შემთხვევაში, გამოთავისუფლებულ გლუტამატს შეუძლია მაღალი თვისობის კაინის მჟავას რეცეპტორების სტიმულირება და ფილოპოდების ძვრადობის აღძვრა. ეს უკანასკნელი „ეხმარება“ მოუმწიფარ ფილოპოდებს გარემოს შესწავლაში და პოტენციური პრესინაფსური სამიზნეების პოვნაში. თავის მხრივ, სინაფსური კონტაქტის მქონე მოწიფული ხორკლების შემთხვევაში, გამოთავისუფლებულ გლუტამატს შეუძლია დაბალი თვისობის კაინის მჟავას რეცეპტორების აქტივაცია ან მაღალი თვისობის რეცეპტორების ხანგრძლივი სტიმულირება, რასაც მოჰყვება ხორკლების სტაბილიზაცია და მათი ძვრადობის შეზღუდვა. ჩვენი მონაცემების თანახმად, $100\mu\text{M}/100\text{წთ}$ კაინის მჟავას ზემოქმედების შემთხვევაში, ხორკლების ძვრადობა იზრდება: ტვინის განვითარების ადრეულ სტადიაზე (P10) - 41.5%–ით, ხოლო P30 თავგებში - მხოლოდ 3%–ით.

ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, NMDA და AMPA რეცეპტორების ანტაგონისტებით დაბლოკვა იწვევს დენდრიტული ფილოპოდების სიმჭიდროვის და მათი განახლების შემცირებას. ამასთანავე, დენდრიტული ფილოპოდების სიახლოვეს (100–200 მკმ) გლუტამატის მცირე ლოკალური ნაკადები მათ ძვრადობაზე სხვადასხვა ეფექტებს ახდენენ: რიგი ფილოპოდების ძვრადობა გლუტამატის აქტივაციით ითრგუნება, ხოლო ზოგიერთი, 4 მკმ–ზე გრძელი ფილოპოდის სიგრძე მცირედ იზრდება (Portera-Cailliau et al., 2003).

ამის საწინააღმდეგოდ, *მოწიფული* დენდრიტული ხორკლების შემთხვევაში, ჰიპოკამპის NMDA რეცეპტორების ანტაგონისტებით ქრონიკული ბლოკადა ხორკლების სიმჭიდროვის მნიშვნელოვან ცვლილებებს არ იწვევს; ამასთანავე, ადგილი აქვს

მრავალრიცხოვანი, ფილოზოდიების მსგავსი, გრძელი (2 მკმ) და წვრილი დენდრიტული გამონაზარდების (სუბსტრუქტურების, რომლებიც მრავლადაა წარმოდგენილი მოუმწიფარ ჰიპოკამპში) წარმოქმნას (McKinney et al., 1999).

მიჩნეულია, რომ ფილოზოდიების მსგავსი გამონაზარდები ახლომდებარე აქსონებთან სინაფსურ კონტაქტებს ჰქმნიან. NMDA რეცეპტორების არასაკმარისი აქტივაციის დროს, CA1 პირამიდული უჯრედების ხორკლები უზრუნდებიან განვითარების ადრეული სტადიის მსგავს მდგომარეობას: აქტიურად ეძებენ პრესინაფსურ დაბოლოებებს მათთან სინაფსების ფორმირების მიზნით (McKinney, 2010).

არსებობს ასევე მონაცემები, რომელთა თანახმად, ჰიპოკამპის კულტურაში ხორკლების დინამიკა ითრგუნება გლუტამატერგული რეცეპტორების აქტივაციით, ხოლო NMDA რეცეპტორების ანტაგონისტები ხორკლების ძვრადობაზე ეფექტს არ ახდენენ (Fischer et al., 2000). ამასთანავე, ხორკლების ძვრადობა არ კორელირებს, არც განვითარების სტადიებთან შეჭიდულ NMDA და AMPA რეცეპტორების ექსპრესიასთან, და არც ციტოქრომჩხის მასტაბილიზებელ კალციუმის იონების შეღწევადობის უნართან. ასეთი მონაცემების საფუძველზე, გამოითქვა ვარაუდი, რომ ხორკლების ძვრადობის ხარისხი დამოკიდებულია გლუტამატის რეცეპტორების აქტიურობაზე და, რაც გასაკვირია, არა გლუტამატის რეცეპტორების შემადგენლობაზე (McKinney, 2010).

ყველაფერი ზემოთქმულის გათვალისწინებით, ვვარაუდობთ, რომ კაინის მჟავას შედარებით ხანგრძლივი ზემოქმედების შედეგად (100 წუთი), ჰიპოკამპის რიგ ნეირონებში შეიძლება ადგილი ჰქონდეს AMPA და კაინის მჟავას რეცეპტორების დესენსიტიზაციას, რის შედეგადაც იზრდება დენდრიტული ხორკლების ძვრადობის ხარისხი. ეს ზრდა განსაკუთრებით თვალსაჩინოა ტვინის განვითარების, და შესაბამისად, სინაფტოგენეზის ადრეულ სტადიაზე.

ამ ეტაპზე ჩვენ არ ვსწავლობდით კაინის მჟავას ზემოქმედების შედეგად, დენდრიტული ხორკლების ცალკეული ფორმების (კუნძის, „თავის მქონე“ და სხვ.) აღნაგობის შესაძლო ცვლილებებს. ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ ეპილეფსიური კრუნჩხვების შედეგად, ხორკლების აღნაგობის ცვლილებები ვითარდება მხოლოდ განსაკუთრებით ხანგრძლივი (რამოდენიმე დღიანი) და ძლიერი კრუნჩხვითი აქტივობის შედეგად; თავის მხრივ, ხორკლების რაოდენობის და მათი ძვრადობის ცვლილებები ეპილეფსიით გამოწვეული დენდრიტული ცვლილებების საწყის ეტაპად შეიძლება ჩაითვალოს. ეპილეპტოგენური ნივთიერებების გავლენით, ხორკლების აღნაგობის ცვლილებების შესწავლა ჩვენი მომდევნო კვლევის ერთ-ერთი მთავარი ამოცანა იქნება.

6. გამოყენებული ლიტერატურის ჩამონათვალი

1. Abe K, Chisaka O, Van Roy F, Takeichi M. Stability of dendritic spines and synaptic contacts is controlled by α N-catenin. *Nat Neurosci* 2004 7:357–363.
2. Abegg MH, Savic N, Ehrenguber MU, McKinney RA, Gähwiler BH. Epileptiform activity in rat hippocampus strengthens excitatory synapses. *J Physiol.* 2004 Jan 15;554(Pt 2):439–48.
3. Ackermann M, Matus A. Activity-induced targeting of profilin and stabilization of dendritic spine morphology. *Nat Neurosci* 2003 6:1194–1200.
4. Airey DC, Kroodsma DE, DeVogd TJ. Differences in the complexity of song tutoring cause differences in the amount learned and in dendritic spine density in a songbird telencephalic song control nucleus. *Neurobiol Learn Mem.* 2000 May;73(3):274–81.
5. Al-Noori S, Swann JW. A role for sodium and chloride in kainic acid-induced beading of inhibitory interneuron dendrites. *Neuroscience.* 2000;101(2):337–48.
6. Amateau SK, McCarthy MM. A novel mechanism of dendritic spine plasticity involving estradiol induction of prostaglandin-E2. *J Neurosci* 2002 22:8586–8596.
7. Ampuero E, Dagnino-Subiabre A, Sandoval R, Zepeda-Carreño R, Sandoval S, Viedma A, Aboitiz F, Orrego F, Wyneken U. Status epilepticus induces region-specific changes in dendritic spines, dendritic length and TrkB protein content of rat brain cortex. *Brain Res.* 2007 May 30;1150:225–38.
8. Anderson MP. Arrested glutamatergic synapse development in human partial epilepsy. *Epilepsy Curr.* 2010 Nov;10(6):153–8.
9. Armstrong D, Dunn JK, Antalffy B, Trivedi R. Selective dendritic alterations in the cortex of Rett syndrome. *J NeuropatholExp Neurol.* 1995 Mar;54(2):195–201.
10. Aroniadou-Anderjaska V, Fritsch B, Qashu F, Braga MF. Pathology and pathophysiology of the amygdala in epileptogenesis and epilepsy. *Epilepsy Res.* 2008 Feb;78(2-3):102–16. Review.
11. Baulac M, Navarro V. Minimum requirements for approval of a drug in status epilepticus. *Epilepsia.* 2009 Dec;50Suppl 12:77–8.
12. Belichenko PV, Dahlström A. Studies on the 3-dimensional architecture of dendritic spines and varicosities in human cortex by confocal laser scanning microscopy and Lucifer yellow microinjections. *J Neurosci Methods.* 1995 Mar;57(1):55–61
13. Belichenko PV, Kleschevnikov AM, Masliah E, Wu C, Takimoto-Kimura R, Salehi A, Mobley WC. Excitatory-inhibitory relationship in the fascia dentata in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *J Comp Neurol.* 2009 Feb 1;512(4):453–66
14. Belichenko PV, Sourander P, Malmgren K, Nordborg C, von Essen C, Rydenhag B, Lindström S, Hedström A, Uvebrant P, Dahlström A. Dendritic morphology in epileptogenic cortex from TRPE patients, revealed by intracellular Lucifer Yellow microinjection and confocal laser scanning microscopy. *Epilepsy Res.* 1994 Jul;18(3):233–47
15. Y. Ben-Ari and R. Cossart Kainate, a double agent that generates seizures: two decades of progress. *Trends Neurosci.* (2000) 23, 580–587
16. B. Bettler and C. Mullet Review: Neurotransmitter Receptors II AMPA and Kainate Receptors. *Neuropharmacology* Vol. 34, No. 2, pp. 123–139, 1995

17. Biess, A., Korkotian, E., Holcman, D. Diffusion in a dendritic spine: the role of geometry. *Phys. Rev. E. Stat. Nonlin. Soft. Matter Phys* 2007 76, 021922.
18. Bloodgood BL, Sabatini BL. Neuronal activity regulates diffusion across the neck of dendritic spines. *Science*. 2005 Nov 4;310(5749):866-9.
19. Bloss, E.B., Hunter, R.G. Hippocampal kainate receptors. *Vitamins and Hormones*. 2010 82, 167–184.
20. Blümcke I, Beck H, Lie AA, Wiestler OD. Molecular neuropathology of human mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*. 1999 Sep;36(2-3):205-23. Review
21. Bonhoeffer T, Yuste R. Spine motility. Phenomenology, mechanisms, and function. *Neuron*. 2002 Sep 12;35(6):1019-27.
22. Bourne JN, Harris KM. Balancing structure and function at hippocampal dendritic spines. *Annu Rev Neurosci*. 2008;31:47-67. Review.
23. Brown TC, Tran IC, Backos DS, Esteban JA. NMDA receptor-dependent activation of the small GTPase Rab5 drives the removal of synaptic AMPA receptors during hippocampal LTD. *Neuron* 2005 45(1):81–94
24. Bundman MC, Pico RM, Gall CM. Ultrastructural plasticity of the dentate gyrus granule cells following recurrent limbic seizures: I. Increase in somatic spines. *Hippocampus*. 1994 Oct;4(5):601-10
25. Chen YC, Bourne J, Pieribone VA, Fitzsimonds RM. The role of actin in the regulation of dendritic spine morphology and bidirectional synaptic plasticity. *NeuroReport* 2004 15(5):829–32
26. Cho WJ, Jeremic A, Rognien KT, Zhvania MG, Lazrshvili I, Bikashvili T, Jena BP. Structure, isolation, composition and reconstitution of the neuronal fusion pore. *Cell Biol Int* 2004 28:699–708.
27. Cho WJ, Lee JS, Zhang L, Ren G, Shin L, Manke CW, Potoff J, Kotaria N, Zhvania MG, Jena BP. Membrane-directed molecular assembly of the neuronal SNARE complex. *J Cell Mol Med* 2011 15:31–37
28. Christensen KV, Leffers H, Watson WP, Sánchez C, Kallunki P, Egebjerg J. Levetiracetam attenuates hippocampal expression of synaptic plasticity-related immediate early and late response genes in amygdala-kindled rats. *BMC Neurosci*. 2010 Jan 27;11:9.
29. Daniel J. Christoffel, Sam A. Golden, Scott J. Russo. Structural and synaptic plasticity in stress-related disorders. *Rev Neurosci*. 2011; 22(5): 535–549.
30. Dailey ME, Smith SJ. The dynamics of dendritic structure in developing hippocampal slices. *J Neurosci* 1996 16:2983–2994.
31. De Simoni A, Griesinger CB, Edwards FA. Development of rat CA1 neurones in acute versus organotypic slices: role of experience in synaptic morphology and activity. *J Physiol*. 2003 Jul 1;550(Pt 1):135-47.
32. Delorenzo RJ, Sun DA, Deshpande LS. Cellular mechanisms underlying acquired epilepsy: the calcium hypothesis of the induction and maintenance of epilepsy. *Pharmacol Ther*. 2005 Mar;105(3):229-66.
33. Dodrill CB. Progressive cognitive decline in adolescents and adults with epilepsy. *Prog Brain Res*. 2002;135:399-407.
34. Dunaevsky A, Blazeski R, Yuste R, Mason C. Spine motility with synaptic contact. *Nat Neurosci* 2001 4:685–686.

35. Dunaevsky A, Mason CA. Spine motility: a means towards an end? *Trends Neurosci.* 2003 Mar;26(3):155-60. Review.
36. Dunaevsky A, Tashiro A, Majewska A, Mason C, Yuste R. Developmental regulation of spine motility in the mammalian central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999 Nov 9;96(23):13438-43.
37. Elger CE, Helmstaedter C, Kurthen M. Chronic epilepsy and cognition. *Lancet Neurol.* 2004 Nov;3(11):663-72.
38. Engert F, Bonhoeffer T. Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature* 1999 399:66-70.
39. Ethell IM, Pasquale EB. Molecular mechanisms of dendritic spine development and remodeling. *Prog. Neurobiol.* 2005 75:161-205
40. Ferrer I, Gullotta F. Down's syndrome and Alzheimer's disease: dendritic spine counts in the hippocampus. *Acta Neuropathol.* 1990;79(6):680-5.
41. Fiala J.C. and Harris K.M. Dendrite structure. In *Dendrite*. Stuart G., Spruston N. and Hausser M. (eds). Oxford University Press. Oxford, New York. 1999 pp 1-34.
42. Fiala JC, Feinberg M, Popov V, Harris KM. Synaptogenesis via dendritic filopodia in developing hippocampal area CA1. *J Neurosci* 1998 18:8900-8911.
43. Fiala JC, Spacek J, Harris KM. Dendritic spine pathology: cause or consequence of neurological disorders? *Brain Res Brain Res Rev.* 2002 Jun;39(1):29-54. Review.
44. Fifková E, Anderson CL. Stimulation-induced changes in dimensions of stalks of dendritic spines in the dentate molecular layer. *Exp Neurol.* 1981 Nov;74(2):621-7.
45. Fischer M, Kaech S, Knutti D, Matus A. Rapid actin-based plasticity in dendritic spines. *Neuron.* 1998 May;20(5):847-54.
46. Fischer M, Kaech S, Wagner U, Brinkhaus H, Matus A. Glutamate receptors regulate actin-based plasticity in dendritic spines. *Nat Neurosci.* 2000 Sep;3(9):887-94.
47. Fortin DA, Srivastava T, Soderling TR. Structural modulation of dendritic spines during synaptic plasticity. *Neuroscientist.* 2012 Aug;18(4):326-41.
48. Freiman TM, Eismann-Schweimler J, Frotscher M. Granule cell dispersion in temporal lobe epilepsy is associated with changes in dendritic orientation and spine distribution. *Exp Neurol.* 2011 Jun;229(2):332-8
49. Fujikawa DG, Shinmei SS, Cai B. Seizure-induced neuronal necrosis: implications for programmed cell death mechanisms. *Epilepsia.* 2000;41 Suppl 6:S9-13
50. Fukazawa Y, Saitoh Y, Ozawa F, Ohta Y, Mizuno K, Inokuchi K. Hippocampal LTP is accompanied by enhanced F-actin content within the dendritic spine that is essential for late LTP maintenance in vivo. *Neuron.* 2003 May 8;38(3):447-60.
51. Gall CM, Lynch G. Integrins, synaptic plasticity and epileptogenesis. *Adv Exp Med Biol.* 2004;548:12-33. Review.
52. Gamble E, Koch C. The dynamics of free calcium in dendritic spines in response to repetitive synaptic input. *Science.* 1987 Jun 5;236(4806):1311-5.
53. Geinisman Y, Disterhoft JF, Gundersen HJ, McEchron MD, Persina IS, Power JM, van der Zee EA, West MJ. Remodeling of hippocampal synapses after hippocampus-dependent associative learning. *J Comp Neurol.* 2000 Jan 31;417(1):49-59.

54. González-Burgos I, López-Vázquez MA, Beas-Zárate C. Density, but not shape, of hippocampal dendritic spines varies after a seizure-inducing acute dose of monosodium glutamate in rats. *NeurosciLett*. 2004 Jun 3;363(1):22-4.
55. Gould E, Woolley CS, Frankfurt M, McEwen BS. Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampalpyramidal cells in adulthood. *J Neurosci* 1990 10:1286–1291.
56. Gröhn O, Sierra A, Immonen R, Laitinen T, Lehtimäki K, Airaksinen A, Hayward N, Nairismagi J, Lehto L, Pitkänen A. Multimodal MRI assessment of damage and plasticity caused by status epilepticus in the rat brain.*Epilepsia*. 2011 Oct;52Suppl 8:57-60. Review.
57. Grutzendler J, Kasthuri N, Gan WB. Long-term dendritic spine stability in the adult cortex. *Nature*. 2002 Dec 19-26;420(6917):812-6.
58. Guo D, Arnspiger S, Rensing NR, Wong M. Brief seizures cause dendritic injury. *Neurobiol Dis*. 2012 Jan;45(1):348-55
59. Halpain S, Hipolito A, Saffer L. Regulation of F-actin stability in dendritic spines by glutamate receptors and calcineurin. *J Neurosci* 1998 18:9835–9844.
60. Halpain, S. Actin and the agile spine: how and why do dendritic spines dance? *Trends Neurosci*. 2000 23, 141–146
61. Harris KM. Structure, development, and plasticity of dendritic spines. *CurrOpinNeurobiol* 1999 9:343–348.
62. Harris, K.M., Jensen, F.E., Tsao, B. Three-dimensional structure of dendritic spines and synapses in rat hippocampus (CA1) at postnatal day 15 and adult ages: implications for the maturation of synaptic physiology and long-term potentiation. *J. Neurosci*. 1992 12, 2685–2705.
63. Hasbani MJ, Hyrc KL, Faddis BT, Romano C, Goldberg MP. Distinct roles for sodium, chloride, and calcium in excitotoxic dendritic injury and recovery. *Exp Neurol*. 1998 Nov;154(1):241-58.
64. Hayashi Y, Majewska AK. Dendritic spine geometry: functional implication and regulation. *Neuron*. 2005 May 19;46(4):529-32.
65. Hering H, Sheng M. Activity-dependent redistribution and essential role of cortactin in dendritic spine morphogenesis. *J Neurosci* 2003 23:11759–11769.
66. Hill TC, Zito K. LTP-induced long-term stabilization of individual nascent dendritic spines. *J Neurosci*. 2013 Jan 9;33(2):678-86
67. Hill EL, Hosie S, Mulligan RS, Richards KL, Davies PJ, Dubé CM, Baram TZ, Reid CA, Jones MV, Petrou S. Temperature elevation increases GABA(A) -mediated cortical inhibition in a mouse model of genetic epilepsy. *Epilepsia*. 2011 Jan;52(1):179-84
68. Hinton VJ, Brown WT, Wisniewski K, Rudelli RD. Analysis of neocortex in three males with the fragile X syndrome. *Am J Med Genet*. 1991 Dec 1;41(3):289-94.
69. Holtmaat AJ, Trachtenberg JT, Wilbrecht L, Shepherd GM, Zhang X, Knott GW, Svoboda K. Transient and persistent dendritic spines in the neocortex in vivo. *Neuron*. 2005 Jan 20;45(2):279-91.
70. Honkura,N., Matsuzaki,M., Noguchi,J., Ellis-Davies,G.C., Kasai,H. The subspine organization of actin fibers regulates the structure and plasticity of dendritic spines. *Neuron* 2008 57, 719-729.
71. Hou ZH, Yu X. Activity-regulated somatostatin expression reduces dendritic spine density and lowers excitatory synaptic transmission via postsynaptic somatostatin receptor 4. *J Biol Chem*. 2013 Jan 25;288(4):2501-9

72. Hu B, Karnup S, Zhou L, Stelzer A. Reversal of hippocampal LTP by spontaneous seizure-like activity: role of group I mGluR and cell depolarization. *J Neurophysiol.* 2005 Jan;93(1):316-36.
73. Hugel,S., Abegg,M., De,P., V, Caroni,P., Gahwiler, B.H., McKinney,R.A. Dendritic spine morphology determines membrane-associated protein exchange between dendritic shafts and spine heads. *Cereb. Cortex* 2009 19, 697-702.
74. Huttenlocher PR. Dendritic development in neocortex of children with mental defect and infantile spasms.*Neurology.* 1974 Mar;24(3):203-10.
75. Isaac JT, Nicoll RA, Malenka RC. Evidence for silent synapses: implications for the expression of LTP. *Neuron* 1995 15(2):427-34
76. Ishikawa Y, Katoh H, Negishi M. A role of Rnd1 GTPase in dendritic spine formation in hippocampal neurons. *J Neurosci* 2003 23:11065-11072.
77. Isokawa M, Levesque MF. Increased NMDA responses and dendritic degeneration in human epileptic hippocampal neurons in slices. *NeurosciLett.* 1991 Nov 11;132(2):212-6.
78. Isokawa M. Preservation of dendrites with the presence of reorganized mossy fiber collaterals in hippocampal dentate granule cells in patients with temporal lobe epilepsy. *Brain Res.* 1997 Jan 9;744(2):339-43
79. Isokawa M. Remodeling dendritic spines of dentate granule cells in temporal lobe epilepsy patients and the rat pilocarpine model. *Epilepsia.* 2000;41 Suppl 6:S14-7.
80. Isokawa M. Remodeling dendritic spines in the rat pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *NeurosciLett.* 1998 Dec 18;258(2):73-6
81. Jena BP. Porosome: the secretory portal in cells. *Biochemistry* 2009 48:4009-4018
82. Jiang M, Lee CL, Smith KL, Swann JW. Spine loss and other persistent alterations of hippocampal pyramidal cell dendrites in a model of early-onset epilepsy. *J Neurosci.* 1998 Oct 15;18(20):8356-68.
83. Jourdain P, Fukunaga K, Muller D. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II contributes to activity-dependent filopodia growth and spine formation. *J Neurosci* 2003 23:10645-10649.
84. Kandel ER, Spencer WA. The pyramidal cell during hippocampal seizure. *Epilepsia.* 1961 Mar;2:63-9.
85. Kang JQ, Shen W, Lee M, Gallagher MJ, Macdonald RL. Slow degradation and aggregation in vitro of mutant GABAA receptor gamma2(Q351X) subunits associated with epilepsy. *J Neurosci.* 2010 Oct 13;30(41):13895-905.
86. Kanner AM. Diuretics as Antiepileptic Drugs. *Epilepsy Curr.* 2002 Mar;2(2):39-40
87. Kasai H, Fukuda M, Watanabe S, Hayashi-Takagi A, Noguchi J. Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition. *Trends Neurosci.* 2010 Mar;33(3):121-9.
88. Kasai, H., Matsuzaki, M., Noguchi, J., Yasumatsu, N., Nakahara, H. Structure-stability-function relationships of dendritic spines. *TINS* 2003 26, 360-368.
89. Kato,S., Sakatani,S., Hirose,A. Influence of dendritic spine morphology on spatiotemporal change of calcium/calmodulin-dependent protein kinase density. *Lecture Notes in Computer Science* 2004 3316, 31-36.
90. Kaufmann WE, Moser HW. Dendritic anomalies in disorders associated with mental retardation. *Cereb Cortex.* 2000 Oct;10(10):981-91.

91. Kim CH, Lisman JE. A role of actin filament in synaptic transmission and long-term potentiation. *J Neurosci.* 1999 Jun 1;19(11):4314-24
92. Klintsova A, Levy WB, Desmond NL. Astrocytic volume fluctuates in the hippocampal CA1 region across the estrous cycle. *Brain Res* 1995 690:269–274.
93. Knafo S, Libersat F, Barkai E. Dynamics of learning-induced spine redistribution along dendrites of pyramidal neurons in rats. *Eur J Neurosci.* 2005 Feb;21(4):927-35.
94. Koch C, Zador A. The function of dendritic spines: devices subserving biochemical rather than electrical compartmentalization. *J Neurosci.* 1993 Feb;13(2):413-22.
95. Konur, S., Yuste, R. Developmental regulation of spine and filopodial motility in primary visual cortex: reduced effects of activity and sensory deprivation. *Journal of Neurobiology.* 2004 59, 236–246.
96. Kopec CD, Li B, Wei W, Boehm J, Malinow R. Glutamate receptor exocytosis and spine enlargement during chemically induced long-term potentiation. *J. Neurosci.* 2006 26:2000–9
97. Korkotian E, Segal M. Spike-associated fast contraction of dendritic spines in cultured hippocampal neurons. *Neuron* 2001b 30:751–758.
98. Korkotian, E., Segal, M. Morphological constraints on calcium dependent glutamate receptor trafficking into individual dendritic spine. *Cell Calcium* 2007 42, 41-57.
99. Kotaria N, Kiladze M, Zhvania MG, Japaridze NJ, Bikashvili T, Solomonian RO, Bolkvadze T. The Protective Effect of Myo-inositol on Hippocampal Cell Loss and Structural Alterations in Neurons and Synapses Triggered by Kainic Acid-Induced Status Epilepticus. *Cell Mol Neurobiol.* 2013 Jul;33(5):659-71
100. Krucker T, Siggins GR, Halpain S. Dynamic actin filaments are required for stable long-term potentiation (LTP) in area CA1 of the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Jun 6;97(12):6856-61.
101. Kurz JE, Moore BJ, Henderson SC, Campbell JN, Churn SB. A cellular mechanism for dendritic spine loss in the pilocarpine model of status epilepticus. *Epilepsia.* 2008 Oct;49(10):1696-710
102. Kurz JE, Rana A, Parsons JT, Churn SB. Status epilepticus-induced changes in the subcellular distribution and activity of calcineurin in rat forebrain. *Neurobiol Dis.* 2003 Dec;14(3):483-93.
103. Lang C, Barco A, Zablow L, Kandel ER, Siegelbaum SA, Zakharenko SS. Transient expansion of synaptically connected dendritic spines upon induction of hippocampal long-term potentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Nov 23;101(47):16665-70.
104. Lee SH, Liu L, Wang YT, Sheng M. Clathrin adaptor AP2 and NSF interact with overlapping sites of GluR2 and play distinct roles in AMPA receptor trafficking and hippocampal LTD. *Neuron* 2002 36(4):661–74
105. Lemus-Molina Y, Sánchez-Gómez MV, Delgado-Hernández R, Matute C. *Mangifera indica* L. extract attenuates glutamate-induced neurotoxicity on rat cortical neurons. *Neurotoxicology.* 2009 Nov;30(6):1053-8
106. Lendvai B, Stern EA, Chen B, Svoboda K. Experience-dependent plasticity of dendritic spines in the developing rat barrel cortex in vivo. *Nature.* 2000 Apr 20;404(6780):876-81

107. Lendvai B, Zelles T, Rozsa B, Vizi ES. A vinca alkaloid enhances morphological dynamics of dendritic spines of neocortical layer 2/3 pyramidal cells. *Brain Res Bull.* 2003 Jan 15;59(4):257-60
108. Li C, Brake WG, Romeo RD, Dunlop JC, Gordon M, Buzescu R, Magarinos AM, Allen PB, Greengard P, Luine V, et al. Estrogen alters hippocampal dendritic spine shape and enhances synaptic protein immunoreactivity and spatial memory in female mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 101:2185–2190.
109. Lin H, Huganir R, Liao D. Temporal dynamics of NMDA receptor-induced changes in spine morphology and AMPA receptor recruitment to spines. *Biochem Biophys Res Commun* 2004 316:501–511.
110. Lippman Bell JJ, Lordkipanidze T, Cobb N, Dunaevsky A. Bergmann glial ensheathment of dendritic spines regulates synapse number without affecting spine motility. *Neuron Glia Biol.* 2010 Aug;6(3):193-200
111. Lippman J, Dunaevsky A. Dendritic spine morphogenesis and plasticity. *J Neurobiol.* 2005 Jul;64(1):47-57. Review.
112. Lohmann, C., Bonhoeffer, T. A role for local calcium signaling in rapid synaptic partner selection by dendritic filopodia. *Neuron* 2008 59, 253–260.
113. Majewska A., Sur M. Motility of dendritic spines in visual cortex in vivo: Changes during the critical period and effects of visual deprivation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003 100, 16024–16029.
114. Majewska A, Tashiro A, Yuste R. Regulation of spine calcium dynamics by rapid spine motility. *J Neurosci.* 2000 Nov 15;20(22):8262-8.
115. Majewska A, Tashiro A, Yuste R. Regulation of spine calcium dynamics by rapid spine motility. *J Neurosci.* 2000 Nov 15;20(22):8262-8.
116. Maletic-Savatic M, Malinow R, Svoboda K. Rapid dendritic morphogenesis in CA1 hippocampal dendrites induced by synaptic activity. *Science.* 1999 Mar 19;283(5409):1923-7
117. Malinow, R. and Malenka, R.C. AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu. Rev. Neurosci.* 2002 25, 103–126
118. Man HY, Lin JW, Ju WH, Ahmadian G, Liu L, et al. Regulation of AMPA receptor-mediated synaptic transmission by clathrin-dependent receptor internalization. *Neuron* 2000 25(3):649–62
119. Marin-Padilla M. Pyramidal cell abnormalities in the motor cortex of a child with Down's syndrome. A Golgi study. *J Comp Neurol.* 1976 May 1;167(1):63-81.
120. Marrs GS, Green SH, Dailey ME. Rapid formation and remodeling of postsynaptic densities in developing dendrites. *Nat Neurosci* 2001 4:1006–1013.
121. Marrs, G.S., Green, S.H., Dailey, M.E. Rapid formation and remodeling of postsynaptic densities in developing dendrites. *Nat. Neurosci.* 2001 4, 1006-1013.
122. Mathews PJ, Lee KH, Peng Z, Houser CR, Otis TS. Effects of climbing fiber driven inhibition on Purkinje neuron spiking. *J Neurosci.* 2012 Dec 12;32(50):17988-97.
123. Matsuo N, Reijmers L, Mayford M. Spine-type-specific recruitment of newly synthesized AMPA receptors with learning. *Science.* 2008 Feb 22;319(5866):1104-7
124. Matsuo, N., Reijmers, L., and Mayford, M. Spine-type-specific recruitment of newly synthesized AMPA receptors with learning. *Science* 2008 319, 1104-1107.
125. Matsuzaki M, Honkura N, Ellis-Davies GC, Kasai H. Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature* 2004 429:761–766.

126. Matsuzaki M, Ellis-Davies GC, Nemoto T, Miyashita Y, Iino M, Kasai H. Dendritic spine geometry is critical for AMPA receptor expression in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Nat Neurosci*. 2001 Nov;4(11):1086-92.
127. Matus A. Actin-based plasticity in dendritic spines. *Science* 2000 290(5492):754-58
128. McKinney RA, Capogna M, Dürer R, Gähwiler BH, Thompson SM. Miniature synaptic events maintain dendritic spines via AMPA receptor activation. *Nat Neurosci*. 1999 Jan;2(1):44-9.
129. McKinney RA. Excitatory amino acid involvement in dendritic spine formation, maintenance and remodelling. *J Physiol*. 2010 Jan 1;588(Pt 1):107-16. Review
130. McNamara JO, Huang YZ, Leonard AS. Molecular signaling mechanisms underlying epileptogenesis. *Sci STKE*. 2006 Oct 10;2006(356):re12. Review.
131. Meldrum BS, Brierley JB. Neuronal loss and gliosis in the hippocampus following repetitive epileptic seizures induced in adolescent baboons by allylglycine. *Brain Res*. 1972 Dec 24;48:361-5.
132. Mestrallet CA. Homeostasis of dendritic spines in hippocampal CA1 cells. University College London. October 2011
133. Molnár E. Long-term potentiation in cultured hippocampal neurons. *Semin Cell Dev Biol*. 2011 Jul;22(5):506-13
134. Mong JA, McCarthy MM. Steroid-induced developmental plasticity in hypothalamic astrocytes: implications for synaptic patterning. *J Neurobiol*. 1999 Sep 15;40(4):602-19. Review.
135. Moriwaki A, Lu YF, Tomizawa K, Matsui H. An immunosuppressant, FK506, protects against neuronal dysfunction and death but has no effect on electrographic and behavioral activities induced by systemic kainate. *Neuroscience*. 1998 Oct;86(3):855-65.
136. Moser MB, Trommald M, Andersen P. An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggests the formation of new synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Dec 20;91(26):12673-5.
137. Müller M, Gähwiler BH, Rietschin L, Thompson SM. Reversible loss of dendritic spines and altered excitability after chronic epilepsy in hippocampal slice cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Jan 1;90(1):257-61.
138. Multani P, Myers RH, Blume HW, Schomer DL, Sotrel A. Neocortical dendritic pathology in human partial epilepsy: a quantitative Golgi study. *Epilepsia*. 1994 Jul-Aug;35(4):728-36.
139. Muñoz-Cueto JA, García-Segura LM, Ruiz-Marcos A. Developmental sex differences and effect of ovariectomy on the number of cortical pyramidal cell dendritic spines. *Brain Res*. 1990 May 7;515(1-2):64-8.
140. Murai KK, Nguyen LN, Irie F, Yamaguchi Y, Pasquale EB. Control of hippocampal dendritic spine morphology through ephrin-A3/EphA4 signaling. *Nat Neurosci* 2003 6:153-160.
141. Nagerl UV, Eberhorn N, Cambridge SB, Bonhoeffer T. Bidirectional activity-dependent morphological plasticity in hippocampal neurons. *Neuron* 2004 44(5):759-67
142. Naisbitt S, Kim E, Tu JC, Xiao B, Sala C, Valtschanoff J, Weinberg RJ, Worley PF, Sheng M. Shank, a novel family of postsynaptic density proteins that binds to the NMDA receptor/PSD-95/GKAP complex and cortactin. *Neuron* 1999 23:569-582.
143. Nakayama AY, Harms MB, Luo L. Small GTPases Rac and Rho in the maintenance of dendritic spines and branches in hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci* 2000 20:5329-5338.

144. Nevander G, Ingvar M, Auer R, Siesjö BK. Status epilepticus in well-oxygenated rats causes neuronal necrosis. *Ann Neurol*. 1985 Sep;18(3):281-90.
145. Newey SE, Velamoor V, Govek EE, Van Aelst L. Rho GTPases, dendritic structure, and mental retardation. *J Neurobiol*. 2005 Jul;64(1):58-74. Review
146. Nicol GD, Klingberg DK, Vasko MR. Prostaglandin E2 increases calcium conductance and stimulates release of substance P in avian sensory neurons. *J Neurosci* 1992 12:1917–1927.
147. Nimchinsky EA, Sabatini BL, Svoboda K. Structure and function of dendritic spines. *Annu Rev Physiol*. 2002;64:313-53. Review.
148. Nishida H, Okabe S. Visualization of synapse-glia dynamics. *Brain Nerve*. 2007 Jul;59(7):755-61. Review.
149. Nishizuka M, Okada R, Seki K, Arai Y, Iizuka R. Loss of dendritic synapses in the medial amygdala associated with kindling. *Brain Res*. 1991 Jun 28;552(2):351-5.
150. Noguchi J, Matsuzaki M, Ellis-Davies GC, Kasai H. Spine-neck geometry determines NMDA receptor-dependent Ca²⁺ signaling in dendrites. *Neuron*. 2005 May 19;46(4):609-22.
151. Noguchi,J., Matsuzaki,M., Ellis-Davies,G.C., Kasai,H. Spine-neck geometry determines NMDA receptor-dependent Ca²⁺ signaling in dendrites. *Neuron* 2005 46, 609-622.
152. Oertner TG, Matus A. Calcium regulation of actin dynamics in dendritic spines. *Cell Calcium* 2005 37(5):477–82
153. Ohta,Y.,Nishida,E.,Sakai,H. TypeII Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase binds to actin filaments in a calmodulin-sensitive manner. *FEBS Lett*. 1986 208, 423–426.
154. Okamoto K, Nagai T, Miyawaki A, Hayashi Y. Rapid and persistent modulation of actin dynamics regulates postsynaptic reorganization underlying bidirectional plasticity. *Nat Neurosci*. 2004 Oct;7(10):1104-12.
155. Okamoto, K., Narayanan, R., Lee, S.H., Murata, K., Hayashi, Y., The role of CaMKII as an F-actin- bundling protein crucial for maintenance of dendritic spine structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007 104, 6418–6423.
156. O'Malley A, O'Connell C, Regan CM. Ultrastructural analysis reveals avoidance conditioning to induce a transient increase in hippocampal dentate spine density in the 6 hour post-training period of consolidation. *Neuroscience*. 1998 Dec;87(3):607-13.
157. Oray, S., Majewska, A., Sur, M. Effects of synaptic activity on dendritic spine motility of developing cortical layer V pyramidal neurons. *Cerebral Cortex*. 2006 16, 730–741.
158. Pak DT, Yang S, Rudolph-Correia S, Kim E, Sheng M. Regulation of dendritic spine morphology by SPAR, a PSD-95-associated RapGAP. *Neuron* 2001 31:289–303.
159. Parnass,Z., Tashiro,A., Yuste,R. Analysis of spine morphological plasticity in developing hippocampal pyramidal neurons. *Hippocampus* 2000 10, 561-568.
160. Parnavelas JG, Globus A, Kaups P. Continuous illumination from birth affects spine density of neurons in the visual cortex of the rat. *Exp Neurol*. 1973 Sep;40(3):742-7
161. Parnavelas JG, Lynch G, Brecha N, Cotman CW, Globus A. Spine loss and regrowth in hippocampus following deafferentation. *Nature*. 1974 Mar 1;248(443):71-3.
162. Passafaro M, Nakagawa T, Sala C, Sheng M. Induction of dendritic spines by an extracellular domain of AMPA receptor subunit GluR2. *Nature* 2003 424:677–681.
163. Patel SN, Stewart MG. Changes in the number and structure of dendritic spines 25 hours after passive avoidance training in the domestic chick, *Gallus domesticus*. *Brain Res*. 1988 May 24;449(1-2):34-46

164. Pati S, Alexopoulos AV. Pharmacoresistant epilepsy: from pathogenesis to current and emerging therapies. *Cleve Clin J Med*. 2010 Jul;77(7):457-67.
165. Penzes P, Rafalovich I. Regulation of the actin cytoskeleton in dendritic spines. *Adv Exp Med Biol*. 2012;970:81-95.
166. Peters A, Palay SL, Webster Hd. *The Fine Structure of the Nervous System: The Neurons and Supporting Cells*. Philadelphia: W. B. Saunders. 1976 406 p.
167. Petralia RS, Esteban JA, Wang Y-X, Partridge JG, Zhao H-M, et al. Selective acquisition of AMPA receptors over postnatal development suggests a molecular basis for silent synapses. *Nat. Neurosci*. 1999 2(1):31-36
168. Pinkstaff JK, Lynch G, Gall CM. Localization and seizure-regulation of integrin beta 1 mRNA in adult rat brain. *Brain Res Mol Brain Res*. 1998 Apr;55(2):265-76.
169. Pitkänen A, Tuunanen J, Halonen T. Vigabatrin and carbamazepine have different efficacies in the prevention of status epilepticus induced neuronal damage in the hippocampus and amygdala. *Epilepsy Res*. 1996 May;24(1):29-45.
170. Pitkänen A. Treatment with antiepileptic drugs: possible neuroprotective effects. *Neurology*. 1996 Jul;47(1 Suppl 1):S12-6.
171. Popov VI, Bocharova LS. Hibernation-induced structural changes in synaptic contacts between mossy fibres and hippocampal pyramidal neurons. *Neuroscience*. 1992;48(1):53-62.
172. Portera-Cailliau, C., Pan, D.T., Yuste, R. Activity-regulated dynamic behaviour of early dendritic protrusions: evidence for different types of dendritic filopodia. *The Journal of Neuroscience*. 2003 23, 7129-7143.
173. Purpura DP. Dendritic spine "dysgenesis" and mental retardation. *Science*. 1974 Dec 20;186(4169):1126-8.
174. Ramakers GJ. Rho proteins, mental retardation and the cellular basis of cognition. *Trends Neurosci*. 2002 Apr;25(4):191-9. Review.
175. Rempe DA, Bertram EH, Williamson JM, Lothman EW. Interneurons in area CA1 stratum radiatum and stratum oriens remain functionally connected to excitatory synaptic input in chronically epileptic animals. *J Neurophysiol*. 1997 Sep;78(3):1504-15.
176. Rensing N, Ouyang Y, Yang XF, Yamada KA, Rothman SM, Wong M. In vivo imaging of dendritic spines during electrographic seizures. *Ann Neurol*. 2005 Dec;58(6):888-98.
177. Rex CS, Gavin CF, Rubio MD, Kramar EA, Chen LY, Jia Y, Haganir RL, Muzyczka N, Gall CM, Miller CA, Lynch G, Rumbaugh G. Myosin IIb regulates actin dynamics during synaptic plasticity and memory formation. *Neuron*. 2010 Aug 26;67(4):603-17.
178. Roelandse M, Matus A. Hypothermia-associated loss of dendritic spines. *J Neurosci*. 2004 Sep 8;24(36):7843-7.
179. Rogawski MA. Molecular targets versus models for new antiepileptic drug discovery. *Epilepsy Res*. 2006 Jan;68(1):22-8. Review.
180. Rose J, Jin SX, Craig AM. Heterosynaptic molecular dynamics: locally induced propagating synaptic accumulation of CaM kinase II. *Neuron*. 2009 Feb 12;61(3):351-8
181. Rothman SM, Samaie M. Physiology of excitatory synaptic transmission in cultures of dissociated rat hippocampus. *J Neurophysiol*. 1985 Sep;54(3):701-13.
182. Ryu J, Liu L, Wong TP, Wu DC, Burette A, Weinberg R, Wang YT, Sheng M. A critical role for myosin IIb in dendritic spine morphology and synaptic function. *Neuron*. 2006 Jan 19;49(2):175-82.

183. Sabatini BL, Maravall M, Svoboda K. Ca(2+) signaling in dendritic spines. *Curr.Opin.Neurobiol.* 2001 11(3):349–56
184. Sabatini BL, Oertner TG, Svoboda K. The life cycle of Ca(2+) ions in dendritic spines. *Neuron.* 2002 Jan 31;33(3):439–52.
185. Sala C, Futai K, Yamamoto K, Worley PF, Hayashi Y, Sheng M. Inhibition of dendritic spine morphogenesis and synaptic transmission by activity-inducible protein Homer1a. *J Neurosci* 2003 23:6327–6337.
186. Sanjay S. Kumar, Alberto Bacci, Viktor Kharazia, and John R. Huguenard A Developmental Switch of AMPA Receptor Subunits in Neocortical Pyramidal Neurons. *J. Neuroscience*, April 15, 2002, 22(8):3005–3015
187. Santos VR, de Castro OW, Pun RY, Hester MS, Murphy BL, Loepke AW, Garcia-Cairasco N, Danzer SC. Contributions of mature granule cells to structural plasticity in temporal lobe epilepsy. *Neuroscience.* 2011 Dec 1;197:348–57.
188. Scheibel ME, Crandall PH, Scheibel AB. The hippocampal-dentate complex in temporal lobe epilepsy. A Golgi study. *Epilepsia.* 1974 Mar;15(1):55–80.
189. Schmidt D, Löscher W. Drug resistance in epilepsy: putative neurobiologic and clinical mechanisms. *Epilepsia.* 2005 Jun;46(6):858–77. Review
190. Schmidt D. Efficacy of new antiepileptic drugs. *Epilepsy Curr.* 2011 Jan;11(1):9–11.
191. Schubert R. Attention deficit disorder and epilepsy. *Pediatr Neurol.* 2005 Jan;32(1):1–10. Review.
192. Segal M. Dendritic spines and long-term plasticity. *Nat Rev Neurosci.* 2005 Apr;6(4):277–84. Review.
193. Segal M. Dendritic spines, synaptic plasticity and neuronal survival: activity shapes dendritic spines to enhance neuronal viability. *Eur J Neurosci.* 2010 Jun;31(12):2178–84.
194. Segal M. New building blocks for the dendritic spine. *Neuron.* 2001 Aug 2;31(2):169–71.
195. Shen, K., Meyer, T. Dynamic control of CaMKII translocation and localization in hippocampal neurons by NMDA receptor stimulation. *Science* 1999 284, 162–166.
196. Shors TJ, Chua C, Falduto J. Sex differences and opposite effects of stress on dendritic spine density in the male versus female hippocampus. *J Neurosci.* 2001 Aug 15;21(16):6292–7
197. Skoff, R.P., Hamburger, V. Fine structure of dendritic and axonal growth cones in embryonic chick spinal cord. *J. Comp. Neurol.* 1974 153, 107–147.
198. Sloviter RS, Damiano BP. On the relationship between kainic acid-induced epileptiform activity and hippocampal neuronal damage. *Neuropharmacology.* 1981 Nov;20(11):1003–11.
199. Sorra KE, Harris KM. Overview on the structure, composition, function, development, and plasticity of hippocampal dendritic spines. *Hippocampus.* 2000;10(5):501–11. Review
200. Sorra, K.E., Fiala, J.C., Harris, K.M. Critical assessment of the involvement of perforations, spines, and spine branching in hippocampal synapse formation. *J. Comp. Neurol.* 1998 398, 225–240.
201. Spacek, J., Harris, K.M., Three-dimensional organization of smooth endoplasmic reticulum in hippocampal CA1 dendrites and dendritic spines of the immature and mature rat. *J. Neurosci.* 1997 17, 190–203.

202. Spigelman I, Yan XX, Obenaus A, Lee EY, Wasterlain CG, Ribak CE. Dentate granule cells form novel basal dendrites in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*. 1998 Sep;86(1):109-20.
203. Stafstrom CE. Epilepsy: a review of selected clinical syndromes and advances in basic science. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2006 Aug;26(8):983-1004. Review.
204. Star EN, Kwiatkowski DJ, Murthy VN. Rapid turnover of actin in dendritic spines and its regulation by activity. *Nat. Neurosci*. 2002 5(3):239-46
205. Suetsugu M, Mehraein P. Spine distribution along the apical dendrites of the pyramidal neurons in Down's syndrome. A quantitative Golgi study. *Acta Neuropathol*. 1980;50(3):207-10.
206. Sugiura H, Tanaka H, Yasuda S, Takemiya T, Yamagata K. Transducing neuronal activity into dendritic spine morphology: new roles for p38 MAP kinase and N-cadherin. *Neuroscientist*. 2009 Feb;15(1):90-104. Review.
207. Suzuki F, Makiura Y, Guilhem D, Sørensen JC, Onteniente B. Correlated axonal sprouting and dendritic spine formation during kainate-induced neuronal morphogenesis in the dentate gyrus of adult mice. *Exp Neurol*. 1997 May;145(1):203-13.
208. Swann JW, Al-Noori S, Jiang M, Lee CL. Spine loss and other dendritic abnormalities in epilepsy. *Hippocampus*. 2000;10(5):617-25. Review.
209. Swann JW. The spine loss paradox: clues to mechanisms and meaning. *Epilepsy Curr*. 2008 Nov-Dec;8(6):168-9.
210. Swann JW, Al-Noori S, Jiang M, Lee CL. Spine loss and other dendritic abnormalities in epilepsy. *Hippocampus*. 2000;10(5):617-25. Review.
211. Tada T, Sheng M. Molecular mechanisms of dendritic spine morphogenesis. *Curr Opin Neurobiol*. 2006 16(1):95-101
212. Takács E, Nyilas R, Szepesi Z, Baracska P, Karlsen B, Røsvold T, Bjørkum AA, Czúrkó A, Kovács Z, Kékesi AK, Juhász G. Matrix metalloproteinase-9 activity increased by two different types of epileptic seizures that do not induce neuronal death: a possible role in homeostatic synaptic plasticity. *Neurochem Int*. 2010 May-Jun;56(6-7):799-809.
213. Takashima S, Becker LE, Armstrong DL, Chan F. Abnormal neuronal development in the visual cortex of the human fetus and infant with down's syndrome. A quantitative and qualitative Golgi study. *Brain Res*. 1981 Nov 23;225(1):1-21.
214. Takumi Y, Ramirez-Leon V, Laake P, Rinvik E, Ottersen OP. Different modes of expression of AMPA and NMDA receptors in hippocampal synapses. *Nat. Neurosci*. 1999b 2(7):618-24
215. Tang Y, Janssen WG, Hao J, Roberts JA, McKay H, Lasley B, Allen PB, Greengard P, Rapp PR, Kordower JH, Hof PR, Morrison JH. Estrogen replacement increases spinophilin-immunoreactive spine number in the prefrontal cortex of female rhesus monkeys. *Cereb Cortex*. 2004 Feb;14(2):215-23.
216. Tashiro A, Minden A, Yuste R. Regulation of dendritic spine morphology by the rho family of small GTPases: antagonistic roles of Rac and Rho. *Cereb Cortex* 2000 10:927-938.
217. Tashiro A, Yuste R. Regulation of dendritic spine motility and stability by Rac1 and Rho kinase: evidence for two forms of spine motility. *Mol Cell Neurosci*. 2004 Jul;26(3):429-40.

218. Tashiro, A., Dunaevsky, A., Blazeski, R., Mason, C.A., Yuste, R. Bidirectional regulation of hippocampal mossy fiber filopodial motility by kainate receptors: a two-step model of synaptogenesis. *Neuron*. 2003 38, 773–784.
219. Tavazoie SF, Alvarez VA, Ridenour DA, Kwiatkowski DJ, Sabatini BL. Regulation of neuronal morphology and function by the tumor suppressors Tsc1 and Tsc2. *Nat Neurosci*. 2005 Dec;8(12):1727–34.
220. Taylor CP, Angelotti T, Fauman E. Pharmacology and mechanism of action of pregabalin: the calcium channel alpha2-delta (alpha2-delta) subunit as a target for antiepileptic drug discovery. *Epilepsy Res*. 2007 Feb;73(2):137–50. Review.
221. Thompson SM, Fortunato C, McKinney RA, Müller M, Gähwiler BH. Mechanisms underlying the neuropathological consequences of epileptic activity in the rat hippocampus in vitro. *J Comp Neurol*. 1996 Sep 2;372(4):515–28
222. Thompson SM. Ephrins keep dendritic spines in shape. *Nat Neurosci* 2003 6:103–104.
223. Togashi H, Abe K, Mizoguchi A, Takaoka K, Chisaka O, Takeichi M. Cadherin regulates dendritic spinemorphogenesis. *Neuron* 2002 35:77–89.
224. Trachtenberg JT, Chen BE, Knott GW, Feng G, Sanes JR, Welker E, Svoboda K. Long-term in vivo imaging of experience-dependent synaptic plasticity in adult cortex. *Nature*. 2002 Dec 19-26;420(6917):788–94.
225. Tsay D, Yuste R. On the electrical function of dendritic spines. *Trends Neurosci*. 2004 Feb;27(2):77–83.
226. Turski WA, Czuczwar SJ, Kleinrok Z, Turski L. Cholinomimetics produce seizures and brain damage in rats. *Experientia*. 1983 Dec 15;39(12):1408–11.
227. Tuunanen J, Halonen T, Pitkanen A (1996) Status epilepticus causes selective regional damage and loss of GABAergic neurons in the rat amygdaloid complex. *Eur J Neurosci* 1996 8:2711–2725
228. Van Harreveld A, Fifkova E. Swelling of dendritic spines in the fascia dentata after stimulation of the perforant fibers as a mechanism of post-tetanic potentiation. *Exp Neurol*. 1975 Dec;49(3):736–49
229. Vazquez B, Devinsky O. Epilepsy and anxiety. *Epilepsy Behav*. 2003 Dec;4 Suppl 4:S20–5.
230. von Bohlen Und Halbach O. Structure and function of dendritic spines within the hippocampus. *Ann Anat*. 2009 Dec;191(6):518–31. Review.
231. von Campe G, Spencer DD, de Lanerolle NC. Morphology of dentate granule cells in the human epileptogenic hippocampus. *Hippocampus*. 1997;7(5):472–88.
232. Walker MC, White HS, Sander JW. Disease modification in partial epilepsy. *Brain*. 2002 Sep;125(Pt 9):1937–50. Review
233. Wilczynski GM, Konopacki FA, Wilczek E, Lasiecka Z, Gorlewicz A, Michaluk P, Wawrzyniak M, Malinowska M, Okulski P, Kolodziej LR, Konopka W, Duniec K, Mioduszevska B, Nikolaev E, Walczak A, Owczarek D, Gorecki DC, Zuschratter W, Ottersen OP, Kaczmarek L. Important role of matrix metalloproteinase 9 in epileptogenesis. *J Cell Biol*. 2008 Mar 10;180(5):1021–35.
234. Willmore LJ, Ballinger WE Jr, Boggs W, Sybert GW, Rubin JJ. Dendritic alterations in rat isocortex within an iron-induced chronic epileptic focus. *Neurosurgery*. 1980 Aug;7(2):142–6.

235. Wisniewski KE, Segan SM, Mizejeski CM, Sersen EA, Rudelli RD. The Fra(X) syndrome: neurological, electrophysiological, and neuropathological abnormalities. *Am J Med Genet.* 1991 Feb-Mar;38(2-3):476-80.
236. Wong M, Guo D. Dendritic spine pathology in epilepsy: Cause or consequence? *Neuroscience.* 2012 Apr 20.
237. Wong M. Modulation of dendritic spines in epilepsy: cellular mechanisms and functional implications. *EpilepsyBehav.* 2005 Dec;7(4):569-77. Review.
238. Wong M. Stabilizing dendritic structure as a novel therapeutic approach for epilepsy. *Expert Rev Neurother.* 2008 Jun;8(6):907-15. Review.
239. Wong WT, Faulkner-Jones BE, Sanes JR, Wong ROL. Rapid dendritic remodeling in the developing retina: dependence on neurotransmission and reciprocal regulation by Rac and Rho. *J Neurosci* 2000 20:5024–5036.
240. Woolley CS, McEwen BS. Estradiol regulateshippocampal dendritic spine density via an N-methyl-Daspartatereceptor-dependent mechanism. *J Neurosci* 1994 14:7680–7687.
241. Woolley CS, Weiland NG, McEwen BS, Schwartzkroin PA. Estradiol increases the sensitivity of hippocampal CA1 pyramidal cells to NMDA receptor-mediated synaptic input:correlation with dendritic spine density. *J Neurosci.* 1997 Mar 1;17(5):1848-59.
242. Woolley CS, McEwen BS. Roles of estradiol and progesterone in regulation of hippocampal dendritic spine density during the estrous cycle in the rat. *J Comp Neurol.* 1993 Oct 8;336(2):293-306
243. Changqing Xu, Changhai Cui, and Daniel L. Alkon Age-Dependent Enhancement of Inhibitory Synaptic Transmission in CA1 Pyramidal Neurons Via GluR5 Kainate Receptors. *Hippocampus* 19:706–717 (2009)
244. Yin H, Wang L, Xiao F, Huang Z, Huang Y, Zhou C, Han Y, Tao S, Yang H, Wang X. Upregulation of liprin- α 1 protein in the temporal neocortex of intractable epileptic patients and experimental rats. *Synapse.* 2011 Aug;65(8):742-50.
245. Yuste R, Bonhoeffer T. Genesis of dendritic spines: insights from ultrastructural and imaging studies. *Nat Rev Neurosci* 2004 5:24–34.
246. Yuste R, Majewska A, Holthoff K. From form to function: calcium compartmentalization in dendritic spines. *Nat Neurosci.* 2000 Jul;3(7):653-9. Review
247. Zeng LH, Xu L, Rensing NR, Sinatra PM, Rothman SM, Wong M. Kainate seizures cause acute dendritic injury and actin depolymerization in vivo. *J Neurosci.* 2007 Oct 24;27(43):11604-13.
248. Zeng LH, Xu L, Gutmann DH, Wong M. Rapamycin prevents epilepsy in a mouse model of tuberous sclerosis complex. *Ann Neurol.* 2008 Apr;63(4):444-53.
249. Zimmermann P. Estrogen-dependent changes in the functional interrelationships among neurons, ependymal cells and glial cells of the arcuate nucleus. Cytometric studies in the female albino mouse. *Cell Tissue Res.* 1982;227(1):113-28.
250. Zito K, Knott G, Shepherd GM, Shenolikar S, Svoboda K. Induction of spine growth and synapse formation by regulation of the spine actin cytoskeleton. *Neuron* 2004 44(2):321–34
251. Ziv NE, Smith SJ. Evidence for a role of dendritic filopodia in synaptogenesis and spine formation. *Neuron* 1996 17:91–102.