ი. ბერიტაშვილის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი

ხელნაწერის უფლებით

დ ი ა ნ ა მ უ ს ე რ ი ძ ე

ეთანოლის ზეგავლენა ნერვული და გლიური უჯრედების დიფერენცირებაზე in vitro და in vivo პირობებში და გამოვლენილი ცვლილებების კორექცია

ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორის სამეცნიერო ხარისხის
მოსაპოვებლად წარმოდგენილი

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

03.00.25 – უჯრედული ბიოლოგია

სამეცნიერო კონსულტანტი: **იგორ სვანიძე**
ბიოლოგიის მეცნიერებათა
დოქტორი, პროფესორი

თბილისი
2006

შ ი ნ ა ა რ ს ი

ნაშრომის ზოგადი დახასიათება.

I ლიტერატურის მიმოხილვა.

1 ნერვული და გლიური უჯრედების დიფერენცირების თავისებურებანი in vitro პირობებში.

1.1 კულტურის მოდელური ექსპერიმენტების მნიშვნელობა ნერვული ქსოვილის კვლევის დროს.

1.2 ნერვული ქსოვილის თავისებურებანი კულტივირების დროს.

1.3 აქსონების ზრდა in vitro და ზრდის კონუსის როლი აქსონების ზრდაში.

1.4 გლიური უჯრედების თავისებურებანი in vitro.

1.5 ეთანოლის ზეგავლენა ნერვულ და გლიურ უჯრედებზე in vitro.

2 თავის ტვინის ქერქის ნერვული და გლიური უჯრედების ცვლილებები ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად in vivo პირობებში.

2.1 ალკოჰოლის ზემოქმედების სხვადასხვა ასპექტები ნერვული ქსოვილის განვითარების პროცესში.

2.2 ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული ცვლილებები თავის ტვინის ქერქში. ნეიროტროფული ფაქტორების როლი ნერვული და გლიური უჯრედების ცხოველმყოფელობაში.

2.3 ეთანოლის ციტოტოქსიკური ზემოქმედება ნერვულ და გლიურ უჯრედებზე.

2.4 ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის ცვლილება ეთანოლით ზემოქმდების შემდეგ.

2.5 ეთანოლის ზეგავლენა მატრიცული და გლიური უჯრედების პროლიფერაციასა და მიგრაციაზე.

2.6 თავის ტვინის ქერქის ნეირონების მეტაბოლური აქტიურობის თავისებურებანი ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის შემდეგ.

2.7 ეთანოლის ზეგავლენა დასწავლასა და მეხსიერებაზე და გამოვლენი-ლი ცვლილებების კორექცია ოქსიდანტების მეშვეობით.

II მასალა და მეთოდები.

1 ზურგის ტვინის უჯრედების დიფერენცირების თავისებურებების განსაღვრა ნორმაში, ეთანოლის ზემოქმედების და ოქსიდანტებით კორექ-ციის შემდეგ in vitro პირობებში.

1.1 ზურგის ტვინის კულტივირების მეთოდები.

1.2 კულტივირებული ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ულტრასტრუქტურული კვლევის მეთოდი.

1.3 კულტივირებული ნეირონების ბიოელექტრული აქტიურობის გამოვლენა.

1.4 ეთანოლით და ანტიოქსიდანტებით გამოწვეული ცვლილებების გამოვლენა ზურგის ტვინის კულტივირების დროს.

1.5 აქსონის ზრდის ინდექსის დადგენა.

2 ნერვული და გლიური უჯრედების მორფო-ფუნქციური ცვლილებების განსაზღვრა ალკოჰოლიზირებული მდედრი ვირთაგვების შთამომავლობაში და მათი კორექცია in vivo პირობებში.

2.1 ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის განსაზღვრა თავის ტვინის ქერქში.

2.2 თავის ტვინის გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების და მოტორულ ქერქში გლიური უჯრედების მიტოზური ინდექსის დადგენა.

2.3 მეტაბოლიზმის პროცესების განსაზღვრა ელექტრონული პარამაგნი-ტური რეზონანსის (ეპრ) მეთოდით in vitro და in vivo.

2.4 დასწავლის უნარსა და მეხსიერებაში გამოვლენილი ცვლილებების განსაღვრა.

2.4.ა სივრცითი დასწავლის პროცესის შეფასება მრავალსვლიანი ესტაკა-დური ტიპის ლაბირინთის გამოყენებით.

2.4.ბ მეხსიერების კვალის კონსოლიდაციის პროცესის შესწავლა პასიური განრიდების ტესტის გამოყენებით.

III საკუთარი მონაცამები.

1 ნერვული და გლიური უჯრედების თავისებურებები ნორმასა და ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად და გამოვლენილი ცვლილებების კორექცია in vitro პირობებში.

1.1 ნერვული ქსოვილის დიფერენცირება ზურგის ტვინის კულტივირების დროს.

1.2 ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული აქსონების ზრდისა და გლიუ-რი უჯრედების ცვლილებები და მათი კორექცია.

1.3 კულტივირებული ზურგის ტვინის ეპრ სპექტროსკოპული ანალიზი ეთანოლის და ანტიოქსიდანტების ზემოქმედების შედეგად.

2 თავის ტვინის ქერქის ნერვული და გლიური უჯრედების თავისებურებები ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად და მათი კორექცია in vivo პირობებში.

2.1 ლიმბური და მოტორული ქერქშის ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდე ნობის ცვლილებები და მათი კორექცია.

2.2 თავის ტვინის გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების და მოტორული ქერქის გლიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობა.

2.3 თავის ტვინის ქერქის ნეირონების ეპრ სპექტროსკოპული ანალიზი in vivo.

2.4 ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული ცვლილებები ცხოველთა დასწავლასა და მეხსიერებაში.

IV მიღებული შედეგების განხილვა.

1 ნერვული ქსოვილის თავისებურებანი კულტივირების პირობებში.

1.1 ნერვული ქსოვილის დიფერენცირება ზურგის ტვინის კულტივირების დროს.

1.2 კულტივირებულ ნერვულ ქსოვილზე ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებები და მათი კორექცია.

2 ლიმბურ და მოტორულ ქერქში ეთანოლის ზეგავლენით გამოწვეული ცვლილებები და მათი კორექცია in vivo პირობებში.

2.1 ლიმბურ და მოტორულ ქერქში ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის ცვლილებები ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად.

2.2 ეთანოლით გამოწვეული გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედე-ბის და მოტორული ქერქის გლიური უჯრედების პროლიფერაციული

აქტიურობის ცვლილებები.

2.3 ეთანოლის ზეგავლენა თავის ტვინის ქერქში მიმდინარე მეტაბოლურ პროცესებზე.

2.4 ეთანოლით გამოწვეული ცვლილებების კორექცია ანტიოქსიდანტების მეშვეობით in vivo პირობებში.

2.5 ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული ცვლილებები ცხოველთა დასწავლასა და მეხსიერებაში და კორექცია დოლივინის მეშვეობით.

დასკვნები.

ლიტერატურის სია.

ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

პრობლემის აქტუალობა

მიუხედავად მრავალი წლის განმავლობაში არსებული გამოკვლევებისა, ალკოჰოლიზმი თანამედროვე ნეირომეცნიერებისა და მედიცინის აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს. განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად განვითარებადი ორგანიზმის თავის ტვინში მიმდინარე დარღვევების მორფო-ფუნქციური თავისებურებების შესწავლა. ქალების მიერ ალკოჰოლის მიღება ფეხმძიმობის პერიოდში იწვევს ღრმა ჩამორჩენას მათი შთამომავლობის პრე- და პოსტნატალურ განვითარებაში, თავის ტვინის ფუნქციების მოშლას და ქცევით ანომალიებს ჰიპერაქტიურობიდან გონებრივ ჩამორჩენილობამდე. აღნიშნული დარღვევების შედეგად ვითარდება ნაყოფის ალკოჰოლური სინდრომი (FAS – Fetal Alkohol Syndrom), რომელიც შემდგომში განაპირობებს სხვადასხვა პათოლოგიებისა და ნევროლოგიური დაავადებების განვითარებას, როგორიცაა მიკროცეფალია, ტვინის ასიმეტრია, დარღვევები ბავშვების ზრდასა და განვითარებაში (Famy et al., 1998; Ykonomidou et al., 2000). ამ მხრივ დაგროვილი საკმაოდ დიდი ინფორმაციის მიუხედავად, აღნიშნული პრობლემა ჯერ კიდევ მოითხოვს მრავალ გამოკვლევას.

განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი ცვლილებების და მათი კორექციის შესწავლა in vitro და in vivo

პირობებში, ნერვული ქსოვილის დიფერენცირების პროცესში მიმდინარე ნეიროგენეზის ძირითად ეტაპებზე.

ნერვული ქსოვილის კვლევა კულტივირების პირობებში საშუალებას იძლევა ცოცხალ ქსოვილზე დინამიკაში შევისწავლოთ ნეიროგენეზის პროცესი, რომელიც საფუძვლად უდევს ნერვული სისტემის ფუნქციის სხვადასხვა ასპექტებს ნორმასა და პათოლოგიის დროს, განსაკუთრებით ონტოგენეზის კრიტიკულ პერიოდებში.

ნერვული ქსოვილის კულტივირების მეთოდის გამოყენების შედეგად მრავალი მკვლევარის მიერ გამოვლენილ იქნა რიგი მნიშვნელოვანი ფაქტებისა, როგორიცაა სინაფტოგენეზის მექანიზმები, სპეციფიკური კავშირების ფორმირება ნეირონებსა და მათ სამიზნე უჯრედებს შორის, ნერვული ქსოვილის უჯრედების მეტაბოლიზმის და ბიოელექტრული აქტიურობის სხვადასხვა ასპექტები, ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების და ფარმაკოლოგიური ან სხვა ფაქტორების ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებები და მათი კორექციის შესაძლებლობა, სხვადასხვა ნევროლოგიური დაავადებების პათოგენეზში მონაწილე ნერვული და გლიური უჯრედების თავისებურებანი და სხვა.

ცნს-ის ქსოვილების in vitro პირობებში შექმნილი სპეციფიკური სინაფსური კონტაქტები ნერვულ უჯრედებს შორის მათთვის დამახასიათებელ მგრძნობელობას ავლენენ სხვადასხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების მიმართ და აერთიანებენ ნეირონების ჯგუფებს ორგანიზებულ სტრუქტურებში. ცნს-ის კულტურის მოდელური ექსპერიმენტების უპირატესობა ეფუძნება საკვლევ ობიექტზე უშუალო დაკვირვების შესაძლებლობას, როდესაც უჯრედები ინარჩუნებენ კოორდინირებული მოქმედების უნარს, რაც გამოიხატება ორგანიზებული ბადეების შექმნაში. ნერვული ქსოვილის ორგანოტიპური კულტურა ხელსაყრელ მოდელს წარმოადგენს, რადგან შეიცავს ისეთ უჯრედშორის კავშირებს, რაც დამახასიათებელია თავის ტვინისთვის განვითარების პროცესში (Mooney, Miller, 2003).

უჯრედშორისი კონტაქტების ფორმირება და შენარჩუნება წარმოადგენს ნერვული ქსოვილის დიფერენცირების ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ეტაპს in vitro (Grosse, Lindner, 1970; Kim, 1972; Викторов 1976; Коновалов и др., 1978; Шаронова и др., 1978; Feldman et al., 1981; Braun et al., 1996). ცნს-ის სხვადასხვა სტრუქტურული

წარმონაქმნების კულტივირების დროს გამოვლენილია ორგანიზმის პირობებში მათთვის დამახასიათებელი სინაფსური დაბოლოებების და ზოგჯერ სინაფსური კომპლექსების წარმოქმნა (Kim, 1970; Seil, Herndon, 1970; Крейн, 1980; Rafuse et al, 1996). ზურგის ტვინის მოტონეირონების აქსონები სწორხაზოვანი, მიმართული ზრდის შედეგად კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატებისკენ ქმნიან ნერვ-კუნთოვან ფირფიტას (James, Tresman, 1968; Shimada, Fishman, 1975; Крейн, 1980; Rafuse et al., 1996; Braun et al., 1996).

ნერვული ქსოვილის კულტურაში მკვლევართა ყურადღებას იქცევს სპრაუტინგის მოვლენა, რომელიც გამოვლენილ იქნა უნიპოლარული ნეირონების მიერ წარმოქმნილი მრავალრიცხოვანი მორჩების ძლიერი დატოტიანების შედეგად. ემბრიონული ნერვული ქსოვილის კულტივირების დროს სპრაუტინგი განიხილება, როგორც ნეირობლასტების მაღალი პლასტიკური პოტენციის შედეგი (Шеперд, 1987; Кэндал, 1980).

ლიტერატურაში არსებული მრავალრიცხოვანი მონაცემები მიუთითებენ აქსონებზე და დენდრიტებზე in vitro სხვადასხვა მასტიმულირებელი ფაქტორების ზემოქმედებაზე (Leclere et al., 1998; Seabold et al., 1998; Sedel, et al., 1999; Heaton et al., 2003). ნერვული ქსოვილის განვითარებაზე in vitro ზემოქმედებას ახდენენ აგრეთვე ტვინის ექსტრაქტები და არანერვული წარმოშობის ქსოვილების ექსტრაქტები, რომლებიც შეიცავენ ცილოვანი ბუნების ფაქტორებს (Barakat, Sensenbrenner, 1981; Nurcombe et al., 1984).

ამგვარად, ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, შეიძლება დავასკვნათ, რომ ნერვული ქსოვილის კულტურა ადექვატურ მოდელს წარმოდგენს განვითარებად თავის ტვინზე სხვადასხვა ფაქტორების და მათ შორის ეთანოლის უშუალო ზემოქმედების შესასწავლად, ხოლო ეთანოლის ტოქსიკური ზემოქმედების შესახებ არსებული მრავალი გამოკვლევის შედეგად დადგენილ იქნა, რომ ნერვული ქსოვილის in vitro სისტემები ხელსაყრელ მოდელს წარმოადგენენ ეთანოლის ნეიროტოქსიკურობის დასადგენად.

In vitro პირობებში ეთანოლის მიერ გლიური უჯრედების მიგრაციისა და ნეირონების აქსონების ზრდის დათრგუნვის შესახებ არსებული მონაცემები ემთხვევა

ლიტერატურის მონაცემებს in vivo,^რომელთა თანახმად, ეთანოლი ასევე თრგუნავს ცნს-ის განვითარებას (Guerri et al., 1990; Robinson, Mair, 1992; Luo, Miller,1998).

ყოველივე ზემოთთქმულის საფუძველზე, განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს აღნიშნული საკითხების შესწავლა როგორც in vitro, ისე in vivo პირობებში, რაც საშუალებას გვაძლევს უფრო მეტად გავერკვეთ ალკოჰოლის ციტოტოქსიკური ზემოქმედების თავისებურებებში.

ალკოჰოლით ინტოქსიკაცია განსაკუთრებით ძლიერ ზემოქმედებას ახდენს თავის ტვინის განვითარების პერიოდში. მდედრი ვირთაგვების პრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაციის შედეგად მიღებულ შთამომავლობაში გამოვლენილ იქნა მორფო-ფუნქციური დარღვევების სხვადასხვა ასპექტები, განსაკუთრებით თავის ტვინსა და ნათხემში (Miller, 1996a). თავის ტვინის საერთო მოცულობის და ზომის მნიშვნელოვანი რედუქცია აღინიშნება ალკოჰოლის ზემოქმედების შემდეგ, განვითარების იმ პერიოდში, როდესაც ხდება გლიის სწრაფი პროლიფერაცია, მომწიფება და მიელინის წარმოქმნა (Miller, 1996a; Dobbing, Sands, 1979).

ქალების მიერ ალკოჰოლის მიღება ფეხმძიმობის პერიოდში იწვევს მათ თამომავლობაში ნაყოფის ალკოჰოლური სინდრომის (FAS – Fetal Alcohol Syndrom) ჩამოყალიბებას, რომლის ერთ-ერთ ირითად ნიშანს წარმოადგენს ცნს-ის დისფუნქცია, აც თავის მხრივ განაპირობებს სხვადასხვა პათოლოგიებს და ნევროლოგიურ დაავადებებს, როგორიცაა გონებრივი ჩამორჩენა, მიკროცეფალია, ქცევითი აქტების მოშლა, დარღვევები ბავშვთა ზრდასა და განვითარებაში და სხვა (Famy et al.,1998; Yconomidou et al.,2000).

მძიმე დარღვევები ვლინდება ბავშვების ფსიქიკაში, განსაკუთრებით ხშირია ნევროზები, ეპილეფსია. აღსანიშნავია, რომ ფსიქიატრების პაციენტების 60-80% მიეკუთვნება ალკოჰოლის მომხმარებელი დედების შთამომავლობას (Бородкин, Грекова, 1987).

ლიტერატურაში არსებული მონაცემების თანახმად ეთანოლის პრე- და პოსტნატალური ზემოქმედების მიმართ განსაკუთრებით მგრძნობიარეა თავის ტვინის ქერქი განვითარების ისეთ კრიტიკულ პერიოდებში, როგორიცაა თავის ტვინის პარკუჭების მატრიცული უჯრედების პროლიფერაცია, მიგრაცია და დიფერენცირება

(Fletcher, Shain 1993; Miller, 1996a; Goodlett, Horn, 2001; Heaton et al., 2003). ნეირონული გენერაციის დარღვევა, ნეირონების და ასტროციტების წინამორბედების დაზიანება და პროლიფერაციის დათრგუნვა შემდგომში იწვევს მიგრაციის პროცესის ინჰიბირებას (Guerri et al., 1990; Krill et al., 1997; Luo, Miller, 1998; 1999). მიგრაციის ტემპის შენელება იწვევს პოსტმიტოზური ნეირონების დაგროვებას პროლიფერაციულ ზონებში, რაც განაპირობებს ქერქის ასინქრონულ ფორმირებას (Miller, 1993; 1998).

ცნს-ის ფორმირების პროცესში ნეირობლასტების მიგრაცია ქერქული სტრუქტურების მიმართულებით ხორციელდება რადიალური გლიის დახმარებით. თავის ტვინის პარკუჭების მიმდებარე უბნებიდან მიგრირებული^ პოსტმიტოზური ნეირონები უკავშირდებიან რადიალური გლიის მორჩებს და მიჰყვებიან მათ შესაბამისი უბნებისკენ, რითაც უზრუნველყოფენ ნეირონების გადაადგილებას ქერქული და ქერქქვეშა სტრუქტურების მიმართულებით (Rakich, 1985; Shults et al., 1990). ეთანოლის ზემოქმედება აჩქარებს რადიალური გლიის გარდაქმნას ასტროციტებად, რის გამოც იგი კარგავს გამტარის ფუნქციას და შეიმჩნევა ნეირონების დაგროვება ექტოპიურ უბნებში (Miller, 1993; Miller, Robertson, 1993).

ნეირონების მიგრაციის პროცესში ჩართული არიან ადჰეზიური მოლეკულები (CAM). ალკოჰოლის ზემოქმედებამ შესაძლოა გამოიწვიოს მათი ანომალური ექსპრესია, რაც თავის მხრივ გამოიწვევს მიგრაციის პროცესის დარღვევას და შესაბამისად, ქერქის ჩამოყალიბების ასინქრონულობას (Minana et al., 2000; Ozer et al., 2000).

ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული ნეირონების წინამორბედების პროლიფერაციის და მიგრაციის პროცესების დარღვევა განაპირობებს თავის ტვინში უჯრედების რაოდენობრივი ბალანსის დარღვევას. გარდა ამისა, მშობლების ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად მიღებული შთამომავლობის თავის ტვინის ქერქის ნეირონებისთვის დამახასიათებელია რიგი დესტრუქციული ცვლილებებისა, რაც იწვევს პოსტნატალური განვითარების განსაკუთრებით ადრეულ ეტაპებზე ნეირონების პოპულაციის მომწიფების შეფერხებას (Попова, 1983;1998).

თავის ტვინზე სხვადასხვა დამაზიანებელი ფაქტორების, მათ შორის ეთანოლის, ზემოქმედება იწვევს ნერვული და გლიური უჯრედების დაღუპვას ნეკროზის ან აპოპტოზის გზით. აპოპტოზის გამომწვევი ერთ-ერთი ძირითადი ფაქტორი –

ოქსიდაციური სტრესი განაპირობებს სუპეროქსიდური ანიონების, მაღალაქტიური, სტაბილური რადიკალების ფორმირებას, რომელთა ძირითად სამიზნეს წარმოადგენენ მემბრანების ლიპიდური შრის შემადგენლობაში შემავალი პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავები (Halliwel, Gutteridge, 1985; Shakarishvili et al., 2003). თავის ტვინის უჯრედებში ცხიმოვანი მჟავების დიდი რაოდენობა განაპირობებს თავისუფალი რადიკალებით მემბრანების დაზიანების მეტ შესაძლებლობას, გარდა ამისა ისინი აზიანებენ ცილის მოლეკულებს და დნმ-ის სპირალებს, რაც საბოლოოდ იწვევს მემბრანების რღვევას (Bredensen, 1996; Miller, 1996b).

ორგანიზმის და ცნს-ის ინტოქსიკაციის დროს ნერვულ ქსოვილში მიმდინარე პროცესებში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს აზოტის ოქსიდი (NO). იგი ჩართულია სინაფსურ პლასტიკურობაში, ამიტომ კომპლექსურ ზემოქმედებას ახდენს ტვინის განვითარებაზე, მეხსიერებისა და ქცევის ფორმირებაზე სინაფსური პლასტიკურობის რეგულირების მეშვეობით (Chung et al., 2004; Esplugues,2002). ეთანოლის ხანგრძლივი ზემოქმედება იწვევს გლუტამატური რეცეპტორების ფუნქციის გაძლიერებას, რაც განაპირობებს NO-ს ფორმირების სტიმულირებას, ეს უკანასკნელი კი თავისი ციტოტოქსიკურობის გამო, მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ალკოჰოლური ინტოქსიკაციით გამოწვეული თავის ტვინის დაზიანებისას (Chandler et al.,1997; Crews et al., 1998).

ეს ცვლილებები გრძელდება ცხოველების სქესობრივ მომწიფებამდე, რაც მიუთითებს, რომ ეთანოლით ინტოქსიკაცია ემბრიონულ პერიოდში იმდენად ძლიერ ზემოქმედებას ახდენს, რომ იგი კარგად გამოხატული რჩება პოსტნატალური განვითარების საკმაოდ დიდი ხნის განმავლობაში (Попова, 1983; 1988; 1989; Harper 1998).

თავის ტვინის განვითარებაზე ალკოჰოლის პრენატალური ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი ცნს-ის ნეიროანატომიური ცვლილებები, რუხი ნივთიერების რედუქციიდან დაწყებული, ცალკეული უჯრედების დაზიანებამდე, იწვევს აზროვნების დარღვევას და სხვადასხვა ცვლილებებს ქცევაში, მათ შორის დასწავლის დეფიციტს, ჰიპერაქტიურობას და მოტორული ფუნქციის დაქვეითებას (Chen et al., 2003). ეს ცვლილებები გრძელდება ცხოველების სქესობრივ მომწიფებამდე, რაც

მიუთითებს, რომ ემბრიონულ პერიოდში ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად გამოწვეული ცვლილებები კარგად გამოხატული რჩება პოსტნატალური განვითარების საკმაოდ დიდი ხნის განმავლობაში (Попова, 1983; 1988; 1989; Harper 1998). სივრცითი დასწავლისა და მეხსიერების პროცესების განხორციელებაში ჰიპოკამპის მნიშვნელობიდან გამომდინარე, მასთან დაკავშირებული ცხოველთა ქცევის ფორმები განსაკუთრებით იცვლება ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად, რაც იწვევს ქცევის აღნიშნული პარამეტრების შესრულების შეფერხებას (Matthews, Silvers, 2004; Thomas et al., 2004).

ალკოჰოლის ზემოქმედებით გამოწვეული თავის ტვინის დაზიანების შედეგად წარმოქმნილი პათოლოგიების ნორმალიზების მიზნით ფართოდ გამოიყენება რიგი ფარმაკოლოგიური პრეპარატებისა. ასე მაგ., ფუროსემიდის გამოყენება ეპიზოდური ალკოჰოლური ინტოქსიკაციის შედეგად განვითარებული თავის ტვინის სტრუქტურების დაზიანებას ამცირებს 75-80%-ით (Collinz et al., 1998), იგივე პირობებში circumin-ის,^როგორც ნეიროპროტექტორის გამოყენება აძლიერებს ტვინის ლიპიდების და გლუტათიონის წარმოქმნას (Rajarkrishnan et al., 1999), GABA(B) რეცეპტორის აგონისტი ბაკლოფენი ანტიალკოჰოლური თვისებების გამო ეფექტურ საშუალებას წარმოადგენს ალკოჰოლზე დამოკიდებული პაციენტებისთვის (Colombo et al.,2004), ხოლო ანტიოქსიდანტის EUK-134-ის ეთანოლთან ერთად გამოყენების შემთხვევაში თაგვის ემბრიონების ნერვული უჯრედების ნაკლები რაოდენობა იღუპება, ვიდრე მხოლოდ ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად (Chen et al., 2004).

ამგვარად, არსებული ლიტერატურის მონაცემების თანახმად, ნერვული უჯრედების წინამორბედების პროლიფერაციის და დიფერენცირების პროცესების რეგულირება in vitro და in vivo პირობებში თანამედროვე ნეირომეცნიერების საკმაოდ აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს, ხოლო აღნიშნული პროცესის დროს ალკოჰოლის ინტოქსიკაციის შედეგად გამოვლენილი დარღვევების კორექციის მცდელობა შექმნის საფუძველს ამ პრობლემის გადაწყვეტისთვის და ხელს შეუწყობს ქრონიკული ალკოჰოლური ინტოქსიკაციით გამოწვეული დესტრუქციული პროცესების ნორმალიზებას.

კვლევის მიზანი და ამოცანები

ჩვენს მიზანს წარმოადგენდა გაგვერკვია, როგორ იმოქმედებდა ნეიროგენეზის პროცესის დარღვევა თავის ტვინის ქერქის სტრუქტურის ფორმირებაზე და შემდგომში დასწავლასა და მეხსიერებაზე, განსაკუთრებით იმ ვირთაგვების პოსტნატალური განვითარების ადრეულ პერიოდში, რომელთა დედები მაკეობის და ლაქტაციის დროს წყლის მაგივრად ღებულობდნენ 15% ეთანოლის ხსნარს. ჩვენს მიზანს შეადგენდა აგრეთვე გაგვერკვია, რამდენად შესაძლებელია აღნიშნული დესტრუქციული პროცესების კორექცია ანტიოქსიდანტების მეშვეობით.

ნერვული ქსოვილის კვლევა კულტივირების პირობებში საშუალებას იძლევა ცოცხალ ქსოვილზე შევისწავლოთ ნეიროგენეზის პროცესი, რომელიც საფუძვლად უდევს ნერვული სისტემის ფუნქციის სხვადასხვა ასპექტებს ნორმასა და პათოლოგიის დროს, განსაკუთრებით ონტოგენეზის იმ კრიტიკულ პერიოდებში, როდესაც ხდება მეხსიერების და დასწავლის პროცესებთან დაკავშირებული სტრუქტურების ჩამოყალიბება.

ვინაიდან კულტივირების პირობებში, როდესაც უჯრედები ინარჩუნებენ გენოტიპით განპირობებული ციტოტოპური ნიშნების განხორციელების უნარს, შესაძლებელია ხანგრძლივი დროის განმავლობაში დაკვირვება უჯრედებისა და უჯრედების ჯგუფების მორფოლოგიურ და ფუნქციურ თავისებურებებზე, როგორიცაა პროლიფერაცია, მიგრაცია, დიფერენცირება, რეგენერაცია, ბიოელექტრული აქტიურობა, ხოლო ეთანოლის ზემოქმედება კულტივირებულ ნერვულ და გლიურ უჯრედებზე მიმდინარეობს in vivo განვითარებადი ცნს-ის უჯრედებზე ეთანოლის ზემოქმედების ანალოგიურად (Davies, Ross, 1991; Luo, Miller, 1998), ამიტომ, ზემოთაღნიშნულიდან გამომდინარე, ჩვენი შრომის მიზანს შეადგენდა შეგვესწავლა შემდეგი **ძირითადი საკითხები**:

1. ნერვული და გლიური უჯრედების დიფერენცირების სპეციფიკური ნიშნების გამოვლენა სხვადასხვა ფაქტორის მასტიმულირებელი ზემოქმედების შედეგად ზურგის ტვინის ინტაქტურ ორგანოტიპურ კულტურაში.

2. ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ნერვული და გლიური უჯრედების ცვლილებები in vitro.

ა. ეთანოლის ზეგავლენა აქსონების და მათი კოლატერალების ზრდის ინტენსივობაზე და გლიური უჯრედების მიგრაციაზე.

ბ. ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული აქსონების ზრდის და გლიური უჯრედების მიგრაციის შეფერხების კორექცია ეთანოლთან ერთად პლაფერონ ლბ-ს და დოლივინის გამოყენებით.

გ. ინტაქტურ და საცდელ კულტურებში აქსონების ზრდის ინდექსის განსაზღვრა.

3. ეთანოლის ინტოქსიკაციის შედეგად NO-ს და სუპეროქსიდრადიკალების ციტოტოქსიკური ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებები in vitro და მათი კორექცია პლაფერონი ლბ-ს მეშვეობით.

4. ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის ცვლილებები ალკოჰოლიზებული მდედრი ვირთაგვების შთამომავლობის თავის ტვინის ლიმბურ და მოტორულ ქერქში და გამოვლენილი დარღვევების კორექცია დოლივინის მეშვეობით პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე.

5. თავის ტვინის გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების და მოტორული ქერქის გლიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობის შესწავლის მიზნით მიტოზური ინდექსის განსაზღვრა ეთანოლის ზემოქმედების შემდეგ და გამოვლენილი დარღვევების კორექცია დოლივინის მეშვეობით.

6. ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად წარმოქმნილი თავისუფალი რადიკალების მიერ გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესის ზემოქმედება ალკოჰოლის მომხმარებელი მდედრი ვირთაგვების ნაშიერების თავის ტვინის ქერქზე და გამოვლენილი ცვლილებების კორექცია დოლივინის მეშვეობით.

7. თავის ტვინის ქერქში ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული ნეიროგენეზის პროცესის დარღვევის ზეგავლენა ალკოჰოლიზებული მდედრი ვირთაგვების ზრდასრული შთამომავლობის დასწავლის უნარსა და მეხსიერებაზე და გამოვლენილი დარღვევების კორექცია დოლივინის მეშვეობით.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე

პირველად იქნა შესწავლილი და გამოვლენილი პლაფერონ ლბ-ს და დოლივინის ანტიოქსიდანტური თვისებები ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად განვითარებული დესტრუქციული ცვლილებების კორექციის მიზნით, ნერვული და გლიური უჯრედების დიფერენცირების პროცესში in vitro და in vivo.

მოცემულ შრომაში პირველად არის გამოვლენილი ემბრიონული ზურგის ტვინის კულტურის მოდელურ ექსპერიმენტებში აქსონების ზრდის, სპრაუტინგის და გლიური უჯრედების მიგრაციის განსაკუთრებული მგრძნობელობა ეთანოლის ზემოქმედების მიმართ, რაც გამოიხატება ამ პროცესების ინჰიბირებაში. ეთანოლთან ერთად პლაფერონ ლბ-ს, ან დოლივინის ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი ზემოთაღნიშნული პროცესების კორექცია განპირობებულია მათი ანტიოქსიდანტური თვისებებით. ზურგის ტვინის in vitro მოდელზე უჯრედებში მიმდინარე მეტაბოლური ცვლილებების ეპრ სპექტროსკოპული ანალიზის შედეგად ასევე გამოვლენილ იქნა პლაფერონ ლბ-ს მეშვეობით ეთანოლის ტოქსიკური მოქმედების შესუსტება და აქსონების ზრდის სტიმულირება, რაც დადასტურდა აქსონების ზრდის ინდექსის მაჩვენებლებით.

პირველად არის გამოვლენილი ეთანოლით ინტოქსიკაციის ქვეშ მყოფი დედების ნაშიერების პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული დარღვევები და მათი კორექცია ანტიოქსიდანტის დოლივინის მეშვეობით. აღნიშნული საკითხი შესწავლილია მრავალმხრივი მიდგომით, კერძოდ, გამოვლენილია მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში ალკოჰოლიზებული მდედრი ვირთაგვების შთამომავლობის თავის ტვინის ქერქის ლიმბურ და მოტორულ უბნებში ნეიროგენეზის პროცესში მიმდინარე დარღვევები, გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების და ქერქის გლიური უჯრედების პროლიფერაციის პროცესის შეფერხება, ნერვული უჯრედების მასიური დაღუპვა, თავისუფალი რადიკალების ზემოქმედების შედეგად ოქსიდაციური სტრესით განპირობებული უჯრედების მეტაბოლიზმის დარღვევა და ყველა ზემოთაღნიშნული ცვლილებების კორექცია ანტიოქსიდანტის დოლივინის მეშვეობით. ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის შედეგად თავის ტვინის ქერქში მიმდინარე ზემოთაღნიშნული ცვლილებების ფონზე გამოვლენილია დარღვევები ალკოჰოლიზებული მდედრი ვირთაგვების ზრდასრული ნაშიერების დასწავლის უნარსა და მეხსიერებაში და მათი

კორექცია დოლივინის მეშვეობით. პირველად არის გამოვლენილი დოლივინის ანტიოქსიდანტური თვისებები ნერვულ ქსოვილზე ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული დარღვევების კორექციის მიზნით in vitro და in vivo პირობებში.

ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა

თანამედროვე ნეირომეცნიერების აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს განვითარებადი თავის ტვინის ნერვული უჯრედების წინამორბედების პროლიფერაციის და დიფერენცირების პროცესების შესწავლა ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის დროს. აღნიშნული საკითხის შესწავლა განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული ცვლილებების შესწავლისას ალკოჰოლის მომხმარებელი დედების შთამომავლობაში.

ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული ცვლილებების შესწავლა ნერვული ქსოვილის კულტურის მოდელურ ექსპერიმენტებში, ხელს შეუწყობს ეთანოლის ციტოტოქსიკური ეფექტით გამოწვეული დარღვევების გამოვლენას ვიზუალური დაკვირვების ქვეშ ისეთ პროცესებში, როგორიცაა აქსონების სპრაუტინგი, გლიური უჯრედების მიგრაცია და უჯრედშორისი კონტაქტების ფორმირება. In vitro პირობებში პლაფერონ ლბ-ს და დოლივინის გამოყენება თავისუფალი რადიკალებით ინიცირებული ოქსიდაციური სტრესის ზემოქმედების და შესაბამისად, უჯრედების დაღუპვის პროცესის შეფერხების მიზნით, განსაზღვრავს მათ ანტიოქსიდანტურ თვისებებს.

აღსანიშნავია, რომ ეთანოლის პრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაცია ზეგავლენას ახდენს ნეიროგენეზის ისეთ მნიშვნელოვან პროცესებზე, როგორიცაა მატრიცული უჯრედების პროლიფერაცია და ნეირობლასტების მიგრაცია, რაც იწვევს თავის ტვინის ქერქული და ქერქქვეშა სტრუქტურების ფორმირების შეფერხებას, ამ სტრუქტურების ფორმირებაში მონაწილე უჯრედების რაოდენობის შემცირებას მათი დაღუპვის გამო, და შესაბამისად, აფერენტული და ეფერენტული კავშირების დაზიანებას, რაც საბოლოოდ ვლინდება დასწავლისა და მეხსიერების პროცესების მოშლაში. გამოვლენილია აგრეთვე თავის ტვინის ქერქში მეტაბოლური პროცესების მოშლა ეთანოლის ზემოქმედებით განპირობებული ოქსიდაციური სტრესის გამო.

დოლივინის მეშვეობით ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული ყველა ზემოთაღნიშნული დარღვევების კორექცია მიუთითებს ამ პრეპარატის ანტიოქსიდანტურ თვისებებზე, რაც შესაძლებელს ხდის მის გამოყენებას ალკოჰოლური ინტოქსიკაციით გამოწვეული დარღვევების შემსუბუქების მიზნით.

I. ლიტერატურის მიმოხილვა

1. ნერვული და გლიური უჯრედების დიფერენცირების თავისებურებები in vitro პირობებში

1.1. კულტურის მოდელური ექსპერიმენტების მნიშვნელობა ნერვული ქსოვილის კვლევის დროს

ნერვული ქსოვილის კულტურა გამოიყენება იმ მნიშვნელოვანი საკითხების გასარკვევად,^რომლებიც დაკავშირებულია ნერვული სისტემის ემბრიოგენეზთან^ და ნერვული უჯრედების ფუნქციასთან. ცნს-ის კულტურის მოდელური ექსპერიმენტების უპირატესობა ეფუძნება საკვლევ ობიექტზე უშუალო დაკვირვების შესაძლებლობას, როდესაც უჯრედები ინარჩუნებენ კოორდინირებული მოქმედების უნარს, რაც გამოიხატება ორგანიზებული ბადეების შექმნაში. ნერვული ქსოვილის ორგანოტიპური კულტურა ხელსაყრელ მოდელს წარმოადგენს, რადგან შეიცავს ისეთ უჯრედშორის კავშირებს, რაც დამახასიათებელია თავის ტვინისთვის ორგანიზმის განვითარების პროცესში (Mooney, Miller, 2003). მიუხედავად იმისა, რომ კულტივირების პირობებში ნერვული ქსოვილი წარმოადგენს არადიფერენცირებულ მასალას, მას შეუძლია განვითარდეს ნორმალურად. მაგ., აქსონები in vitro ატარებენ ნერვულ იმპულსებს და ხდება მათი მიელინიზაცია (Crain , 1969; Peterson, Murray, 1955). ამავე დროს ყალიბდება მოწესრიგებული ნეიროგლიური ურთიერთობა, წარმოიქმნება სპეციალიზებული სინაფსური კონტაქტები, რომლებიც ფუნქციურად აკავშირებენ სხვადასხვა უჯრედებს და უჯრედულ ჯგუფებს და განაპირობებენ იმპულსების გავრცელებას სპეციფიკური გზებით.

ნერვული ქსოვილის შესწავლა კულტივირების პირობებში დაიწყო გასული საუკუნის დასაწყისში ჰარისონის მიერ, ხოლო 50-იანი წლებიდან კრეინის და მისი თანამშრომლების მიერ კულტივირებული ნერვული ქსოვილის ბიოელექტრული აქტიურობის კვლევის შედეგად დადგენილ იქნა მისი მნიშვნელობა ნერვული სისტემის ფუნქციის შესწავლის საქმეში. აღნიშნული მოდელის საშუალებით შესაძლებელი გახდა დაკვირვება ექსპერიმენტის პირობებში ცალკეული უჯრედების მორფოლოგიურ და ფუნქციურ თავისებურებებზე ხანგრძლივი დროის განმავლობაში, როდესაც ნერვული უჯრედები, ორგანიზმის მხრიდან ნეიროჰუმორული კონტროლის შეწყვეტის პირობებში, ინარჩუნებენ ორგანიზმში მათთვის დამახასიათებელ ფუნქციებს, როგორიცაა დიფერენცირება, რეგენერაცია, ბიოელექტრული აქტიურობა, ეს კი საშუალებას იძლევა უჯრედების ცხოველმოქმედების პროცესების მექანიზმები შესწავლილ იქნას ადექვატურ მოდელზე. ნერვული ქსოვილის ექსპლანტატების შესწავლა კულტივირების პროცესში ხელსაყრელია, ვინაიდან ისინი წარმოადგენენ მოდელურ სისტემებს, რომლებშიც უკვე ფორმირებულია სინაფსური ბადეები ჩამოყალიბებული ბიოელექტრული აქტიურობით და მათთვის დამახასიათებელი მგრძნობელობით ფარმაკოლოგიური პრეპარატების მიმართ. ინტაქტური ექსპლანტატების ბიოელექტრული აქტიურობის ფარმაკოლოგიური ანალიზი საშუალებას იძლევა შევადაროთ მთელ ორგანიზმზე ნეიროფარმაკოლოგიური ზემოქმედება მოლეკულურ ზემოქმედებას ცალკეული უჯრედების დონეზე (Креин, 1980).

ემბრიონული ნერვული ქსოვილი, განსაკუთრებით კულტივირების ადრეულ ეტაპებზე,ნ განიცდის მნიშვნელოვან გარდაქმნებს, რაც გამოწვეულია აღნიშნულ პერიოდში ადაპტაციური და აღდგენითი პროცესების მიმდინარეობით ახალ პირობებთან შეგუებისას, ორგანიზმის მხრიდან ნეიროჰუმორული კონტროლის შეწყვეტის პირობებში ჟანგბადით განსხვავებულად მომარაგების დროს. იზოლირებული ნერვული უჯრედები განიცდიან სტრუქტურული და ფუნქციური ორგანიზაციის გარკვეულ გამარტივებას, მაგრამ ამასთანავე ვლინდება იმ ციტოტოპური ნიშნების რეალიზება, რაც განპირობებულია უჯრედთა გენოტიპით. უჯრედების დიფერენცირება იწყება კულტივირების პირობებისადმი ნერვული ქსოვილის

ადაპტაციის შემდეგ, რომლის საფუძველს წარმოადგენს ამ უჯრედების პლასტიკურობა და უნარი აღადგინონ მათთვის დამახასიათებელი სპეციფიკური ფუნქციური აქტიურობა. ამგვარად, ნერვული ქსოვილის კულტურა შეიძლება განვიხილით, როგორც სრულყოფილი მორფოლოგიური, ბიოქიმიური და ფუნქციური ანალოგი ნერვული ქსოვილისა in situ, რაც საშუალებას გვაძლევს უჯრედული აქტიურობის სხვადასხვა გამოვლინებანი შესწავლილ იქნას ორგანიზმის მხრიდან ნეიროჰუმორული კონტროლის შეწყვეტის შემდეგ.

ცენტრალური ნერვული სისტემის (ცნს) კულტურის ციტოლოგიური, ბიოქიმიური და ფიზიოლოგიური კვლევა კულტივირების პირობებში საშუალებას იძლევა გავერკვეთ იმ უჯრედულ მექანიზმებში, რომლებიც საფუძვლად უდევს ნერვული სისტემის ფუნქციის სხვადასხვა ასპექტებს ნორმასა და პათოლოგიის დროს, განსაკუთრებით ონტოგენეზის იმ კრიტიკულ პერიოდებში, როდესაც ხდება მეხსიერების და დასწავლის პროცესებთან დაკავშირებული სტრუქტურების ჩამოყალიბება.

ნერვული ქსოვილის კულტივირების მეთოდის გამოყენების შედეგად მრავალი მკვლევარის მიერ გამოვლენილ იქნა რიგი მნიშვნელოვანი ფაქტებისა, როგორიცაა სინაფტოგენეზის მექანიზმები, სპეციფიკური კავშირების ფორმირება ნეირონებსა და მათ სამიზნე უჯრედებს შორის, ნერვული ქსოვილის უჯრედების მეტაბოლიზმის და ბიოელექტრული აქტიურობის სხვადასხვა ასპექტები, ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების და ფარმაკოლოგიური ან სხვა ფაქტორების ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებები და მათი კორექციის შესაძლებლობა, სხვადასხვა ნევროლოგიური დაავადებების პათოგენეზში მონაწილე ნერვული და გლიური უჯრედების თავისებურებანი და სხვა.

ცნს-ის ქსოვილების in vitro პირობებში განვითარებული თავისებურებანი განაპირობებენ სპეციფიკური სინაფსური კონტაქტების შექმნას ნერვულ უჯრედებს შორის. ეს კონტაქტები მათთვის დამახასიათებელ მგრძნობელობას ავლენენ სხვადასხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების მიმართ და აერთიანებენ ნეირონების ჯგუფებს ორგანიზებულ სტრუქტურებში. ცნს-ის სხვადასხვა სტრუქტურული წარმონაქმნების კულტივირების დროს გამოვლენილია ორგანიზმის პირობებში

მათთვის დამახასიათებელი სინაფსური დაბოლოებების და ზოგჯერ სინაფსური კომპლექსების წარმოქმნა (Kim, 1972; Seil, Herndon, 1970; Крейн, 1980; Rafuse et al, 1996). უჯრედშორისი კონტაქტების ფორმირება და შენარჩუნება წარმოადგენს ნერვული ქსოვილის დიფერენცირების ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ეტაპს in vitro პირობებში (Grosse, Lindner, 1970; Kim, 1972; Викторов, 1976; Коновалов и др., 1978; Feldman et al., 1981; Braun et al., 1996).

1.2. ნერვული ქსოვილის თავისებურებანი კულტივირების დროს

კულტივირების პირობებში პლასტიკურობის მაღალი ხარისხით გამოირჩევა ნერვული ქსოვილი. ემბრიონული ნერვული ქსოვილის შესწავლის შედეგად in vitro, გამოვლინდა, რომ იზოლირებული და დიფერენცირებული ნერვული უჯრედები, რომლებიც მოკლებული არიან ნეიროჰუმორულ კონტროლს ორგანიზმის მხრიდან, ხასიათდებიან მარტივი სტრუქტურული და ფუნქციური ორგანიზაციით, ხოლო შემდგომში, ნეირობლასტები, რომლებიც დიფერენცირების შედეგად გარდაიქმნებიან მომწიფებულ ნეირონებად, ექვემდებარებიან რიგ სტრუქტურულ გარდაქმნებს. კერძოდ, აღინიშნება სინაფსური დაბოლოებების ფორმირება, აქსონების მიელინიზაცია.

ქსოვილთა ორგანოტიპური თავისებურებანი კულტურაში განაპირობებენ სპეციალიზებული სინაფსური კონტაქტების შექმნას ნერვულ უჯრედთა შორის (Bird, James, 1975; Fischer, Fedoroff, 1977; Викторов, Вербицкая, 1977; Крейн, 1980; Козлова, 1990; Кокина, 1990; Mooney, Miller, 2003; Oishi et al., 2004).

მრავალი გამოკვლევის შედეგად დადგინდა, რომ მეზობლად განლაგებული ექსპლანტატები და სამიზნე ქსოვილი კულტურაში ასტიმულირებს ნეირონების მორფოლოგიურ და ბიოქიმიურ განვითარებას (Prochiantz et al., 1979; Чубаков, Громова, 1984). ზურგის ტვინის და კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატების თანაკულტივირება საშუალებას იძლევა შესწავლილ იქნას უჯრედებს შორის კონტაქტების წარმოქმნის პროცესი, ხოლო რიგ შემთხვევებში, შექმნილ იქნას ფუნქციურად აქტიური სისტემა.

ფუნქციურად აქტიური კავშირები ნერვული ქსოვილის ექსპლანტატებში წარმოიქმნება არა მარტო ერთი ტიპის ქსოვილის უჯრედებს შორის, არამედ, სხვადასხვა

ქსოვილის ექსპლანტატების უჯრედებს შორისაც. ეს პროცესები განსაკუთრებით კარგად გამოვლინდა ემბრიონული ზურგის ტვინის და სომატური კუნთის ექსპლანტატების თანაკულტივირებისას (James, Tresman, 1968; Schimada et al., 1969; Schimada, Fischman, 1975; Koenig, 1978; Peterson,1978; Totar,1980; Вильнер и др.,1979; Мусеридзе, Сванидзе, 1982; 1985; Samuels et al., 1990; Braun et al., 1996; Rafuse et al., 1996). აღნიშნული კონტაქტების ფუნქციის სრულყოფილებაზე მიუთითებს ექსპლანტატებს შორის კავშირის დამყარების შემდეგ ზურგის ტვინის ელექტრული გაღიზიანების შედეგად განხორციელებული კუნთის შეკუმშვა, რაც მიუთითებს კულტურაში ნეირონების ელექტრული აქტიურობის ჩამოყალიბებაზე (Peterson, Crain, 1970; Crain et al.,1970; Kano, Schimada, 1971; Fischbach, 1972; Koenig, 1978; Креин,1980; Чуппина, 1984). Xenopus laevis ემბრიონის მიოტომების კუნთოვანი უჯრედების და ზურგის ტვინის მოტონეირონების თანაკულტივირებისას, ახლადწარმოქმნილი აცეტილქოლინური რეცეპტორების 90%-ის ფორმირება ხდება ნერვ-კუნთოვანი კონტაქტის ჩამოყალიბებისთანავე (Samuels et al., 1990; Fu et al., 1997).

კულტივირების პირობებში ნერვულ და კუნთოვან ქსოვილს შორის ფუნქციური ურთიერთდამოკიდებულება^ხორციელდება ზურგის ტვინის ექსპლანტატიდან მზარდი ნერვული ბოჭკოების მიერ კუნთოვანი ექსპლანტატების ინერვაციის და მათ შორის ფუნქციური კავშირის ფორმირების შედეგად (James, Tresman, 1968; Schimada et al., 1969; Schimada, Fischman, 1975; Koenig, 1978; Peterson,1978; Totar,1980; Вильнер и др.,1979; Мусеридзе, Сванидзе, 1982; 1985; Braun et al., 1996). ზურგის ტვინის და კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატების თანაკულტივირება საშუალებას იძლევა შესწავლილ იქნას უჯრედებს შორის კონტაქტების წარმოქმნის პროცესი,^ხოლო რიგ შემთხვევებში, შექმნილ იქნას ფუნქციურად აქტიური სისტემა. ლიტერატურის მონაცემების თანახმად, ნერვული უჯრედების მიერ მათთვის დამახასიათებელი კავშირების შექმნის უნარი განსაკუთრებით მკაფიოდაა გამოხატული ზურგის ტვინის კულტივირების დროს (Ciani, Contestabile, 1970; Grosse, Lindner, 1970; Kim, 1971; Викторов, 1976; Коновалов, и др. 1978; Шаронова и др. 1978; Feldman et al., 1981). განსაკუთრებული ყურადღება ექცევა აქსონების ზრდას ორგანოტიპურ და დისოცირებულ კულტურებში (Сотников, 1985; Yavin, Yavin, 1980; Dotti et al., 1988).

როგორც ცნობილია, თავის ტვინის პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მომენტს წარმოადგენს ნერვულ უჯრედებს შორის კავშირების და ნეირონული ბადეების შექმნა, რაშიც განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს აქსონების და დენდრიტების სპრაუტინგის ინტენსივობის ხარისხი. ვინაიდან ზურგის ტვინის მოტონეირონების აქსონები კულტივირების პირობებში ხასიათდებიან კარგად განვითარებული ნეირიტული ქსელის წარმოქმნის უნარით, ამიტომ ზურგის ტვინის ორგანოტიპური კულტურის მოდელური ექსპერიმენტები საშუალებას იძლევა უშუალოდ დავაკვირდეთ აღნიშნულ პროცესებს არა მარტო დიფერენცირების, არამედ სხვადასხვა ფაქტორების და მათ შორის ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად. ამასთანავე ზურგის ტვინის გრძელაქსონიანი მოტონეირონები ადვილად ამყარებენ ფუნქციურ კავშირს მათ სამიზნე ქსოვილთან კულტივირების პირობებში.

მრავალი გამოკვლევის შედეგად დადგინდა, რომ მეზობლად განლაგებული ექსპლანტატები და სამიზნე ქსოვილი კულტურაში ასტიმულირებს ნეირონების მორფოლოგიურ და ბიოქიმიურ განვითარებას (Prochiantz et al., 1979; Чубаков, Громова, 1984).ზურგის ტვინის და კუნთოვანი ქსოვილის ერთდროული კულტივირების დროს, მათ შორის კავშირი ახლიდან (de novo) ყალიბდება მოზრდილი ცხოველების კუნთოვანი ქსოვილის კულტივირების დროსაც კი. ამ ელემენტების ფუნქციური აქტიურობის მაჩვენებელია მათი უნარი უპასუხონ მათთან დაკავშირებული ნერვული ქსოვილის გაღიზიანებაზე (Вильнер и др.,1979).

მრავალი მკვლევარის მიერ კულტივირების პირობებში აღწერილია კუნთოვანი ქსოვილის დადებითი ზეგავლენა ზურგის ტვინის ნერვული უჯრედების აქსონებზე, როდესაც ზურგის ტვინის მოტონეირონების აქსონები სწორხაზოვანი, მიმართული ზრდის შედეგად კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატებისკენ ქმნიან ნერვ-კუნთოვან ფირფიტას.

ნერვული უჯრედების აქსონების ზრდის სტიმულირება გამოვლენილ იქნა სხვადასხვა ფაქტორების ზემოქმედების შედეგად. მიოტუბების შემცველ საკვებ არეში ზურგის ტვინის ექსპლანტატების კულტივირებისას მოტონეირონების სიცოცხლისუნარიანობის მნიშვნელოვანი მომატების დროს ნერვულ ქსოვილში აღინიშნება სპეციფიკური ფერმენტის და ცილის სინთეზის გააქტიურება (Bennet et al.,

1980; Brooks et al., 1980). ადამიანის ჩონჩხის კუნთის მიოტუბების და ვირთაგვის ემბრიონის ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ერთდროული კულტივირებისას საკვებ არეში ნეიროტროფინების (NGF, NT-3,NT-5, BDNF) დამატება იწვევს NT-3, NT-5 და BDNF მიერ ზურგის ტვინის მოტონეირონების ინერვაციის პოტენციური შესაძლებლობის გაძლიერებას, რაც გამოიხატება კუნთოვან ბოჭკოებზე ნერვული დაბოლოებებით წარმოქმნილი საბოლოო ფირფიტების რაოდენობის მატებაში (Braun et al., 1996). იგივე ფაქტორების ზემოქმედების შედეგად ასევე დადებითი ეფექტი იქნა გამოვლენილ ზურგის ტვინის ნეირონების ზრდის და გადარჩენის მხრივ, ხოლო კუნთოვან უჯრედებთან მათი კულტივირების დროს შვანის უჯრედებით კონდიცირებული არის დამატება ხელს უწყობს სინაფტოგენეზის პროცესს (Peng et a., 2003). აღსანიშნავია მონაცემები ნერვ-კუნთოვან სისტემაში მოტონეირონების გადარჩენის მიზნით ფიბრობლასტური ზრდის ფაქტორის (FGF-5) გამოყენების შესახებ (Mc Greachie et al., 2001) და აგრეთვე მონაცემები აქსონების ზრდის სტიმულირების შესახებ ზურგის ტვინის კულტივირების დროს კუნთოვანი და შემაერთებელქსოვილოვანი უჯრედების შემცველ საკვებ არეში (Dribin, Barret, 1980; Obata, Tanaka, 1980).

ნერვულ და კუნთოვან ქსოვილებს შორის კონტაქტების აღწერილი ტიპის არსებობა ასახავს ქსოვილთა შორის ურთიერთობას ონტოგენეზის ადრეულ ეტაპებზე და განპირობებულია მათი დიფერენცირების ხარისხით (James, Tresman, 1968; Shimada, Fishman, 1975; Краин, 1980; Rafuse et al., 1996; Braun et al., 1996).

ემბრიონული სომატური კუნთოვანი ქსოვილი კულტივირების პირობებში ადრეული ეტაპებიდანვე გამოხატავს მიობლასტების განვითარებისა და მათი დიფერენცირებულ კუნთოვან ქსოვილად გარდაქმნის უნარს რაც განპირობებულია ორგანოიდების, მათ შორის სარკოპლაზმური ბადის განვითარებით, რომელიც განსაკუთრებით აქტიურად მონაწილეობს სპეციფიკური ცილების სინთეზში (Тихомирова, Шестопалова, 1966). კულტივირების პირობებში კუნთოვანი ქსოვილის დიფერენცირების ერთ-ერთ ადრეულ ეტაპს წარმოადგენს კუნთოვანი მილაკების წარმოქმნა მიობლასტების შერწყმის შედეგად, რომელთა შემდგომი შეერთებისას წარმოიქმნებიან მრავალბირთვიანი ციტოპლაზმური ჭიმები (Osawa, 1977; Nakamura et

al., 1978; Сванидзе и др.,1982). კუნთოვანი ქსოვილის დიფერენცირების თავისებურებანი საშუალებას გვაძლევს გამოვიყენოთ იგი აქტიურად ფუნქციობადი ნერვ-კუნთოვანი სისტემის შესაქმნელად in vitro.

აღსანიშნავია მონაცემები კუნთოვანი ბოჭკოების ზრდაზე ზურგის ტვინის ექსპლანტატების დადებითი გავლენის შესახებ. ზურგის ტვინის, ან საჯდომი ნერვიდან მიღებული ექსტრაქტის ან ნეიროტროფული ფაქტორით ზემოქმედება კულტივირებულ კუნთოვან ბოჭკოებზე ასტიმულირებს მიობლასტების მორფოლოგიურ ჩამოყალიბებას და მათში ცილის სინთეზს (Markelonis, Oh, 1978; Kalderon, 1979; Kano et al., 1979; Fischbach, 1980; Braun et al., 1996).

ამგვარად, კულტივირების პირობებში ნერვულ და კუნთოვან ქსოვილთა ექსპლანტატებს შორის ფუნქციურად აქტიური კონტაქტის ჩამოყალიბება ხორციელდება ორივე ტიპის ქსოვილის ურთიერთ ზეგავლენის შედეგად.

ორგანოტიპული კულტურებისგან განსხვავებით, აღდგენითი პროცესები უფრო მკვეთრადაა გამოხატული ნერვული ქსოვილის დისოცირებულ კულტურაში. მიუხედავად იმისა, რომ დისოციაციის შედეგად ირღვევა ქსოვილის მთლიანობა,^ამ დროს მიმდინარე დიფერენცირებისა და რეგენერაციის პროცესები ხელს უწყობენ მორჩების სისტემის აღდგენას და აგრეგატების შექმნას (Lodin et al., 1970; Викторов, Крюкофф, 1980; Сванидзе, 1984). უჯრედები,^ რომლებიც მთლიანად იზოლირებული არიან ერთმანეთისგან,^ აქტიურ მონაწილეობას ღებულობენ სინაფსური კონტაქტების ჩამოყალიბებასა და ორგანოტიპური სტრუქტურების ფორმირებაში (Seeds, 1971; Fischbach, Dichter, 1974; Svanidze, Didimova, 1982). ამდენად, უჯრედების მიგრაციის და სინაფტოგენეზის პროცესების უკეთ გასაგებად, ცნს-ის ემბრიონული განვითარების პროცესში, დიდ მნიშვნელობას იძენს დისოცირებულ კულტურაში უჯრედების ერთმანეთთან შერჩევითი დაახლოების და მათ შორის კონტაქტების ჩამოყალიბების მექანიზმის გარკვევა.

მიუხედავად იმისა, რომ დოსოციაციის დროს უჯრედების დიდი ნაწილი იღუპება არსებობისთვის არახელსაყრელი პირობების გამო, დარჩენილი ნაწილი ინარჩუნებს მისთვის დამახასიათებელი ფუნქციური კავშირების შექმნის უნარს და განიცდის დიფერენცირებას, იმეორებს რა ორგანიზმის პირობებში ნერვული ქსოვილის

ჰისტოგენეზისთვის დამახასიათებელ ეტაპებს (Сванидзе, 1984). თავის ტვინის დისოცირებულ კულტურებში ისევე, როგორც ორგანოტიპურ კულტურაში, ხდება უჯრედებს შორის ფუნქციური კავშირების ფორმირება (Fischbach,D1972; Peterson, 1978; Вильнер и др 1979; Lodin et al, 1981; Fischbach, Dichter, 1974; Мусеридзе, Сванидзе, 1984).

ვირთაგვების ემბრიონული თავის ტვინის დისოცირებულ კულტურებში გამოვლენილ იქნა ორგანიზებული სტრუქტურები, სადაც აღწერილია ნერვული უჯრედების აქსონების მიელინიზაცია და სინაფტოგენეზი, რაც მიუთითებს ამ წარმონაქმნების დიფერენცირების ხარისხზე (Majocha et al., 1981).

დისოცირებულ კულტურებში ნერვული უჯრედების რეაგრეგაციას განაპირობებს ნერვულ უჯრედებს შორის სინაფსური კონტაქტების ჩამოყალიბება, რაც საბოლოოდ იწვევს ისეთი რთული წარმონაქმნების ფორმირებას, როგორიცაა თავის ტვინის ეკრანული სტრუქტურები. დისოცირებული უჯრედების რეაგრეგაციის შედეგად წარმოიქმნება ქსოვილის ფრაგმენტები, რომელთა ჰისტოლოგიური სტრუქტურა ახლოს დგას ემბრიონული ქსოვილის საწყის სტრუქტურასთან.

ნეირონების და გლიური უჯრედების ურთიერთქმედების შედეგად ეკრანული სტრუქტურის წარმოქმნა გამოვლენილ იქნა ქათმის ემბრიონის შუა ტვინის სახურავის დისოცირებულ კულტურაში. ადრე აღწერილი ჩვეულებრივი სივრცითი რეკონსტრუქციისგან განსხვავებით, ასტროციტებისგან წარმოქმნილი აგრეგატების გარდა, რომლებიც უკავშირდებოდნენ ერთმანეთს კარგად განვითარებული მორჩებით, კოლაგენის ზედაპირზე, ნეირობლასტების ორიენტირებულად განლაგებული სხეულების და ერთმხრივ მიმართული ჰორიზონტალური მორჩების პარალელურად განლაგების შედეგად, ფორმირებულ იქნა რთული^ორგანიზებული ნეირონული ბადე, აშკარად გამოხატული შრიანობით. აღნიშნული სტრუქტურის რეკონსტრუქცია დისოცირებულ კულტურაში შეიძლება განხილულ იქნას, როგორც ჰისტოგენეზის პროცესის გამოვლინება კულტივირების პროცესში, რომელიც შესაძლოა განხორციელდეს უჯრედის გენომით რეგულირებადი რეაგრეგაციის მეშვეობით (Svanidze, Didimova ,1982).

ნათხემის დისოცირებულ კულტურაშიც, ადრეულ სტადიებზე, გამოვლინდა აგრეგატების ფორმირება, რომლებიც შემდგომი დიფერენცირების შედეგად ქმნიდნენ

ერთ რიგში განლაგებულ, ნერვული და გლიური უჯრედებისგან შედგენილ მწკრივებს. უჯრედების ამგვარი მოწესრიგებული განლაგება, დისოციაციის შედეგად ქაოსურად განლაგებული უჯრედებისგან, შეიძლება აიხსნას უჯრედების ორიენტირებული აგრეგაციის უნარით, რასაც ადგილი აქვს ნათხემის ქერქის სტრატიფიკაციის პროცესში, თუმცა უჯრედების აღწერილი მწკრივი არ შეესაბამება ნათხემის რომელიმე შრეს (Дидимова, Сванидзе, 1980).

ამგვარად, ორგანოტიპური და დისოცირებული კულტივირების დროს აღწერილი ნერვული ქსოვილის სტრუქტურული და ფუნქციური ცვლილებები, შეიძლება გამოწვეული იყოს განვითარების პროცესების მაღალი დეტერმინირებით და შესაძლოა ასახავდეს ნეიროგენეზის პროცესს.

1.3. აქსონების ზრდა in vitro და ზრდის კონუსის როლი აქსონების ზრდაში

აქსონების ზრდისა და არჩევითი კონტაქტების წარმოქმნის მექანიზმი განპირობებულია ზრდის კონუსების მემბრანებში არსებული რეცეპტორებით. ზრდის კონუსის სტრუქტურული ორგანიზაციის შესწავლის შედეგად აღმოჩნდა, რომ აქსონის აღნიშნული უბანი საკმაოდ რთული აგებულებით ხასიათდება, ხოლო მიკროტუბულები, რომლებიც წარმოადგენენ მის ძირითად შემადგენელ კომპონენტებს, განსაზღვრავენ არა მარტო მზარდი ნეირიტის მექანიკურ სტრუქტურას, არამედ ჩართული არიან იმ ტრანსპორტული ფუნქციის განხორციელებაში, რომლის საშუალებითაც ხდება საჭირო მასალის გადატანა ნერვული ბოჭკოს მზარდი ნაწილისკენ (Aletta, Green, 1988).

გამოვლენილ იქნა, რომ სუბსტანია P ზრდის კონუსებზე არსებობენ სუბსტანია P-ს სპეციფიკური რეცეფტორები, ხოლო თვით პეპტიდი მონაწილეობს სინაფტოგენეზის და ნერვული კავშირების მექანიზმების განხორციელებაში (Locerbie et al., 1988). ჰიპოკამპის ნეირონების განვითარებისა და რეგენერაციის პროცესების იმუნოციტოქიმიური მეთოდით შესწავლის შედეგად გამოვლენილ იქნა GAP-43-ის, ნეიროსპეციფიკური, მემბრანასთან დაკავშირებული ფოსფოპროტეინის რაოდენობის განსხვავება აქსონების და დენდრიტების ზრდის კონუსებში. ავტორები ვარაუდობენ,

რომ აღნიშნული ცილა განაპირობებს აქსონების სწრაფ ზრდას დიდ მანძილზე და შესაბამისი სიგნალების გამოცნობას (Goslin et al., 1988).

ნერვული ქსოვილის კულტივირების დროს აქსონების ზრდასა და უჯრედშორისი კონტაქტების ფორმირებისას მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ადჰეზიური მოლეკულები. ნერვული ქსოვილის განვითარების და მომწიფების პროცესში მათი მნიშვნელობა განსაკუთრებით აღსანიშნავია ნეირონების მიგრაციის პროცესში. სხვადასხვა ადჰეზიური მოლეკულების შემთხვევაში ზრდის კონუსის ზრდა სხვადასხვა სუბსტრატზე განსხვავებულად არის წარმოდგენილი (Payne et al., 1992; Shearer et al., 2003).). ნერვული უჯრედების სუბსტრატთან მიმაგრება წარმატებით Lხორციელდება ადჰეზიური ცილის cell Tak-ის მეშვეობით, რომელიც უზრუნველყოფს ნეირონების 100% მიმაგრებას 5სთ-ის განმავლობაში, ხელს უწყობს ნეირიტოგენეზს და ნერვული უჯრედების დიფერენცირებას (Hotter,1988). უჯრედული კალციუმი და სუბსტრატთან კავშირი სპეციფიკურ როლს ასრულებენ ნეირონების ზრდის კომპონენტების (სპრაუტინგი, აქსონების ზრდა სიგრძეში, აქსონების დატოტიანება, ზრდის კონუსის მოძრაობა) რეგულაციაში (Mattson et al., 1988). ზოგიერთი ავტორის აზრით ნეირიტების ზრდის პროცესში კალციუმი შეიძლება მონაწილეობდეს აქტინური ფილამენტების სტაბილურობის რეგულირების გზით (Lankford, Letourneau, 1989).

ნერვული ქსოვილის კულტურაში მკვლევართა ყურადღებას იქცევს სპრაუტინგის მოვლენა, რომელიც გამოვლენილ იქნა უნიპოლარული ნეირონების მიერ წარმოქმნილი მრავალრიცხოვანი მორჩების ძლიერი დატოტიანების შედეგად (Кэндал, 1980). ემბრიონული ნერვული ქსოვილის კულტივირების დროს სპრაუტინგი განიხილება, როგორც ნეირობლასტების მაღალი პლასტიკური პოტენციის შედეგი (Шеперд, 1987).

ლიტერატურაში არსებული მრავალრიცხოვანი მონაცემები მიუთითებენ აქსონებზე და დენდრიტებზე in vitro სხვადასხვა მასტიმულირებელი ფაქტორების ზემოქმედებაზე, მათ შორის აღსანიშნავია გლიიდან წარმოებული ზრდის ფაქტორი (GDGF), რომელიც განაპირობებს ზურგის ტვინის მოტონეირონების სიცოცხლისუნარიანობას (Leclere et al., 1998; Sedel, et al., 1999). თავის ტვინის და ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ერთდროული კულტივირებისას აქსონების

მიმართული ზრდის სტიმულირება აღინიშნება სხვა ნეიროტროფინების NGF, BDGF, NT-3 ზემოქმედების შემდეგაც (Edstrom et al., 1996; Oishi et al., 2004). კულტურის ანალოგიურ მოდელზე კორტიკოსპინალური აქსონების ზრდის გაძლიერება გამოვლენილ იქნა აგრეთვე ნერვული უჯრედების წინამორბედების ტრანსპლანტაციის ან ამ უჯრედების კონდიცირებული საკვები არის ზემოქმედების შემდეგ (Kamei et al., 2004).

ნეიროტროფული ფაქტორები სხვადასხვა უჯრედების კულტივირებისას განსხვავებული ეფექტით ხასიათდებიან. მაგ., ვირთაგვების ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ კულტურაში ნეიროტროფული ფაქტორის (NGF) დამატებისას 37%-ით მატულობს აპოპტოზური მოტონეირონების რაოდენობა, რაც განპირობებულია სუსტი კავშირით დაბალი აფინობის ნეიროტროფულ რეცეპტორთან (p75 NTR). ამავე დროს სხვა ნეიროტროფინები (BDNF, NT3, NT4/5) არ ახდენენ რაიმე ზემოქმედებას, მხოლოდ GDGF განაპირობებს ამ უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობას (Sedel, et al., 1999;). ამავე დროს NGF თავის ტვინის ქერქის ნეირონების კულტურებში იცავს ნეირონებს დაღუპვისაგან (Seabold et al., 1998; Heaton et al., 2003). ასევე გაირკვა, რომ BDNF და IGF-1 მნიშვნელოვნად აძლიერებენ ვესტიბულოსპინალური და ზურგის ტვინის ნეირონების პროექციას ნაკერის ბირთვებიდან მაშინ, როდესაც NGF, NT4 და GDGF არ იწვევენ ანალოგიურ ზემოქმედებას (Salie, Steewes, 2005).

კულტივირების პირობებში ენდოგენური ოპიოიდური პეპტიდების და მათი სინთეზური ანალოგების ზემოქმედებისას, ნეირიტების კარგად გამოხატული ზრდის გარდა, გამოვლენილ იქნა აგრეთვე გლიური უჯრედების აქტიური მიგრაცია და პროლიფერაცია (Ильинский и др., ж1986; Lindner et al., 1988). ნერვული ქსოვილის განვითარებაზე in vitro ზემოქმედებას ახდენენ აგრეთვე ტვინის ექსტრაქტები და არანერვული წარმოშობის ქსოვილების ექსტრაქტები, რომლებიც შეიცავენ ცილოვანი ბუნების ფაქტორებს. ქათმის ტვინის ექსტრაქტი ასტიმულირებს ქათმის თავის ტვინის ნეირობლასტების პროლიფერაციას და აჩქარებს სხვა ცხოველების ნერვული და გლიური უჯრედების ზრდას და დიფერენცირებას (Barakat, Sensenbrenner, 1981), ხოლო მოზრდილი ვირთაგვის დენერვირებული სომატური ჩონჩხის კუნტის ექსტრაქტი

ასტიმულირებს ზურგის ტვინის ნეირიტების ზრდას და ხელს უწყობს მოტონეირონების გადარჩენას (Nurcombe et al., 1984).

სხვადასხვა მასტიმულირებელ ფაქტორთა შორის ნეირიტების ზრდის და დატოტიანების სტიმულირებას ახორციელებენ აგრეთვე ინსულინის მსგავსი, (IGF), ფიბრობლასტური (bFGF), ეპიდერმული (EGF) ზრდის ფაქტორები (Caroni, Shneider, 1991; Kornblum et al., 1990; Mc Greachie et al., 2001; Liu, Neifeld, 2004; Kimura et al., 2004). აქსონების რიცხვის მომატება აღინიშნება ტაურინის, ან GM1-ის, ან ორივე ფერმენტის ერთდროული ზემოქმედებისას (Spoerri et al., 1990), ხოლო რეტინოლის ზემოქმედება ზურგის ტვინის ნეირონებზე ასტიმულირებს ნეირიტების მეორადი და მესამეული განშტოებების ფორმირებას (Wuarin et al., 1990). ნეირიტების განშტოებების და ზრდის კონუსის აქტიურობის მომატება გამოვლინდა აგრეთვე კულტივირებული სპინალური განგლიების საკვებ არეში K^+ -ის იონების მაღალი კონცენტრაციის შემთხვევაში (Spoerri et al., 1989).

ამგვარად, კულტივირების პირობებში ნერვული ქსოვილის დიფერენცირების პროცესში მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ სხვადასხვა ნერვული და არანერვული წარმოშობის ფაქტორები, რომლებიც ნერვული და გლიური უჯრედების თავისებურებების გათვალისწინებით ასტიმულირებენ ან თრგუნავენ მიმდინარე პროცესებს. ამიტომ შეიძლება დავასკვნათ, რომ ნერვული ქსოვილის კულტურა ადექვატურ მოდელს წარმოდგენს განვითარებად თავის ტვინზე სხვადასხვა ფაქტორების და მათ შორის ეთანოლის უშუალო ზემოქმედების შესასწავლად.

1.4. გლიური უჯრედების თავისებურებანი in vitro

ცნობილია, რომ ნეირონების ცხოველმყოფელობის რეგულირებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ გლიური უჯრედები. ორგანულ და დისოცირებულ კულტურებში ნერვული და გლიური უჯრედების მორფოლოგიური და ფუნქციური თავისებურებების შესწავლის შედეგად აშკარად გამოიკვეთა გლიური უჯრედების როლი ნეირონების დიფერენცირებაში in vitro. კერძოდ, ასტროციტები მონაწილეობენ აქსონების ზრდაში, რაც გამოიხატება ექსპლანტატიდან მიგრირებული გლიური უჯრედების მიერ აქსონების ზრდისთვის საჭირო სუბსტრატის შექმნაში. აღნიშნულ

პერიოდში,^ პარალელურად განლაგებული უჯრედების აგრეგატები ხელს უწყობენ ორგანიზებული სტრუქტურების შექმნას, მონაწილეობენ წყლისა და მარილების რაოდენობის რეგულირებაში (Сванидзе и др., 1989). ეს განსაკუთრებით ეხება სატელიტებს,^ რომლებიც უზრუნველყოფენ ნეირონების მეტაბოლიზმს, მონაწილეობენ აქსონების მიელინიზაციის პროცესში და განსაკუთრებულ როლს ასრულებენ in vitro ნეირონების დიფერენცირების დროს (Викторов и др., 1974; Monard, 1975). ნერვული ქსოვილის დისოცირებულ კულტურაში ნერვული უჯრედების დიფერენცირების პროცესი მჭიდროდაა დაკავშირებული გლიურ უჯრედებთან. კერძოდ, ნეირონების სხვადასხვა სუბსტრატზე კულტივირებისას ნეირონების დიფერენცირების სტიმულირება განსაკუთრებით გამოვლინდა ასტროციტების მიერ შექმნილ სუბსტრატზე მათი კულტივირების დროს (Сванидзе, 1984).

დადგენილია, რომ ასტროციტებში ხდება ნეიროპეპტიდების, მიტოგენური პოლიპეპტიდების და სხვა ნეიროტროფული ფაქტორების სინთეზი, რომლებიც ხელს უწყობენ ნეირონების გადარჩენას (Intebi et al., 1990; Schwartz, Simantov,1988; Shinoda et al., 1989; Rudge, 1993; Sedel et al.,1999). კულტივირების პირობებში ასტროციტები იცავენ ნეირონებს ეგზოგენური გლუტამატით გამოწვეული დაზიანებისგან და ანოქსიისგან (Rosenberg, Aizeman, 1989; Vibulsrech et al., 1987).

აღსანიშნავია მონაცემები, რომელთა მიხედვით თავის ტვინის ქერქის ასტროციტების მონოშრეზე ნეირონების დამატების შემდეგ ძლიერდება ასტროციტების მიერ TGF-beta 1 ფაქტორის სინთეზი და სეკრეცია, რაც მიუთითებს ნეირონსა და გლიას შორის ურთიერთკავშირის მნიშვნელობაზე ასტროციტების განვითარებაში და ამ ფაქტორის როლზე აღნიშნულ პროცესში (de Sampaio e Spohr et al., 2002).

რიგი გამოკვლევების შედეგად გამოვლინდა გლიური უჯრედების სპეციფიკური მონაწილეობა აქსონების ზრდის პროცესში, როდესაც ასტროციტები ემაგრებიან აქსონების ზრდის კონუსს და მიმართავენ მის მოძრაობას ზრდის ზონაში, ექსპლანტატიდან პერიფერიისკენ. ამ დროს არ იცვლება ზრდის კონუსის კონფიგურაცია, თუმცა ზრდის ტემპი ოდნავ შენელებულია (Fawcett et al., 1989; Bandtiow et al., 1990).

თაგვების ასტროციტების მონოშრეზე ადამიანის ცნს-ის ნეირონული მოდელის (NT2-N) კულტივირების შედეგად გაირკვა, რომ ფიზიკური კონტაქტი ცოცხალ ასტროციტებთან ზრდის აქსონების და დენდრიტების სიგრძეს და მათი დატოტიანების ინტენსივობას. ავტორების აზრით აღნიშნულ პროცესში ჩართულია ზრდის კონუსში ზრდასთან დაკავშირებული ცილების გადანაწილების მექანიზმი (Piontek et al., 2002). დადგენილ იქნა აგრეთვე, რომ გლიური უჯრედების მოწესრიგებული განლაგება მნიშვნელოვანია აქსონური ტრაქტის სწორად მიმართული ზრდისთვის. მათი სწორი ორიენტაცია ასტიმულირებს აქსონების მიმართულებას და აძლიერებს ნეირიტების ზრდას (Biran et al., 2003; Deumens et al., 2004).

ოლიგოდენდროციტები განსხვავებულ რეაქციას ავლენენ აქსონების მიმართ. ზრდის კონუსთან შეხებისას მათ უვითარდებათ ფილოპოდიების მსგავსი წანაზარდები, რომლებიც სწრაფად წყვეტენ ზრდის კონუსის მოძრაობას (Bandtiow et al., 1990). ანალოგიური სურათი ვლინდება ვირთაგვების ცნს-ის დისოცირებული ნეირონების და გლიური უჯრედების ერთდროული კულტივირების დროს, როდესაც დიფერენცირების პროცესში მყოფი ოლიგოდენდროციტები, ნერვულ ბოჭკოებთან კონტაქტის დამყარებისას, აფერხებენ მათ ზრდას (Schwab et al., 1988). აღსანიშნავია აგრეთვე მონაცემები, რომელთა მიხედვით აქსონები ამყარებენ კონტაქტს შვანის უჯრედებთან, მაგრამ გვერდს უვლიან ფიბრობლასტებს და ოლიგოდენდროციტებს, რომლებიც როგორც ჩანს ამუხრუჭებენ აქსონების ზრდას (Fawcet et al., 1989).

ამგვარად, დიფერენცირების პროცესები ნერვული ქსოვილის კულტივირების დროს ბევრად არის განპირობებული გლიური უჯრედების აქტიურობით (Trapp et al., 1979; Hatten, Mason, 1986), ამიტომ გლიის დაზიანებამ შეიძლება მნიშვნელოვანი ზემოქმედება იქონიოს ცნს-ის ფუნქციის განხორციელებაზე.

1.5. ეთანოლის ზეგავლენა ნერვულ და გლიურ უჯრედებზე in vitro

ეთანოლის ტოქსიკური ზემოქმედების შესახებ არსებული მრავალი გამოკვლევის შედეგად დადგენილ იქნა, რომ in vitro სისტემები წარმოადგენენ ხელსაყრელ მოდელს ეთანოლის ნეიროტოქსიკურობის დასადგენად.

ვირთაგვების ემბრიონების ქერქის ნეირონების კულტურაზე ეთანოლის დამატება იწვევს სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის შემცირებას, პროლიფერაციის პროცესის შეფერხებისა და დაღუპული უჯრედების რიცხვის ზრდის ხარჯზე. აღმოჩნდა, რომ ეთანოლი ახდენს ქერქის კულტივირებული ნეირონების აპოპტოზის ინიცირებას (Seabold, Miller, 1998; Jacobs, Miller, 2002). კულტივირებული ნათხემის მარცვლოვანი შრის უჯრედებზე ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად უჯრედების განვითარება ფერხდება და იწყება ნეირონების დაღუპვა (Srivastava,Vernadakis, 1995).

ვირთაგვების ჰიპოკამპის ორგანოტიპურ კულტურაზე სხვადასხვა კონცენტრაციის ეთანოლით (0.5%-1%) ინტოქსიკაციის შედეგად გამოვლინდა, რომ 1% ეთანოლის კონცენტრაციის შემთხვევაში ვითარდება დეგენერაციული პროცესები და გრძელდება კულტივირების ვადების და ეთანოლის კონცენტრაციის მატებასთან ერთად (Александров и др., 1990). ეთანოლის იგივე დოზების ზემოქმედებისას ახალშობილი ვირთაგვის სენსომოტორული ქერქის ორგანოტიპური კულტურის ულტრასტრუქტურული კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ ეთანოლის ზემოქმედების საწყის ეტაპებზე აღინიშნება უჯრედების დიფერენცირების ხარისხის მომატება და ადაპტაციური პროცესების გაძლიერება, რაც შემდგომში იცვლება დესტრუქციული ცვლილებებით. ამასთან ცვლილებების ხარისხი დამოკიდებულია ეთანოლის დოზაზე და მოქმედების ხანგრძლივობაზე (Мельникова, Коновалов, 1990; Jacobs, Miller, 2002).

აღსანიშნავია დენდრიტების და აქსონების წინამორბედების (მცირე ზომის წანაზარდების) ზრდის ტემპის გაძლიერება და სინაფსების რაოდენობის შემცირება კულტივირებული ჰიპოკამპის პირამიდულ ნეირონებზე ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად. ავტორების აზრით ეთანოლი სხვადასხვაგვარად მოქმედებს აქსონების და დენდრიტების ზრდაზე, რაც მიუთითებს მათ ინდივიდუალურ მგრძნობელობაზე ეთანოლის მიმართ (Yanni, Lindsley, 2000). ამასთანავე, გაირკვა, რომ ნეირონების ციტოტოქსიკური ზემოქმედებას ადგილი აქვს კულტივირების იმ ეტაპზე, როდესაც უკვე ფორმირებულია დენდრიტები და სინაფსები (Lindslei et al., 2002).

გლიური უჯრედების ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის შესწავლამ in vitro პირობებში უჯრედებზე ეთანოლის უშუალო ზემოქმედებისას, ან მაკეობის პერიოდში ალკოჰოლიზებული მდედრი ვირთაგვების ნაშიერების ნერვული და გლიური უჯრედების კულტივირების შედეგად გამოავლინა გლიური უჯრედების შემდეგი ცვლილებები:^ირღვევა უჯრედების მორფოლოგიური მომწიფების პროცესი, ფერხდება დნმ-ის სინთეზი და შესაბამისად პროლიფერაციის პროცესი, მნიშვნელოვნად მცირდება ცილის სინთეზის ინტენსივობა და ასტროციტებისთვის სპეციფიკური ცილოვანი ფილამენტების შემცველობა (Davies, Vernadakis, 1984; Renau-Piqueras et al., 1988; 1989; Guerri et al., 1990; Davies, cox, 1991; Davies, Ross, 1991). ცილის სინთეზის ინტენსივობის შემცირება იწვევს უჯრედების დაგროვებას უჯრედული ციკლის G_0/G_1 ფაზებში, რაც მიუთითებს პროლიფერაციის პროცესზე ეთანოლის განსაკუთრებით ძლიერ ზემოქმედებაზე, (Guerri et al., 1990). ეთანოლის ზეგავლენა გლიური უჯრედების განვითარებაზე განსაკუთრებითLაისახება პროლიფერაციის პერიოდში და იწვევს ცნს-ის განვითარების პროცესში გლიურ უჯრედებში მიმდინარე პროცესების ინჰიბირებას (Davies, Vernadakis, 1984; Guerri et al., 1990). ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად ასევე ფერხდება გლიური უჯრედების მორფოლოგიური მომწიფება (Davies, Cox, 1991).

ეთანოლის კავშირი ზრდის ფაქტორების ზემოქმედებასთან ვლინდება 3 დონეზე: ლიგანდების წარმოქმნა, რეცეპტორების ექსპრესია და სასიგნალო ტრანსმისია (Luo, Miller, 1998). ეთანოლის ნეიროტოქსიკური ზემოქმედების დროს ნეიროტროფული ფაქტორების როლის შესწავლის შედეგად ქერქის ნეირონების პირველად კულტურებში დადგენილ იქნა, რომ in vitro პირობებში ეთანოლი მთლიანად თრგუნავს NGF-ით სტიმულირებულ უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობას და იწვევს ნეირონების დაღუპვას (Seabold et al., 1998). ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ კულტურაში NGF-ის დამატებისას 37%-ით მატულობს ^აპოპტოზური მოტონეირონების რაოდენობა (Sedel et al., 1999), მაშინ როდესაც GDGF განაპირობებს ზურგის ტვინის მოტონეირონების სიცოცხლისუნარიანობას (Sedel, et al., 1999). NGF ხასიათდება ნეირონების დამცველობითი უნარით, მხოლოდ ქერქის ნეირონების კულტურებში (Heaton et al., 2003). ეთანოლის კავშირი ზრდის ფაქტორების ზემოქმედებასთან ვლინდება 3 დონეზე:

ლიგანდების წარმოქმნა, რეცეპტორების ექსპრესია და სასიგნალო ტრანსმისია (Luo, Miller, 1998).

ასტროციტების პირველად კულტურაზე ეთანოლის ზემოქმედება იწვევს ციტოქრომ P-450-ის ინდუქციას და თავისუფალი რადიკალების გენერაციას, რის შედეგად ხდება ასტროციტების ოქსიდაციური დაზიანება (Montoliu et al., 1995).

რიგი მკვლევარების თანახმად, ეთანოლის ზემოქმედების შემდეგ ხორციელდება კულტივირებული ნეირონების აპოპტოზი NMDA-გლუტამატური რეცეპტორის ინჰიბირების შედეგად (Robinson, Mair, 1992). აღნიშნული რეცეპტორი დაკავშირებულია კალციუმის არხთან და მისი ჰიპერაქტიურობა იწვევს ციტოტოქსიკურ ეფექტს (Choi, 1995; Kroemer et al., 1997; მიქელაძე და სხვ. 1995). ეთანოლი იწვევს უჯრედების ადჰეზიის რედუქციას, რაც განაპირობებს FAS დროს გამოვლენილი ტვინის ანომალიების მსგავს ცვლილებებს (Goodlett, Horn, 2001).

2. თავის ტვინის ქერქის ნერვული და გლიური უჯრედების ცვლილებები ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად in vivo პირობებში

2.1. ალკოჰოლის ზემოქმედების სხვადასხვა ასპექტები ნერვული ქსოვილის განვითარების პროცესში

In vitro პირობებში ეთანოლის მიერ გლიური უჯრედების მიგრაციისა და აქსონების ზრდის დათრგუნვის შესახებ არსებული მონაცემები ემთხვევა ლიტერატურის მონაცემებს in vivo, რომელთა მიხედვით ეთანოლის ზემოქმედება კულტივირებულ ნერვულ და გლიურ უჯრედებზე მიმდინარეობს განვითარებადი ცნს-ის უჯრედებზე ეთანოლის ზემოქმედების ანალოგიურად (Davies, Ross, 1991; Guerri et al., 1990; Davies, Ross, 1991; Robinson, Mair, 1992; Luo, Miller, 1998). ამიტომ, ნერვული ქსოვილის კულტურის მოდელურ ექსპერიმენტებში მიღებული მონაცემები ალკოჰოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებების შესახებ წარმატებით შეიძლება იყოს გამოყენებული თავის ტვინის ზრდის და განვითარების პროცესში ნერვულ ქსოვილზე ეთანოლის ზემოქმედების ცალკეული ასპექტების განხილვის დროს.

ალკოჰოლის ზემოქმედება ორგანიზმზე კომპლექსურ ხასიათს ატარებს, მისი მოქმედების მექანიზმებს შორის იგულისხმება: ოქსიდაციური სტრესი,^ მიტოქონდრიების დაზიანება, კავშირი ზრდის ფაქტორების აქტიურობასთან,^ ზეგავლენა გლიაზე და მიელინის ფორმირებაზე, მესენჯერული სისტემის ფორმირების და ფუნქციობის დაზიანება, ცვლილებები გლუკოზის ტრანსპორტისა და შთანთქმის პროცესებში,^ზემოქმედება უჯრედულ ადჰეზიაზე, გენური აქტიურობის რეგულაციის ცვლილებები განვითარების პროცესში (Goodlett , Horn, 2001).

ალკოჰოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ნივთიერებათა ცვლის დარღვევის მიზეზი ძირითადად არის ალკოჰოლის დაშლის დროს წარმოქმნილი ერთ-ერთი პირველადი პროდუქტის აცეტალდეჰიდის, ქიმიურად მაღალაქტიური და მეტად ტოქსიკური ნივთიერების, დიდი რაოდენობით დაგროვება. იგი ეთანოლზე ბევრად ნაკლები კონცენტრაციით არის წარმოდგენილი, თუმცა მისი ტოქსიკურობის ეფექტი (10-30-ჯერ) აჭარბებს ალკოჰოლისას (Бородкин, Грекова, 1987). ალკოჰოლით პრენატალური ინტოქსიკაციისას აცეტალდეჰიდის დაგროვება ნაყოფის თავის ტვინში შესაძლოა გახდეს ნაყოფის ალკოჰოლური სინდრომის (Fetal Alohol Syndrom – FAS) ჩამოყალიბების მიზეზი (Hamby-Mason et all., 1997). როგორც გაირკვა, ეთანოლის მეტაბოლიზმის ეს პროდუქტი წარმოადგენს აღნიშნული ცვლილებების გამომწვევ პირველად ფაქტორს (Bondy, Guo, 1995).

ცნობილია, რომ ორგანიზმში მოხვედრილი ეთილის სპირტის 90-98%-ის მეტაბოლიზმი მიმდინარეობს ღვიძლში. სპირტების ბიოტრანსფორმაცია ძირითადად კატალიზდება ალკოჰოლდეჰიდროგენაზული ფერმენტული სისტემით, რომელიც ღვიძლის გარდა ფუნქციობს აგრეთვე სხვა ორგანოებშიც, მათ შორის თავის ტვინში. სპირტების დაჟანგვაში, მათ შორის ქრონიკული ალკოჰოლური ინტოქსიკაციის დროს, გარკვეულ როლს ასრულებს მიკროსომული ეთანოლდამჟანგავი სისტემა (MEOS), რომელიც ახდენს ორგანიზმში მოხვედრილი მთელი ეთანოლის 1/4-ის ბიოტრანსფორმაციას, დანარჩენი სპირტის 3/4-ის მეტაბოლიზმი ხდება ციტოზოლური ნად-დამოკიდებული ალდეჰიდდეჰიდროგენაზას მეშვეობით (Голиков и др., 1986). აღსანიშნავია, რომ ამ ფერმენტის აქტიურობა მდედრ ვირთაგვებში უფრო მაღალია, ვიდრე მამრებში (Horton, Oocker, 1976).

ალკოჰოლის ჭარბი რაოდენობით მოხმარების დროს ირღვევა ორგანიზმის ფერმენტული უზრუნველყოფა, ე.ი. არ ხდება ალკოჰოლის სრულად დაჟანგვა. ამ დროს წარმოქმნილი ტოქსიკური პროდუქტი იწვევს ნივთიერებათა ცვლის მოშლას, რაც თავის მხრივ განაპირობებს თავის ტვინის, ღვიძლის და სხვა ორგანოების და ქსოვილების შეუქცევად დარღვევებს. ეს უკანასკნელი შესაძლოა გამოწვეული იყოს უჯრედში მიმდინარე ისეთი პროცესების დარღვევით, როგორიცაა ენერგეტიკული (კრებსის ციკლი) და ბიოლოგიური ჟანგვის პროცესები,^უჯრედების მემბრანებში Na^+ და K^+ კომპონენტების ბალანსი, ფერმენტული სისტემის აქტიურობის დაქვეითება (Бабаян, Гонопольский, 1987).

მემბრანების მეშვეობით უჯრედების მეტაბოლიზმის რეგულირება გულისხმობს ფერმენტების გაერთიანებას ერთიან სისტემად და იონების ტრანსპორტს. ჟანგბადის აქტიური ფორმები (წყალბადის ზეჟანგი, ორგანული ზეჟანგები და სხვა დამჟანგველები) მემბრანებთან ურთიერთქმედების შედეგად წარმოქმნიან ლიპიდურ ზეჟანგებს, რაც იწვევს მემბრანების სტრუქტურულ ცვლილებებს და შესაბამისად მათი განვლადობის ზრდას. აღნიშნული პროცესების დროს ირღვევა იონების ტრანსპორტიც, რაც იწვევს უჯრედში Ca^{2+} იონების ჭარბი რაოდენობით შესვლას და საბოლოოდ უჯრედის დაღუპვას (Farber,1980; Микеладзе и др., 1995).

ალკოჰოლის მოხმარება თეთრი ვირთაგვების მიერ ხანგრძლივი დროის განმავლობაში (დედების მიერ მთელი მაკეობის და პოსტნატალურად 6 თვის განმავლობაში), იწვევს მათი შთამომავლობის თავის ტვინის ლიმბური სისტემის ქერქული და ქერქქვეშა სტრუქტურების ნეირონების სხეულის ზომასა და მშრალ წონას შორის კორელაციის დარღვევას, რაც მიუთითებს ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად მემბრანების განვლადობის გაზრდის გამო, უჯრედებში წყლის რეჟიმის დარღვევაზე (Svanidze et al., 2002).ююю

ალკოჰოლის ქრონიკული ზემოქმედების შედეგად მნიშვნელოვნად მცირდება თავის ტვინის ცალკეული რეგიონების ზომები კონტროლთან შედარებით, განსაკუთრებით ზიანდება თეთრი ნივთიერების შემცველი რეგიონების მოცულობა (Krill et al., 1997). ალკოჰოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ნეიროპათოლოგიის შესწავლამ ადამიანებსა და ცხოველებში გამოავლინა, რომ თეთრი ნივთიერების

რედუქცია უფრო მეტად ვლინდება ასაკისა და სქესის გათვალისწინებით, ვიდრე ალკოჰოლის მიღების ხარისხით. გაირკვა, რომ თავის ტვინის დაზიანება ქალებში უფრო იშვიათია, ვიდრე მამაკაცებში (Mann, Widman, 1995).

ალკოჰოლის ზემოქმედების ასაკობრივი თავისებურებების შესწავლის შედეგად გაირკვა, რომ ახალგაზრდები უფრო მგრძნობიარენი არიან ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული დარღვევების მიმართ, ვიდრე მოზრდილები. ეთანოლის ზემოქმედება ახალგაზრდა ვირთაგვებში არღვევს დასწავლის პროცესს იმ დოზის გამოყენებისას, რომელიც არ მოქმედებს მოზრდილებზე (Land, Spear, 2004). ახალგაზრდების უფრო მეტი მგრძნობელობა ალკოჰოლის მიმართ გამოწვეულია იმით, რომ დასწავლის ამოცანების შესრულებაში მნიშვნელოვანია ჰიპოკამპის ფუნქციონირება, რომელიც უფრო მეტად ირღვევა ალკოჰოლის ზემოქმედებისას ახალგაზრდებში (White, Swartwelder, 2005).

ლიტერატურის მონაცემების თანახმად, თავის ტვინის ქერქი და ქერქქვეშა სტრუქტურები,^ რომელთა ფორმირება სხვადასხვა დროს ხდება, განსხვავებულად რეაგირებენ ეთანოლის ზემოქმედებაზე (Armstrong et al., 1990; Snyder et al., 1990). ეთანოლის ტოქსიკური ზემოქმედება განსხვავებულია, როგორცLთავის ტვინის სხვადასხვა უბნებში, ასევე ერთი და იგივე უბნის სხვადასხვა უჯრედულ პოპულაციაში. კერძოდ, თავის ტვინის სხვადასხვა უბნებიდან მომზადებული ასტროციტების პირველადი კულტურების ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის შემთხვევაში გამოვლენილია რნმ-ის, დნმ-ის და ცილის სინთეზის განსხვავებული სპეციფიკა (Rohnbak et al., 1988). ვირთაგვების თავის ტვინში ბიოქიმიური პარამეტრების შესწავლამ ეთანოლის მწვავე და სუბქრონიკული დოზების ზემოქმედებისას გამოავლინა გლუტათიონის კონცენტრაციის და გლუტამინსინთეტაზას დონის დაქვეითება სტრიატუმში მაშინ, როდესაც თავის ტვინის ქერქში და ნათხემში ეს ცვლილებები არ აღინიშნებოდა (Bondy, Guo, 1995).

თავის ტვინის სხვადასხვა რეგიონებში ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ურთიერთსაწინააღმდეგო ცვლილებები მიუთითებს ნეირონების არჩევით მგრძნობელობაზე ალკოჰოლური ინტოქსიკაციის მიმართ (Krill et al., 1997; Harper, 1998). კერძოდ სომატოსენსორულ ქერქში ადგილი აქვს უჯრედების რაოდენობის შემცირებას,

მაშინ როდესაც თალამუსის ვენტრობაზალურ ბირთვში ანალოგიური სურათი არ ვლინდება (Japaridze et al., 2002a).

განვითარებადი ცნს-ის მგრძნობელობა ეთანოლის მიმართ განისაზღვრება იმის მიხედვით, განვითარების რომელ სტადიაზე მოქმედებს ალკოჰოლი, ამიტომ, უჯრედები შეიძლება დაიღუპონ ერთ უჯრედულ პოპულაციაში, მაშინ, როდესაც სხვა ჯგუფებში შეიძლება მხოლოდ შეფერხდეს მათი ფუნქციის ფორმირება (Guerri,1998; West et al., 1994).

განსხვავებულ მგრძნობელობას ავლენენ სხვადასხვა ცხოველების ანალოგიური სტრუქტურები ეთანოლით ინტოქსიკაციის შემთხვევაში. ვირთაგვების თავის ტვინში კალოზალური პროექციული ნეირონების განლაგების სიმკვრივისა და შრეებში გადანაწილების ცვლილება მკვეთრად განსხვავდება საკონტროლო ცხოველებში გამოვლენილი სურათისგან (Miller,1997), ხოლო მაკაკების ეთანოლით პრენატალური ზემოქმედების შედეგად მიღებულ შთამომავლობაში კალოზალური აქსონების რაოდენობა 26%-ით მატულობს კონტროლთან შედარებით, ამავე დროს, არ იცვლება აქსონების ზომა და მიელინის სისქე (Miller et al., 1999).

ვირთაგვის ლიმბური სისტემის ქერქქვეშა სტრუქტურებში (ჰიპოთალამუსის, გამჭვირვალე ძგიდის და ნუშისებრი კომპლექსის ბირთვებში) ნეირონების რაოდენობის განსაზღვრამ ეთანოლით ინტოქსიკაციის ქვეშ მყოფი მდედრი ვირთაგვების შთამომავლობის ადრეული პოსტნატალური განვითარების პერიოდში გამოავლინა სხვადასხვა სტრუქტურების ნეირონების განსხვავებული მგრძნობელობა ეთანოლის მიმართ პოსტნატალური განვითარების პროცესში. ნებისმიერ შემთხვევაში ეთანოლი იწვევს ნეირონების რაოდენობის ცვლილებებს აღნიშნულ სტრუქტურებში, თუმცა განსხვავებული ხარისხით (Japaridze et al., 2002).

ალკოჰოლით ინტოქსიკაცია განსაკუთრებით ძლიერ ზემოქმედებას ახდენს თავის ტვინის განვითარების პერიოდში. მდედრი ვირთაგვების პრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაციის შედეგად მიღებულ შთამომავლობაში გამოვლენილ იქნა მორფო-ფუნქციური დარღვევების სხვადასხვა ასპექტები, თავის ტვინის საერთო მოცულობის შემცირება განსაკუთრებით თავის ტვინსა და ნათხემში და თავის ტვინის ზომის მნიშვნელოვანი რედუქცია ალკოჰოლის ზემოქმედების შემდეგ განვითარების იმ

პერიოდში, როდესაც ხდება გლიის სწრაფი პროლიფერაცია, მომწიფება და მიელინის წარმოქმნა (Miller, 1996b; Dobbing, Sands, 1979).

ვირთაგვების მაკეობის პერიოდში ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად მიღებული შთამომავლობის თავის ტვინის მოტორული და სომატოსენსორული უბნების ციტოარქიტექტონიკის შესწავლამ გამოავლინა ქერქის გათხელება საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით, თუმცა ცალკეული შრეების სისქე არ იცვლება (Miller, Do-Edwards, 1988).

ქალების მიერ ალკოჰოლის მიღება ფეხმძიმობის პერიოდში იწვევს მათ შთამომავლობაში ნაყოფის ალკოჰოლური სინდრომის (FAS – Fetal Alcohol Syndrom) ჩამოყალიბებას, რომლის ერთ-ერთ ძირითად ნიშანს წარმოადგენს ცნს-ის დისფუნქცია, რაც თავის მხრივ განაპირობებს სხვადასხვა პათოლოგიებს და ნევროლოგიურ დაავადებებს, როგორიცაა გონებრივი ჩამორჩენა, მიკროცეფალია, ქცევითი აქტების მოშლა, დარღვევები ბავშვთა ზრდასა და განვითარებაში და სხვა (Famy et al.,1998; Yconomidou et al., 2000). ტერმინი, ნაყოფის ალკოჰოლური სინდრომი (FAS), ან ალკოჰოლური ემბრიოპათია,^შემოღებულ იქნა 1973წ. ამერიკელი მეცნიერების ჯონსონისა და სმიტის მიერ, თუმცა 1967-68 წწ. ფრანგი მეცნიერების ლამაჰის (1967) და ლამუნის (1968) მიერ გამოქვეყნდა შრომები, სადაც ნაჩვენები იყო,^რომ ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის ქვეშ მყოფი დედების შთამომავლობისთვის დამახასიათებელია ზრდის შეფერხება პოსტნატალურ პერიოდში, დარღვევები მოძრაობაში და სხვა სიმახინჯეები (Нестлер и др. 1982). მძიმე დარღვევები ვლინდება ბავშვების ფსიქიკაში, განსაკუთრებით ხშირია ნევროზები, ეპილეფსია. აღსანიშნავია, რომ ფსიქიატრების პაციენტების 60-80% მიეკუთვნება ალკოჰოლის მომხმარებელი დედების შთამომავლობას (Бородкин, Грекова, 1987).

2.2 ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული ცვლილებები თავის ტვინის ქერქში. ნეიროტროფული ფაქტორების როლი ნერვული და გლიური უჯრედების ცხოველმყოფელობაში

ლიტერატურაში არსებული მონაცემების თანახმად ეთანოლის პრე- და პოსტნატალური ზემოქმედების მიმართ განსაკუთრებით მგრძნობიარეა თავის ტვინის

ქერქი (Fletcher, Shain 1993; Miller, 1996), განვითარების ისეთ კრიტიკულ პერიოდებში, როგორიცაა ნეირონების პროლიფერაცია, მიგრაცია და დიფერენცირება. ამ მხრივ განსაკუთრებულ ყურადღებას იქცევს ალკოჰოლური ინტოქსიკაციის შედეგად გამოვლენილი ცვლილებები (Fletcher, Shain 1993; Miller, 1996b; Goodlett, Horn, 2001; Heaton et al., 2003).

სომატოსენსორული ქერქის სტრუქტურულ-ფუნქციურმა შესწავლამ თავის ტვინის განვითარების პროცესში ეთანოლით ზემოქმედებისას გამოავლინა ნეირონების პოპულაციის ჰეტეროგენულობა, მაშინ როდესაც საკონტროლო ცხოველებში, ნეირონები წარმოდგენილი არიან ჰომოგენური მორფო-ფუნქციური პოპულაციით. აღნიშნული ჰეტეროგენულობა შეიძლება გამოწვეული იყოს განვითარების ადრეულ ეტაპებზე ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად მიმდინარე გენერაციისა და მიგრაციის პროცესების დარღვევით (Miller et al.,1990). სომატოსენსორული ქერქის (რომელიც გამოირჩევა უჯრედული და ქიმიური სტრუქტურების მაღალი ორგანიზაციით) შრეებში ქრონიკული ეთანოლური ინტოქსიკაციის შედეგად გამოვლენილ იქნა თავის ტვინის ქოლინერგული სისტემის დაზიანება, რამაც შესაძლოა ხელი შეუწყოს ალკოჰოლურ დემენციასთან დაკავშირებული მეხსიერების დაკარგვას (Miller, Rieck, 1993). ქრონიკული ალკოჰოლიზმის პირობებში, ტვინის ღეროს სეროტონინერგული ბირთვების იმუნოციტოქიმიური კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ ალკოჰოლი და მისი მეტაბოლიტები, სხვა ნეიროტოქსინების მსგავსად, იწვევენ აქსონების და მათი ტერმინალების დეგენერაციას (Halliday et al., 1995).

ეთანოლის პრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაციის შედეგად, თავის ტვინის სხვადასხვა სტრუქტურებში (თავის ტვინის ქერქი, ჰიპოკამპი, ნათხემი და ტვინის ღერო) დნმ-ისა და ცილის განსაზღვრამ განსაკუთრებული დარღვევები გამოავლინა თავის ტვინის ახალ ქერქში და ნათხემში, თუმცა დნმ-ის რაოდენობა არ შეცვლილა ჰიპოკამპში პრენატალური ინტოქსიკაციისას, ხოლო პოსტნატალური ზემოქმედებისას, მისი რაოდენობა მნიშვნელოვნად გაიზარდა. ცნს-ის სხვადასხვა სტრუქტურებში გამოვლენილი განსხვავებული ცვლილებები დროის სხვადასხვა მონაკვეთში მიუთითებს, რომ პროლიფერირებადი უჯრედები წარმოადგენენ ეთანოლის პირველად, მაგრამ არა ერთადერთ სამიზნეს (Miller,1996b).

თავის ტვინის ქერქში ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი ცვლილებები განპირობებულია ურთიერთკავშირით ეთანოლსა და განვითარების პროცესებს შორის,^რომელშიც მონაწილეობენ ნეიროტროფინები, ან მათი რეცეპტორები. ნეიროტროფინების და მათი რეცეპტორების როლის in vivo და in vitro კვლევის შედეგად დადგენილ იქნა, რომ ზრდის ფაქტორების რეცეპტორები წარმოადგენენ ეთანოლის სამიზნეს, იგი თრგუნავს PDGF-ით განპირობებულ ასტროციტების პროლიფერაციას და ცვლის მას რეცეპტორული კინაზების აქტიურობის ბლოკირებით. აღნიშნული ცვლილებები გადაეცემა მიტოგენური ზრდის ფაქტორების სპეციფიკური რეცეპტორებით (Luo, Miller, 1999).

ნეიროტროფულ ზრდის ფაქტორებს, რომლებიც განაპირობებენ ნეირონების და გლიური უჯრედების ცხოველმყოფელობას განვითარების პროცესში, მიეკუთვნებიან: ნეიროტროფული ზრდის ფაქტორი (NGF), თავის ტვინიდან წარმოებული ზრდის ფაქტორი (BDGF),^ნეიროტროფინი 3(NT-3), 4/5(NT-4/5) და 6(NT-6) (Korsching,1993; Zheng et al.,1995; Fryer, et al., 1996). თრომბოციტებიდან წარმოებული ზრდის ფაქტორის (PDGF) რეცეპტორები მიტოგენურ ზემოქმედებას ახდენენ გლიურ უჯრედებზე და მნიშვნელოვან ნეიროტროფულ და ნეიროპროტექტულ აგენტებს წარმოადგენენ ნეირონებისთვის (Valenzuela et al., 1997). გლიური უჯრედებიდან წარმოებული ნეიროტროფული ფაქტორი (GDNF), ვირთაგვების მაკეობის პერიოდში ეთანოლით ინტოქსიკაციის შემთხვევაში იცავს მათი ნაშიერების ზურგის ტვინის მოტონეირონებს დაღუპვისაგან (Barrow et al., 1999).

განვითარებადი თავის ტვინის ქერქის ნეირონები ახდენენ როგორც მაღალი (trk A, trk B, trk C), ისე დაბალი (p75) აფინობის რეცეპტორების ექსპრესიას ყველა ნეიროტროფინისთვის, თუმცა ეთანოლი ახდენს მხოლოდ p75 რეცეპტორის ექსპრესიის ინჰიბირებას, რის გამოც ბლოკირებულია NGF-ისLუნარი გადაარჩინოს ნეირონები და კულტივირებული ქერქის ნეირონები იღუპებიან. ამგვარად, ეთანოლი სპეციფიკურ ზემოქმედებას ახდენს NGF-ის პრევენციულ ზემოქმედებაზე და ასევე p-75 რეცეპტორზე, რაც მიუთითებს ამ უკანასკნელის მნიშვნელოვან ზეგავლენაზე NGF-ის სიგნალების მიმართ (Seabold, Miller 1998).

2.3. ეთანოლის ციტოტოქსიკური ზემოქმედება ნერვულ და გლიურ უჯრედებზე

ალკოჰოლით ინტოქსიკაცია თავის ტვინის უჯრედებში იწვევს რიგ დისტროფიულ ცვლილებებს. კერძოდ, სომატოსენსორული ქერქის ნეირონების ულტრასტრუქტურის შესწავლის შედეგად, გამოვლენილი იქნა მიტოქონდრიების გაჯირჯვება, მათში კრისტების გაქრობა და ვაკუოლიზაცია (Checiu et al., 1989; Попова, 1983; 1988; 1993; 1996). ალკოჰოლით პრენატალური ინტოქსიკაციის შედეგად 30 დღიანი შთამომავლობის სომატოსენსორულ ქერქში ნეიროპილი, საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით, წარმოდგენილია აქსონების საკმაოდ ფართო ქსელით, სადაც ნაკლებად შეინიშნება დენდრიტები. აღნიშნული განსხვავება საცდელ და საკონტროლო ცხოველებს შორის იწვევს ფიზიოლოგიურ ცვლილებებს, რაც თავის მხრივ, განაპირობებს ბავშვებში FAS-თვის დამახასიათებელი აზროვნების შეფერხებას (al-Rabaiai, Miller 1989).

მდედრი ვირთაგვების ალკოჰოლური ინტოქსიკაციის შედეგად მიღებულ შთამომავლობაში ნეირონების და მათი დენდრიტების დისტროფიული ცვლილებები პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე ვლინდება მოძრაობით აქტიურობას და დასწავლის და მეხსიერების პროცესის დარღვევაში. ეს ცვლილებები გრძელდება ცხოველების სქესობრივ მომწიფებამდე, რაც მიუთითებს, რომ ეთანოლური ინტოქსიკაცია ემბრიონულ პერიოდში იმდენად ძლიერ ზემოქმედებას ახდენს, რომ იგი კარგად გამოხატული რჩება პოსტნატალური განვითარების საკმაოდ დიდი ხნის განმავლობაში. აღსანიშნავია, რომ P30 დღიდან ნაშიერების თავის ტვინში შეიმჩნევა რეპარაციული პროცესები, რომლებიც გრძელდება P60 დღემდე. ამ პერიოდისთვის აღინიშნება დასწავლის და მეხსიერების გაუმჯობესება, თუმცა ნეირონების ულტრასტრუქტურა არ აღდგება, რაც მიუთითებს სინაფსური მექანიზმების დაზიანებაზე (Попова, 1983; 1988; 1989; Harper 1998).

ალკოჰოლის ზემოქმედების დროს ნეირონების სტრუქტურის დაზიანებას წინ უსწრებს დენდრიტების სინაფსების რეცეპტორული და ტრანსმიტერული ცვლილებები, რაც განაპირობებს ფუნქციურ ცვლილებებს და აზროვნების დეფიციტს (Harper,E1998). აღნიშნულ პირობებში აღწერილია დენდრიტების რაოდენობის და სიგრძის შემცირება, ვაკუოლიზაცია და მათი ხორკლების რაოდენობის შემცირება, სინაფსების

ულტრასტრუქტურის რღვევა (Murray et al., 1981; Galofre et al., 1987; Попова 1991). ქერქის სინაფსები განსაკუთრებული მგრძნობელობით გამოირჩევიან სხვადასხვა ფაქტორების ზემოქმედების მიმართ, რაც გამოიხატება პირამიდული ნეირონების დენდრიტებზე ხორკლების რაოდენობის შემცირებით. ეს უკანასკნელი შეიძლება გამოწვეული იყოს რამდენიმე მიზეზით, მათ შორის უკვე წარმოქმნილი ხორკლების დეგენერირებით, დენდრიტების მომწიფების პროცესის შეფერხებით, ან სხვადასხვა დაავადების მიმდინარეობით (Попова ,1991).

მდედრი ვირთაგვების ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად მიღებული შთამომავლობის სენსომოტორულ ქერქში დისტროფიული ცვლილებები ვლინდება აგრეთვე ასტროციტების ციტოპლაზმური სტრუქტურების ანომალიაში, მიტოქონდრიების გაჯირჯვებაში და გოლჯის აპარატის რღვევაში. პოსტნატალური განვითარების მოგვიანო ეტაპებზე (2 თვის განმავლობაში), ადგილი აქვს რეპარაციულ პროცესებს, თუმცა ჰიპოქსიური ხასიათის დისტროფიული ცვლილებები აღინიშნება სქესობრივი მომწიფების პერიოდამდე. ასტროციტების ცვლილებები ქერქის მოცემულ უბანში მიუთითებენ აგრეთვე, სისტემის "ნეირონ-გლია-კაპილარი" დაზიანებაზე (Popova, Frumkina, 1985; Попова, 1989; 1993). მიუხედავად იმისა, რომ ნეირონების ფორმირება გენეტიკურად არის განსაზღვრული, მათი საბოლოო ფორმირება დამოკიდებულია გარემო პირობებზე.

ცნობილია, რომ თავის ტვინის ნორმალურ განვითარებასა და ფუნქციობაში აქტიურად მონაწილეობენ გლიური უჯრედებიც,^რომლებიც ხელს უწყობენ ნეირონების ზრდას და განვითარებას. სხვადასხვა ტიპის გლიური უჯრედები განსხვავებულ ფუნქციას ასრულებენ. ცნს-ის განვითარების პროცესში. ასტროციტები წრმოიქმნებიან ემბრიონული განვითარების ადრეულ სტადიაზე (G16) რადიალური გლიიდან, ან მათი წინამორბედი უჯრედებიდან (Choi et al., 1983; Hirano, Goldman, 1988; Raff, 1989; Skoff, 1990; Phillips, et al.,1991), ხოლო ოლიგოდენდროგლიური უჯრედები ვითარდებიან ასტროციტებზე უფრო გვიან, მათი ფორმირების პირველი ტალღა დაკავშირებულია იმ აქსონების განვითარებასთან, რომლებიც საჭიროებენ მიელინის გარსის წარმოქმნას (Tennekoon et al., 1980; Skoff, 1990; Phillips, 1992;). ახლადწარმოქმნილი ოლიგოგლიური უჯრედების დიდი ნაწილი იღუპება ნორმალური

განვითარების პროცესში, ხოლო მომწიფებული უჯრედები ნეირონების გარემოცვაში ჩნდებიან P10-P15,

ნეირონების მიგრაციასა და მათი საბოლოო დისლოკაციის ადგილზე განლაგების დროს მნიშვნელოვან როლს ასრულებს რადიალური გლია. რაკიჩმა (Rakich, 1981), რომელმაც შემოიტანა ტერმინი "რადიალური გლია", აჩვენა,^რომ^როდესაც მიმდინარეობს ცნს-ის ფორმირება, ნეირობლასტების მიგრაცია ქერქული სტრუქტურების მიმართულებით ხდება გლიური უჯრედების დახმარებით, რომელთა გრძელი მორჩები განლაგებულია გვერდითი პარკუჭების ეპენდიმურ შრესა და მანტიის შრეს შორის. პოსტმიტოზური ნეირონები თავის ტვინის პარკუჭების მიმდებარე უბნებიდან მიგრირებენ,^ უკავშირდებიან რადიალური გლიის მორჩებს და მიჰყვებიან მათ შესაბამისი უბნებისკენ,^რითაც უზრუნველყოფენ ნეირონების გადაადგილებას (Rakich, 1985; Shults et al., 1990). შემდგომში, რადიალური გლია გარდაიქმნება ასტროციტებად და კარგავს გამტარის ფუნქციას.

პრენატალური ალკოჰოლური ინტოქსიკაცია იწვევს რადიალური გლიის ადრეულ მომწიფებას და ასევე ადრეულ გარდაქმნას ასტროციტებად,^რის შედეგადაც რადიალური გლიის ფუნქცია ირღვევა, ნეირონების მიგრაცია წყდება და ადგილი აქვს მათ ანომალურ განლაგებას ქერქში (Miller, 2003). ამგვარად, ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად ნეირობლასტების მიგრაცია ითრგუნება და შესაბამისად მცირდება იმ უჯრედების რაოდენობა,^რომლებიც მონაწილეობენ ქერქული და ქერქქვეშა სტრუქტურების ფორმირებაში. პოსტმიტოზური უჯრედები რჩებიან პროლიფერირებად ზონებში, რაც განაპირობებს ქერქის ასინქრონულ განვითარებას (Miller, 1993; Miller, Robertson, 1993).

ცნობილია, რომ ასტროციტები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ნეირონების გარემოცვის რეგულირებაში და ამიტომ მონაწილეობენ ცნს-ის განვითარებისა და ფუნქციის კონტროლში. დადგენილია,^რომ ასტროციტები ბევრად უფრო მგრძნობიარენი არიან ალკოჰოლის ზემოქმედების მიმართ, ვიდრე ნეირონები (Mandel et al., 1980). ასტროციტები ასინთეზირებენ ნეიროპეპტიდებს (Shinoda, 1989; Intebi et al., 1990; Schwartz, Simantov, 1998) და სხვა ნეიროტროფულ ფაქტორებს (Rudge, 1993), ინარჩუნებენ უჯრედგარე იონთა კონცენტრაციას და ხელს უწყობენ ამაგზნებელი

ამინომჟავების და ნეიროტრანსმიტერების ფუნქციობას (Kimelberg et al., 1993). მომწიფებულ თავის ტვინში ასტროციტების ფუნქციური აქტიურობა განაპირობებს ნეირონების ცხოველმყოფელობას და გადარჩენას.

In vivo და in vitro პირობებში ჩატარებული კვლევებით დადგინდა,^რომ ალკოჰოლის ზემოქმედება ასტროციტების სტრუქტურასა და ფუნქციაზე გამოიხატება მათი საერთო რიცხვის შემცირებაში თავის ტვინის ქერქში, ამ დროს ფერხდება იმ სპეციფიკური ცილების წარმოქმნა, რომლებიც განსაზღვრავენ მათთვის დამახასიათებელ ფორმას, ქვეითდება რეაქცია სპეციფიკური ზრდის ფაქტორების მოქმედებაზე,^რაც შემდგომში მოქმედებს ნეირონების მიგრაციაზე, გადარჩენაზე და მათ შორის კავშირების წარმოქმნაზე (Guerri, 1998; Goodlett, Horn, 2001).

ეთანოლის ზემოქმედება, რომელიც მნიშვნელოვნად თრგუნავს ასტროციტების პროლიფერაციას, დამოკიდებულია ეთანოლის დოზაზე და მოქმედების ხანგრძლივობაზე (Schmidley, 1990; Kane et al., 1996; Kril et al., 1997; Guerri, 1998). ახალშობილი ვირთაგვის თავის ტვინის ქერქის ასტროციტები ეთანოლის ხანმოკლე ექსპოზიციის დროსაც კი უფრო მგრძნობიარენი არიან ეთანოლის ზემოქმედების მიმართ, ვიდრე ტვინის სხვა უბნების ასტროციტები, რაც გამოიხატება მათში GFAP-ის და mRNA-ს მნიშვნელოვან მომატებაში (Fletcher, Shain, 1993).

ასტროციტების განვითარების პროცესში ეთანოლის ზემოქმედება ხორციელდება ორი გზით - ასტროციტების მომწიფების შეფერხებით, ან უშუალო ტოქსიკური ზემოქმედებით უჯრედებზე (Valles et al., 1996), რაც გულისხმობს თავისუფალი რადიკალების მიერ გლიური უჯრედების დაზიანებას (Montoliu et al., 1995). ეთანოლით ინტოქსიკაციის შემდეგ გლიურ უჯრედებში (ნეირონებისგან განსხვავებით), მცირდება სოდ-ის რაოდენობა, რის გამოც ისინი უფრო ხშირად იღუპებიან (Mandel et al.,1980).

ეთანოლის პრენატალური ზემოქმედების შედეგად რადიალური გლიის ასტროციტებად სწრაფად გარდაქმნის და ღეროვანი უჯრედებიდან ასტროციტების წარმოქმნის შეფერხების გამო ვითარდება დროებითი ასტროგლიოზი, რომელიც გამოვლინდა FAS-ითLდაავადებულთა ცნს-ის გამოკვლევის შედეგად (Peiffer, et al., 1979; Wisnievski et al., 1983; Fakoya, 2005).

რეაქტიული გლიოზი, ასტროციტების ჰიპერტროფია და ჰიპერპლაზია წარმოადგენს ცნს-ის ნორმალურ რეაქციას ინვაზიურ დაზიანებაზე, უჯრედების დაღუპვასა და ნერვული ტერმინალების დეგენერაციაზე (Malhotra et al., 1990), ან ადგილი აქვს იმ შემთხვევაში, როდესაც საკმარისად არ არის განვითარებული სპეციფიკური ნერვული პოპულაცია (Martinez Garcia et al., 1990).

ალკოჰოლის ზემოქმედებით გამოწვეული გლიოზი ნეირონების გარემოცვის ცვლილების შედეგად აზიანებს აგრეთვე ნეირონული პოპულაციის განვითარებას (Miller, 1986;1996; Valles et al., 1996), რაც შეიძლება. გამოწვეული იყოს ტოქსიკური ზემოქმედების (Aschner, Lo Pachin, 1993), ნეირონული ელემენტების განვითარების შეფერხების (Martinez, Garcia et al.,1991),ან მათი გარემომცველი ასტროციტების მეტაბოლიზმზე ზემოქმედების გზით (Renau-Piqueras et al., 1989). ალკოჰოლის ზემოქმედებისას ასტროგლიოზი ვითარდება სხვადასხვა სტრუქტურებში ასტროციტების რაოდენობის ზრდის შედეგად (Phillips, Krueger, 1990; 1992; Burrows, 1992).

ვირთაგვების თავის ტვინის ქერქის პრე- და პოსტნატალური განვითარების პერიოდებში ალკოჰოლის ზემოქმედება იწვევს GFAP-დადებითი ასტროციტების რაოდენობის ზრდას (Goodlett et al., 1993; Miller, Robertson, 1993). ეს ფაქტი მიუთითებს ფიბრილური პროცესის გაძლიერებაზე, რაც განაპირობებს გლიოზის ფორმირებას, რომელიც გრძელდება მცირე დროის განმავლობაში, ან დროებითია და არ გხვდება მუდმივად (Sherry, Phillips, 1992; Fletcher, Shain, 1993; Goodlett et al., 1993; Miller, Robertson, 1993; Fakoya, 2005).

გლიოზის პოტენციურ ტრიგერს წარმოადგენს აგრეთვე სისხლძარღვების დაზიანება სისხლში ალკოჰოლის მაღალი კონცენტრაცის შემცველობის გამო (Goodlett et al., 1993). ალკოჰოლის ინტოქსიკაციის შედეგად ჰემატოენცეფალური ბარიერის (ჰებ) დაზიანება მოქმედებს ასტროციტების განვითარებაზე, რაც თავის მხრივ აფერხებს სისხლძარღვებში ფუნქციური ბარიერის წარმოქმნას და იწვევს ასტროციტებსა და სისხლძარღვებს შორის კავშირის დარღვევას (Goldstein, Betz, 1986; Hozumi et al., 1990; Krum, 1991). ეთანოლის ზემოქმედება თავის ტვინის ქერქში აფერხებს

სისხლძარღვების განვითარებას, რაც შესაბამისად იწვევს მათი ფუნქციის დაქვეითებას (Al-Rabiai, Miller, 1987; West, Goodlett, 1990; Goodlett et al., 1993).

ალკოჰოლით ინტოქსიკაცია იწვევს ოლიგოგლიური უჯრედების 70%-ით რედუქციას (Phillips, et al., 1990). ოლიგოდენდროგლიური უჯრედების მიერ გამოყოფილი მიელინის ძირითადი ცილის (MBP) რაოდენობის შემცირება განაპირობებს ნეირონულ დისფუნქციას, რაც თავის მხრივ იწვევს ნეიროგენეზის პროცესის დარღვევას, შესაბამისად იცვლება ცნს-ის სენსორული და მოტორული რეაქციები. (Barres et al., 1993). ალკოჰოლის განსაკუთრებით ძლიერი ზემოქმედება ოლიგოდენდროგლიურ უჯრედებზე, ან მათ უშუალო პრეკურსორებზე, ვლინდება პოსტნატალური განვითარების P5-P10 და არა პრენატალურ პერიოდში (Phillips, Krueger, 1990), თუმცა შემდგომში დადგენილ იქნა,^რომ ალკოჰოლის პრენატალური ზემოქმედების შედეგად (G6-G17) სუსტდება^ მიელინის ძირითადი ცილის (MBP) წარმოქმნის პროცესი (Ozer et al., 2000).

ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის დროს ტვინის მაქსიმალური ზრდის პერიოდში, როდესაც განსაკუთრებით გაძლიერებულია გლიის პროლიფერაცია, მომწიფება და მიელინიზაცია, აღინიშნება თავის ტვინის ზომის განსაკუთრებით გამოხატული შემცირება, რომელიც ეთმთხვევა ადამიანებში ფეხმძიმობის მესამე ტრიმესტრს და ვირთაგვებში პოსტნატალური განვითარების P7-P10 დღეს (Dobbing, Sands, 1979; Wiggins, 1986).

ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, ალკოჰოლური ინტოქსიკაცია ორგანიზმის განვითარების პროცესში აზიანებს ოლიგოდედროგლიის მომწიფებას და შესაბამისად მიელინის წარმოქმნის პროცესს, იწვევს ასტროგლიოზს და აფერხებს რადიალური გლიის მომწიფებას და ასტროცეტებად გარდაქმნას, ამასთან იწვევს ასტროციტების რედუქციას, რითაც არღვევს ურთიერთკავშირს ნეირონებსა და გლიურ უჯრედებს შორის.^ვინაიდან გლიური უჯრედები მრავალ ფუნქციას ასრულებენ თავის ტვინის მეტაბოლიზმსა და განვითარებაში, მათი დეფიციტი განაპირობებს ტვინის ნორმალური განვითარებისა და ფუნქციის მოშლას.

2.4. ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის ცვლილება

ეთანოლით ზემოქმედების შემდეგ

რიგი მონაცემების თანახმად თავის ტვინის სხვადასხვა უბნებში ეთანოლის ზემოქმედება იწვევს ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის შემცირებას, რაც შესაბამისად მოქმედებს აღნიშნული უბნების და მთლიანად ცნს-ის ნორმალურ ფუნქციონირებაზე.

ეთანოლით პრენატალური ინტოქსიკაციის შედეგად 3-თვიანი ნაშიერების სომატოსენსორულ ქერქში როგორც ნეირონების, ასევე გლიური უჯრედების საერთო რაოდენობა მნიშვნელოვნად მცირდება, რაც შესაბამისად იწვევს ქერქის და ცალკეული შრეების მოცულობის 33%-ით შემცირებას საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით. აღსანიშნავია, რომ ყველა შრე ერთნაირად არ ზიანდება, განსაკუთრებით განვითარებულია ნეიროპილი. აღნიშნული სტრუქტურული ანომალიები ხელს უწყობენ FAS-ის ჩამოყალიბებას, რომელიც ვლინდება დასწავლის და მოტორული ფუნქციის დეფიციტით (Miller, Potempa, 1990; Mooney, Miller, 1999).

თავის ტვინის ქერქულ და ქერქქვეშა უბნებში ეთანოლის ზემოქმედება იწვევს ნეირონების დაღუპვას. აღსანიშნავია ახალშობილი ვირთაგვების ნათხემის პურკინიეს უჯრედების რაოდენობის შემცირება 30-44%-ით აღნიშნულ პირობებში (Heaton et al., 2000). მდედრი ვირთაგვების ეთანოლით პრე- და პოსტნატალური იტოქსიკაცია მათ შთამომავლობაში იწვევს ამონის რქის CA_1 ველის პირამიდული ნეირონების და დაკბილული ფასციის მარცვლოვანი უჯრედების რაოდენობის შემცირებას პოსტნატალური განვითარების ადრეულ პერიოდში, რაც გამოწვეულია ემბრიოგენეზში გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების, ხოლო პოსტნატალურად მარცვლოვანი უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობის დაქვეითებით. ეს ფაქტი თავის მხრივ იწვევს ჰიპოკამპის ფუნქციის დათრგუნვას და შესაბამისად შიდა ჰიპოკამპური კავშირების და ჰიპოკამპის ლიმბური სისტემის სხვა სტრუქტურებთან დამაკავშირებელი ეფერენტული გზების შემცირებას, რაც საბოლოოდ იწვევს დარღვევებს ცხოველთა დასწავლასა და მეხსიერებაში (Сванидзе и др., 2000).

თავის ტვინის სხვადასხვა უბნები განსხვავებულად რეაგირებენ ეთანოლის ზემოქმედებაზე. კერძოდ, ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად სომატოსენსორულ ქერქში ნეირონები იღუპებიან მაშინ, როდესაც თალამუსის ვენტრობაზალური

ბირთვების ნეირონები მსგავს ზემოქმედებას არ განიცდიან (Mooney, Miller 2001). ეთანოლით პრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაციის შედეგად ნეირონების რაოდენობის შემცირება ლიმბური სისტემის სხვადასხვა სტრუქტურაში და განვითარების სხვადასხვა ეტაპზე განსხვავებულადაა წარმოდგენილი. ნებისმიერ შემთხვევაში აღნიშნული ცვლილებების შედეგად უჯრედების რაოდენობის ცვლილება განაპირობებს ნორმალური კავშირების ფორმირების შეფერხებას აღნიშნულ სტრუქტურებს შორის (Japaridze et al., 2002).განვითარების პროცესში ეთანოლის ზემოქმედების ამგვარი ეფექტი გამოწვეულია იმით, რომ მათი ჩამოყალიბება სხვადასხვა დროს ხდება (Miller, 1996b).

ამგვარად, ეთანოლით პრენატალური ინტოქსიკაცია იწვევს თავის ტვინში უჯრედების რაოდენობრივი ბალანსის დარღვევას. როგორც იყო აღნიშნული, მშობლების ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად მიღებული შთამომავლობის ქერქის ნეირონებისთვის დამახასიათებელია რიგი დესტრუქციული ცვლილებებისა, რაც იწვევს პოსტნატალური განვითარების განსაკუთრებით ადრეულ ეტაპებზე ნეირონების პოპულაციის მომწიფების შეფერხებას. შესაბამისად ქერქის არასრულ ფორმირებას და საბოლოოდ ნეგატიური პროცესების ჩამოყალიბებას.

2.5. ეთანოლის ზეგავლენა მატრიცული და გლიური უჯრედების პროლიფერაციაზე და მიგრაციაზე

ეთანოლით პრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაცია ქერქის სტრუქტურული და ფუნქციური ჩამოყალიბების დროს მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ნერვული უჯრედების პროლიფერაციისა და მიგრაციის პროცესებზე. ამ დროს ადგილი აქვს ნეირონების წარმოქმნის შეფერხებას, რაც იწვევს გარკვეულ ეტაპზე მათი რაოდენობის შემცირებას და მიგრაციის პროცესის ინჰიბირებას.

უკანასკნელი 20 წლის განმავლობაში, მილერის და მისი თანაავტორების მიერ, მრავალმხრივ და დეტალურად იქნა შესწავლილი განვითარებად ნერვულ სისტემაზე ეთანოლის ზეგავლენის სხვადასხვა ასპექტები. კერძოდ, ნაჩვენებია, რომ პრენატალური ალკოჰოლური ინტოქსიკაცია თრგუნავს ნერვული და გლიური უჯრედების წინამორბედების პროლიფერაციას, ხელს უწყობს აპოპტოზს, ამცირებს გადარჩენილი

ნეირონების რაოდენობას და მიგრაციის ხარისხს, რაც საბოლოოდ განაპირობებს FAS-ის ფორმირებას.

პრენატალურ პერიოდში ეთანოლი განსაკუთრებულ ზემოქმედებას ახდენს უჯრედების პროლიფერაციის პროცესში,^ რაც იწვევს ნეირონული გენერაციის დარღვევას,^ნეირონების და ასტროციტების წინამორბედების დაზიანებას და პროლიფერაციის დათრგუნვას (Luo, Miller, 1988; 1998; 1999 Guerri et al., 1990; Krill et al., 1997). განვითარებად ნერვულ სისტემაში ეთანოლის პირველად სამიზნეს წარმოადგენენ ნეირონების წინამორბედი უჯრედები. უჯრედების წინამორბედების პროლიფერაციის დათრგუნვის შედეგად ირღვევა უჯრედული ციკლის კინეტიკა, განსაკუთრებით G_1 ფაზაში, შესაბამისად მცირდება აქტიურად პროლიფერირებადი უჯრედული პოპულაცია. (Miller,1986; 1998; Miller, NovakovskiK1991; Luo, Miller, 1997).

ემბრიოგენეზის პერიოდში თავის ტვინის სხვადასხვა უბნების დიფერენცირება დამოკიდებულია გვერდითი და მესამე პარკუჭების მატრიცული უჯრედების პროლიფერაციულ აქტიურობაზე. ეთანოლის პრენატალური ინტოქსიკაცია სხვადასხვაგვარად მოქმედებს გერმინაციულ ზონებზე, რის შედეგად კლებულობს იმ ნეირონების რაოდენობა, რომლებიც წარმოიქმნებიან ვენტრიკულურ (VZ) და სუბვენტრეკულურ (SVZ) ზონებში ემბრიონული განვითარების G12-G19 პერიოდში, მაგრამ მოგვიანებით ძლიერდება ნეიროგენეზის პროცესი. ეთანოლის ზემოქმედება იწვევს VZ-ის უჯრედების პროლიფერაციის ინჰიბირებას და SVZ-ის უჯრედების პროლიფერაციის სტიმულირებას, რაც წარმოადგენს ზრდასრულ ინდივიდებში ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული უჯრედების რაოდენობის შემცირების საფუძველს ((Miller, 1989; 1996a).

ეთანოლის პრე- და პოსტნატალური ზემოქმედება ხასიათდება ურთიერთსაწინააღმდეგო ეფექტით, რაც შეიძლება განპირობებული იყოს ეთანოლის სხვადასხვაგვარი ზემოქმედებით პროლიფერაციულ ზონებზე და ნეირონების განვითარების კრიტიკულ პერიოდზე, აგრეთვე ეთანოლის სხვადასხვა დოზის ურთიერთსაწინააღმდეგო ზემოქმედებაზე (Miller, 1995).აღნიშნული ეფექტი შესაძლოა გამოწვეული იყოს ეთანოლის მიერ, ერთის მხრივ მიტოგენური ზრდის ფაქტორების (bFGF, EGF, PDGF, IGF-1) ინჰიბირებით, ხოლო მეორეს მხრივ, ზრდის დამთრგუნველი

ფაქტორის (TGF beta 1) სტიმულირებით (Luo, Miller, 1999). პროლიფერაციის პროცესის დათრგუნვა ხორციელდება ეთანოლის ზემოქმედებით Lმიტოგენური ზრდის ფაქტორებზე,^რომლებიც არეგულირებენ პროლიფერაციის პროცესს (Galofre et al.,1987; Miller,1997;1998;1999; Heaton et al., 2000). ^მიტოგენური ფაქტორებითLრეგულირებადი ნეირონები უფრო მგრძნობიარენი არიან ეთანოლის ზემოქმედების მიმართ (Miller, 1998). ამავე დროს, არსებობს მონაცემები,^ რომლებიც მიუთითებენ,^რომ ეთანოლი ყველა მიტოგენური რეცეპტორის აქტიურობაზე არ ახდენს ზემოქმედებას (Thurston, Shukla, 1992; Qio, Green, 1992; Roivainen et al, 1995; Luo et al., 1997; Tombes et al 1998; Seabold et al., 1998).

ამგვარად, ეთანოლის პრენატალური ზემოქმედების შედეგად ძლიერ ზიანდება ნეირონების წარმოქმნის პროცესი, რაც გამოიხატება პროლიფერაციის და მიგრაციის პროცესების დარღვევაში. მიგრაციის ტემპის შენელება იწვევს პოსტმიტოზური ნეირონების დაგროვებას პროლიფერაციულ ზონებში (Miller, 1993; Miller, 1998). ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად რადიალური გლიის გამტარის ფუნქციის დაკარგვის გამო, ნეირობლასტები ვეღარ აგრძელებენ მიგრაციას დანიშნულების ადგილისკენ და შეიმჩნევა ნეირონების დაგროვება ექტოპიურ უბნებში (Miller, 1993;MMiller, Robertson, 1993).

უჯრედებს შორის კონტაქტის დამყარებისა და მათი დანიშნულების ადგილისკენ მიგრაციისას კრიტიკულ როლს ასრულებენ ადჰეზიური მოლეკულები (cell adhesion molecules - CAM), რომლებიც ჩართული არიან სინაფსების ფორმირებასა და მეხსიერების კონსოლიდაციაში (Minana et al.,2000). ნერვული ქსოვილის განვითარების პროცესში ადჰეზიური მოლეკულების განლაგება ნერვული უჯრედების ზედაპირზე იცვლება, განსაკუთრებით ზრდის კონუსის მემბრანაზე (Payne et al., 1992). CAM სინაფსების მნიშვნელოვანი ნაწილია, ამიტომ ისინი განსაკუთრებულ როლს ასრულებენ სინაფსური პლასტიკურობის რეგულირებაში, რაც უკავშირდება დასწავლისა და მეხსიერების პროცესების განხორციელებას (Skaper et al, 2005).

ეთანოლის ზემოქმედება CAM-ზე აზიანებს ნეიროგლიურ კავშირებს, მათი ანომალური ექსპრესია შესაძლოა ჩაერთოს ნეირონების მიგრაციის დათრგუნვის პროცესში და ხელი შეუწყოს თავის ტვინის დეფექტების ფორმირებას. (Minana et al.,

2000; Ozer et al., 2000). ყოველივე ეს იწვევს ქერქის ჩამოყალიბების დესინქრონულობას, რის გამოც ფერხდება ქერქის ნორმალური სტრუქტურის ჩამოყალიბება.

ნეირომედიატორები, რომლებიც მონაწილეობენ განვითარებადი ტვინის ციტოარქიტექტონიკის ჩამოყალიბებაში მონაწილეობენ ნეირომედიატორები, რომლებიც აკონტროლებენ იმ ნეირონული ბადეების ფორმირებას, რომლის ფარგლებშიც თვითონ ფუნქციონირებენ (Mattson, 1988). ნეირომედიტორებთან ერთად ორგანიზმის მრავალ ფუნქციას, მათ შორის ნერვული ქსოვილის განვითარებას ონტოგენეზში, არეგულირებენ ნეიროპეპტიდები. მიუხედავად იმისა, რომ ისინი ბევრად ნაკლები რაოდენობით არიან წარმოდგენილი ტვინში, ვიდრე ნეირომედიატორები, მაინც საკმაოდ ეფექტურად მოქმედებენ. ნეიროპეპტიდები და ნეირომედიატორები წარმატებით ურთიერთქმედებენ, რაც გარკვეულ ზემოქმედებას ახდენს ზრდისა და განვითარების პროცესებზე (Чубаков, 1984).

2.6. თავის ტვინის ქერქის ნეირონების მეტაბოლური აქტიურობის თავისებურებები ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის შემდეგ

თავის ტვინზე სხვადასხვა დამაზიანებელი ფაქტორების ზემოქმედება იწვევს ნეირონების დაღუპვას ნეკროზის ან აპოპტოზის გზით. სხვადასხვა ქიმიური შენაერთების და მათ შორის ალკოჰოლის ბიოტრანსფორმაციის პროცესში განვითარებული, აპოპტოზის გამომწვევი ერთ-ერთი ძირითადი ფაქტორი- ოქსიდაციური სტრესი, იწვევს სუპეროქსიდური ანიონების, მაღალაქტიური და სტაბილური რადიკალების ფორმირებას, რომელთა ძირითად სამიზნეს წარმოადგენენ მემბრანების ლიპიდური შრის შემადგენლობაში შემავალი პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავები (Halliwel, Gutteridge, 1985; Shakarishvili et al., 2003), ამიტომ თავის ტვინის უჯრედების მემბრანებში ცხიმოვანი მჟავების განსაკუთრებით დიდი რაოდენობით შემცველობა განაპირობებს მემბრანების დაზიანების მეტ შესაძლებლობას. თავისუფალი რადიკალები ურთიერთქმედებენ ცილის მოლეკულებთან, არღვევენ დნმ-ის სპირალებს, საწყისს აძლევენ ლიპიდების დაჟანგვას, რის შედეგად ირღვევა ბიოლოგიური მემბრანები (Brendensen, 1996, Miller, 1996b).

მიტოქონდრიების მემბრანების დაზიანება იწვევს უჯრედების ენერგიით მომარაგების და უჯრედში Ca^{2+}-ის დონის რეგულირების დარღვევას, რაც მეტად მნიშვნელოვანია ნეირონებს შორის კავშირის განხორციელების დროს (Goodlett, Horn, 2001), ვინაიდან Ca^{2+}-ის ჭარბი რაოდენობა ნეირონში შეიძლება ტოქსიკური აღმოჩნდეს მისთვის (Choi, 1995). მემბრანების დაზიანების შედეგად იცვლება მათი განვლადობა და მემბრანებზე ცილების განლაგების ორიენტაცია. ეთანოლით პრენატალური ინტოქსიკაცია ემბრიონულ ტვინში აძლიერებს ოქსიდაციური სტრესით გამოწვეულ აპოპტოზს (ბერიძე და სხვ., 2001). აპოპტოზის გზით უჯრედები იღუპებიან ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად სიკვდილის ხელშემწყობი ფერმენტების, კასპაზების, გააქტივების შედეგად, რაც იწვევს ცილების დაშლას (Bredensen, 1996; Cohen, 1997).

ოქსიდაციური სტრესი და ლიპიდური პეროქსიდაციის პროდუქტის ფორმირება წინ უსწრებს მიტოქონდრიების დაზიანებით განპირობებულ კასკადს ქერქის ნეირონებში და კულმინაციას აღწევს აპოპტოზის დროს (Schmidley, 1990).

თავისუფალი რადიკალები ინტაქტურ ცხოველებშიც არის გამოვლენილი, თუმცა იმდენად დაბალი დონით, რომ გამორიცხულია მათი ტოქსიკური ზემოქმედება (Gutteridge, 1982), მათი გარკვეული რაოდენობით არსებობა აუცილებელია ფაგოციტოზის პროცესის განხორციელებისთვის (Bannister et al., 1982). იგი ყოველთვის არ წარმოადგენს უარყოფით ფაქტორს, რადგან განვითარების პროცესში აპოპტოზის მეშვეობით ხორციელდება ცნს-ის ფუნქციობისთვის საჭირო უჯრედების რაოდენობის რეგულირება. ქათმის,^თაგვის და ვირთაგვის ზურგის ტვინის ემბრიონული განვითარების პერიოდში აპოპტოზის ტალღის დროს იღუპება მოტონეირონების გარკვეული რაოდენობა (Yamamoto, Henders, 1999; Heaton et al., 1999).

ორგანიზმის და ცნს-ის ინტოქსიკაციის დროს ნერვულ ქსოვილში მიმდინარე პროცესებში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს აზოტის ოქსიდი (NO). იგი გახსნილია, როგორც ციტოზოლში, ასევე უჯრედგარე მატრიქსში და წარმოადგენს მაღალაქტიურ და არასტაბილურ თავისუფალ რადიკალს. NO-ს წარმოქმნის რეაქცია კატალიზდება ფერმენტებით – ნეირონული, ენდოთელური და ინდუქციებადი NO სინთეტაზებით (nNOS, eNOS, iNOS). თავის ტვინში nNOS წარმოდგენილია მაღალი აქტიურობით ძირითადად ნეირონებში, თუმცა გვხვდება თავის ტვინის ქერქის სისხლძარღვებში და

გლიურ უჯრედებშიც (Esplugues, British; 2002). ნეირონებში მემბრანებთან დაკავშირებული nNOS და eNOS აქტიურობის შედეგად წარმოიქმნება NO-ს ჭარბი რაოდენობა (სოლომონია, 2000).

ცნს-ში NO-ს სინთეზის რეგულირება ძირითადად ხორციელდება Ca^{2+}-ის გადინებით NMDAK(N-მეთილ-D-ასპარტატი) რეცეპტორულ არხებში პოსტსინაფსური რეცეპტორების სტიმულირების შედეგად, რაც თავის მხრივ გამოწვეულია ამაგზნებელი ტრანსმიტერის გლუტამატის ზემოქმედებით (Batchelor, Garthwait, 1993; Garthwait et al., 1994). ნეირონების დაზიანება, რომელსაც თან ახლავს გლუტამატის ჭარბი რაოდენობით ექსპრესია და NMDA რეცეპტორების შემდგომი აქტივაცია, იწვევს Ca^{2+}-ის მასიურ გადინებას პოსტსინაფსურ ნეირონში, რაც ხელს უწყობს nNOS-ს აქტიურობის დაწყებას, ეს კი თავის მხრივ იწვევს NO-ს დიდი რაოდენობით წარმოქმნას. nNOS ლოკალიზებულია პრე- ან პოსტინაფსურ უბნებში, იგი განსაკუთრებით ჩართულია ნეიროტოქსიკურობის სიგნალებში და ქცევის რეგულაციაში, როგორიცაა დასწავლა (Esplugues, 2002).

ცნობილია, რომ NO-ს ჭარბი რაოდენობა, თავის ტვინში იშემიური ინსულტის შედეგად დაზიანებულ უბანში, იწვევს ნეირონების დაღუპვას ნეკროზის ან აპოპტოზის გზით. აპოპტოზის გზით უჯრედები იღუპებიან ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად სიკვდილის ხელშემწყობი ფერმენტების, კასპაზების, გააქტივების შედეგად, რაც იწვევს ცილების დაშლას (Bredensen, 1996; Cohen, 1997).

იშემიის დროს NO-ს ჭარბი რაოდენობის ზემოქმედების შედეგად წარმოქმნილი ძლიერი ნეიროტოქსიკური რადიკალი პეროქსინიტრიტი ($ONOO^-$) და სუპეროქსიდი (O_2^-) განაპირობებენ ნეირონების ნეკროზს. ვინაიდან NO-ს მიმართ განსაკუთრებულ მგრძნობელობას იჩენენ კრებსის ციკლის FeS ფერმენტები და ელექტრონების გადამტანი ჯაჭვები, ამ დროს მიტოქონდრული სუნთქვის და ჟანგვითი ფოსფოროლორების დათრგუნვა თავის მხრივ განაპირობებს აპოპტოზის დაწყებას (ბერიძე და სხვ., 2001;ж Беридзе и др., 2001; 2005). თუმცა, ზოგიერთ შემთხვევაში NO-ს გარკვეული რაოდენობა დამცავ ზემოქმედებას ახდენს ქსოვილებზე (Faurrstein et al., 1994; Clarck et al., 1995; Hallenbeck, 1996). NO-ს დამცველობითი ფუნქცია გამოიხატება მისი ექსპრესიის შედეგად განვითარებულ ვაზოდილატაცისა, ქსოვილოვანი

პერფუზიის გაუმჯობესებასა და თრომბოციტების აგრეგაციის და ადჰეზიის დათრგუნვაში, რაც ამცირებს პათოლოგიური ცვლილებების განვითარების შესაძლებლობას. ამასთანავე, NO-ს ზემოქმედება დამოკიდებულია მის კონცენტრაციაზე, სისხლძარღვის კედელში მისი დიფუზიის ხარისხზე, სუპეროქსიდურ რადიკალებთან მისი ურთიერთქმედების ხარისხზე (Беридзе и др., 2001). მიტოქონდრიებში NOUახდენს ჟანგბადის მოხმარების მოდულირებას, რის გამოც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს უჯრედში ენერგიის წარმოქმნის რეგულირებაში და განსაზღვრავს მიტოქონდრიის მონაწილეობას უჯრედის დაღუპვის პროცესში (Beltran et al., 2000).

უკანასკნელ ხანს, ალკოჰოლით გამოწვეული თავის ტვინის ფუნქციის დარღვევაში, განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს NO-ს, როგორც სასიგნალო მოლეკულების როლის განსაზღვრა. იგი დაკავშირებულია სხვა ტრანსმიტერების გამოთავისუფლებასთან და იმ ზემოქმედებასთან, რომელსაც ისინი იწვევენ (Chung et al., 2004; Esplugues, 2002).

ვინაიდან სხვა ნეიროტრანსმიტერებისგან განსხვავებით NO-ს სინთეზი ხორციელდება საჭიროების მიხედვით, იგი არ გროვდება ვეზიკულებში, ნერვული ტერმინალებიდან გამოიყოფა დიფუზიის გზით და ზემოქმედებას ახდენს ტერმინალის მეზობლად არსებულ სტრუქტურებზე, როგორც ნეიროტრანსმიტერი, ამასთან, მოქმედებს, როგორც ნეირომოდულატორი (Southam, Garthwait, 1991). სხვა ნეიროტრანსმიტერებისგან განსხვავებით, NO ადვილად გადის მემბრანაში, რის გამოც მისი დიფუნდირება უფრო სწრაფად ხდება, ვიდრე დაკავშირება მეზობელი უჯრედების რეცეპტორებთან, ამიტომ იგი შეიძლება მიჩნეულ იქნას რეტროგრადულ მესენჯერად. იგი ჩართულია სინაფსურ პლასტიკურობაში, ამიტომ კომპლექსურ ზემოქმედებას ახდენს ტვინის განვითარებაზე, მეხსიერებისა და ქცევის ფორმირებაზე სინაფსური პლასტიკურობის რეგულირების მეშვეობით (Explugues,P2002).

ცნს-ში NO, როგორც უჯრედშიდა მესენჯერი, განაპირობებს ციკლური GMP-ს დონის ზრდას, ეს უკანასკნელი კი ააქტიურებს გლუტამატურ რეცეპტორებს (Morris et al., 1994). ეთანოლის ხანგრძლივი ზემოქმედებით გამოწვეული გლუტამატური NMDA რეცეპტორების ფუნქციის გაძლიერება განაპირობებს NO-ს ფორმირების

სტიმულირებას, ეს უკანასკნელი კი თავისი ექსციტოტოქსიკურობის გამო, მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ალკოჰოლური ინტოქსიკაციით გამოწვეული თავის ტვინის დაზიანებისას, რაც შესაძლოა გამოხატულ იქნას ალკოჰოლის მიმართ დამოკიდებულების ზრდაში (Chandler et al.,1997; Crews et al., 1998). NO-ს მაღალი კონცენტრაცია განაპირობებს ნეირონების, გლიის და მიელინის ციტოტოქსიკურობას (Zima et al., 2001).

ამგვარად, სხვადასხვა დამაზიანებელი ფაქტორების და მათ შორის ეთანოლის ზემოქმედება უჯრედებში განაპირობებს მნიშვნელოვან დესტრუქციულ ცვლილებებს, რაც საბოლოოდ იწვევს უჯრედის ცხოველმყოფელობისთვის აუცილებელი პროცესების შეფერხებას და შესაბამისად მათი ფუნქციური აქტიურობის დაქვეითებას.

2.7. ეთანოლის ზეგავლენა დასწავლასა და მეხსიერებაზე და გამოვლენილი ცვლილებების კორექცია ანტიოქსიდანტების მეშვეობით

მდედრი ვირთაგვების მიერ ალკოჰოლის ზომიერად ან ჭარბად მოიხმარების შედეგად მათ შთამომავლობაში ვლინდება აზროვნების შეზღუდვა, ცნობიერების და ქცევის დეფიციტი (Guerri et al.,2002). ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის შედეგად მიღებულ შთამომავლობაში ნეირონების და მათი დენდრიტების დისტროფიული ცვლილებები პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე ვლინდება მოძრაობითი აქტიურობის და დასწავლისა და მეხსიერების პროცესების დარღვევაში. ეს ცვლილებები გრძელდება ცხოველების სქესობრივ მომწიფებამდე, რაც მიუთითებს, რომ ეთანოლური ინტოქსიკაცია ემბრიონულ პერიოდში იმდენად ძლიერ ზემოქმედებას ახდენს, რომ იგი კარგად გამოხატული რჩება პოსტნატალური განვითარების საკმაოდ დიდი ხნის განმავლობაში. მიუხედავად იმისა, რომ P30 დღიდან ნაშიერების თავის ტვინში შეიმჩნევა რეპარაციული პროცესები, რომლებიც გრძელდება P60 დღემდე და ამავე პერიოდისთვის აღინიშნება დასწავლის და მეხსიერების გაუმჯობესება, ნეირონების ულტრასტრუქტურა არ აღდგება, რაც მიუთითებს სინაფსური მექანიზმების დაზიანებაზე (Попова 1983; 1988; 1989. Harper 1998).

მღრღნელების მიერ ეთანოლის მიღება სინაფტოგენეზის პერიოდში იწვევს ფართოდ გავრცელებულ აპოპტოზურ დეგენერაციას განვითარებად ტვინში, რაც ვლინდება FAS-ის ფორმირებაში და შესაბამისად, ქცევის დარღვევაში (Wozniak et al., 2004).

ალკოჰოლის პრენატალური ზემოქმედების შედეგად თავის ტვინის განვითარების პროცესში აღინიშნება ცნს-ის ნეიროანატომიური ცვლილებები რუხი ნივთიერების რედუქციიდან დაწყებული, ცალკეული უჯრედების დაზიანებამდე. ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად თავის ტვინის ნეირობლასტების მიტოზური და მიგრაციის პროცესების შეფერხება აგრეთვე განაპირობებს ქერქული და ქერქქვეშა სტრუქტურების ჩამოყალიბებაში მონაწილე ნერვული უჯრედების რაოდენობის შემცირებას. ზემოთჩამოთვლილი დესტრუქციული ცვლილებები საბოლოო ჯამში იწვევს რიგ ცვლილებებს, როგორიცაა დასწავლის უნარის დაქვეითება, ემოციური ჰიპერაქტიურობა, სტრესული სიტუაციიდან თავის დაღწევის უნარის დარღვევა, ახლისადმი ნეგატიური დამოკიდებულება, კვლევითი ქცევის გაუარესება, მოტორული ფუნქციის დაქვეითება და ხანგრძლივი პოტენციაციის პროცესის შეფერხება (Ostrovskaia et al.,1988;1990; Wilcoxon et al., 2005; Christie et al., 2005; Popovic et al., 2004; Ba et al., 1996; Guezzi et al., 2002; Jamerson et al, 2004; Wozniak et al.,2004; Chen et al., 2003.).

Hჰიპოკამპური ფორმაციისა და მისი ძირითადი კავშირების დაზიანება იწვევს ლაბირინთული ამოცანების დასწავლის შეფერხებას, ვინაიდან ჰიპოკამპისა და მისი მთავარი კავშირები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ დასწავლისა და მეხსიერების პროცესების რეალიზაციაში (Виноградова, 1975; Ониани, 1980; ნანეიშვილი, 2003),.

ჩვენს მიერ ადრე მიღებული მონაცემების თანახმად, ეთანოლის პრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაციის შედეგად პროლიფერაციის რეჟიმის ცვლილება იწვევს ჰიპოკამპის CA_I ველის პირამიდული ნეირონების და დაკბილული ფასციის მარცვლოვანი უჯრედების შემცირებას, რაც შესაბამისად გულისხმობს შიდაჰიპოკამპური და ჰიპოკამპის ლიმბური სისტემის სხვა სტრუქტურებთან არსებული კავშირების დარღვევას (Сванидзе и др.,2001).

როგორც ადრე აღვნიშნეთ, ახალგაზრდები უფრო მგრძნობიარენი არიან ალკოჰოლით გამოწვეული დარღვევების მიმართ, ვიდრე მოზრდილები. (Land, Spear, 2004). ვინაიდან დასწავლის ამოცანების შესრულებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს

ჰიპოკამპი, რომელიც ეთანოლის ზემოქმედების გამო მნიშვნელოვნად ზიანდება, ამიტომ, აღნიშნული დარღვევები უფრო მეტადაა გამოხატული ახალგაზრდებში, როდესაც ჰიპოკამპი ჯერ კიდევ არ არის საბოლოოდ ფორმირებული (White, Swartzwelder, 2005).

ალკოჰოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული დარღვევების კორექციის მიზნით, მრავალრიცხოვან ნაშრომებში გამოყენებულია რიგი ფარმაკოლოგიური ნივთიერებებისა. ასე მაგალითად, პოსტნატალურ პერიოდში სინთეზური დიპეპტიდის LPDA (L-pyroglutamyl-D-alaninamide) და ნატრიუმის ჰიდროქსიბუტირატის ხანმოკლე ზემოქმედება აუმჯობესებს პრენატალური ალკოჰოლიზაციის შედეგად გაუარესებულ დასწავლის უნარს პასიური განრიდების ტესტში, კვლევით ქცევას ღია ველში და ავლენს ემოციური ჰიპერაქტიურობის ნორმალიზებას (Ostrovskaia et al., 1988; 1990). მაკეობის დროს ჰორმონ თიროქსინის შეყვანა აუმჯობესებს პრენატალური ალკოჰოლური ინტოქსიკაციით გამოწვეული სივრცითი დასწავლის დეფიციტს მორისის ავზის პირობებში (Wilcoxon et al., 2005).ქოლინის დამატება ადრეულ პერიოდში აუმჯობესებს ალკოჰოლის პრენატალური ინტოქსიკაციით გამოწვეულ დარღვევებს ქცევაში, როგორიცაა, ჰიპერაქტიურობა და დასწავლის დეფიციტი (Thomas et al., 2004).

აღსანიშნავია მონაცემები, რომელთა მიხედვით ალკოჰოლის პრენატალური ზემოქმედების შედეგად შთამომავლობაში ცნს-ის დაზიანებით გამოწვეული აზროვნების და ქცევის დეფიციტი შეიძლება გაუმჯობესდეს კომპლექსური მოტორული ვარჯიშის შედეგად (Chen et al., 2003), რაც შესაძლოა გამოწვეული იყოს აღნიშნულ პირობებში თავის ტვინის ქერქში GSH-Px აქტიურობის მომატებით და GR-ს აქტიურობის დაქვეითებით (Somani et al., 1996). “თავისუფალი ვარჯიშის” (გალიაში მბრუნავი ბორბალი) შედეგად უმჯობესდება აგრეთვე პრენატალური ალკოჰოლური ინტოქსიკაციით გამოწვეული სივრცითი ინფორმაციის ათვისების (მორისის ავზი) დაქვეითებული უნარი და ადგილი აქვს ხანგრძლივი პოტენციაციის მაჩვენებლების ნორმალიზებას (Popovic et al., 2004).

მრავალრიცხოვანი მონაცემები მიუთითებენ, რომ განვითარებად თავის ტვინში ალკოჰოლის ზემოქმედება განაპირობებს მორფო-ფუნქციური დარღვევების სხვადასხვა

გამოვლინებას. ორგანიზმზე სხვადასხვა ტოქსინების ზემოქმედების დროს მიმდინარე ბიოქიმიური მექანიზმები წარმოდგენილია ორი, ურთიერთდაკავშირებული და ურთიერთგანმაპირობებელი პროცესით, რაც გულისხმობს ერთის მხრივ შხამების მოქმედების მოლეკულურ მექანიზმებს, და მეორეს მხრივ, ამ მექანიზმებთან დაკავშირებულ კომპენსაციის პროცესებს.

ტოქსიკური ნივთიერებების ორგანიზმზე ზემოქმედების დროს სუპეროქსიდური ანიონების რაოდენობის მკვეთრი მატების შემთხვევაში, მათ საწინააღმდეგოდ ირთვება ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური დაცვის სისტემის მოლეკულური მექანიზმები, რომლებიც ხელს უწყობენ ჰომეოსტაზის შენარჩუნებას. უჯრედებში არსებული საკუთარი ანტიოქსიდანტური ფერმენტული სისტემა გულისხმობს სუპეროქსიდდისმუტაზას (სოდ), კატალაზას და გლუტათიონპეროქსიდაზას (GSH-Px) აქტიურ ფუნქციობას (Горбунов, Ерин, 1991).

სოდ მიეკუთვნება მეტად აქტიური ფერმენტების ჯგუფს და გვხვდება ყველა ჟანგბადის მომხმარებელ ორგანიზმში, ამასთან, სხვადასხვა ორგანოებში განსხვავებული აქტიურობით ხასიათდება. იგი წარმოადგენს პირველ ბარიერს, რომელიც იცავს ორგანიზმს ჟანგბადის აქტიური ფორმების ტოქსიკური ზემოქმედებისაგან და განსაკუთრებულ როლს ასრულებს ანტირადიკალური დაცვის საქმეში (Hassan, Fridovich, 1980). იგი გარდაქმნის სუპეროქსიდურ ანიონს წყალბადის ზეჟანგად (H_2O_2), რითაც ამცირებს მის ტოქსიკურ თვისებებს, თუმცა მთლიანად ვერ სპობს აღნიშნულ ზემოქმედებას, რადგან H_2O_2-საც ახასიათებს ტოქსიკურობა, თუმცა 10-ჯერ ნაკლები, ვიდრე სუპეროქსიდურ ანიონს (La Vail, Cowan, 1971). წყალბადის ზეჟანგის ჭარბი რაოდენობის შემთხვევაში ერთვება კატალაზა, რომელიც შლის მას წყლად და ჟანგბადად. ანტიოქსიდანტურ პროცესში ერთვება აგრეთვე GSH-Px, რომელიც წყალბადის ზეჟანგის გარდა სუბსტრატად იყენებს ცხიმოვანი მჟავების ზეჟანგებს. აპოპტოზის დროს ქერქის ნეირონების დაცვაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს გლუტათიონის მარაგის ზრდა (Ramachandran et al., 2003).

ფერმენტული სისტემის აქტიურობის ფორმირება სხვადასხვა ცხოველებში მათი განვითარების სხვადასხვა პერიოდში მიმდინარეობს და განვითარების სხვადასხვა ეტაპზე განსხვავებულად არის გამოხატული (Karki et al., 1962; Surai, 1999).

ჰომეოსტაზის შენარჩუნებისთვის საჭირო, ჟანგბადის აქტიური ფორმების საწინააღმდეგოდ არსებული მოლეკულური მექანიზმები, ფერმენტული სისტემების გარდა გულისხმობენ აგრეთვე არაფერმენტულ ბიოქიმიურ სისტემებს, რომლებსაც მიეკუთვნებიან ენდოგენური ანტიოქსიდანტები – A და E ჯგუფის ვიტამინები (α-კაროტინოიდები და β-ტოკოფეროლი). E და C ვიტამინების შესწავლის შედეგად გაირკვა,^რომ თუმცა ასკორბატი (ვიტამინი C) თავისთავად სუსტი ანტიოქსიდანტია,^იგი ქმნის საკმაოდ მძლავრ სინერგულ წყვილს ვიტამინ E-ს ძირითად კომპონენტთან, α-ტოკოფეროლთან (Parker et al., 1979). ალკოჰოლითL გამოწვეული ინტოქსიკაციის ნორმალიზების. განსაკუთრებით Lხშირად და ეფექტურად იყენებენ ვიტამინ E-ს (Горбунов, Ерин, 1991; Heaton et al., 2000), რომელიც წარმოადგენს ხსნად ლიპიდს, ადვილად გადის ჰებ-ში, აღწევს ნეირონების მემბრანებამდე და ანეიტრალებს თავისუფალ რადიკალებს (Shmidley, 1990). აღსანიშნავია,^რომ ახალშობილი ვირთაგვების ნათხემში 12% ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული პურკინიეს უჯრედების დაღუპვის პროცესი შეჩერებულ იქნა საკვებში ვიტამინ E-ს დამატების შემდეგ (Heaton et al., 2000). იგი, როგორც ანტიოქსიდანტი, გამოყენებული იყო თავისუფალი რადიკალების მიერ გამოწვეული ლიპიდური პეროქსიდაციის წინააღმდეგ, რადიაციის ზემოქმედების ქვეშ მყოფი მდედრი ვირთაგვების ნაშიერების განვითარების დაცვის მიზნით (Tanaka, 1997).

აღსანიშნავია ვიტამინების ზემოქმედება ფერმენტების აქტიურობაზე. ვიტამინი E აძლიერებს GSH-Px-ს აქტიურობას, რაც განაპირობებს უჯრედების დაცვას სხვადასხვა ქიმიური ზემოქმედებისგან (Ланкин и др., 1983), ხოლო ანტიოქსიდანტური ვიტამინების დეფიციტი იწვევს სოდ-ის და გლუტათიონრედუქტაზას (GR) აქტიურობის შემცირებას, რაც შეიძლება შეიცვალოს პათოლოგიური პროცესის გაღრმავების მიხედვით, ეს უკანასკნელი კი გამოიწვევს აღნიშნული ფერმენტული სისტემის მოქმედების დათრგუნვას (Бобырев, Воскресенский, 1982).

ინტერესს იწვევს მონაცემები სხვადასხვა პრეპარატების გამოყენების შესახებ, ალკოჰოლის ზემოქმედებით გამოწვეული თავის ტვინის დაზიანების შედეგად წარმოქმნილი პათოლოგიების ნორმალიზების მიზნით. ფუროსემიდის გამოყენებამ, ეპიზოდური ალკოჰოლური ინტოქსიკაციით გამოწვეული ნეიროდეგენერაციის

შედეგად ფორმირებული ცერებროკორტიკული სიმსივნის შემთხვევაში გამოავლინა, რომ იგი ამცირებს თავის ტვინის სტრუქტურების (ენტორინალური ქერქი, დაკბილული ფასცია და ყნოსვის ბოლქვები) დაზიანებას 75-85%-ით, რის გამო ფუროსემიდი და მასთან დაკავშირებული პრეპარატები შეიძლება გამოყენებულ იქნან ალკოჰოლური ინტოქსიკაციის წინააღმდეგ (Collinz et al., 1998).

ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული თავის ტვინის დაზიანების დროს circumin-ის, როგორც ნეიროპროტექტორის გამოყენება აძლიერებს ტვინის ლიპიდების და გლუტათიონის წარმოქმნას (Rajarkrishnan et al., 1999).

თავის ტვინის სხვადასხვა ფუნქციური დარღვევის შემთხვევაში წარმატებით გამოიყენება ადამიანის პლაცენტის ამნიოქორიული გარსიდან მიღებული პრეპარატი პლაფერონი ლბ. მისი ნეიროპროტექტული თვისება კარგად გამოვლინდა, როდესაც ფოტოქიმიური თრომბოზით გამოწვეული თავის ტვინის ქერქის ინფარქტის უბანი პლაფერონის გამოყენების შედეგად შემცირდა 85%-ით (Mitagvaria et al., 2001). აღნიშნული პრეპარატი ზეგავლენას ახდენს ტვინის ქსოვილის იშემიური კერის ჩამოყალიბებაზე მოქმედ პრაქტიკულად ყველა პათოგონურ მექანიზმზე. კერძოდ, როგორც ეფექტური ვაზოდილატატორი, იგი იცავს ტვინის ქსოვილს იშემიური ანოქსიისგან, მაქსიმალურად ამცირებს ლიპიდების ზეჟანგვის პროცესს, რითაც ხელს უშლის ტვინის უჯრედების მიერ ჟანგბადის არადანიშნულებისამებრ მოხმარებას და წყვეტს თრომბოზის პროცესს, რაც ასე მნიშვნელოვანია იშემიის ჩამოყალიბების დროს (Кацарава 1993).

კლინიკური და ექსპერიმენტული კვლევების შედეგად იშემიური ინსულტის პირობებში გამოვლენილ იქნა პლაფერონ ლბ-ს მნიშვნელოვანი დადებითი პრევენციული თავისებურებები, რაც გამოიხატება მის ანტიჰიპოქსიურ და ცერებროპროტექტორულ მოქმედებაში. ცერებრული ინსულტის შემთხვევაში, როდესაც ადგილი აქვს ჰიპოქსიას, მისი მოქმედება მიმართულია ენერგიის წარმოქმნის და ოქსიდაციური მეტაბოლიზმის რეგულირებისკენ. პლაფერონ ლბ-ს ზემოქმედება ცვლის NO-ს მეტაბოლიზმს, ხელს უწყობს თავის ტვინის ქერქში ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის აღდგენას, ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტიურობის ნორმალიზებას (Shakarishvili et al., 2003). გამოვლენილ იქნა აგრეთვე, რომ პლაფერონ

ლბ ჰიპოქსიის პირობებში ასტიმულირებს უჯრედებში ენერგიის გენერაციას და ბლოკავს აპოპტოზს (Bakhutashvili et al., 2001). აღსანიშნავია აგრეთვე პლაფერონ ლბ-ს გამოყენების შემთხვევები ნეიროქირურგიული პაციენტებისთვის, როდესაც იგი ავლენს ძლიერ ნეიროტროფულ ეფექტს, რაც გამოხატულებას პოულობს მის ანტიტოქსიკურ და ანტიანთებად ზემოქმედებაში (Сировский и др. 1995). პლაფერონ ლბ-ს ზემოქმედების შედეგად 20-50%-ით ითრგუნება სხვადასხვა ტიპის სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობა, ხოლო ზოგიერთი ქიმიოთერაპიული პრეპარატის და პლაფერონ ლბ-ს კომბინირებული გამოყენება იწვევს ამ აქტიურობის 100%-ით დაათრგუნვას, რაც მიუთითებს მის დამთრგუნველ ზემოქმედებაზე პროლიფერაციის მაკონტროლებელი გენის ექსპრესიის მიმართ (Гагуа и др., 1999). პლაფერონ ლბ-ს პრევენციული თვისება გამოვლინდა ტრავმული შოკით პროვოცირებული ლიპიდური პეროქსიდაციის აღკვეთის შემთხვევაშიც, როდესაც გამოვლენილი ცვლილებების ოპტიმიზაცია განხორციელდა ქსანტინოქსიდაზას აქტიიურობის ნორმალიზების შედეგად (Nakashidze et al., 2003).

უკანასკნელ ხანს ჩატარებული ექსპერიმენტული კვლევის შედეგად გამოვლენილ იქნა აგრეთვე ნივთიერებები, რომლებიც გარკვეულ პრევენციულ თავისებურებებს ავლენენ ეთანოლით ინტოქსიკაციის მიმართ. ანექსინი II და Y იცავენ ნერვულ და გლიურ უჯრედებს ეთანოლით პროვოცირებული პეროქსიდული და ანოქსიური ინსულტით გამოწვეული დაზიანებისგან (Han et al., 2004). GABA(B) რეცეპტორის აგონისტი ბაკლოფენი ანტიალკოჰოლური თვისებების გამო ეფექტურ საშუალებას წარმოადგენს ალკოჰოლზე დამოკიდებული პაციენტებისთვის (Colombo et al.,2004). ანტიტერატოგენური, სინთეზური, (სოდ+კატალაზა)-ს მსგავსი ანტიოქსიდანტის EUK-134-ის ეთანოლთან ერთად გამოყენების შემთხვევაში თაგვის ემბრიონების ექტოდერმის აპიკალურ უბანში ნაკლები რაოდენობის უჯრედები იღუპებიან, ვიდრე მხოლოდ ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად (Chen et al., 2004).

ინტერესს იწვევს მონაცემები, რომელთა მიხედვით ალკოჰოლის პრენატალური ზემოქმედების შედეგად შთამომავლობაში ცნს-ის დაზიანებით გამოწვეული აზროვნების და ქცევის დეფიციტი, ფარმაკოლოგიური მანიპულაციების გარდა, შეიძლება მოიხსნას კომპლექსური მოტორული ვარჯიშის შედეგად (Chen et al., 2003),

რომლის დროსაც მატულობს GGSH-Px აქტიურობა და კლებულობს GR-ს აქტიურობა თავის ტვინის ქერქში (Somani et al., 1996).

უკანასკნელ ხანს განსაკუთრებული ყურადღება ექცევა ფარმაკოლოგიური პრეპარატების მეშვეობით არა მარტო ალკოჰოლით გამოწვეული დაზიანების, არამედ სხვა პათოლოგიების შედეგად წარმოქმნილი ცვლილებების აღკვეთის მიზნით ახალი ნეიროპროტექტული პრეპარატების გამოვლენას. ინტერესს იწვევს in vivo და in vitro კვლევების შედეგად მიღებული მონაცემები ახალი ენდოგენური ფაქტორის, პერიაქსონური შვანის უჯრედებიდან წარმოქმნილი ერითროპოეტინის (EPO), შესახებ, რომელიც ახდენს აქსონური დეგენერაციის პრევენციას და ამიტომ ფართოდ შეიძლება იქნას გამოყენებული ადამიანებში ნევროლოგიური დაავადებების შედეგად განვითარებული აქსონოპათიის თერაპიული მკურნალობისას (Keswani et al., 2004). ალცჰაიმერის დაავადების დროს A beta პეპტიდის ნეიროტოქსიკურობის წინააღმდეგ T-81 7MA-ს ნეიროპროტექტული ზემოქმედების დროს ხდება ოქსიდაციური სტრესით გამოწვეული დაზიანების შემსუბუქება, იგივე პრეპარატი ჰიპოკამპის კულტურაში აძლიერებს ნეირიტების ზრდას (Hirata et al., 2005).

უკანასკნელ ხანს ჩატარებული მრავალრიცხოვანი კვლევების შედეგად გამოვლენილ იქნა რიგი პრევენციული საშუალებებისა, რომელთა გამოყენება ხელს შეუწყობს მრავალი ნევროლოგიური დაავადებების, და ასევე ალკოჰოლური ინტოქსიკაციით გამოწვეული პათოლოგიური პროცესების მიმდინარეობის გაუმჯობესებას.

ამგვარად, ალკოჰოლის ზემოქმედებისას ცნს-ში განვითარებული მორფო-ფუნქციური დარღვევების შესახებ არსებული მონაცემების ანალიზის შედეგად ირკვევა, რომ მიუხედავად მავალრიცხოვანი და მრავალმხრივი გამოკვლევებისა, აღნიშნული პრობლემა ჯერ კიდევ მოითხოვს იმ საკითხების გარკვევას, რომლებიც საფუძვლად უდევს ალკოჰოლიზმის ფორმირებას. განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს ალკოჰოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებების შესწავლა ორგანიზმის განვითარების პროცესში, როდესაც ხდება თავის ტვინის სტრუქტურების ფორმირება. ამ მხრივ დიდ მნიშვნელობას იძენს ახალი პრევენციული საშუალებების ეფექტურობის

გამოვლენა ცნს-ის დასაცავად ამ მეტად მნიშვნელოვანი დამაზიანებელი ფაქტორის ზემოქმედებისგან.

II მასალა და მეთოდები

1. ზურგის ტვინის უჯრედების დიფერენცირების თავისებურებების განსაზღვრა ნორმაში, ეთანოლის ზემოქმედების და ანტიოქსიდანტებით კორექციის შემდეგ in vitro

1.1. ზურგის ტვინის კულტივირების მეთოდები.

ნერვული ქსოვილის მოდელურ ექსპერიმენტებში, კვლევის ობიექტად ვიყენებდით ქათმის 14 დღიანი ემბრიონის ზურგის ტვინს. ლიტერატურის მონაცემების თანახმად, ნერვული უჯრედებისთვის დამახასიათებელი კავშირების შექმნის უნარი განსაკუთრებით კარგადაა გამოხატული ზურგის ტვინის კულტივირების დროს (Ciani, Contestabile, 1970; Grosse, Lindner, 1970, Kim 1972; Викторов 1976; Коновалов и др., 1978; Шаронова и др., 1978; Feldman et al., 1981). იგი ხელსაყრელ ობიექტს წარმოადგენს კულტივირებისთვის, რადგან 2-3 დღის შემდეგ უკვე გააჩნია აქსონების და მათი კოლატერალების აღდგენის და სპრაუტინგის შედეგად კარგად განვითარებული ნეირიტული ქსელის წარმოქმნის უნარი, რაც საშუალებას იძლევა უშუალოდ დავაკვირდეთ აღნიშნულ პროცესებს არა მარტო დიფერენცირების, არამედ სხვადასხვა ფაქტორების და მათ შორის ეთანოლის ზემოქმედების დროს.

ექსპლანტატების კულტივირება ხდებოდა 24სთ, 48სთ, 3, 5, 7, 11 დღის განმავლობაში კოლაგენით დაფარულ საფარ მინებზე, მაქსიმოვის კამერაში, დაკიდული წვეთის მეთოდით, 37^{0}C-ზე სტანდარტულ საკვებ არეში, რომელიც შეიცავდა შემდეგ კომპონენტებს: საკვები არე 199 (10%), იგლის საკვები არე (60%), ქათმის ემბრიონული ექსტრაქტი (20%), ცხენის სისხლის შრატი (20%), გლუკოზა (0.1%). კულტივირების ზოგიერთ სერიებში საკვებ არეში ცხენის სისხლის შრატის მაგივრად ვიყენებდით ადამიანის ჭიპლარის სისხლის შრატს (10%). ვიკვლევდით ზურგის ტვინის როგორც ცალკეულ, ისე რამდენიმე ექსპლანტატის, და ზურგის ტვინის და კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატების თანაკულტივირების შემთხვევებს.

აქსონების ზრდისა და გლიური უჯრედების მიგრაციის სტიმულირების მიზნით სტანდარტულ საკვებ არეში ვამატებდით: ქათმის ემბრიონის სომატური კუნთოვანი ქსოვილის ცენტრიფუგირების შედეგად მიღებულ სუპერნატანტს (საკვები არის საერთო მოცულობის 30%), ლეი-ენკეფალინის ანალოგს დალარგინს (10^{-8} მოლ/ლ), ადამიანის ჭიპლარის სისხლის შრატს (20% კონცენტრაციით) და პლაფერონ ლბ-ს (200 მკლ). საკონტროლო და საცდელ სერიებში, ყოველ დათესვაზე, მზადდებოდა 40-50 პრეპარატი. ვიკვლევდით აგრეთვე 14 დღიანი ქათმის ემბრიონის დისოცირებულ კულტურას. მიღებული სუსპენზიების კულტივირება ხდებოდა მაქსიმოვის კამერაში, კოლაგენით წინასწარ დაფარულ საფარ მინებზე, 37^0C, ზემოთაღნიშნულ სტანდარტულ საკვებ არეში 24სთ, 48სთ და 3 დღის განმავლობაში. უჯრედების კონცენტრაცია სუსპენზიაში შეადგენდა 60000 უჯრედს საკვები არის 1 მლ-ზე.

ორგანოტიპური და დისოცირებული კულტურის პრეპარატების მორფოლოგიური გამოკვლევისთვის, კარნუას ხსნარში ფიქსირებულ პრეპარატებს ვღებავდით კრეზილ-ვიოლეტით, ხოლო 10% ფორმალინში ფიქსირებული პრეპარატების გავერცხლვა ხდებოდა ბილშოვსკის მეთოდით. შეღებილ პრეპარატებს ვიკვლევდით სინათლის (Zeiss, “Amplival”) მიკროსკოპში, ფორმალინში ფიქსირებულ პრეპარატებს კი პოლარიზაციულ (МИН-8) მიკროსკოპებში. ცოცხალი პრეპარატების შესწავლა ხდებოდა სინათლის ფაზურ-კონტრასტული (Zeiss, “Amplival”) და ინტერფერენციული (ნომარსკის კონტრასტის მეთოდით) (MPI-5) მიკროსკოპების მეშვეობით.

1.2. კულტივირებული ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ულტრასტრუქტურული შესწავლის მეთოდი.

ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ულტრასტრუქტურას ვიკვლევდით ბრინკლეისა და ჩანგის (Brinkley, Chang, 1973) მეთოდით. საფარ მინაზე მოთავსებულ ექსპლანტატს ვაფიქსირებდით ფოსფატურ ბუფერზე მომზადებულ 3% გლუტარალდეჰიდში, შემდეგ, ფოსფატურ ბუფერში გავლებულ ექსპლანტატებს ვაფიქსირებდით OsO_4-ის 1% ხსნარში, აღმავალ სპირტში წყლის გამოცლის შემდეგ,

გადაგვქონდა სპირტის და აცეტონის ნარევში და ვაყალიბებდით 3 მმ სისქის რგოლებში წინასწარ მოთავსებულ არალდიტში. პოლიმერიზაცია მიმდინარეობდა 24 სთ-ის განმავლობაში 37°C-ზე და შემდეგ 60^0 -ზე. პოლიმერიზაციის შემდეგ, საფარი მინის მოსაცილებლად, მასალას ვათავსებდით რამდენიმე წამის განმავლობაში თხევად აზოტში. დამზადებული ბლოკებიდან "Reichert"-ის ფირმის ულტრამიკროტომის (OmV_2) საშუალებით ვამზადებდით ანათლებს და ვიკვლევდით JEM-100C ფირმის 8კგ ძაბვის მქონე ელექტრონულ მიკროსკოპში.

1.3. კულტივირებული ნეირონების ბიოელექტრული აქტიურობის გამოვლენა.

საფარ მინაზე მოთავსებულ ექსპლანტატებს ვათავსებდით მიკროსკოპის სასაგნე მაგიდაზე, თერმორეგულატორით აღჭურვილ სპეციალურ კამერაში, ამიტომ საკვები არის ტემპერატურა (37° C) მუდმივად იყო უზრუნველყოფილი. ნეირონების ელექტრული აქტიურობის გამოყვანა ხდებოდა მინის უჯრედგარე მიკროელექტროდებით (მიკრო-ელექტროდის წვერის დიამეტრი – 1.5კმ, წინაღობა – 10 მომ). კალიუმის ციტრატის 2მ ხსნარით შევსებული მიკროელექტროდის წვერი შეგვყავდა ექსპლანტატის სისქეში, ვიზუალური კონტროლის ქვეშ, პიეზოელექტრული მიკრომანიპულატორის მეშვეობით. პოტენციალები მიკროელექტროდიდან გადაეცემოდა მუდმივი დენის გამაძლიერებელზე (УПТ-2), ხდებოდა ფოტოგრაფირება ორსხივიანი ოსცილოგრაფის (C1-18) ეკრანიდან. ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ნეირონების სპონტანურ ფონურ ელექტრულ აქტიურობას ვიკვლევდით კულტივირების დაწყებიდან 1, 3, 6, 7 დღის შემდეგ.

1.4. ეთანოლით და ანტიოქსიდანტებით გამოწვეული ცვლილებების გამოვლენა ზურგის ტვინის კულტივირების დროს.

ეთანოლის ციტოტოქსიკური ეფექტის და შემდგომში მისი კორექციის გამოვლენის მიზნით მზადდებოდა კულტურების 3 სერია: I – ინტაქტური ზურგის

ტვინის ექსპლანტატები სტანდარტულ საკვებ არეში, II – საკვები არეში ეთანოლის (100 მ/მოლ) დამატებით, II - საკვებ არეში ეთანოლთან ერთად ანტიოქსიდანტების დამატებით (ერთ შემთხვევაში პლაფერონ ლბ (200 მკლ) და მეორე შემთხვევაში – დოლივინი (10^{-5}).

ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებების კორექციის მიზნით პლაფერონ ლბ-ს გამოყენება განპირობებული იყო მისი უნარით მოახდინოს ქსოვილებში NO-ს სინთეზის მოდულირება (Гонгадзе,2004; Мамамтавришвили, 2003; Мегреладзе, и др., 2003) და ჟანგვითი პროცესების ინტენსივობის რეგულირება (Rukhadze et al., 1998; Мамамтавришвили, 2003; Мегреладзе, и др., 2003). იგი ჰიპოქსიის პირობებში ასტიმულირებს უჯრედებში ენერგიის გენერაციას და ბლოკავს აპოპტოზს (Bakhutasvili et al., 2001).

დოლივინის შემადგენლობაში შემავალი ჰიპოქსენი წარმოადგენს რედოქს პოლიმერს, რომელსაც პოლიფენოლური სტრუქტურის გამო გააჩნია ძლიერი ელექტრონულ-აქცეპტორული თვისებები, რაც განაპირობებს მის ანტირადიკალურ და ნეიროპროტექტორულ თვისებებს (Чернов и др., 2001). ფარმაკოდინამიკურობის მიხედვით იგი უახლოვდება ციტოქრომ C-ს და უბიქინონს (კოფერმენტი Q), თუმცა მოლეკულის მცირე ზომის გამო (მოლ.მ. 568+216), მისი ეფექტურობა ათჯერ აღემატება აღნიშნული ნივთიერებისას (Попов, 1999). იგი პატენტირებულია რუსეთის ფედერაციაში (патент РФ 2.105.000). დოლივინის შემადგენლობაში ჰიპოქსენის გარდა შედის: ამინომჟავები, მაკრო- და მიკროელემენტები, პოლისაქარიდები, B, PP, H ჯგუფის ვიტამინები, აგრეთვე ვიტამინი E (a-ტოკოფეროლი), რომელიც იცავს უჯრედებს თავისუფალი რადიკალების ზემოქმედებისგან (Schmidly, 1990).

კულტურის თითოეულ სერიაში ვიკვლევდით ზურგის ტვინის 140-150 ექსპლანტატს (Мусеридзе и др., 2004; Мусеридзе, 2005).

1.5. აქსონების ზრდის ინდექსის (აზი) დადგენა.

აქსონების ინტენსივობის დადგენის მიზნით, ნორმასა და ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად, ლანდრეტის და აგრანოვის მიერ მოწოდებული მეთოდით

(Landreth, Agranoff, 1979) განისაზღვრებოდა აქსონების ზრდის ინდექსი, რისთვისაც ვითვლიდით აქსონების რაოდენობას და ვზომავდით მათ სიგრძეს ოკ.6,ობ.12.5 გადიდებაზე. მიღებული რიცხობრივი მონაცემების გადამრავლებით ვღებულობდით აზი-ის მნიშვნელობას.

რიცხობრივი მონაცემების დამუშავება ხდებოდა ფიშერ-სტიუდენტის t კრიტერიუმის მიხედვით.

2. ნერვული და გლიური უჯრედების მორფო-ფუნქციური თავისებურებების განსაზღვრა ალკოჰოლიზირებული მდედრი ვირთაგვების შთამომავლობაში და მათი კორექცია in vivo პირობებში.

2.1. ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის განსაღვრა თავის ტვინის ქერქში.

მდედრი ვირთაგვების ნაშიერების ლიმბურ (სარტყლისებრი ხვეული და ენტორინალური ქერქი) და მოტორულ ქერქში, ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის აღრიცხვა ხდებოდა პოსტნატალური განვითარების შემდეგ დღეებზე; 3, 7, 15, 21, და 30 (P3, P7, P15, P21 და P30) თავის ტვინის 10 მკ სისქის, კრეზილ-ვიოლეტით შეღებილ სერიულ ანათლებზე. თითოეულ ასაკზე კარნუას ხსნარში ფიქსირდებოდა 3 ცხოველის თავის ტვინი. ნეირონების რაოდენობის აღრიცხვა ხდებოდა საკონტროლო, ანუ ინტაქტურ და ექსპერიმენტულ ცხოველებში. ექსპერიმენტული ცხოველები 2 ჯგუფით იყო წარმოდგენილი: I – ვირთაგვები, რომელთა დედები მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში წყლის მაგივრად ღებულობდნენ 15% ეთანოლს და II – ვირთაგვები, რომელთა დედები მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში, ეთანოლთან ერთად ღებულობდნენ საკვებში არეულ დოლივინს (0.7მგ. დღეში ერთხელ, დილით, უზმოზე). სულ შესწავლილი იყო 45 თეთრი უჯიშო ვირთაგვა. თითოეული ცხოველის თავის ტვინის ყოველ მესამე ანათლის 10 მხედველობის ველში, ოკულარული ბადის მეშვეობით (0,0256მმ^2 ფართობზე), ოკ.10Xობ.40 გადიდებისას, ხდებოდა ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის აღრიცხვა ცხოველების საკონტროლო და ექსპერიმენტულ ჯგუფებში. მიღებული რიცხობრივი მონაცემების დამუშავება ხდებოდა ფიშერ-სტიუდენტის t კრიტერიუმის მიხედვით.

2.2 თავის ტვინის გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების და მოტორულ ქერქში გლიური უჯრედების მიტოზური ინდექსის დადგენა.

ეთანოლით ინტოქსიკაციის ზეგავლენას ვიკვლევდით 18 და 20-დღიანი (G18 და G20) ემბრიონების თავის ტვინის გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების და 7-დღიანი (P7) ვირთაგვების მოტორული ქერქის ასტროციტების პროლიფერაციულ აქტიურობაზე იმ ვირთაგვებში რომელთა დედები ზემოთაღწერილი მოდელის მიხედვით იმყოფებოდნენ ეთანოლის ზემოქმედების ქვეშ. ეთანოლით გამოწვეული ცვლილებების კორექციისთვის ვიყენებდით დოლივინს. თითოეულ ვადაზე შესწავლილი იყო 3 ცხოველი (სულ 18). ანათლებს ვამზადებდით ზემოთაღწერილი მეთოდით. მიტოზურ ფიგურებს ვითვლიდით თითოეული სტრუქტურის 6 მხედველობის ველში სინათლის მიკროსკოპში (Zeiss "Amplival") ოკ.10xობ.40 გადიდებისას. მიტოზური ინდექსის განსაზღვრა ხდებოდა პრომილებში. მიღებული რიცხობრივი მონაცემების დამუშავება ხდებოდა ფიშერ-სტიუდენტის t კრიტერიუმის მიხედვით.

2.3. მეტაბოლიზმის პროცესების განსაზღვრა ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) მეთოდით in vitro და in vivo.

ზრდასრული თეთრი ვირთაგვების თავის ტვინის ქერქში მეტაბოლიზმის პროცესების მიმდინარეობას შევისწავლიდით, ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) მეთოდით, ცხოველთა 3 ჯგუფში: 1. ინტაქტური ვირთაგვების 30 დღიანი ნაშიერები. 2. 30 დღიანი ნაშიერები, რომელთა დედები მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში იღებდნენ 15% ეთანოლს. 3. 30 დღიანი ნაშიერები, რომელთა დედები მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში ეთანოლთან ერთად ღებულობდნენ საკვებში არეულ ანტიოქსიდანტს დოლივინს, სულ გამოკვლეულია 9 ცხოველი. ეთანოლის ციტოტოქსიური ეფექტის გამოსავლენად და შემდგომში მისი კორექციისათვის შესწავლილი იყო 14 დღიანი ქათმის ემბრიონის ზურგის ტვინის 3 დღიანი კულტურის სამი სერია: I – ინტაქტური კულტურები სტანდარტული საკვებ არეში, II – საკვები

არეში ეთანოლის (100 მ/მოლ) დამატებით, II - საკვებ არეში ეთანოლთან ერთად ანტიოქსიდანტის პლაფერონ ლბ-ს (200 მკლ) დამატებით

In vitro და in vivo პირობებში ვიკვლევდით ეპრ რეზონანსის სპექტრებს: თავისუფალრადიკალური სიგნალის ინტენსივობა (I) და მისი ნახევარგანი (ΔH), FeS-ის, Mn^{2+}-ის, Fe^{2+}-ის, Mo^{5+} და NO-ს სიგნალების ინტენსივობა in vivo, აზოტის ოქსიდის NO-ს და HbNO-ს შემცველი კომპლექსების და სუპეროქსიდრადიკალების (O_2^-) სიგნალების ინტენსივობა in vitro. ქსოვილოვანი პრეპარატების და კულტივირებული ზურგის ტვინის ექსპლანტატების სუსპენზიის ეპრ სპექტრების რეგისტრაცია ხდებოდა რადიოსპექტრომეტრზე РЭ-1307 (Пулатова и др., 1999). (ეპრ სპექტროსკოპული ანალიზი ჩატარებულია საქართველოს სამედიცინო უნივერსიტეტის კლინიკური და ექსპერიმენტული მედიცინის ს/კ ცენტრში ბმდ, პროფ. თ.სანიკიძესთან თანამშრომლობით).

2.4. დასწავლის უნარსა და მეხსიერებაში გამოვლენილი ცვლილებების განსაზღვრა.

ცდები ტარდებოდა ზრდასრული, 60 დღიანი თეთრი ვირთაგვების შემდეგ ჯგუფებზე: I – ცხოველების საკონტროლო ჯგუფი; II – მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში ეთანოლის ზემოქმედების ქვეშ მყოფი მდედრი ვირთაგვების შთამომავლობა; III – ცხოველების ჯგუფი, რომელთა დედები მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში, ეთანოლთან ერთად, ღებულობდნენ დოლივინს. სულ შესწავლილია 30 ცხოველი.

24.ა. სივრცითი დასწავლის პროცესის შეფასება მრავალსვლიანი ესტაკადური ტიპის ლაბირინთის გამოყენებით.

ლაბირინთი შედგებოდა 25სმ-ის სიმაღლეზე დამაგრებული პლექსიგლასის 10 ცალი პლატფორმისგან (40X15სმ) (Митагвария, 1983). ცდები ტარდებოდა 5 დღის განმავლობაში, (დღეში 5 სინჯი). ექსპერიმენტის დროს ცხოველი თავსდებოდა სასტარტო ბაქანზე, იწყებდა სიარულს, შედიოდა ლაბირინთის სხვადასხვა მონაკვეთში და ცდისა და შეცდომების მეთოდით სწავლობდა ოპტიმალურ ტრაექტორიას ბუდე-ყუთისკენ. დასწავლის საწყის ეტაპზე (I დღეს) ექსპერიმენტატორი ეხმარებოდა

ცხოველებს ოპტიმალური ტრაექტორიის მოძებნაში, შემდეგ დღეებში დახმარება გამორიცხული იყო, ამიტომ, პარამეტრების რეგისტრაციას ვიწყებდით ცდის მეორე დღიდან. ლაბირინთული სესიის დროს აღირიცხებოდა ცხოველების მიერ დაშვებული შეცდომების რაოდენობა (გადახრა ოპტიმალური ტერიტორიიდან, ანუ ჩიხში შესვლა) და ლაბირინთის სრული გავლის დრო. აღრიცხული შეცდომების და დროის რიცხობრივი მაჩვენებლების ანალიზი საშუალებას გვაძლევს შევაფასოთ სივრცითი დასწავლის პროცესის დინამიკა და შედეგები. (ცდები ტარდებოდა თავის ტვინის მეტაბოლური უზრუნველყოფის ლაბორატორიაში).

2 4.ბ. მეხსიერების კვალის კონსოლიდაციის პროცესის შესწავლა პასიური განრიდების ტესტის გამოყენებით.

ზემოთაღნიშნულ ცხოველურ მოდელზე მეხსიერების კვალის კონსოლიდაციის შესაძლებლობა შეისწავლებოდა პასიური განრიდების ტესტის გამოყენებით (Bures et al.,1967). პასიური განრიდების საექსპერიმენტო გალია შედგებოდა ორკამერიანი მოწყობილობისგან, რომლის ერთი ნაწილი წარმოადგენდა კარგად განათებულ პლექსიგლასის ყუთს. მისი ერთ-ერთ კედელზე არსებული მცირე ზომის ხვრელიდან ცხოველს ეძლეოდა შესაძლებლობა გადასულიყო ბევრად უფრო მცირე ზომის ბნელ განყოფილებაში, რათა განეხორციელებინა ბუნებრივი თავდაცვითი რეაქცია – თავი დაეღწია განათებული გარემოდან.ბნელი განყოფილების იატაკი ელექტროფიცირებული იყო, სადაც ცხოველები თათებზე ღებულობდნენ მტკივნეულ გაღიზიანებას (20მა – 20წმ-ის განმავლობაში). თუ ცხოველი 24სთ-ის შემდეგ რეტესტირებისას, 10წთ-ის განმავლობაში, არ შედიოდა ბნელ განყოფილებაში, პასიური განრიდების რეაქცია “შენახულად” ითვლებოდა. აღირიცხებოდა ცხოველების რეტესტირებისას ბნელ კამერაში შესვლის ლატენტური დრო. (ცდები ტარდებოდა ძილ-ღვიძილის ნეირობიოლოგიის ლაბორატორიაში).

ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი ცვლილებების კორექციას ვახდენდით ანტიოქსიდანტის, დოლივინის ეთანოლთან ერთად ზემოქმედებისას. ორივე ცდის შედეგად მიღებულ რიცხობრივ მონაცემებს ვამუშავებდით ვარიაციული

სტატისტიკის მეთოდით ფიშერ-სტიუდენტის სანდოობის t კრიტერიუმის გამოყენებით.

III. საკუთარი მონაცემები

1. ნერვული და გლიური უჯრედების თავისებურებანი ნორმასა და ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად და გამოვლენილი ცვლილებების კორექცია in vitro პირობებში

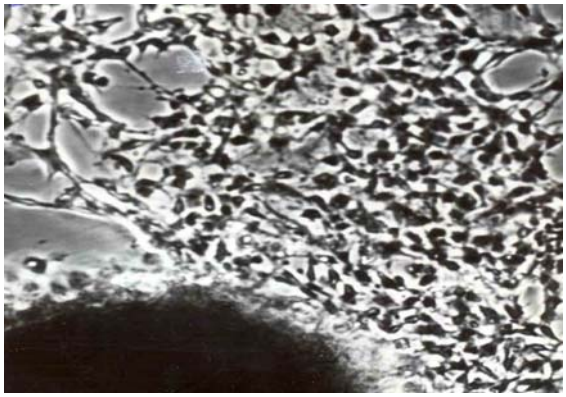
1. 1. ნერვული ქსოვილის დიფერენცირება ზურგის ტვინის კულტივირების დროს

ნერვული ქსოვილის ფუნქციური თავისებურებების შესწავლისთვის ერთ-ერთ ხელსაყრელ მოდელს წარმოადგენს ნერვული ქსოვილის ორგანოტიპური კულტურა, რომელიც საშუალებას იძლევა ექსპერიმენტის პირობებში გამოვლენილ იქნას ნერვული და გლიური უჯრედების მორფოლოგიური და ფუნქციური თავისებურებები ორგანიზმის მხრიდან ნეიროჰუმორული კონტროლის შეწყვეტის შემდეგ. ამავე დროს ორგანოტიპური კულტურის უპირატესობა მდგომარეობს იმაში, რომ კულტივირებულ ნერვულ ქსოვილში შენარჩუნებულია ის უჯრედშორისი კავშირები, რაც დამახასიათებელია მისთვის ორგანიზმის განვითარების პროცესში. ამ შემთხვევაში იგულისხმება მოწესრიგებული ნიროგლიური ურთიერთობა, სპეციფიკური სინაფსური კავშირები, რის შედეგად ხდება უჯრედებსა და უჯრედების ჯგუფებს შორის ფუნქციური კავშირების რეალიზება. (Feldman, et al., 1981; Mooney, Miller, 2003). ქსოვილის კულტივირების პირობებში ნერვული ქსოვილის თავისებურებების შესწავლისას, მკვლევარების მიერ არაერთხელ იყო აღნიშნული, რომ ნერვული უჯრედები ინარჩუნებენ იმ სპეციფიკური კავშირების შექმნის უნარს, რაც დამახასიათებელია მათთვის ორგანიზმის პირობებში. ეს პროცესი განსაკუთრებით კარგადაა გამოხატული მოტონეირონების აქსონების ორიენტირებული ზრდის შედეგად სომატური კუნთების ინერვაციის აღდგენის შემთხვევაში ზურგის ტვინისა და კუნთოვანი ქსოვილის თანაკულტივირებისას (Peterson, 1978; Вильнер и др., 1979; Totar,1980; Albert et al., 2005).

ამავე დროს ორგანოტიპური კულტურის უპირატესობა მდგომარეობს იმაში, რომ კულტივირებულ ნერვულ ქსოვილში შენარჩუნებულია ის უჯრედშორისი კავშირები,

რაც დამახასიათებელია მისთვის ორგანიზმის განვითარების პროცესში. (Feldman, et al., 1981; Mooney, Miller, 2003). ამ შემთხვევაში იგულისხმება მოწესრიგებული ნეიროგლიური ურთიერთობა, სპეციფიკური სინაფსური კავშირები, რის შედეგად ხდება უჯრედებსა და უჯრედების ჯგუფებს შორის ფუნქციური კავშირების რეალიზება.

უჯრედთა შორის კავშირების წარმოქმნა და აქსონების ზრდის Lთავისებურებანი ყველაზე მკაფიოდ გამოვლინდა ჩვენს მიერ ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ კულტურაში. ზურგის ტვინის ცალკეული ექსპლანტატების კულტივირების ადრეულ ეტაპებზე ზრდის ზონაში აღინიშნება ექსპლანტატიდან მიგრირებული გლიური უჯრედების მიერ შექმნილ სუბსტრატზე აქსონების ერთმხრივ მიმართული ინტენსიური ზრდა. ვენტრალური უბნიდან გამოსული ბოჭკოები ერთიანდებიან და ქმნიან მსხვილ მაგისტრალურ ბოჭკოებს, რომლებიც გზადაგზა იტოტებიან და ექსპლანტატიდან საკმაოდ დაშორებულ უბანში ქმნიან განშტოებებს, რომლებიც ბოლოვდებიან თავისუფლად ზრდის ზონაში, ან უკავშირდებიან ზურგის ტვინის მეორე ექსპლანტატს ან კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატს (სურ. 1,ა,ბ).



ა ბ

სურ.1. აქსონების ზრდა და გლიური უჯრედების მიგრაცია ზურგის ტვინის ექსპლანტატის ზრდის ზონაში.

ა – გლიური უჯრედების აქტიური მიგრაცია ექსპლანტატიდან (ექს) ზრდის ზონაში. ოკ10,ობ.20.

ბ – აქსონების დაბოლოებები ზურგის ტვინის 3 დღიანი ექსპლანტატების (ექს) ზრდის ზონაში (ზზ). ოკ10, ობ.40. ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი

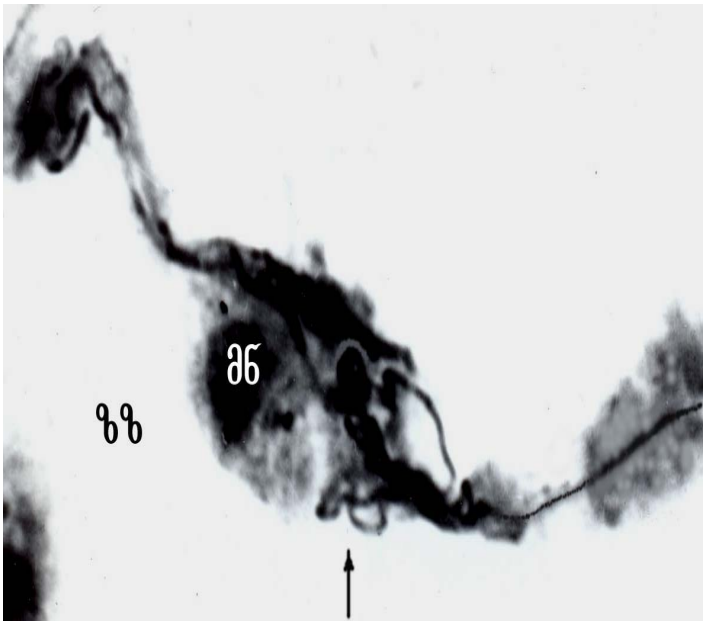
ლიტერატურის მონაცემები და ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები მოწმობენ, რომ ნერვული უჯრედების აქსონებისთვის დამახასიათებელია ფუნქციურად აქტიური კავშირების ჩამოყალიბება არა მარტო ერთი ქსოვილის, არამედ სხვადასხვა ქსოვილის ექსპლანტატებს შორისაც.

აქსონების ერთ მხრივ მიმართული, სწორხაზოვანი ზრდის გარდა, რომელიც დამახასიათებელია ზურგის ტვინის ვენტრალური რქის მოტონეირონებისთვის, გამოვლენილ იქნა აგრეთვე მრავალრიცხოვანი მორჩები, რომლებიც ექსპლანტატიდან გამოსვლის შემდეგ, ზრდის ზონაში ექსპლანტატიდან ერთსა და იმავე მანძილზე, წარმოქმნიან მარყუჟებს და ბრუნდებიან უკან ექსპლანტატისკენ და ისევ ჩაიზრდებიან მასში (სურ. 2).

სურ.2. ასოციაციური ნეირონების აქსონების (→) შემობრუნებული ზრდა ზურგის ტვინის 3 დღიანი ექსპლანტატის (ექს) ზრდის ზონაში. ოკ10, ობ.40. ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი.

იგივე სურათი გამოვლინდა ზურგის ტვინის და სომატური კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატების თანაკულტივირებისას. ვინაიდან მოტონეირონების აქსონების სამიზნეს წარმოადგენს კუნთოვანი ქსოვილი, ზურგის ტვინის

ექსპლანტატიდან გამოსული მოტონეირონების აქსონების მიმართული ზრდა კუნთოვანი ექსპლანტატისკენ გამართლებულია, მაგრამ ზურგის ტვინის და სომატური კუნთოვანი ექსპლანტატების თანაკულტივირების დროს განმეორდა აქსონების ზრდის იგივე ხასიათი, კერძოდ, ზურგის ტვინის ექსპლანტატიდან გამოსული აქსონები მიემართებიან საპირისპირო მხარეს მოთავსებულ სომატური კუნთის ექსპლანტატისკენ, მაგრამ, გარკვეულ მანძილზე ბრუნდებიან უკან, ისევ ზურგის ტვინის ექსპლანტატისკენ და ჩაიზრდებიან მის სისქეში.



ა ბ

სურ.3. ზურგის ტვინის ასოციაციური ნეირონების აქსონების ზრდის თავისებურებანი

ა – აქსონების ზრდა ზურგის ტვინის (ზტ) და კუნთოვანი ქსოვილის (კქ) 7 დღიან კულტურაში. ოკ.4, ობ.40. ბ – მოტონეირონი (მნ) ექსპლანტატის ზრდის ზონაში (ზზ) ასოციაციური ნეირონის აქსონის დაბოლოებით (→). ოკ,4, ობ60,იმ. ვერცხლით იმპრეგნაცია ბილშოვსკის მეთოდით.

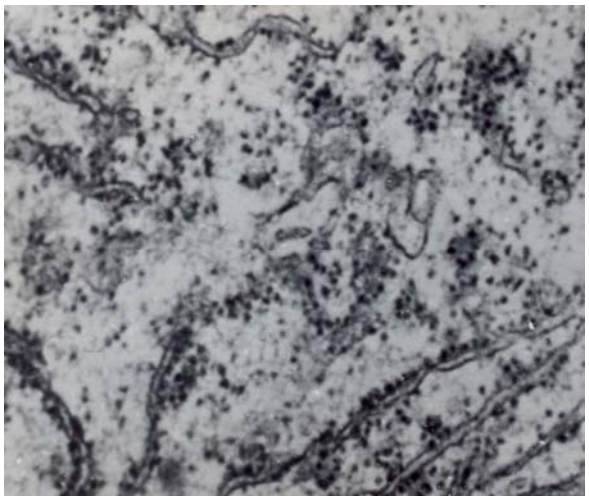
ამ შემთხვევაში შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ზემოთაღწერილი აქსონებისთვის სამიზნეს წარმოადგენს არა სომატური კუნთი, არამედ ექსპლანტატის სისქეში არსებული მოტონეირონები, რაც განაპირობებს მათ მიბრუნებას ზურგის ტვინის

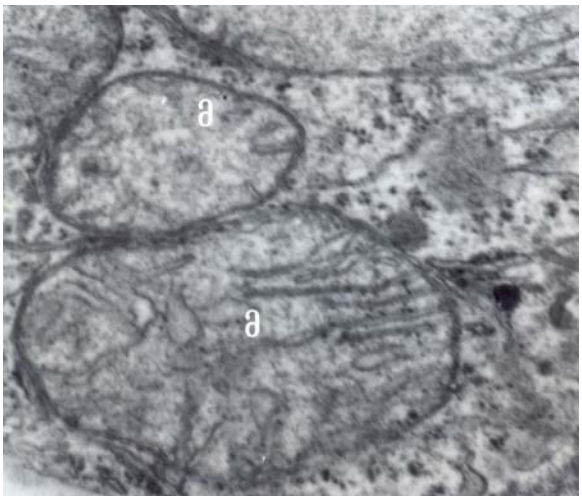
ექსპლანტატისკენ. ამასთანავე, ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ზრდის ზონაში გამოვლენილ იქნა მსხვილი ნეირონები, მათ სხეულზე გარსშემოხვეული ნერვული მორჩებით (სურ. 3,ბ), რომლებიც წარმოადგენენ ასოციაციური ნეირონების ნერვულ დაბოლოებებს. ნეირონების სხეულზე მგრძნობიარე ნეირონების მორჩების არსებობა გამორიცხულია, ვინაიდან კულტივირების მოცემულ ეტაპზე ისინი უკვე დეგენერირებული არიან განგლიების არ არსებობის გამო. ამგვარად, ჩვენს მიერ კულტივირების პროცესში გამოვლენილ იქნა ორგანიზმისთვის დამახასიათებელი რეფლექსური რკალის ერთ-ერთი ფრაგმენტის ანალოგიური სისტემის "მოტონეირონი – ასოციაციური ნეირონი" ფორმირება.

კულტივირების დაწყებისთანავე, ტრავმირებული, ორგანიზმის მხრიდან ნეიროჰუმორულ კონტროლს მოკლებული უჯრედები განიცდიან მნიშვნელოვან ცვლილებებს, რაც გამოიხატება არსებული პირობებისადმი მათი შეგუების მცდელობაში. უჯრედების დიფერენცირება იწყება ქსოვილის ადაპტაციის შემდეგ კულტივირების პირობებისადმი, რასაც საფუძვლად უდევს ნეირონების პლასტიკურობა და სპეციფიკური ფუნქციური აქტიურობის აღდგენის უნარი.

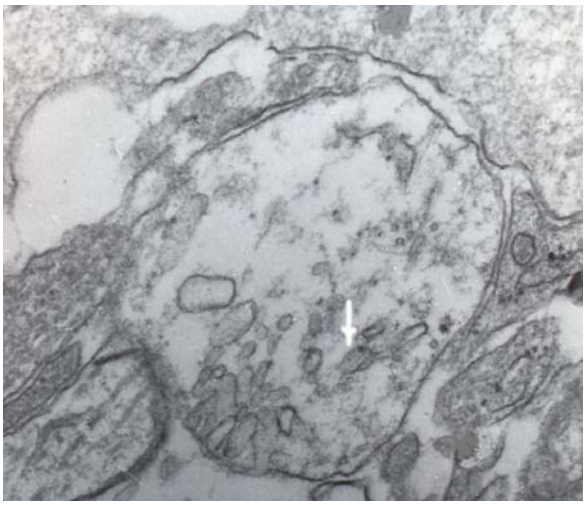
ქათმის ემბრიონის ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ულტრასტრუქტურული კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ ნერვული და გლიური უჯრედების ადაპტაციის პროცესები მთავრდება კულტივირების დაწყებიდან პირველი 2-3 დღის განმავლობაში, ხოლო შემდეგ იწყება მათი დიფერენცირების პროცესი. ნეირონების ზოგიერთი უჯრედშიდა სისტემები, მიუხედავად პირობების მკვეთრი გაუარესებისა, არ განიცდიან არსებით ცვლილებებს, მაგ., ენდოპლაზმური ბადე (სურ. 4,ა) თითქმის არ განსხვავდება ანალოგიური სისტემისგან ორგანიზმის პირობებში, თუმცა ზოგიერთი ნეირონის ციტოპლაზმაში აღინიშნება ენდოპლაზმური ბადისგან თავისუფალი უბნები, სადაც რიბოსომები განლაგებული არიან ცალკ-ცალკე, ან ჯგუფებად, ამავე დროს, ერითროციტების საშუალებით ქსოვილის ჟანგბადით მომარაგების შეწყვეტა და ამ უკანასკნელის შეთვისება უშუალოდ საკვები არიდან, გავლენას ახდენს მიტოქონდრიების ულტრასტრუქტურაზე, რაც ვლინდება კრისტების ორიენტაციის დარღვევასა და მათი რიცხვის შემცირებაში (სურ. 4,ბ), მატულობს ლიზოსომების რაოდენობა. განსაკუთრებით მნიშვნელოვანი ცვლილებები აღინიშნება სინაფსურ

აპარატში (სურ. 4,გ). პრესინაფსებში მკვეთრად მცირდება ვეზიკულების რაოდენობა, იცვლება აქტიური ზონის ოსმიოფილობა, ამიტომ ტიპური სინაფსური დაბოლოებები არ გვხვდება. ზოგიერთ უბანში შეიძლება გამოვლინდეს პრესინაფსური წარმონაქმნების მსგავსი სტრუქტურები პოლიმორფული ვაკუოლებით, ან ოსმიოფილობის მომატება პოსტსინაფსურ უბანთან კონტაქტის ზონაში.





ა ბ



გ

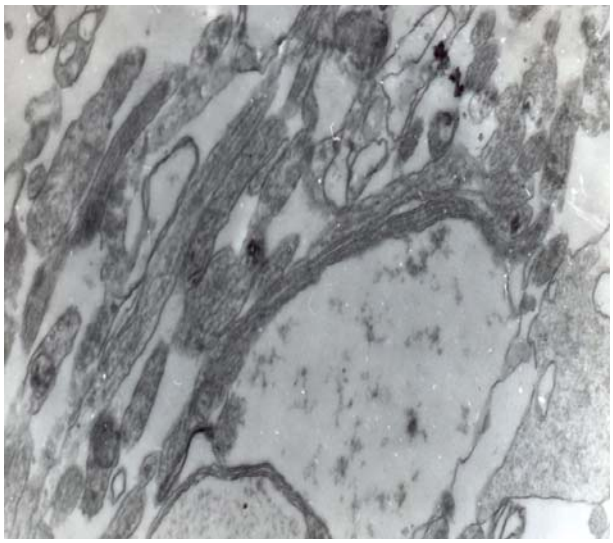
სურ.4. ნეირონის ულტრასტრუქტურა ზურგის ტვინის ექსპლანტატის 24 სთ კულტურაში.

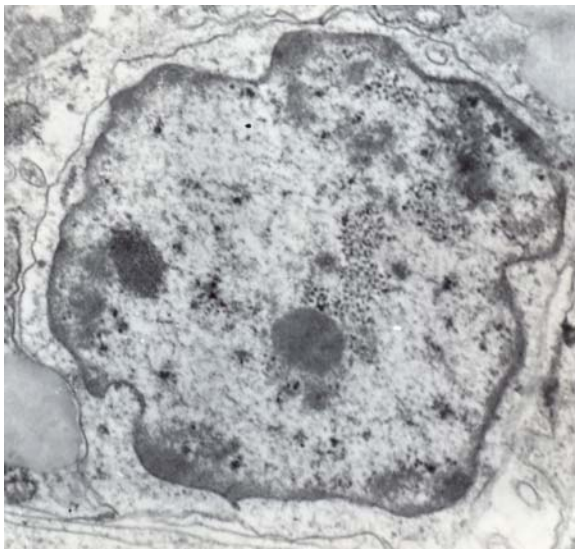
ა – ენდოპლაზმური ბადე, 15 000 X.

ბ – მიტოქონდრიების დეგენერაცია,

გ – სინაფსური კომპლექსი აქსონის დაბოლოებასა და დენდრიტს შორის, ვეზიკულები (→). 20 000 X.

კულტივირების შემდგომ ეტაპებზე თანდათან ჭარბობს აღდგენითი პროცესები., რაც ვლინდება აქსონების და ნეიროპილის ზრდაში და ნეირონებს შორის კონტაქტების ფორმირებაში. თანდათან ძლიერდება სპრაუტინგი, რაც ხელს უწყობს ნეიროპილის განვითარებას (სურ. 5,ა) და 3-დღიან კულტურაში მისი დიფერენცირების ხარისხი უახლოვდება 14 დღიანი ქათმის ემბრიონის ნეიროპილის დიფერენცირების ხარისხს. კომპენსატორული ხასიათის გამოვლინებანი ხშირად აღინიშნება გლიურ უჯრედებში ციტოპლაზმის მემბრანული სტრუქტურების პროლიფერაციის და ბირთვული მემბრანის ინვაგინაციის სახით (სურ. 5, ბ).





ა ბ

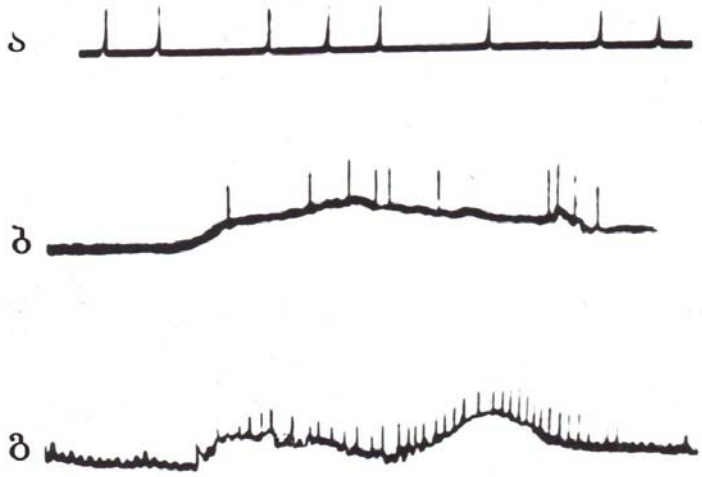
სურ.5. ზურგის ტვინის 3 დღიანი ექსპლანტატის ულტრასტუქტურა.

ა – ნეიროპილი ექსპლანტატის პერიფერიაზე, 10 000 X.

ბ - გლიური უჯრედი, ბირთვის ინვაგინაცია. 15 000 X.

ადაპტაციის პროცესის დასრულება ექსპლანტატებში ასახვას პოულობს ნეირონების ფუნქციურ აქტიურობაში. კულტივირების პირველი 3 დღის განმავლობაში ზურგის ტვინის ნეირონების ელექტრული გაღიზიანების საპასუხოდ გამოვლენილ იქნა

მარტივი ერთეული განმუხტვები, რაც მიუთითებს ექსპლანტატში არადიფერენცირებული სინაფსების არსებობაზე, თუმცა შემდგომ ეტაპზე (6-7 დღიანი კულტურა), ვლინდება რთული ბიოელექტრული აქტიურობა, რაც განპირობებულია პოლისინაფსური გადაცემით (სურ. 6). ამგვარად, ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემები გვიჩვენებენ, რომ კულტივირების დაწყებიდან პირველი 2-3 დღის განმავლობაში მიმდინარე ზურგის ტვინის ექსპლანტატების დესტრუქციისა და ადაპტაციის პროცესების დამთავრების შემდეგ, დიფერენცირების პროცესების ჩართვის გამო, ვლინდება ნერვული ქსოვილის მომწიფების ერთ-ერთი ნიშანი – ნერვული უჯრედების რთული ბიოელექტრული აქტიურობა.



სურ.6. ზურგის ტვინის ნეირონების ბიოელექტრული აქტიურობა 3-7 დღიან კულტურებში.

ა – მარტივი ცალკეული განმუხტვები 3 დღიან კულტურაში, ამპლიტუდა 10მვ, განმუხტვების სიხშირე 2-8 იმპ/სეკ.

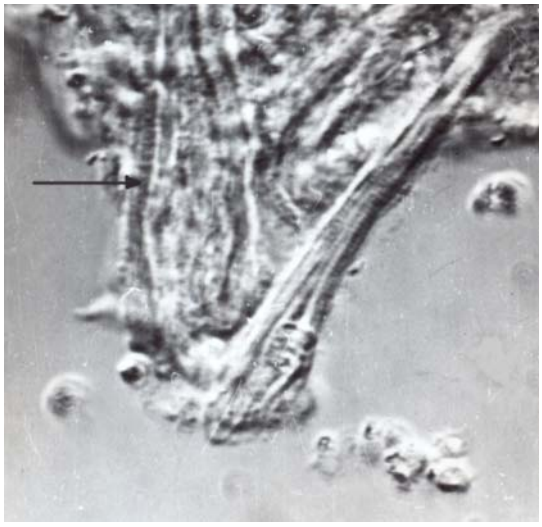
ბ – პიკოვანი განმუხტვები უარყოფითი ნელი ტალღების ფონზე ზურგის ტვინის 6 დღიანი კულტურის საკვებ არეში 10^{-6} მ სტრიქნინის ხსნარის შეყვანის შემდეგ

გ – პიკოვანი განმუხტვები დიდი ამპლიტუდის მქონე უარყოფითი ნელი ტალღების ფონზე ზურგის ტვინის 7 დღიანი კულტურის საკვებ არეში 10^{-4} მ სტრიქნინის ხსნარის შეყვანის შემდეგ. კალიბრაცია – 5მვ/20მს.

ემბრიონული ზურგის ტვინის და სომატური კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატების თანაკულტივირებას ნერვული ქსოვილის დიფერენცირების და პლასტიკურობის თავისებურებების გარკვევის მიზნით, კულტივირების პირობებში აღნიშნული ქსოვილების დიფერენცირების ხარისხის დასადგენად, ვახდენდით მათი ექსპლანტატების კულტივირებას ცალკ-ცალკე, ხოლო შემდგომში, აღნიშნული საკითხების შესწავლა ხდებოდა მათი ერთდროული ანუ თანაკულტივირების დროს.

ზურგის ტვინის და კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატების თანაკულტივირებისას ფუნქციურად აქტიური სისტემის შექმნა განპირობებულია ნერვული ქსოვილის დიფერენცირებისა და პლასტიკურობის თავისებურებებით, თუმცა აღნიშნული სისტემის შექმნა ასევე გულისხმობს კუნთოვანი ქსოვილის დიფერენცირების გარკვეულ დონეს, ვინაიდან ნაჩვენებია, რომ ზურგის ტვინთან ერთდროული კულტივირების პირობებში კუნთოვანი ქსოვილი მასტიმულირებელ ზემოქმედებას ახდენს მოტონეირონების აქსონების ზრდაზე. ლიტერატურის მონაცემების თანახმად აქსონების ზრდის სტიმულირება შესაძლებელია აგრეთვე ზურგის ტვინის ექსპლანტატებზე მიოტუბების შემცველი კონდიცირებული არის დამატების შემდეგ (Brooks et al, 1980; Braun et al., 1996).

ემბრიონული კუნთოვანი ქსოვილის დიფერენცირება კულტივირების პროცესში გამოვლინდა ზრდის ზონაში მიობლასტების შერწყმის შედეგად წარმოქმნილი ფართო კუნთოვანი ბოჭკოების ფორმირებით, რომლებიც მთლიანად ავსებენ ზრდის ზონას, აღინიშნება აგრეთვე კუნთოვანი ბოჭკოებისთვის დამახასიათებელი მიოფიბრილების განივზოლიანობა (სურ. 7,ა), რასაც განაპირობებს ანიზოტროპული და იზოტროპული დისკების მონაცვლეობა. კულტივირებული კუნთოვანი ექსპლანტატების დიფერენცირების ხარისხზე მიუთითებს ზრდის ზონაში პოლარიზაციული მიკროსკოპის მეშვეობით გამოვლენილი დიფუზური ხასიათის ნათება მილაკების მთელ სიგრძეზე (სურ. 7,ბ), რაც შესაძლოა გამოწვეული იყოს მათი დიფერენცირების შედეგად წარმოქმნილი მიოზინის მსგავსი შემკუმშავი ცილების დაგროვებით (სურ.7).



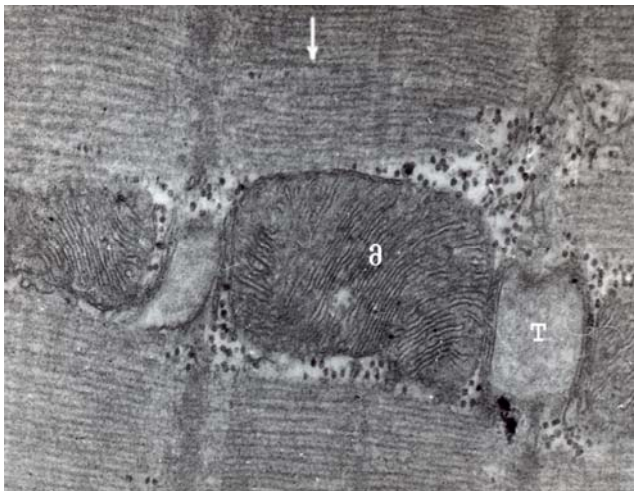
ა ბ

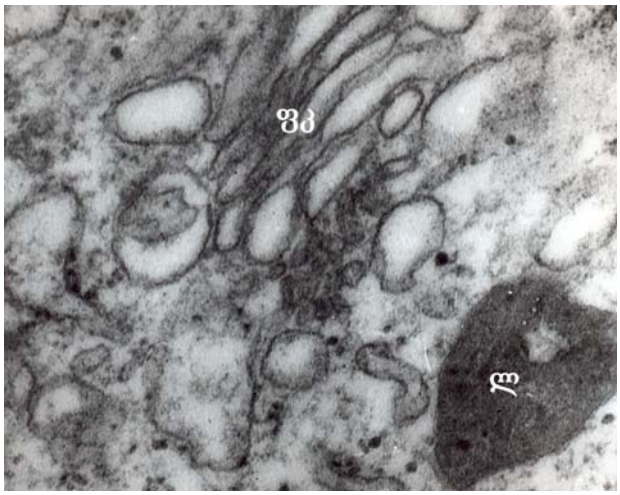
სურ. 7. თეძოს კუნთის ორგანოტიპური კულტურა.

ა - განივზოლიანობა (→) კუნთოვან ბოჭკოში, 7 დღიანი კულტურა. ცოცხალი პრეპარატი, ინტერფერენციული კონტრასტი ნომარსკის მეთოდით, ოკ.10, ობ.40.

ბ - კუნთოვანი მილაკების დადებითი ანიზოტროპია 11 დღიან კულტურაში. ფიქსირებული პრეპარატი, პოლარიზაციული მიკროსკოპი, ოკ.4, ობ.20.

მიობლასტების ულტრასტრუქტუტული ორგანიზაცია მიუთითებს მათ მაღალ მეტაბოლურ აქტიურობაზე. ისინი შეიცავენ მსხვილ მიტოქონდრიებს (სარკოსომებს) აშკარად გამოხატული კრისტებით. მიტოქონდრიების რიცხვი და ზომები, მიოფიბრილებს შორის სარკოპლაზმაში ისინი ისე მჭიდროდ არიან განლაგებული, რომ ტიპური ტრიადები არ გვხვდება და რჩება მხოლოდ T-სისტემები (სურ. 8ა). კარგად არის განვითარებული გოლჯის ფირფიტოვანი კომპლექსი და სარკოპლაზმური ბადე, რომელიც შემდგომში მონაწილეობას ღებულობს პროტო- და მიოფიბრილების წრმოქმნაში (სურ. 8ბ).





ა ბ

სურ.8.. მიობლასტის ულტრასტრუქტურა კუნთის 4 დღიან კულტურაში.

ა – მიტოქონდრია (მ), მიოფიბრილები (→), გლიკოგენის მარცვლები,

T – სისტემა (T);

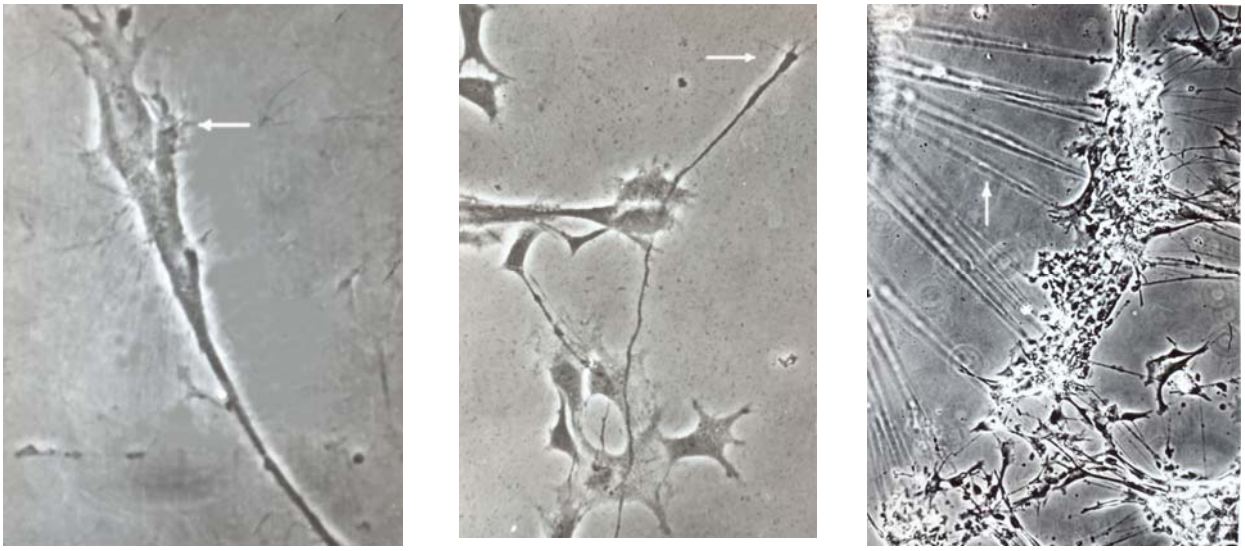
ბ – ფირფიტოვანი კომპლექსი (ფკ), ლიზოსომა (ლ).

ა –15 000 X , ბ – 20 000 X.

ამგვარად, სომატური კუნთოვანი ქსოვილი კულტივირების პირობებში განიცდის დიფერენცირების ყველა ეტაპს, მიობლასტებიდან დაწყებული მიოფიბრილების ფორმირებით და შემკუმშავი ცილების წარმოქმნით დამთავრებული.

ნეირონების დიფერენცირების ერთერთი მნიშვნელოვანი გამოხატულებაა მათი მორჩების ზრდა და დატოტიანება. კულტივირების პირობებში ქათმის ემბრიონის ზურგის ტვინის ნეირონების აქსონები სხვადასხვა სუბსტრატზე ზრდის განსხვავებულ თავისებურებებს ავლენენ. კერძოდ, კოლაგენით დაფარულ ზედაპირზე აქსონების ზრდა ძირითადად ხორციელდება ზრდის კოლბების მეშვეობით (სურ. 9,ა). ნერვული უჯრედების ზრდის ზონაში გამოსული ასტროციტების ფენაზე შემდგომში იზრდებიან აქსონებიზრდის კონუსის მეშვეობით (სურ.9 ბ). კულტივირების შემდგომ ეტაპებზე ექსპლანტატიდან საკმაოდ მოშორებულ მანძილზე გამოსული გლიური უჯრედები

განლაგდებიან ჯგუფების სახით, რომლებსაც შემდგომში უკავშირდებიან ექსპლანტატიდან გამოსული ნერვული უჯრედების აქსონები (სურ. 9გ).



ა ბ გ

სურ. 9. აქსონების ზრდის სხვადასხვა ტიპები.

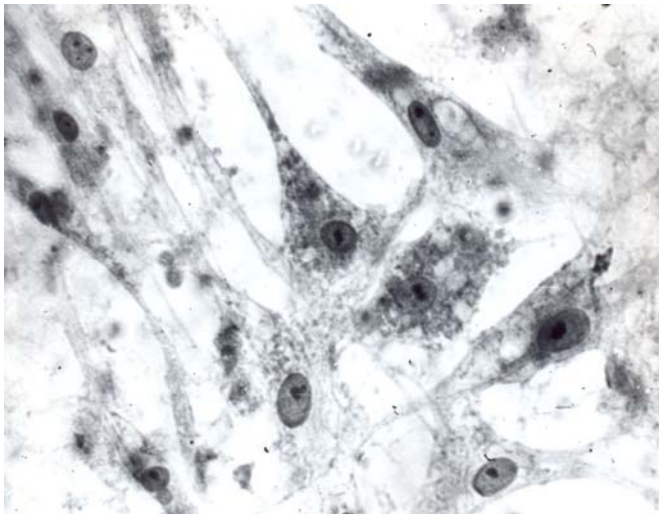
ა – აქსონის ზრდა ზრდის კოლბის (→) მეშვეობით. ოკ.10,ობ.40.

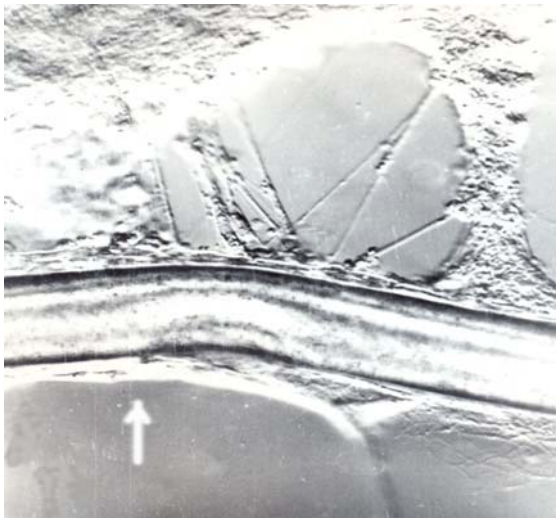
ბ – აქსონის ზრდა ასტროციტების მონოშრეზე ზრდის კონუსის (→) მეშვეობით. ოკ.10,ობ.40.

გ - გლიური უჯრედების ჯგუფური განლაგება 3 დღიანი ექსპლანტატის პერიფერიაზე და მათთან დაკავშირებული აქსონები (→). ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი, ოკ.4,ობ.20.

კულტივირების დროს ზოგჯერ ზურგის ტვინის ექსპლანტატს გაჰყვება შემაერთებელქსოვილოვანი ელემენტები – მეზენქიმური უჯრედები, რომლებიც კულტივირების ადრეულ ეტაპებზე ექსპლანტატებს შორის და მათ გარშემო, ქმნიან ფენას, კოლაგენის ზედაპირზე გაბრტყელებული, თითისტარის ფორმის მქონე უჯრედებით – ფიბრობლასტებით (სურ. 10,ა). აქსონები იზრდებიან ამ სუბსტრატზეც, თუმცა ეს უჯრედები მალე განიცდიან დეგენერაციას და შემდგომში ვეღარ ასრულებენ სუბსტრატის ფუნქციას. ჩვენს მიერ ნერვული ქსოვილის კულტივირების დროს

სუბსტრატად ვიყენებდით აგრეთვე პოლიმერულ ბოჭკოებს - КЛ-19 (სურ. 10,ბ) (Сванидзе и др., 1987). 500-1200 მკ სისქის ბოჭკოები, რომლებიც შეცავენ ამინომჟავებს და ლეიცინს, წარმოადგენენ ნეიტრალურ, არატოქსიკურ სუბსტრატს ნერვული და გლიური უჯრედებისთვის და მათი დამუშავების შემდეგ ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებებით, შესაძლებელს გახდის მათ გამოყენებას აქსონების ზრდის ორიენტირებული ზრდის განხორციელების.





ა ბ

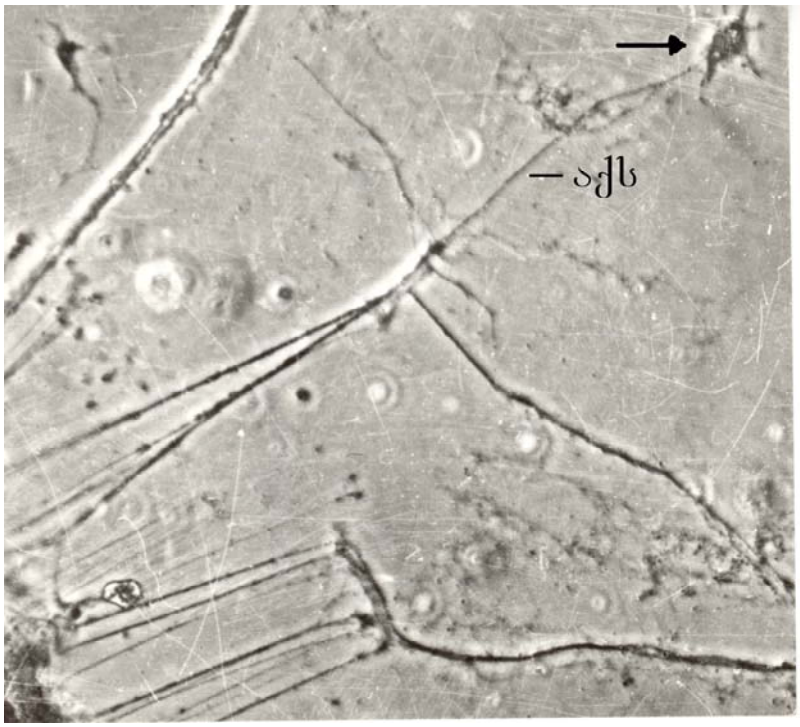
სურ. 10.

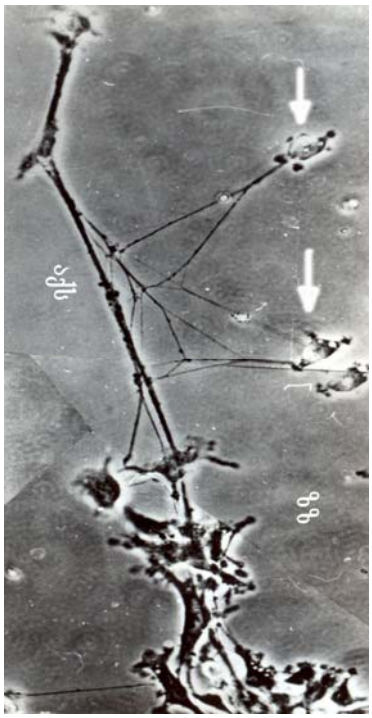
ა - მეზენქიმური უჯრედები ზურგის ტვინის 24სთ ექსპლანტატის ზრდის ზონაში, ჰემატოქსილინით შეღებვა. ოკ.10, ობ.40.

ბ- აქსონების ზრდა პოლიმერულ ბოჭკოებზე (КЛ-19) (→),ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი. ოკ4, ობ.10.

ზურგის ტვინის ექსპლანტატების კულტივირების უმეტეს შემთხვევაში აქსონების ორივე ტიპის ზრდის რეგულირება ხორციელდება ზრდის კოლბების მეშვეობით, ამასთანავე ამ პროცესში აქტიურად მონაწილეობენ გლიური უჯრედები. ჩვენს მიერ გამოვლენილ იქნა აქსონების ზრდაში გლიური უჯრედების მონაწილეობის სპეციფიკური ხასიათი, რაც გამოიხატება ზრდის კონუსის ნაცვლად აქსონის წვერზე გლიური უჯრედის მიმაგრებით (სურ. 11,ა). ამ დროს აქსონები კონტაქტს ამყარებენ იმ ასტროციტების მორჩებთან, ან სხეულებთან, რომლებიც მიგრირებენ ექსპლანტატიდან

ზრდის ზონაში. გლიური უჯრედი, რომელიც წარმოდგენილია პლაზმური ან ფიბროზული ასტროციტით, ასრულებს ზრდის კოლბის ფუნქციას, რითაც ხელს უწყობს აქსონის გამოსვლას ექსპლანტატის სისქიდან, მიმართავს რა მის მოძრაობას გარკვეული მიმართულებით, ზოგჯერ საკმაოდ დიდ მანძილზე (150მკ). აღსანიშნავია აგრეთვე ჩვენს მიერ ზრდის ზონაში გამოვლენილი კონტაქტი აქსონსა და გლიურ უჯრედებს შორის, როდესაც რამდენიმე გლიური უჯრედი უკავშირდება აქსონის სხვადასხვა უბანს და ასევე ხელს უწყობს მის გადანაცვლებას ზრდის ზონაში (სურ.11,ბ). ეს პროცესი დროებითი მოვლენაა და შემდგომში აქსონები გლიური უჯრედების დახმარების გარეშე აგრძელებენ მოძრაობას.





ა ბ

სურ.11 გლიური უჯრედების როლი აქსონების ზრდაში.

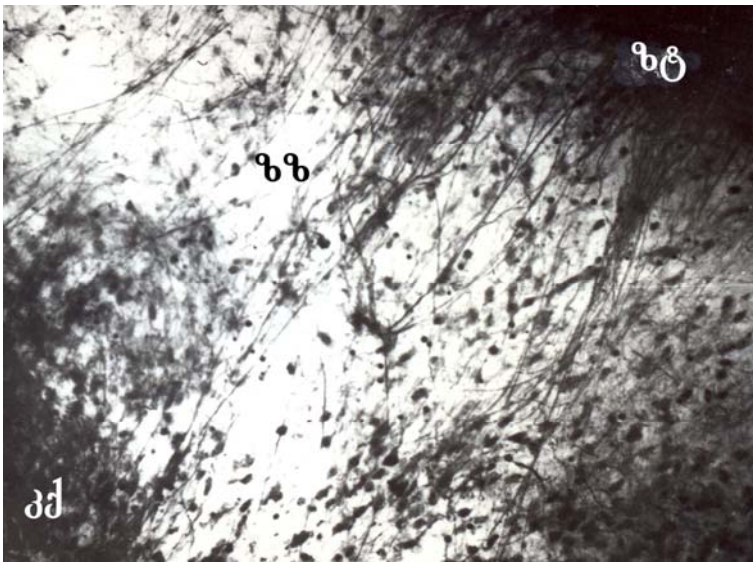
ა –ექსპლანტატიდან მზარდი აქსონის წვერზე მიმაგრებული ასტროციტი

(→) ზურგის ტვინის 5 დღიანი კულტურის ზრდის ზონაში .

ბ – კონტაქტი აქსონსა (აქს) და გლიურ უჯრედებს

(→) შორის. ზურგის ტვინის 7 დღიანი კულტურის ზრდის ზონაში (ზზ). ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი. ოკ10, ობ.40.

ზურგის ტვინის და სომატური კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატების ერთდროული კულტივირების დროს ჩვენს მიერ გამოვლენილ იქნა, რომ აქსონების ზრდა განპირობებულია სამიზნე სტრუქტურის სპეციფიკური ზემოქმედებით. ზურგის ტვინისა და კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატებს შორის კავშირი წარმოიქმნება ან უშუალოდ მათი შეხების ადგილას, ან ერთმანეთისგან მოშორებით მოთავსებულ ექსპლანტატებს შორის ნერვული ბოჭკოების კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატებისკენ მიმართული ინტენსიური ზრდის შედეგად (სურ. 10). ექსპლანტატებს შორის ნეირიტული ბადის წარმოქმნას განაპირობებს აქსონების სპრაუტინგის და ნეიროპილის ზრდის ინტენსივობა.

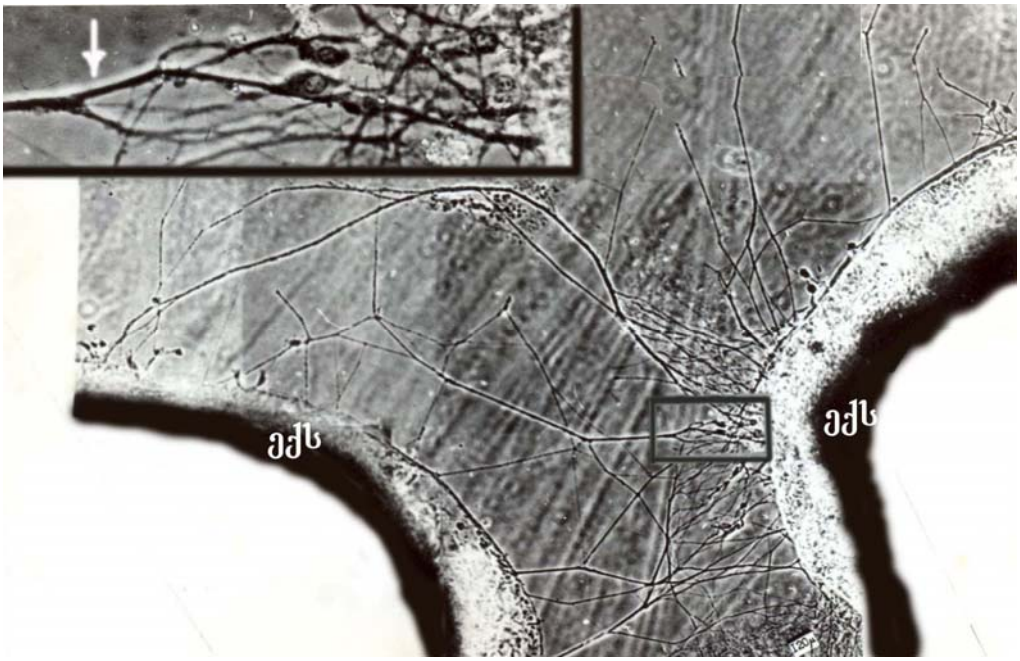


სურ.12. აქსონების ზრდა ზრდის ზონაში (ზზ) ზურგის ტვინისა (ზტ) და კუნთოვანი ქსოვილის (კქ) ერთდროული კულტივირების დროს. ვერცხლით იმპრეგნაცია ბილშოვსკის მეთოდით. ოკ.4.ობ.20.

ჩვენს მიერ და სხვა მკვლევარების მიერ ნაჩვენებია, რომ ზურგის ტვინთან ერთდროული კულტივირების პირობებში კუნთოვანი ქსოვილი მასტიმულირებელ ზემოქმედებას ახდენს მოტონეირონების აქსონების ზრდაზე. ლიტერატურის მონაცემების თანახმად აქსონების ზრდის სტიმულირება შესაძლებელია აგრეთვე

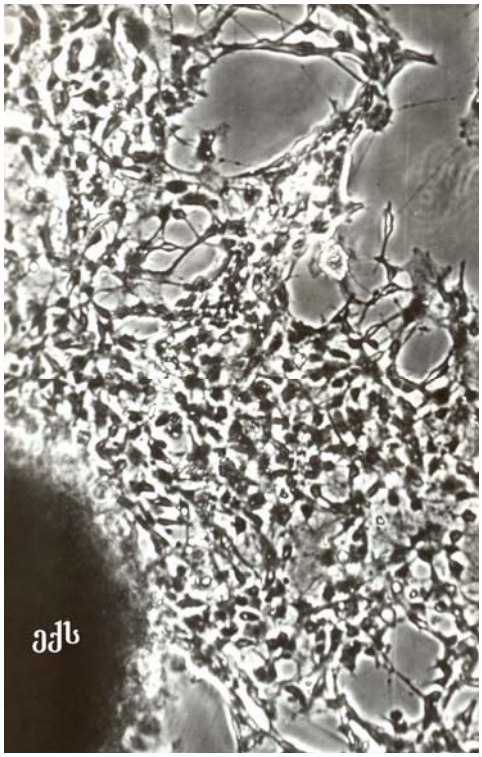
ზურგის ტვინის ექსპლანტატებზე მიოტუბების შემცველი კონდიცირებული არის დამატების შემდეგ (Brooks et al, 1980; Braun et al., 1996).

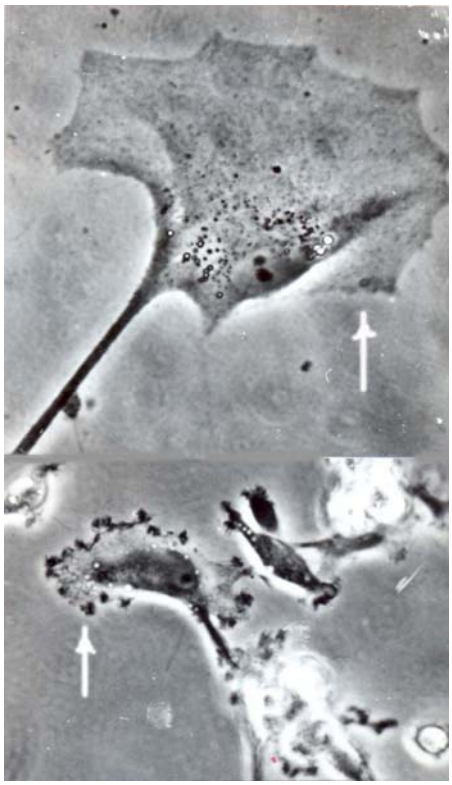
ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, ნეირობლასტების დიფერენცირებისა და აქსონების ზრდის სტიმულირების მიზნით, ზურგის ტვინის ექსპლანტატების საკვებ არეში ვამატებდით ემბრიონული სომატური კუნთის სუპერნატანტს, რის შედეგად აშკარად გამოიკვეთა ექსპლანტატებიდან ნეირონების აქსონების ზრდის და დიფერენცირების სტიმულირება, საგრძნობლად მოიმატა აქსონების რაოდენობამ და გაფართოვდა მათი გავრცელების არეალი. განსაკუთრებულ განვითარებას მიაღწია სპრაუტინგმა, აქსონების და მათი კოლატერალების მიერ ექსპლანტატებს შორის წარმოიქმნა კარგად განვითარებული ნეირიტული ბადე, ზრდის ზონაში გამოჩნდა ექსპლანტატიდან მიგრირებული ნეირონები (სურ. 13). აღსანიშნავია რომ სუპერნატანტის დამატების შემდეგ ადგილი აქვს პლაზმური ასტროციტების ფიბროზულ ასტროციტებად გარდაქმნის შემთხვევებს, რაც ხელსაყრელ პირობებს ქმნის ნერვული უჯრედების ზრდისა და დიფერენცირებისთვის. ყოველივე ზემოთ აღწერილი უდაოდ მიუთითებს აქსონების ზრდის მიმართ აღნიშნული ფაქტორის მასტიმულირებელ ზემოქმედებაზე.



სურ.13. აქსონების ზრდის სტიმულირება ზურგის ტვინის კულტურაში კუნთოვანი ქსოვილის სუპერნატანტის დამატების შემდეგ. აქსონების ინტენსიური ზრდა და ნეირიტული ბადის შექმნა ზურგის ტვინის ექსპლანტატებს (ექს) შორის. ოკ.4, ობ.10. ჩარჩოში - ზრდის ზონის გადიდებული უბანი, ექსპლანტატიდან მიგრირებული მოტონეირონები კარგად განვითარებული აქსონებით (→). ოკ.10,ობ.40. ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი.

ლიტერატურაში არსებული მონაცემების თანახმად კულტივირებულ ზურგის ტვინზე ლეი-ენკეფალინის ანალოგის, დალარგინის ზემოქმედების შედეგადაც ანალოგიურად ადგილი აქვს აქსონების ზრდის და გლიური უჯრედების მიგრაციის სტიმულირებას. (Ilynsky et al., 1987). ჩვენს მიერ ზურგის ტვინის ექსპლანტატებზე დალარგინის დამატების შემდეგ ასევე გამოვლინდა აქსონების ზრდა, თუმცა გაცილებით ნაკლები ინტენსივობით, ხოლო გლიური უჯრედების მიგრაცია უპირატესად სტიმულირებული იყო. ზრდის ზონაში მიგრირებულ გლიურ უჯრედებს შორის შეინიშნებოდა უჯრედები ვუალის მაგვარი, მოძრავი, მემბრანის მსგავსი წარმონაქმნებით (სურ.14), რაც შესაძლოა ასახავდეს პლაზმური ასტროციტების რეაქციას დალარგინის ზემოქმედებაზე, ვინაიდან ანალოგიური უჯრედები ინტაქტურ კულტურებში, ან სხვა ფაქტორების ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი არ იქნა.





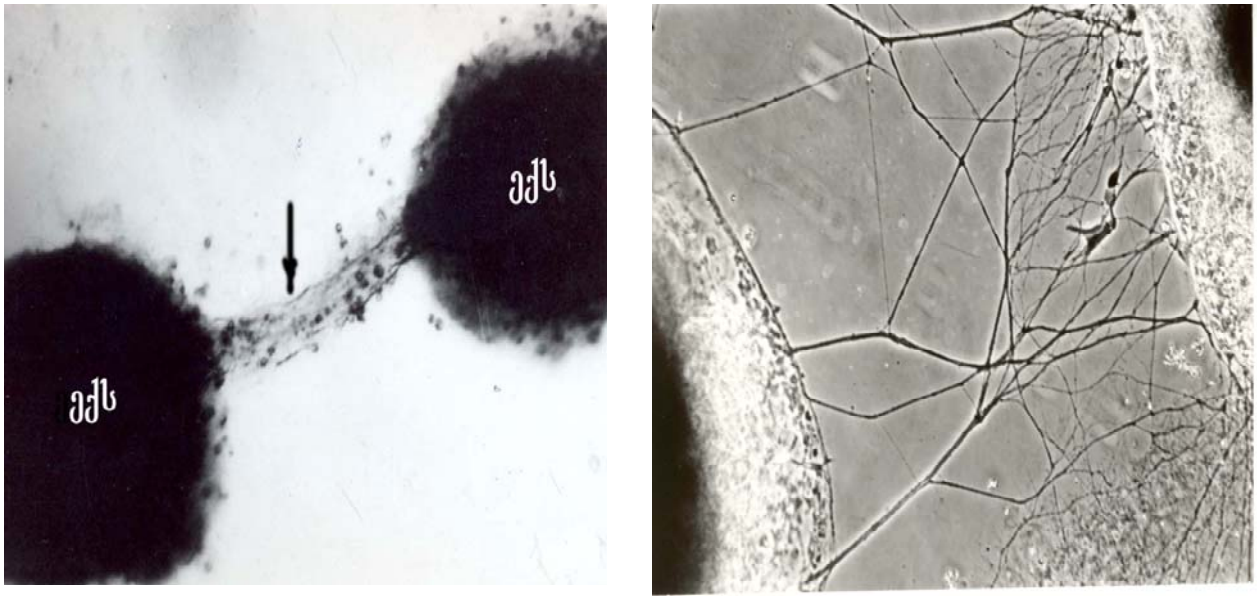
ა ბ

სურ.14 გლიური უჯრედების ზრდის თავისებურებანი ზურგის ტვინის 5 დღიან კულტურაში დალარგინის დამატების შემდეგ.

ა – გლიური უჯრედების აქტიური მიგრაცია ექსპლანტატიდან (ექს) ზრდის ზონაში. ოკ10,ობ.20.

ბ – ზრდის ზონაში გლიური უჯრედები ვუალისმაგვარი წარმონაქმნებით (→). ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი. ოკ.10,ობ.60, იმ.

ზურგის ტვინის ექსპლანტატების საკვები არე, სხვა სტანდარტულ კომპონენტებთან ერთად შეიცავს ადამიანის ჭიპლარის სისხლის შრატს (10%), როგორც ცალკეული, ასევე რამდენიმე ექსპლანტატის ერთდროული კულტივირებისას, ზრდის ზონაში გამოვლინდა აქსონების ზრდის შედეგად ნეირიტული ბადის და ნეირიტული კავშირების ფორმირება, რაც შესაძლოა გამოწვეული იყოს ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ურთიერთზეგავლენით (სურ. 15).



ა ბ

სურ.15. ზურგის ტვინის 7 დღიან ექსპლანტატებს შორის კავშირის ფორმირება საკვებ არეში ადამიანის ჭიპლარის სისხლის შრატის 20% ხსნარის დამატების შემდეგ.

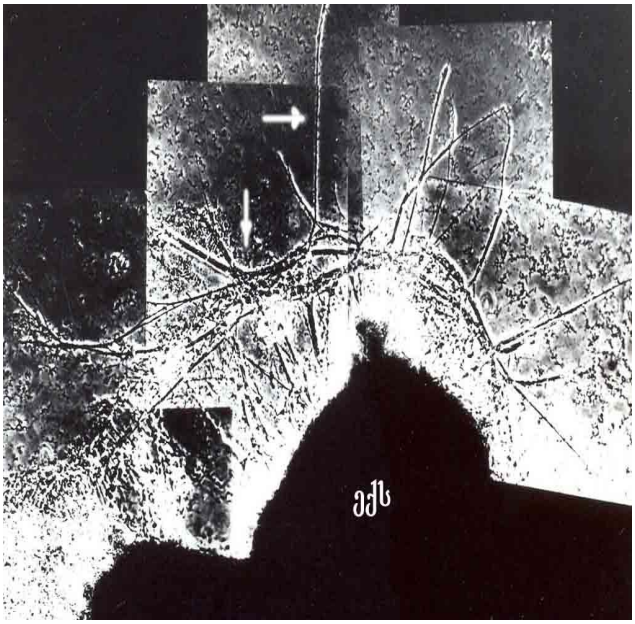
ა – მძლავრი ნეირიტული ბოჭკოს (→) ფორმირება ზურგის ტვინის ორ ექსპლანტატს (ექს) შორის. ოკ.10, ობ.10.

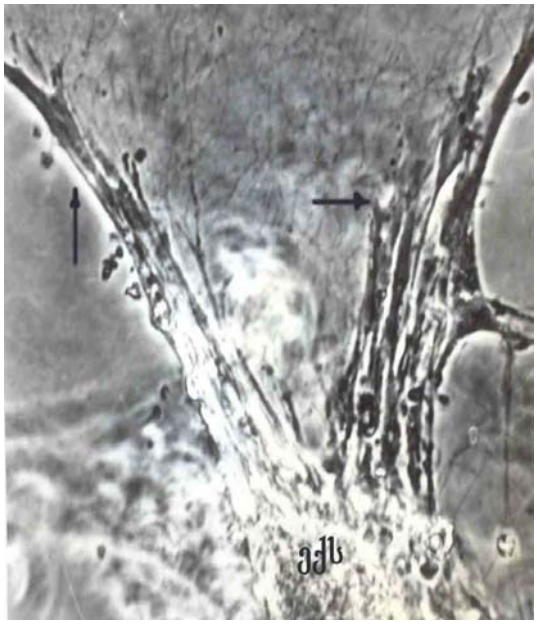
ბ –ზურგის ტვინის ექსპლანტატებს შორის ნეირიტული ბადის ფორმირება. ოკ.10, ობ.20. ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი.

აღსანიშნავია, რომ ცალკეული ექსპლანტატების კულტივირების დროს, როდესაც მოხსნილია მეორე ექსპლანტატის მასტიმულირებელი ზემოქმედება აქსონების ზრდაზე, საკვებ არეში ადამიანის ჭიპლარის სისხლის შრატის გაორმაგებული დოზის (20%) დამატების შემდეგ ზრდის ზონაში აღინიშნა აქსონების და დენდრიტების განსაკუთრებით კარგად გამოხატული დიფუზური ზრდა, რაც გამოვლინდა არა მარტო აქსონების, არამედ დენდრიტების განსაკუთრებით ძლიერ დატოტიანებაში. დენდრიტების ძირითად მორჩებზე წარმოიქმნა მეორადი წანაზარდები, რაც განმეორდა რამდენიმეჯერ, ამიტომ ერთი ნეირონის დენდრიტული სისტემამ დაფარა ზრდის ზონის მნიშვნელოვანი ნაწილი, შესაბამისად გაძლიერდა სპრაუტინგიც (სურ. 16). ცალკეული აქსონის სიგრძემ მიაღწია 4000 მკ-ს, გაიზარდა აქსონების საერთო რიცხვიც. აქსონების და მათი კოლატერალების რიცხობრივი მაჩვენებლების ანალიზი კიდევ ერთხელ ადასტურებს ამ ფაქტორის მასტიმულირებელ ზემოქმედებას.

სურ. 16. აქსონების სპრაუტინგის სტიმულირება ადამიანის ჭიპლარის სისხლის შრატის 20% ხსნარის მეშვეობით ზურგის ტვინის 7 დღიანი ქსპლანტატის ზრდის ზონაში. აქსონების და მათი კოლატერალების ინტენსიური ზრდა. ოკ.10, ობ.20. ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი. (მონტაჟი).

ექსპერიმენტების შემდეგ სერიაში აქსონების ზრდის სტიმულირების მიზნით, საკვებ არეში პლაფერონ-ლბ-ს დამატების დროსაც აღინიშნებოდა აქსონების ზრდის სტიმულირება, თუმცა, სხვა ფაქტორებისგან განსხვავებით ექსპლანტატიდან გამოსული ბოჭკოები გარს ეხვევოდნენ ექსპლანტატს და დიდ მანძილზე არ ვრცელდებოდნენ ზრდის ზონაში, თუმცა წარმოდგენილი იყვნენ საკმაოდ მძლავრი კონებით და სისქით არ ჩამოუვარდებოდნენ სხვა სტიმულატორების ზემოქმედების შედეგად წარმოქმნილ მაგისტრალურ ბოჭკოებს (სურ. 17)



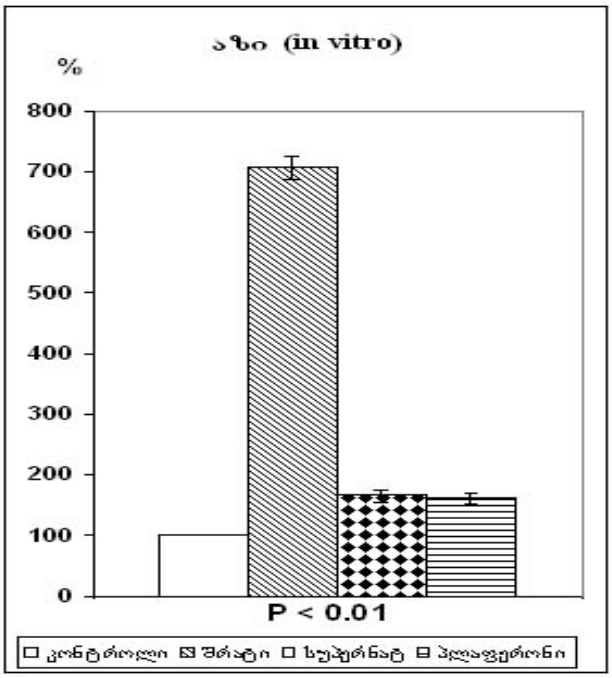


ა ბ

სურ.17.აქსონების ზრდა პლაფერონ ლბ-ს ზემოქმედების შემდეგ.
ა – აქსონების (→) ზრდა ზურგის ტვინის 3 დღიანი ექსპლანტატის (ექს) ზრდის ზონაში. ოკ10, ობ.10. ინტერფერენციული კონტრასტი ნომარსკის მეთოდით. ოკ10, ობ.10.

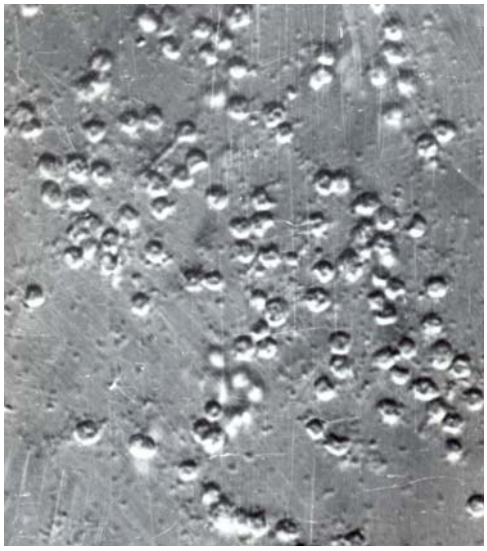
ბ – აქსონების მძლავრი კონების (→) ზრდა ექსპლანტატიდან (ექს) ზრდის ზონაში. ოკ.10, ობ.40. ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი.

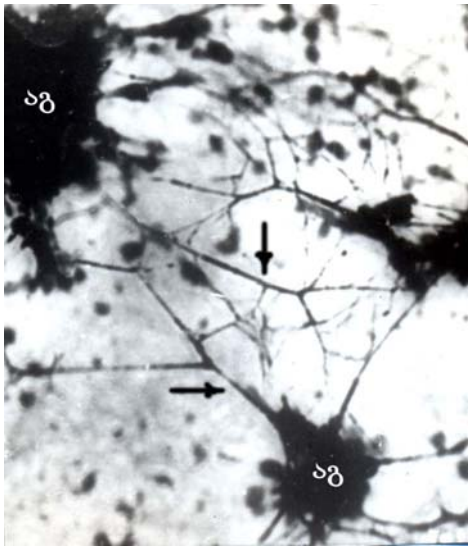
ზურგის ტვინის ექსპლანტატების კულტივირების დროს, სხვადასხვა მასტიმულირებელი ფაქტორების ზემოქმედების შედეგად აქსონების ზრდის ინტენსივობის გამოვლენის მიზნით ხდებოდა აქსონების და მათი კოლატერალების რაოდენობის აღრიცხვა და აქსონების სიგრძის გაზომვა. მიღებული რიცხობრივი მონაცემების ანალიზის შედეგად დადგენილი აქსონის ზრდის ინდექსი (აზი) მიუთითებს, რომ აღნიშნული ფაქტორების ზემოქმედება, იწვევს აქსონების და მათი კოლატერალების რაოდენობისა და აქსონების სიგრძის მატებას საკონტროლო, ინტაქტურ ექსპლანტატებთან შედარებით (სურ. 18).



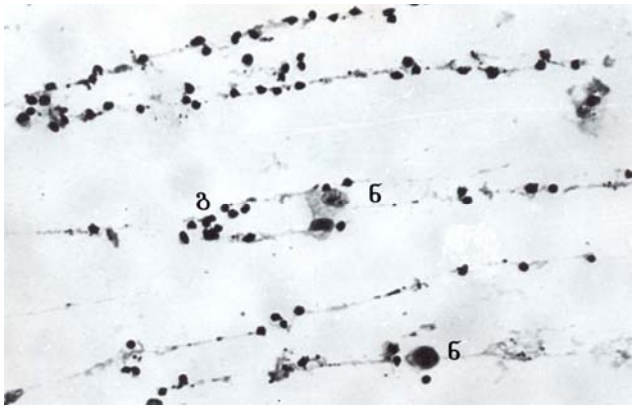
სურ. 18 აქსონების ზრდის ინდექსი სხვადასხვა სტიმულატორების ზემოქმედების შედეგად

ორგანოტიპული კულტურებისგან განსხვავებით აღდგენითი პროცესები და ჰისტოგენეზის პროცესებთან დაკავშირებული ცვლილებები განსაკუთრებით კარგად ვლინდება ზურგის ტვინის დისოცირებულ კულტურებში. მიუხედავად იმისა, რომ დისოცირების შედეგად ირღვევა ქსოვილის მთლიანობა და უჯრედები იზოლირებული არიან ერთმანეთისგან (სურ. 19,ა), ამ დროს მიმდინარე რეგენეგაციისა და რედიფერენცირების პროცესები ხელს უწყობენ მორჩების სისტემის აღდგენას, უჯრედების ერთმანეთთან მიახლოებას, მათ შორის კონტაქტების ფორმირებას და აგრეგატების შექმნას, რომლებიც კულტივირების მოგვიანო ეტაპებზე, ერთმანეთთან უჯრედების მორჩებით დაკავშირების შემდეგ, ქმნიან ბადისებრ სტრუქტურას (სურ. 19,ბ). დისოცირებულ კულტურებში მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ გლიური უჯრედები, რომლებიც მორჩების მეშვეობით ერთიანდებიან უჯრედულ აგრეგატებში, ან განლაგდებიან მწკრივში და ქმნიან მრავალ, პარალელურად განლაგებულ რიგებს. აღნიშნულ რიგებში ჩართულია ცალკეული მსხვილი ნერვული უჯრედებიც (სურ. 19,გ). ორიენტირებული რიგების ფორმირება იწყება ერთ-ერთი გლიური მორჩის განვითარებით, რომლის გასწვრივ მიგრირებენ დანარჩენი გლიური და ნერვული უჯრედები.





ა ბ



ბ

სურ. 19. ზურგის ტვინის 3 დღიანი დისოცირებული კულტურა.

ა – იზოლირებული უჯრედებისგან შექმნილი მონოშრე. ოკ.10,ობ.40. ინტერფერენციული კონტრასტი ნომარსკის მეთოდით.

ბ – უჯრედების მორჩებით (→) ერთმანეთთან დაკავშირებული აგრეგატები (აგ). ოკ.4. ობ.20. ვერცხლით იმპრეგნაცია ბილშოვსკის მეთოდით.

გ – ზურგის ტვინის უჯრედებით შექმნილ მონოშრეში მწკრივში განლაგებული ნერვული (ნ) და გლიური (გ) უჯრედები. ოკ.4, ობ.20.კრეზილ-ვიოლეტით შეღებვა.

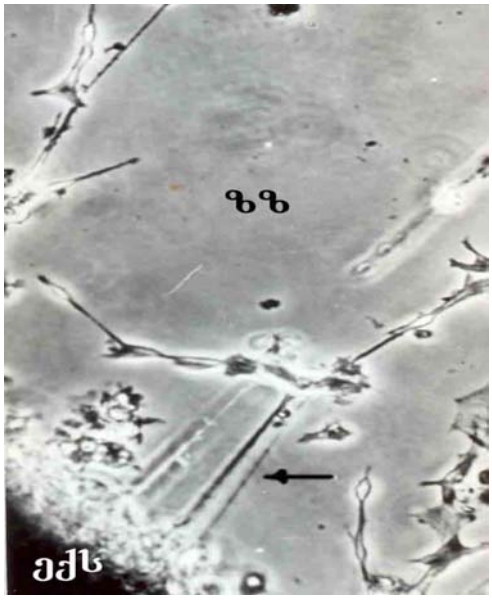
ამგვარად, ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემები გვიჩვენებენ, რომ ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ და დისოცირებულ კულტურებში კომპენსატორული და აღდგენითი პროცესების განხორციელება ხდება ნეიროგლიური ურთიერთდამოკიდებულების და მოტონეირონების და ასოციაციური ნეირონების აქსონების ორიენტირებული ზრდის ხარჯზე.

ამგვარად ჩვენს მიერ ნერვული ქსოვილის კულტივირების დროს გამოვლენილი თავისებურებები მიუთითებენ, რომ აღნიშნულ პირობებში შესაძლებელია დაკვირვება ნერვული უჯრედების დიფერენცირების პროცესში ისეთ მნიშვნელოვან პროცესებზე, როგორიცაა პროლიფერაცია, მიგრაცია, რეგენეგაცია და ბიოელექტრული აქტიურობა, რაც შესაძლებელს ხდის გამოყენებულ იქნას აღნიშნული მოდელი ნერვულ ქსოვილზე

სხვადასხვა ფაქტორების ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი ცვლილებების შესწავლის მიზნით. ამასთანავე, ლიტერატურის მონაცემების თანახმად, ეთანოლის ზემოქმედება კულტივირებულ ნერვულ და გლიურ უჯრედებზე მიმდინარეობს განვითარებადი ცნს-ის უჯრედებზე ეთანოლის ზემოქმედების ანალოგიურად (Davies, Ross, 1991; Luo , Miller, 1998), რაც გამოიხატება ეთანოლის ტოქსიკური ზემოქმედების შედეგად გლიური უჯრედების მიგრაციის და აქსონების ზრდის დათრგუნვაში in vitro და ცნს-ის განვითარების შეფერხებაში in vivo (Guerri et al., 1990; Davies, Ross, 1991; Robinson, Mair, 1992; Luo, Miller, 1998).

1. 2. ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული აქსონების ზრდისა და გლიური უჯრედების ცვლილებები და მათი კორექცია

ლიტერატურის მრავალრიცხოვანი მონაცემები მიუთითებენ, რომ ეთანოლი ციტოტოქისიკურ ზემოქმედებას ახდენს ნეირონების ზრდასა და დიფერენცირებაზე კულტივირების პირობებში. ჩვენს მიერ ჩატარებულ ექსპერიმენტებში, კულტივირებული ზურგის ტვინის ექსპლანტატების საკვებ არეში ეთანოლის დამატების შემდეგ გამოვლინდა მისი დამთრგუნველი ზემოქმედება ზრდის ზონის განვითარებაზე და უჯრედშორისი კონტაქტების ფორმირებაზე, რაც გამოიხატება გლიური უჯრედების მიგრაციის და აქსონების ზრდის ინჰიბირებაში. ზრდის ზონაში აღინიშნა მხოლოდ რამდენიმე გლიური უჯრედი და ექსპლანტატის პერიფერიაზე განლაგებული ცალკეული აქსონები (სურ.20) საკონტროლო ექსპლანტატებისგან განსხვავებით, სადაც ზრდის ზონა მთლიანად დაფარული იყო ექსპლანტატიდან მიგრირებული გლიური უჯრედებით და აქტიურად მზარდი აქსონებით.



ა ბ

სურ.20. ეთანოლის ზემოქმედება ზურგის ტვინის კულტურაზე.

ა –გლიური უჯრედების რედუქცია ზურგის ტვინის 48 სთ ექსპლანტატის (ექს) ზრდის ზონაში (ზზ),

ბ – აქსონები (→) ექსპლანტატის (ექს) ზრდის ზონაში (ზზ). ოკ.10, ობ.210.ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი.

ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად განვითარებული უჯრედების დაზიანება იწვევს მათ დაღუპვას, რაც განაპირობებს გლიური უჯრედების რაოდენობის მკვეთრად შემცირებას, ხოლო აქსონების ზრდის ინტენსივობის შემცირება შესაძლოა გამოწვეული იყოს ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად იმ ფაქტორის ზემოქმედების შესუსტებით, რომელიც განსაზღვრავს აქსონების ზრდას ექსპლანტატიდან ზრდის ზონაში.

ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოწვეული დესტრუქციული ცვლილებების ნორმალიზების მიზნით ზურგის ტვინის ორგანოტიპური კულტურის საკვებ არეში ეთანოლთან ერთად ვამატებდით ანტიოქსიდანტებს, ცდების ერთ სერიაში პლაფერონ ლბ-ს, ხოლო მეორე სერიაში – დოლივინს. აღნიშნული პრეპარატების გამოყენება განპირობებული იყო მათი შემდეგი მახასიათებლებით:

ადამიანის პლაცენტიდან სინთეზირებული სამამულო პრეპარატი, პლაფერონი ლბ, შეიცავს მოქმედების ფართო სპექტრის მქონე ბიოლოგიურად აქტიურ პეპტიდებს, რომლებიც განაპირობებენ მის ნეიროტროფულ თვისებებს (Микеладзе и др., 1995; Митагвария и др. 1996).

პლაფერონი ლბ (პლაცენტური ინტერფერონი) წარმოადგენს ლეიკოციტური ინტერფერონის ანალოგს, თუმცა განსხვავდება მისგან სხვადასხვა თავისებურებებით. კერძოდ, იგი ავლენს ანტიჰიპოქსიურ თვისებებს, არ ახასიათებს სახეობრივი სპეციფიკურობა, რის გამოც ადამიანის პლაცენტიდან მიღებული პრეპარატი აქტიურ ზემოქმედებას ახდენს სხვადასხვა ექსპერიმენტულ ცხოველებზე.

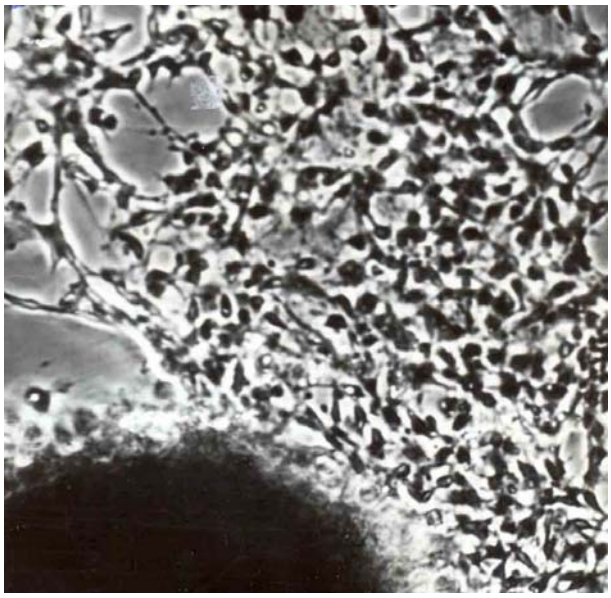
In vitro კვლევებით გამოვლენილ იქნა, რომ მიტოქონდრიებზე მისი დამატება იწვევს ჟანგბადის მოხმარების და ატფ-ის სინთეზის სტიმულირებას (Ягужинский и др., 1995). მრავალი ექსპერიმენტის შედეგად გამოვლენილ იქნა, რომ პლაფერონი ლბ ცვლის უჯრედშიდა მესენჯერების მეტაბოლიზმს, იგი თრგუნავს პროტეინკინაზა C-ს

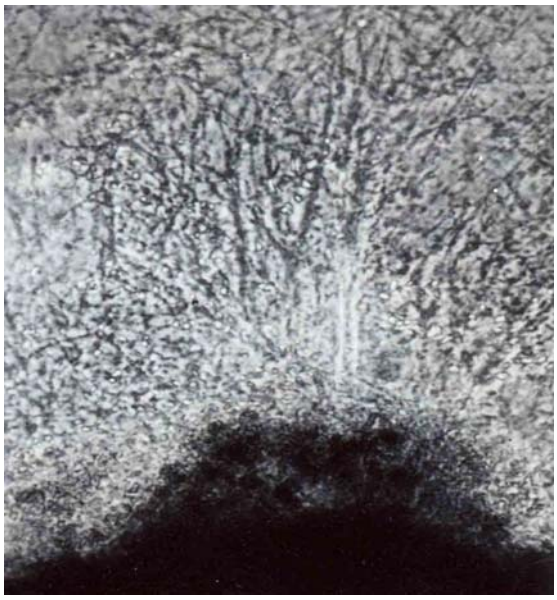
აქტიურობას, რომელიც მონაწილეობს უჯრედში მიმდინარე ყველა მეტაბოლურ პროცესში.

პლაფერონ ლბ-ს იმუნომამოდულირებელი ზემოქმედება ორგანიზმზე გამოხატულია პრაქტიკულად ყველა დონეზე, მას გააჩნია ანტიჰიპოქსიური თვისებები,^რის გამოც მას შესწევს უნარი შეამციროს ქსოვილის მიერ ჟანგბადის მოხმარება ჰიპოქსიის პირობებში (Ягужинский и др., 1995). ამდენად მიზანშეწონილია მისი გამოყენება ეთანოლით ინტოქსიკაციის დროს, როდესაც ქსოვილების დაზიანების ერთ-ერთი მთავარი ფაქტორია ჰიპოქსია.

დოლივინის ძირითად შემადგენელ კომპონენტს –ჰიპოქსენს, პოლიფენოლური სტრუქტურის გამო, გააჩნია ძლიერი ელექტრონულ - აქცეპტორული თვისებები, რაც განაპირობებს მის ანტირადიკალურ და ნეიროპროტექტულ თავისებურებებს (Чернов и др., 2001), ხოლო ფარმაკოდინამიკურობის მიხედვით იგი უახლოვდება ციტოქრომ C-ს და უბიქინონს. ჰიპოქსენის მოლეკულის მცირე ზომის გამო (მოლ.მ. 568+216), მისი ეფექტურობა ათჯერ აღემატება აღნიშნული ნივთიერებებისას (Попов, 1999). ამიტომ, განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია მისი გამოყენება ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული დარღვევების ლიკვიდაციის მიზნით. დოლივინის შემადგენლობაში ჰიპოქსენის გარდა შედის A და E ჯგუფის ვიტამინები, რომლებსაც ასევე შესწევთ უნარი დაიცვან უჯრედები თავისუფალი რადიკალების ზემოქმედებისგან (Schmidley, 1990).

პლაფერონ ლბ-ს დამატება კულტივირებული ზურგის ტვინის საკვებ არეში, როგორ ადრე აღვნიშნეთ, იწვევს აქსონების ზრდის სტიმულირებას, ხოლო ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ კულტურაზე მასთან ერთდროულად ეთანოლის ზემოქმედების შედეგადაც აღინიშნება გლიური უჯრედების აქტიური მიგრაცია (სურ. 21,ა), და მის მიერ შექმნილ მემბრანაზე აქსონების ინტენსიურ ზრდის სტიმულირება, საკონტროლო სერიის კულტურების ანალოგიურად. მოტონეირონების ერთმხრივ მიმართული, აქტიურად მზარდი აქსონები, რომლებიც ექსპლანტატის გარშემო ქმნიან კარგად განვითარებულ ნეირიტულ ქსელს, ფართო კონებად გაერთიანების შემდეგ ვრცელდებიან ზრდის ზონაში საკმაოდ დიდ მანძილზე (სურ. 21,ბ).





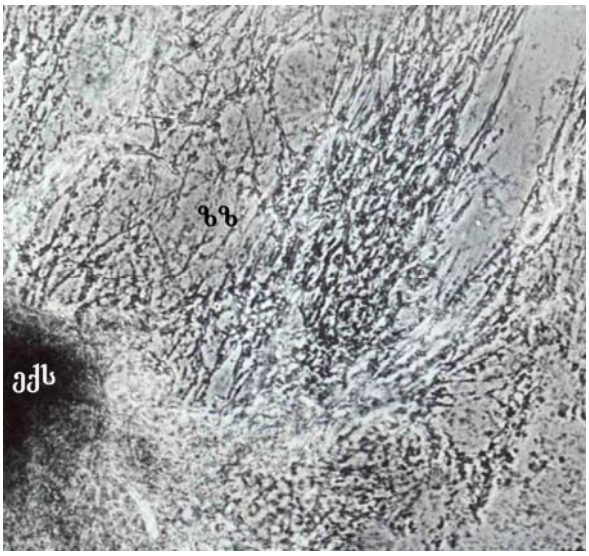
ა ბ

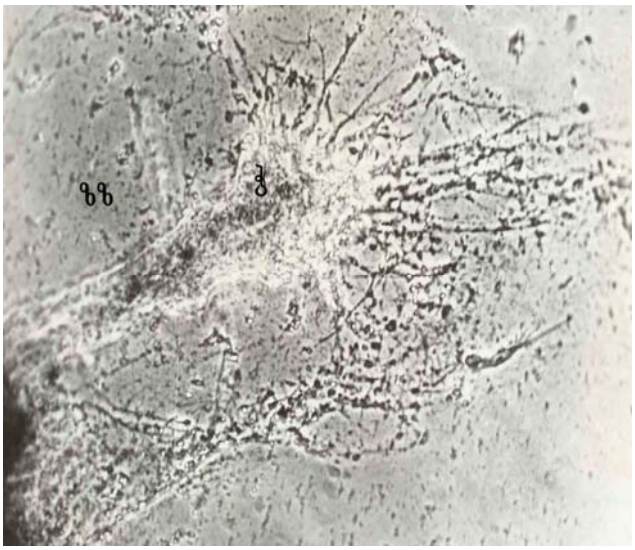
სურ.21. ეთანოლის და პლაფერონ ლბ-ს ზემოქმედება ზურგის ტვინის 3 დღიან ექსპლანტატებზე.

ა – გლიური უჯრედების აქტიური მიგრაცია ზრდის ზონაში. ოკ.10,ობ.40.

ბ – მოტონეირონების აქსონების ინტენსიური ზრდა ზრდის ზონაში. ოკ.10,ობ.20. ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი.

კულტურების შემდეგ სერიაში, საკვებ არეში ეთანოლთან ერთად დოლივინის დამატების შემდეგ, ასევე გამოვლინდა ამ პრეპარატის მასტიმულირებელი ზემოქმედება. ექსპლანტატიდან დიფუზურად მზარდი აქსონების ფართო კონები ვრცელდებიან საკმაოდ დიდ მანძილზე და მთლიანად ფარავენ ზრდის ზონას. ამგვარად განვითარებულ ნეირიტულ ბადეში ზოგჯერ აღინიშნება მსხვილი ნერვული ჭიმები, რომელთა პერიფერიული უბნიდან აქტიურად იზრდებიან აქსონები, კარგად განვითარებული კოლატერალებით, ძლიერდება სპრაუტინგი, ზრდის ზონაში ვლინდება აგრეთვე ექსპლანტატიდან გლიური უჯრედების აქტიური მიგრაცია. ზოგიერთი გლიური უჯრედი განლაგებულია მზარდი აქსონების და მათი კოლატერალების გასწვრივ (სურ. 22).





ა ბ

სურ. 22. ეთანოლის და დოლივინის ზემოქმედება ზურგის ტვინის 3 დღიან ექსპლანტატებზე.

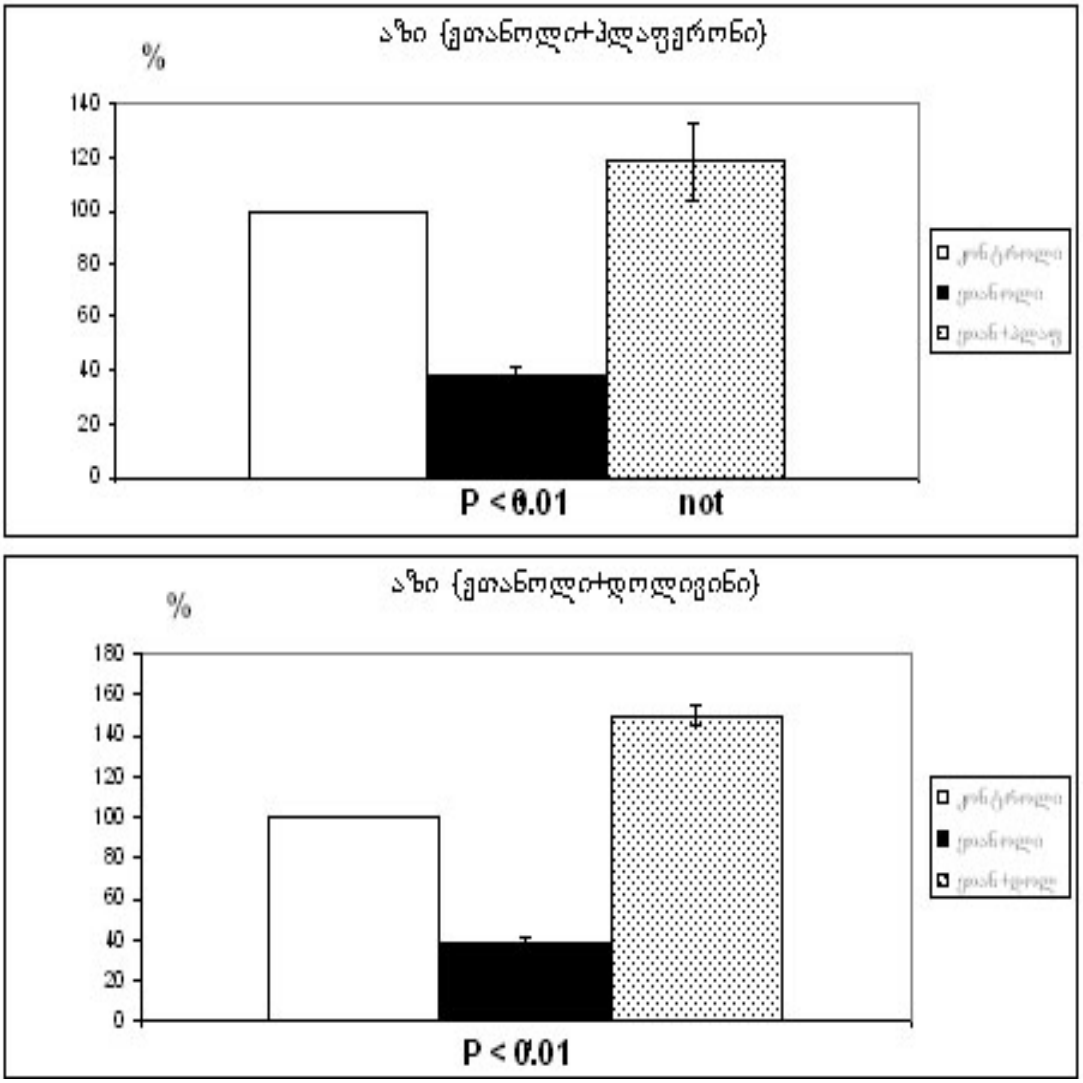
ა –აქსონების დიფუზური ზრდა (→) ზურგის ტვინის ექსპლანტატის (ექს) ზრდის ზონაში (ზზ).

ბ – ნერვული ჭიმი (ჭ) ზურგის ტვინის ექსპლანტატის ზრდის ზონაში (ზზ), აქსონების ინტენსიური ზრდა. ოკ.10, ობ.20. ფაზურ-კონტრასტული მიკროსკოპი.

კულტივირების პროცესში ზრდის ზონის განვითარების ხარისხის შეფასების შედეგად გამოვლინდა, რომ სტანდარტულ პირობებში კულტივირებული ექსპლანტატების საერთო რიცხვის 38% წარმოდგენილია კარგად განვითარებული ზრდის ზონით. ეთანოლის დამატების შემდეგ კლებულობს ამგვარი ექსპლანტატების რიცხვი და ექსპლანტატები, სადაც ზრდის ზონა შეიცავს გლიური უჯრედების და მზარდი აქსონების უმნიშვნელო რაოდენობას, წარმოდგენილია საერთო რაოდენობის 9%-ით ($P<0.01$). პლაფერონ ლბ-ს ან დოლივინის ეთანოლთან ერთდროული ზემოქმედების შემდეგ, იმ ექსპლანტატების რაოდენობა, რომელთა ზრდის ზონაში აღინიშნება გლიური უჯრედების აქტიური მიგრაცია და აქსონების ინტენსიური ზრდა, აღწევს კულტურების საერთო რაოდენობის 50% ($P<0.01$).

აქსონების ზრდის ინტენსივობის დადგენის მიზნით, საკონტროლო და საცდელი პრეპარატების ზრდის ზონაში, ვზომავდით აქსონების სიგრძეს, მათი გავრცელების ხარისხს და ზრდის ინდექსს (აზი). რიცხობრივი მონაცემების ანალიზის შედეგად

გაირკვა, რომ პლაფერონი ლბ და დოლივინი თრგუნავენ ეთანოლით გამოწვეულ ციტოტოქსიკური ეფექტს. ორივე შემთხვევაში, ეთანოლთან ერთად მათი ზემოქმედების შედეგად ყველა აღნიშნული პარამეტრი აჭარბებს ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად მიღებულ მონაცემებს (სურ. 23).



სურ 23

ამგვარად, ზურგის ტვინის კულტივირების მოდელურ ექსპერიმენტებში გამოვლენილ იქნა, რომ ეთანოლის ციტოტოქსიკური ზემოქმედება მნიშვნელოვნად თრგუნავს ნერვული უჯრედების აქსონების ზრდას და გლიური უჯრედების მიგრაციულ აქტიურობას, ხოლო ეთანოლთან ერთად პლაფერონის და დოლივინის

საკვებ არეში დამატების შემდეგ გამოვლენილ იქნა ამ პრეპარატების პრევენციული უნარი, რაც გამოიხატებოდა ეთანოლის დესტრუქციული მოქმედების ინჰიბირებაში და კულტივირების პროცესების ნორმალიზებაში.

1. 3. კულტივირებული ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ეპრ სპექტროსკოპული ანალიზი ეთანოლის და ანტიოქსიდანტების ზემოქმედების შედეგად

ცნობილია, რომ ეთანოლი ხასიათდება ციტოტოქსიკური ზემოქმედებით ნერვულ სისტემაზე, უარყოფითად მოქმედებს ნეირონების ზრდაზე და დიფერენცირებაზე მათი კულტივირების პირობებში. ეთანოლის ზემოქმედება განაპირობებს ნერვულ და გლიურ უჯრედებში თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნას, რომლებიც იწვევენ უჯრედების მეტაბოლიზმის დათრგუნვას.

უჯრედების პროლიფერაციის, დიფერენცირების და სიკვდილის პროცესების რეგულირებაში მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება უჯრედშიდა და უჯრედშორის რეტროგრადულ მესენჯერს აზოტის ჟანგს (NO) (Krischel et al., 1998; Schon, Ruzicka, 2001), რომელიც წარმოადგენს პოლიფუნქციურ მაღალრეაქტიულ მოლეკულას და სხვადასხვა ფერმენტების ნიტროზილირების ან ნიტრირების საშუალებით, არეგულირებს მათ აქტიურობას (აინჰიბირებს ან ააქტივებს) და ამ გზით მონაწილეობს უჯრედული მეტაბოლიზმის მოდულაციაში (Cheah et al., 2006; Lopachin, Barber, 2006; Cotter, 2005). NO-ს მოქმედების დუალური ხასიათი მნიშვნელოვანწილად დამოკიდებულია მისი სინთეზის ინტენსივობაზე, და გარემომცველი არის რედოქს-სტატუსზე (Whiteman et al., 2006; Kim et al., 2002; Choi et al., 2002).

ქათმის ემბრიონის ზურგის ტვინის ექსპლანტატების 3-დღიანი ინტაქტური კულტურის ეპრ სპექტროსკოპული კვლევის შედეგად გამოვლენილია ინტენსიური სპინმონიშნული თავისუფალი NO-ს ეპრ სიგნალი კარგად გამოხატული აქსონების ზრდის და გლიური უჯრდების მიგრაციის ფონზე. აქსონების ინტენსიური ზრდა და გლიური უჯრდების მიგრაციის ინტენსივობის მკვეთრი გაძლიერება ჩვენს მიერ გამოვლენილ იქნა აგრეთვე ზურგის ტვინის ასევე ინტაქტური კულტურის საკვებ არეში პლაფერონ ლბ-ს დამატების შემდეგ. ამ შემთხვევაში ეპრ სპექტროსკოპულმა კვლევამ

აჩვენა თავისუფალი NO-ს ეპრ სიგნალის ინტენ-სივობის ზრდა 66,6%-ით საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით (ცხრილი 1).

ცხრილი 1

ელექტრული პარამაგნიტური რეზონანსის სპექტრები in vitro

	NO	HbNO	OOO_2^-
კონტროლი	30,0 ± 6,6	_	_
პლაფერონ ლბ	50,0 ± 10,0	_	3,0 ± 3,0
ეთანოლი	105,0 ± 20,0	+	31,5 ± 1,5
ეთანოლი+პლაფ.	70,0 ± 10,0	_	_

ექსპლანტანტების ეთანოლის შემცველ საკვებ არეში კულტივირებისას გამოვლენილი აქსონების განვითარებისა და უჯრედების მიგრაციის დათრგუნვის ფონზე (სურ. 18), სპინმონიშნული თავისუფალი NO-ს და HbNO-კომპლექსების ეპრ სიგნალის ცვლილებების ეპრ სპექტროსკოპული კვლევისას, გამოვლინდა NO-ს წარმოქმნის ძლიერი ინტენსიფიკაცია, რაც სპინმონიშნული NO-ს და HbNO-კომპლექსების ინტენსიური ეპრ სიგნალების გამოჩენით ვლინდება. ამ დროს ექსპლანტატების ეპრ სპექტრში აღინიშნება აგრეთვე სუპეროქსიდრადიკალების ინტენსიური ეპრ სიგნალი. თავისუფალი რადიკალების აღნიშნული ციტოტოქსიკური ზემოქმედება იწვევს ზრდის ზონის განვითარების დათრგუნვას, რაც გამოიხატება ზრდის ზონაში გლიური უჯრედების მიგრაციის შეფერხებასა და ერთეული აქსონების არსებობაში.

მრავალი მკვლევარის მიერ ნაჩვენებია, რომ პლაფერონ ლბ-ს გააჩნია ქსოვილებში NO-ს სინთეზის მოდულირების (Гонгадзе, 2004; Мамамтавришвили, 2003; Мегреладзе, и др., 2003) და ჟანგვითი პროცესების ინტენსივობის რეგულირების (Rukhadze et al., 1998; Мамамтавришвили, 2003; Мегреладзе, и др., 2003) უნარი. გამოვლენილია ამ პრეპარატის რედოქს-დამოკიდებული პრო- და ანტიაპოპტოზური აქტიურობა (Bakhutashvili et al., 2001), დადგენილია მისი პროფილაქტიკური და სამკურნალო ნეიროტროფული

მოქმედება სხვადასხვა დაავადებების (ინსულტების, ალკოჰოლიზმის, პერეფერიული ნერვის დაბოლოების დაზიანების) დროს (Mitagvaria et al., 2001, Beridze et al., 2005).

ყოველივე ზემოთაღნიშნულის გამო, ეთანოლის ნეიროტოქსიკური ზემოქმედების შესუსტების მიზნით, ზურგის ტვინის ექსპლანტატების საკვებ არეში ვამატებდით პლაფერონ ლბ-ს. ეპრ სპექტროსკოპულმა კვლევამ აჩვენა, რომ ექსპლანტატების ეპრ სპექტრში თავისუფალი NO-ს ეპრ სიგნალის ინტენსივობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ მცირდებოდა და თითქმის აღწევდა პლაფერონ ლბ-ს ზემოქმედებისთვის დმახასიათებელ დონემდე, მაშინ როდესაც HbNO-კომპლექსების და სუპროქსიდრადიკალების ეპრ სიგნალები არ ვლინდებოდა. ეთანოლის ტოქსიკური მოქმედების შესუსტება და აქსონების ზრდის სტიმულაცია პლაფერონ ლბ-ს ზემოქმედების შედეგად მტკიცდება ნეირონების ზრდის ინდექსის მაჩვენებლის მნიშვნელობის ზრდით (სურ. 23).

ჩვენს მიერ ზურგის ტვინის ექსპლანტატების in vitro მოდელზე, ეპრ სპექტროსკოპული მეთოდის გამოყენებით მიღებული მონაცემების თანახმად, პლაფერონ ლბ-ს ზემოქმედების შედეგად შესაძლებელია ეთანოლის ნეიროტოქსიკური ზემოქმედების შესუსტება.

ამგვარად, ზურგის ტვინის კულტივირების მოდელურ ექსპერიმენტებში გამოვლენილ იქნა, რომ ეთანოლის ციტოტოქსიკური ზემოქმედება მნიშვნელოვნად თრგუნავს ნერვული უჯრედების აქსონების ზრდას და გლიური უჯრედების მიგრაციულ აქტიურობას, ხოლო ეთანოლთან ერთად პლაფერონის ან დოლივინის საკვებ არეში დამატების შემდეგ გამოვლენილ იქნა ამ პრეპარატების პრევენციული უნარი, რაც გამოიხატებოდა ეთანოლის დესტრუქციული მოქმედების ინჰიბირებაში და კულტივირების პროცესების ნორმალიზებაში.

2. თავის ტვინის ქერქის ნერვული და გლიური უჯრედების თავისებურებები ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად და მათი კორექცია in vivo პირობებში.

2. 1. ლიმბური და მოტორული ქერქის ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის ცვლილებები და მათი კორექცია

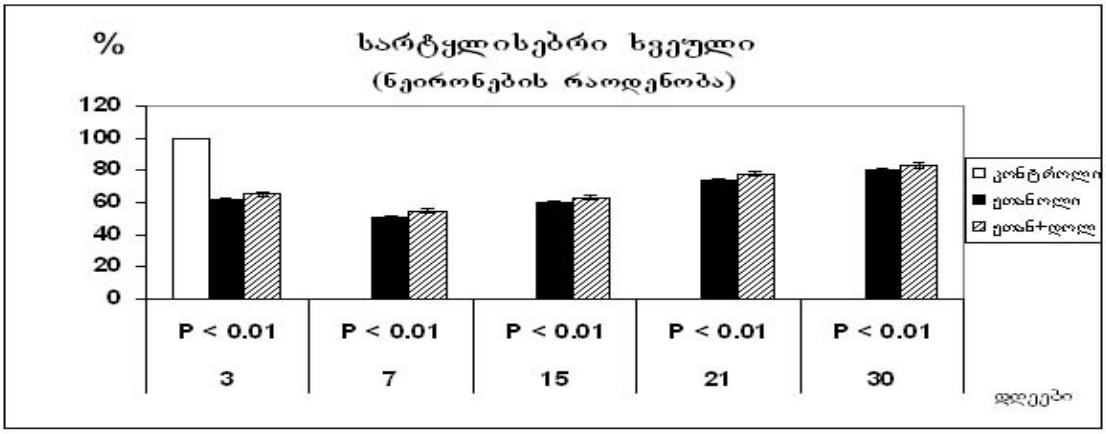
ორგანიზმის პრე- და პოსტნატალური განვითარების პროცესში ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად, თავის ტვინის ნეირობლასტების მიტოზური და მიგრაციული აქტიურობის პროცესების დათრგუნვა და შესაბამისად, მათი დიფერენცირების პროცესის შეფერხება, განაპირობებს ქერქული და ქერქქვეშა სტრუქტურების ჩამოყალიბებაში მონაწილე ნერვული უჯრედების რაოდენობის შემცირებას, რაც ასევე იწვევს ცვლილებებს ცხოველთა ქცევაში (Ba et al., 1996; Guerri et al., 2002).

ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, ინტერსს იწვევს ცნს-ის განვითარების პროცესში, კერძოდ, პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე, როდესაც მიმდინარეობს ქერქის სტრატიფიკაცია, როგორ იცვლება ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობა ეთანოლის ზემოქმედების დროს.

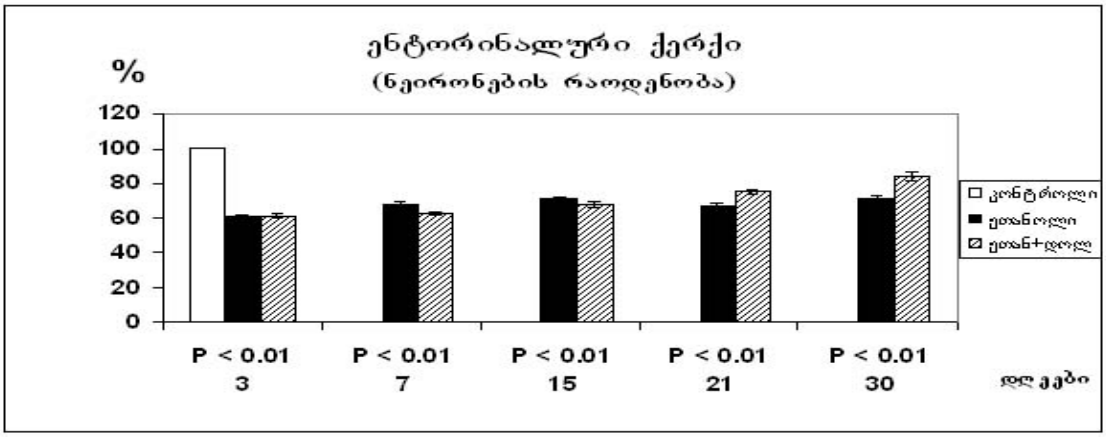
ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის ცვლილებების შესწავლამ იმ ვირთაგვების თავის ტვინის ლიმბურ (სარტყლისებრი ხვეული და ენტორინალური ქერქი) და მოტორულ ქერქში, რომელთა დედები იმყოფებოდნენ ეთანოლით ინტოქსიკაციის ქვეშ მაკეობის და ნაშიერების დაბადებიდან ერთი თვის განმავლობაში, გვიჩვენა, რომ ნერვული უჯრედების რაოდენობა ქერქის სამივე შესწავლილ უბანში ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად მცირდება საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით (სურ. 24). აღნიშნული უბნებიდან ყველაზე მეტად (51%-ით) უჯრედების რაოდენობა კლებულობს სარტყლისებრ ხვეულში P7 ($P<0.01$) (სურ. 24ა), ენტორინალურ და მოტორულ ქერქშიც შემცირებული უჯრედების რაოდენობა ყველა შესწავლილ ეტაპზე ძირითადად მერყეობს 20-40%-ის ფარგლებში ($P<0.01$) (სურ. 24,ბ,გ).

უჯრედების რაოდენობა საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით კლებულობს პოსტნატალური განვითარების ყველა ეტაპზე (P3, P7, P15, P21 ,P30), თუმცა სხვადასხვა ეტაპზე იგი განსხვავებულადაა წარმოდგენილი. უჯრედების რაოდენობის შემცირება უფრო მეტად არის გამოხატული პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე (P3, P7) ($P<0.01$), შემდეგ ეტაპებზეც კლებულობს უჯრედების რაოდენობა, მაგრამ ნაკლები ხარისხით (სურ. 24). აღსანიშნავია, რომ

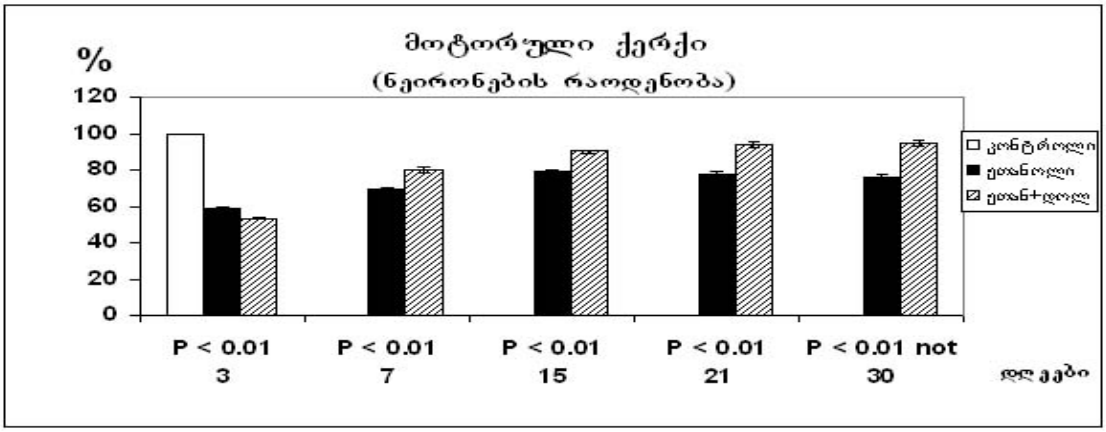
სარტყლისებრ ხვეულში პოსტნატალური განვითარების ბოლო ეტაპებზე (P21 და P30) (P<0.01) უჯრედების ნაკლები რაოდენობა ზიანდება (სურ. 24,ა), რაც შესაძლოა გამოწვეული იყოს აღდგენითი პროცესებით მოცემულ ეტაპზე. ანალოგიურად არის წარმოდგენილი უჯრედების რაოდენობის ცვლილება მოტორულ ქერქშიც (სურ. 24,გ).



ა



გ



გ

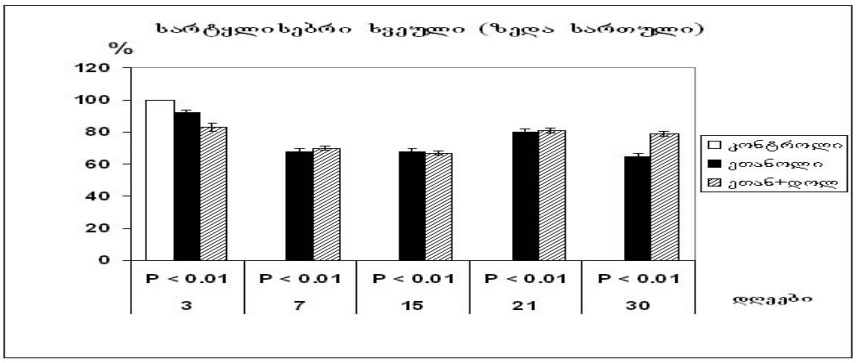
სურ. 24

პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე თავის ტვინის ქერქის სტრატიფიკაცია ჯერ კიდევ გრძელდება და შრეების ფორმირება არ არის დამთავრებული,^ამიტომ უჯრედების რაოდენობის ცვლილებას ვიკვლევდით ქერქის ზედა და ქვედა სართულებში,^რომლებიც შემდგომში შეესაბამებიან I-III და IY-YI შრეებს.

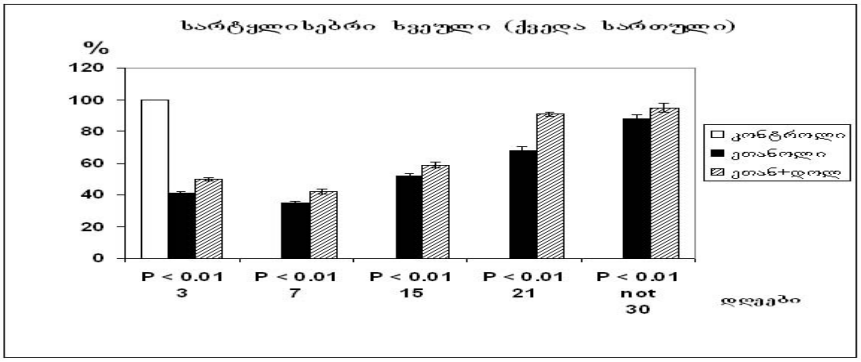
ჰისტოგენეზის პროცესში მყოფი, ჯერ კიდევ ჩამოუყალიბებელი ქერქის მიმართულებით ნეირობლასტების მიგრაცია პარკუჭებიდან ხორციელდება ჯერ ქერქის ქვედა,^ხოლო შემდეგ კი ზედა შრეებში, ამასთან პირველად წარმოიქმნებიან მსხვილი ნეირონები, რომლებიც ავსებენ ქერქის ქვედა შრეებს, ხოლო შემდგომში, საშუალო და მცირე ზომის ნეირობლასტები, რომელთა ხარჯზე ხდება ქერქის ზედა შრეების ფორმირება.

ალკოჰოლურმა ინტოქსიკაციამ მნიშვნელოვანი გავლენა იქონია ნეირონების მიგრაციაზე და მათ შემდგომ განლაგებაზე თავის ტვინის ქერქის ორივე,^ზედა და ქვედა სართულებში. განვითარების სხვადასხვა ეტაპზე უჯრედების რაოდენობის განსაზღვრა საშუალებას იძლევა გამოვლენილ იქნას ეთანოლის ზემოქმედება ნეირონების მიგრაციის პროცესზე, ვინაიდან მისი მიმდინარეობა განსაზღვრავს ქერქის საბოლოო სტრატიფიკაციასა და ფორმირებას.

ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული უჯრედების რაოდენობის ცვლილებების ანალიზის შედეგად გაირკვა, რომ აღნიშნული ზემოქმედების მიმართ განსაკუთრებით მგრძნობიარე აღმოჩნდა ქერქის ქვედა სართული, რაც შესაბამისად გამოიხატა რიცხობრივ მონაცემებში. ქერქის სამივე უბანში, პოსტნატალური განვითარების თითქმის ყველა ეტაპზე, უჯრედების საერთო რაოდენობის შემცირება მიმდინარეობს ქვედა სართულის უჯრედების შემცირების ხარჯზე. ასე მაგალითად, სარტყლისებრ ხვეულში პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე (P3,P7,P15) ქვედა სართულში უჯრედების რაოდენობა მცირდება 59%, 65%, 48%-ით ($P<0.01$) (სურ. 25,ბ), მაშინ როდესაც ზედა სართულში უჯრედების რაოდენობა P7 და P15-ზე 32%-ით კლებულობს, ხოლო P3-ზე უჯრედების რაოდენობა მხოლოდ 8%-ით მცირდება ($P<0.01$) (სურ. 25,ა).



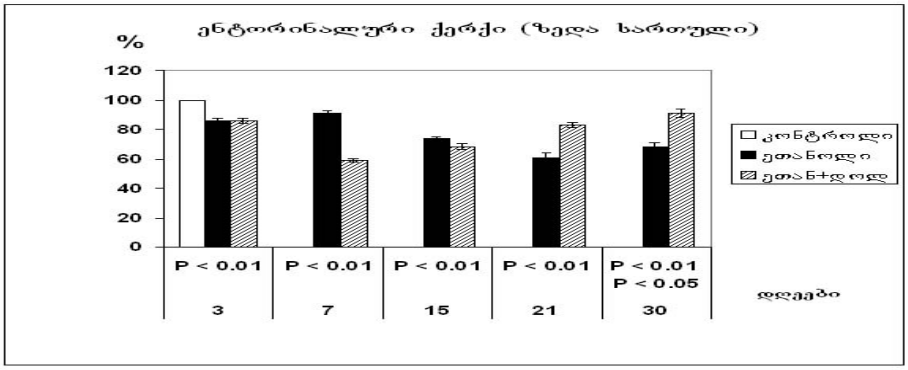
ა



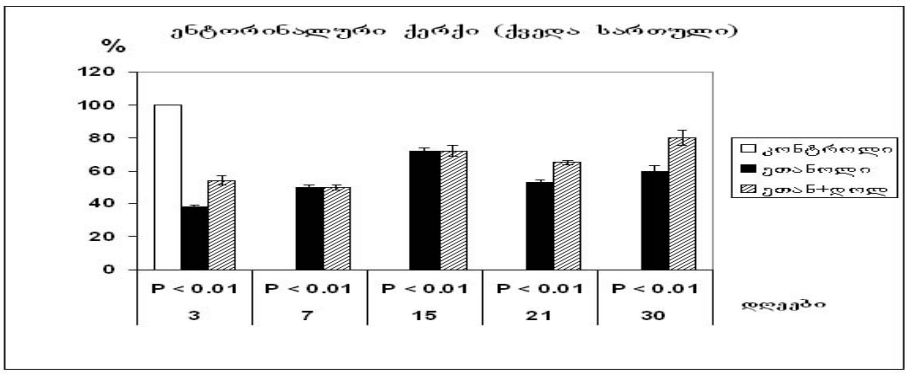
ბ

სურ. 25

ენტორინალურ ქერქში მეტნაკლებად იგივე სურათი მეორდება, ქვედა სართულში უჯრედების რაოდენობის შემცირება 62-50%-ით (სურ. 26,ბ) P3 და P7-ზე მიმდინარეობს ზედა სართულში ნეირონების საერთო რაოდენობის 10-15%-ით შემცირების ფონზე (P<0.01) (სურ. 26,ა), შემდგომ ეტაპებზე აღნიშნული პროცესი თითქმის გათანაბრებულია.



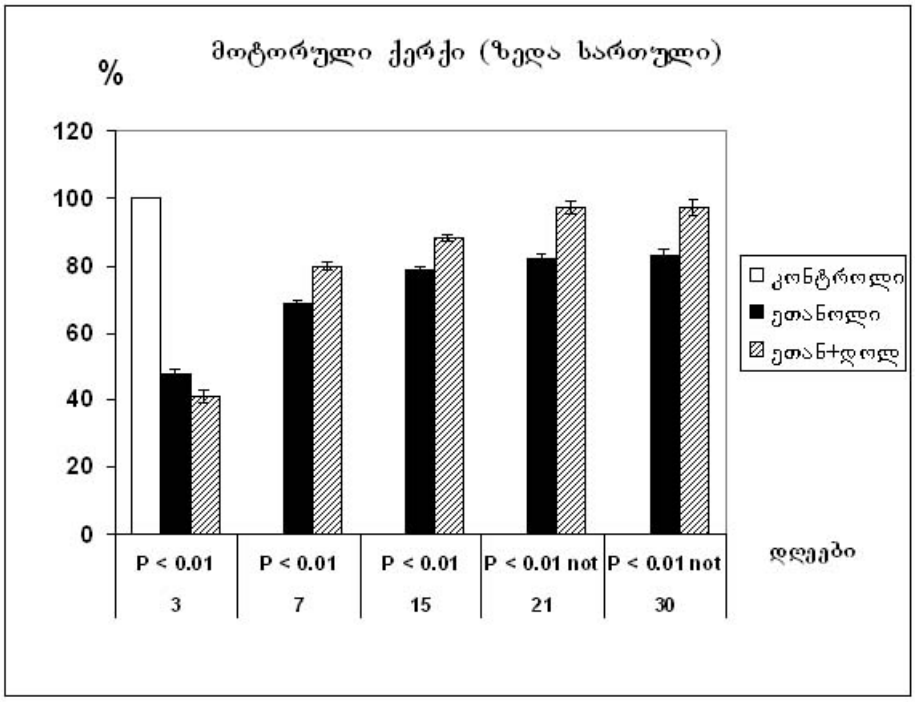
ა



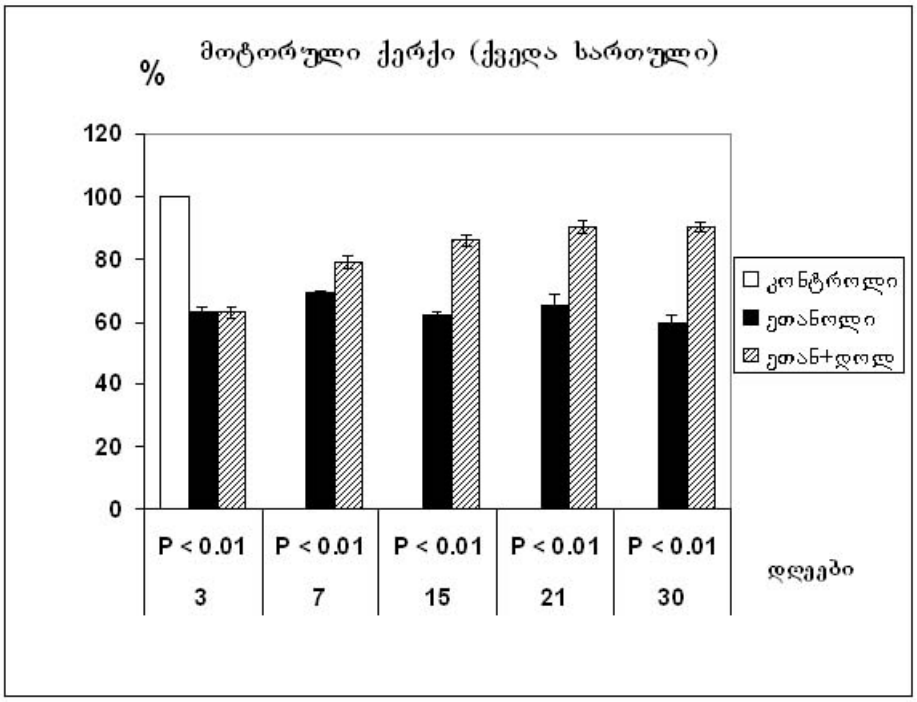
ბ

სურ. 26

მოტორულ ქერქშიც უჯრედების რაოდენობის შემცირება ასევე მეტად არის გამოხატული ქვედა სართულში, თუმცა რამდენადმე განსხვავებული ცვლილებები აღინიშნება პოსტნატალური განვითარების სხვადასხვა ეტაპებზე. კერძოდ, ქვედა სართულში ყველა ეტაპზე უჯრედების რაოდენობა შემცირებულია კონტროლთან შედარებით თუმცა ერთნაირად არის გამოხატული და მერყეობს 30-40%-ის ფარგლებში, (სურ. 27,ბ). ზედა სართულში უჯრედების რაოდენობა განსაკუთრებით (52%-ით) კლებულობს P3-ზე, ხოლო დანარჩენ ეტაპებზე 20-30%-ით (P<0.01) (სურ. 27,ა).



ა



ბ

სურ. 27

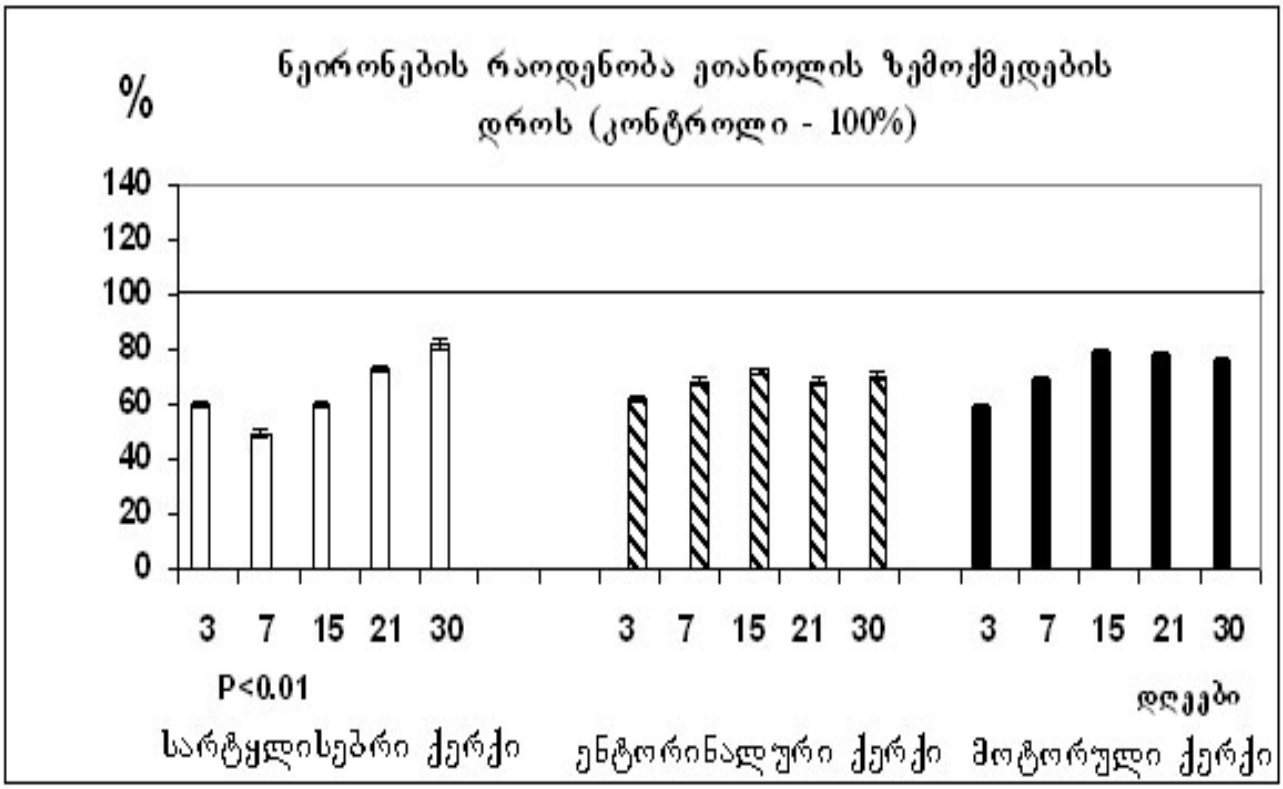
ამგვარად, გამოვლინდა, რომ ქერქის სამივე უბანში უჯრედების რაოდენობის შემცირება ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად ხორციელდება ქერქის ქვედა სართულის უჯრედების რაოდენობის შემცირების ხარჯზე.

ინტაქტური ცხოველების ლიმბურ და მოტორულ ქერქში უჯრედების რაოდენობის განსაზღვრის შედეგად პოსტნატალური განვითარების სხვადასხვა ეტაპებზე გამოვლენილ იქნა, რომ უჯრედების გადანაწილება თავის ტვინის ქერქში, პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე, ექვემდებარება იმ კანონზომიერებას, რომელიც დამახასიათებელია ზოგადად ქერქის ფორმირებისთვის აღნიშნულ პერიოდში.

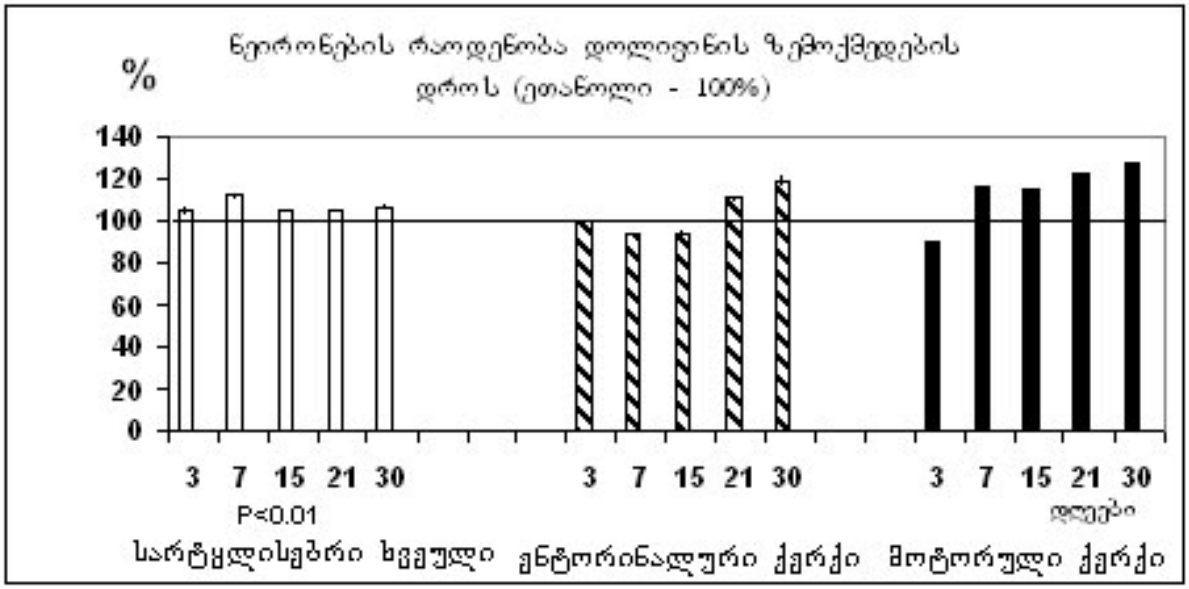
მანტიის შრეში პროლიფერაციის შედეგად წარმოქმნილი და შემდგომში ქერქისკენ მიგრირებული ნეირობლასტების საკმაოდ დიდი პოპულაცია, რომელიც წარმოიქმნება P3 დღისთვის, შემდგომ ეტაპებზე თანდათან მცირდება - ერთის მხრივ ბუნებრივი აპოპტოზის შედეგად უჯრედების დაღუპვის გამო, ხოლო მეორეს მხრივ, იმ უჯრედების მიგრაციის პროცესიდან გამოთიშვის შედეგად, რომლებიც ვერ ამყარებენ კონტაქტებს შესაბამის სამიზნე უჯრედებთან, სხვა აქსონებთან კონკურენციის გამო, და ასევე იღუპებიან. ეს პროცესი გრძელდება შემდგომ ეტაპებზე, უჯრედების რაოდენობა თანდათან მცირდება და P21 და P30 დღისთვის, მათი რაოდენობა არ იცვლება და ისინი ინარჩუნებენ შედარებით სტაბილურ დონეს. რაც შეეხება ნეირობლასტების ქერქში გადანაწილებას ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად, პოსტნატალური განვითარების სხვადასხვა ეტაპებზე, აქაც, ინტაქტურ ცხოველებში გამოვლენილი ნეირონების რაოდენობის აღნიშნული გადანაწილების მსგავსად ნეირობლასტები უფრო მეტი რაოდენობით არიან წარმოდგენილი პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე (P3,P7,P15), ხოლო P21 და P30 უჯრედების ნაკლები რაოდენობა ისევ სტაბილური დონით ხასიათდება. თუმცა, ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად, უჯრედები, რომლებიც მონაწილეობენ ქერქის სტრატიფიკაციის პროცესში, შესაბამისად უფრო მცირე რიცხვით არიან წარმოდგენილი, რის გამოც ქერქის სტრატიფიკაციაც სრულად არ ხორციელდება.

ამგვარად, მდედრი ვირთაგვების ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის შედეგად მათი ნაშიერების თავის ტვინის ლიმბურ (სარტყლისებრ ხვეულსა და ენტორინალურ) და

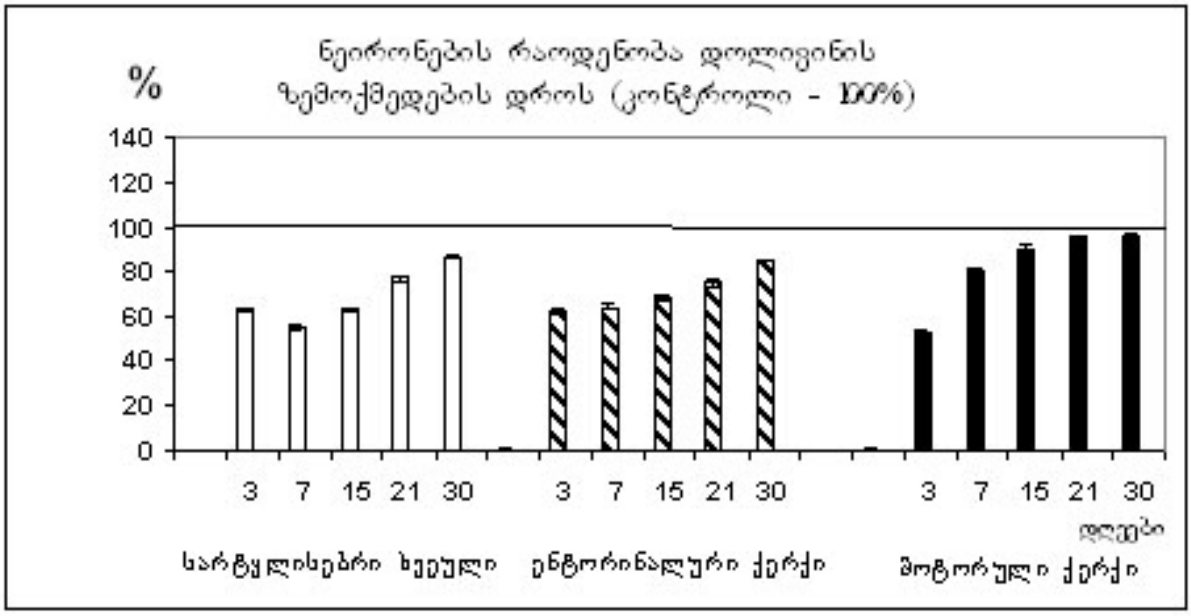
მოტორულ ქერქში პოსტნატალური განვითარების სხვადასხვა ეტაპებზე ნეირონების რაოდენობის ცვლილების და ანტიოქსიდანტის დოლივინის მეშვეობით ამ ცვლილებების კორექციის შედეგად მიღებული რიცხობრივი მონაცემების ანალიზი გვიჩვენებს, რომ სამივე შესწავლილ უბანში ცხოველების საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით ეთანოლის ზემოქმედების შემდეგ ნერვული უჯრედების რაოდენობა მნიშვნელოვნად კლებულობს (სურ. 28,ა). ეთანოლთან ერთად დოლივინის მიღების შემდეგ უჯრედების რაოდენობა მატულობს ეთანოლის ზემოქმედების შემდეგ გამოვლენილი უჯრედების რაოდენობასთან შედარებით, (ანუ, უფრო ნაკლები უჯრედები იღუპებიან), რაც განსაკუთრებით კარგად ჩანს მოტორულ ქერქში (სურ. 28,ბ). მიუხედავად იმისა, რომ დოლივინის ზემოქმედების შედეგად უჯრედების რაოდენობა არ აღდგება ცხოველების საკონტროლო ჯგუფისთვის დამახასიათებელ დონემდე, უჯრედების რაოდენობის ნაკლები რაოდენობა იღუპება და გადარჩენილი უჯრედების რიცხვი P30 დღისთვის თითქმის უახლოვდება საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებისთვის დამახასიათბელ უჯრედების რაოდენობას (სურ. 28,გ).



ა



ბ

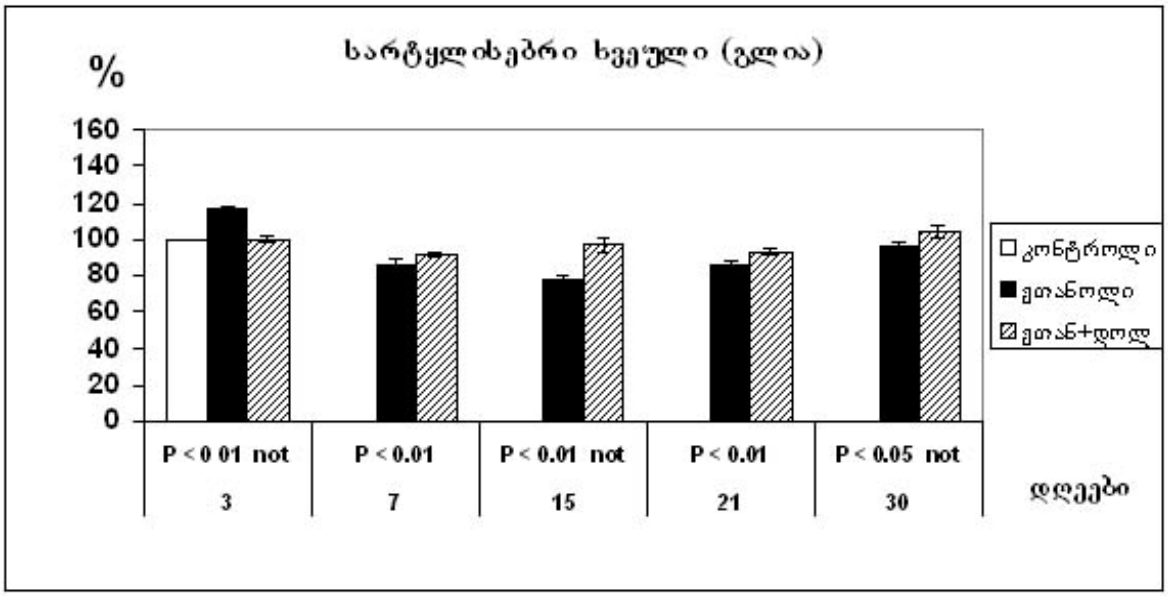


ბ

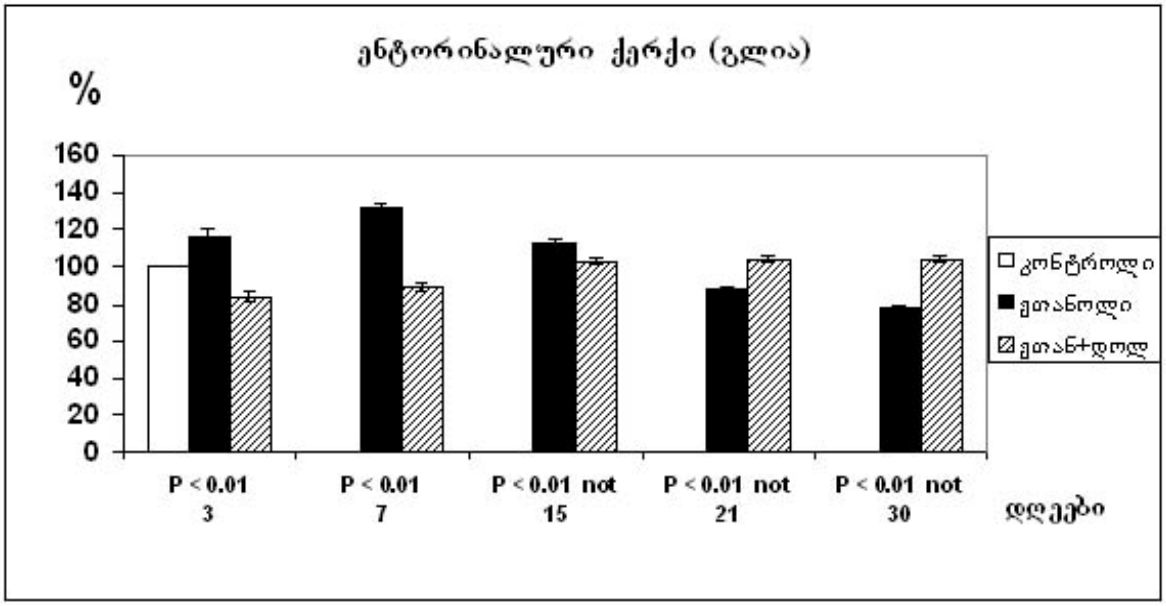
სურ. 28

ალკოჰოლიზებული მდედრი ვირთაგვების ნაშიერების თავის ტვინის ქერქში გლიური უჯრედების რაოდენობის ცვლილება განსხვავებულად არის წარმოდგენილი ქერქის სამივე უბანში. კერძოდ, სარტყლისებრ ხვეულში გლიური უჯრედების რაოდენობა ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად P3-ზე 16%-ით აჭარბებს საკონტროლო

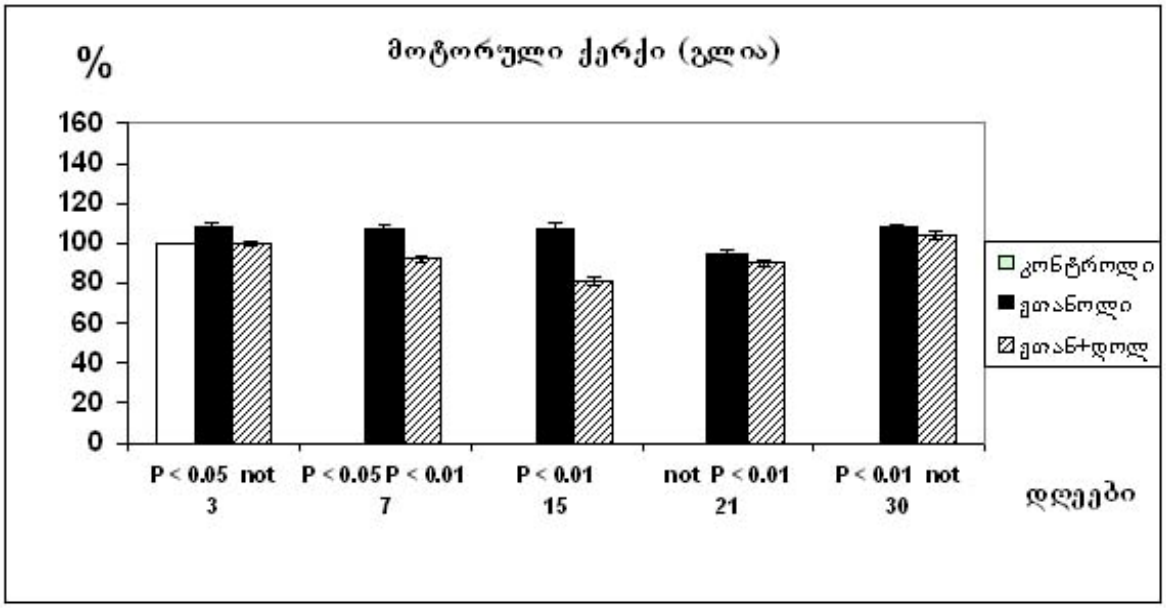
დონეს, ხოლო დანარჩენ ეტაპებზე (P7,P15,P21) შემცირებულია კონტროლთან



ა



ბ



ბ

სურ. 29

ენტორინალურ ქერქში პოსტნატალური განვითარების საწყის ეტაპებზე (P3,P7,P15) ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოვლინდა გლიური უჯრედების რაოდენობის მატება 16%, 32% და 13%-ით, ხოლო შემდეგ ეტაპებზე (P21,P30) გლიური უჯრედების რაოდენობამ დაიკლო კონტროლთან შედარებით 12-22%-ით შესაბამისად (P<0.01) (სურ. 29,ბ). მოტორულ ქერქში გლიური უჯრედების რაოდენობა ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად ყველა ეტაპზე მატულობს კონტროლთან შედარებით, უჯრედების რაოდენობა არ იცვლება P21-ზე (P<0.01) (სურ. 29,გ).

ეთანოლით პრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაციის ანალოგიურ მოდელზე ჩვენს მიერ ასევე გამოვლენილ იქნა პოსტნატალური განვითარების სხვადასხვა ეტაპებზე (P3,P15, P30) თავის ტვინის სენსომოტორული ქერქის ნერვული უჯრედების საერთო რაოდენობის შემცირება კონტროლთან შედარებით 65%, 13% და 18%-ით შესაბამისად. იგივე ეტაპებზე გამოვლენილ იქნა აგრეთვე ზურგის ტვინის წინა რქაში, მოტონეირონების რაოდენობის კლება 35%-ით, განსაკუთრებით P30-ზე (მუსერიძე და სხვ., 2003).

ამგვარად ეთანოლის პრე- და პოსტნატალურ ზემოქმედებაზე განსხვავებულად რეაგირებენ ნერვული და გლიური უჯრედები. მაშინ, როდესაც ნერვული უჯრედების რაოდენობა კლებულობს ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად, გლიური უჯრედების რაოდენობა აჭარბებს საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებისთვის დამახასიათებელ დონეს.

ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებების კორექციის მიზნით, მდედრი ვირთაგვები საკვებ რაციონში, მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში, ეთანოლთან ერთად ღებულობდნენ დოლივინს. მათი ნაშიერების თავის ტვინის ლიმბურ და მოტორულ ქერქში ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის ცვლილებების შესწავლის შედეგად აღმოჩნდა, რომ უმრავლეს შემთხვევაში ნეირონების რაოდენობა შენარჩუნებულია და მომატებულიც კია ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად გამოვლენილი უჯრედების რაოდენობასთან შედარებით. ქერქის შესწავლილი უბნებიდან დოლივინის პრევენციული ზემოქმედება განსაკუთრებით კარგად გამოვლინდა მოტორულ ქერქში (P<0.01). პოსტნატალური განვითარების ყველა ეტაპზე

ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად გამოვლენილი უჯრედების რაოდენობასთან შედარებით ნეირონების რაოდენობა მომატებულია 15-30%-ით, მხოლოდ (P3) აღინიშნება უჯრედების რაოდენობის შემცირება 10%-ით (P<0.01).

სარტყლისებრ ხვეულში დოლივინის პრევენციული ზემოქმედება მოტორულ ქერქთან შედარებით ნაკლებად არის გამოხატული, თუმცა, ამ შემთხვევაშიც ნეირონების რაოდენობა ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი ნეირონების რაოდენობასთან შედარებით განვითარების ყველა ეტაპზე უმნიშვნელოდ მატულობს (5%-12%-ით) (P<0.01) .

ენტორინალურ ქერქში დოლივინის პრევენციული უნარი გამოვლინდა პოსტნატალური განვითარების მხოლოდ ბოლო სტადიებზე (P21,P30), როდესაც უჯრედების რაოდენობამ ეთანოლით ინტოქსიკაციის დროს გამოვლენილ უჯრედების რაოდენობასთან შედარებით მოიმატა 10-20%-ით (P<0.01) .

ქერქის შესწავლილ უბნებში დოლივინი ნეირონებისგან განსხვავებულ პრევენციულ ზემოქმედებას ავლენს გლიური უჯრედების მიმართ. სარტყლისებრ ხვეულში, მისი ანტიოქსიდანტური თვისებები მჟღავნდება ყველა ეტაპზე გარდა P3, როდესაც უჯრედების რაოდენობა ემთხვევა საკონტროლო მაჩვენებელს (სურ. 29,ა). ენტორინალურ ქერქში, დოლივინის პრევენციული უნარი მჟღავნდება პოსტნატალური განვითარების მხოლოდ ბოლო ეტაპებზე (P21,P30), მაშინ როდესაც P3 და P7, P15 გლიური უჯრედების რაოდენობა 28-34%-ით კლებულობს ეთანოლის მიღების შედეგად გამოვლენილი უჯრედების რაოდენობასთან შედარებით, (P<0.01) (სურ. 29,ბ). მოტორულ ქერქში დოლივინის პრევენციული ზემოქმედება გლიური უჯრედების მიმართ არ აღინიშნება პოსტნატალური განვითარების პერიოდში (სურ. 29,გ).

ამგვარად, ქერქის სამივე შესწავლილ უბანში, პოსტნატალური განვითარების სხვადასხვა ეტაპებზე, გლიურ უჯრედებზე როგორც ცალკე ეთანოლი, ასევე ეთანოლი და დოლივინი ერთად, განსხვავებულ ზემოქმედებას ახდენენ. თუმცა აღსანიშნავია, რომ დოლივინის პრევენციული ზემოქმედება გამოვლინდა ლიმბურ ქერქში, განსაკუთრებით ადრეული პოსტნატალური განვითარების ბოლოს (P21, P30), რაც მიუთითებს აღდგენითი პროცესების გაძლიერებაზე ამ პერიოდში.

2 2. თავის ტვინის გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების და მოტორული ქერქის გლიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობა

ეთანოლი, როგორც ცნობილია, განსაკუთრებით მძიმე ზეგავლენას ახდენს განვითარებადი თავის ტვინის უჯრედების პროლიფერაციაზე. რიგი გამოკვლევებით დადგენილია, რომ ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად უჯრედების პროლიფერაციის პროცესში ზიანდებიან ნეირონების და ასტროციტების წინამორბედები, კნინდება უჯრედების გამრავლების უნარი და შესაბამისად, ირღვევა ნეირონული გენერაცია (Miller, 1988, 1998; Guerri et al., 1990; Krill et al., 1997; Luo, Miller 1999).

ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებების და მათი კორექციის შესაძლებლობის გამოვლენის მიზნით, ზემოთაღნიშნული მოდელის მიხედვით, შეისწავლებოდა ეთანოლითLპრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაციის ზეგავლენა ეთანოლის ზემოქმედების ქვეშ მყოფი მდედრი ვირთაგვების 18–20-დღიანი ემბრიონების (G18-G20) თავის ტვინის გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების პროლიფერაციაზე და ამ ზეგავლენის კორექცია დოლივინის მეშვეობით.

მდედრი ვირთაგვების მიერ მაკეობის განმავლობაში ეთანოლის სისტემატური მიღების შემთხვევაში, მათი ნაშიერების გვერდით პარკუჭებში უჯრედების მიტოზური ინდექსის განსაზღვრის შედეგად გამოვლინდა, რომ პარკუჭების მატრიცული უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობა, ემბრიონული განვითარების G18-G20 დღეს, საგრძნობლად კლებულობს. ემბრიოგენეზის G18 დღეს უჯრედების მიტოზური ინდექსი მცირდება,^რაც განსაკურებით მკვეთრადაა გამოხატული G20 ემბრიონების გვერდითი პარკუჭების მატრიცულ უჯრედებში (ცხრილი № 2)

ცხრილი № 2

გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების და მოტორული ქერქის ასტროციტების პროლიფერაციული აქტიურობა

ცხოველთა ჯგუფები	‰ G 18	‰ G 20	‰ P 7
კონტროლი	27 ± 0.6	6 ± 0.1	5.8 ± 0.3

ეთანოლი	24 ± 0.9	2.6 ± 0.1	3.3 ± 0.3
ეთანოლი+დოლივინ ი	32 ± 1.4	14 ± 1.1	5.8 ± 0.5
	P < 0.01	P < 0.01	P < 0.01

ვინაიდან ინტაქტურ ემბრიონებში G20 უჯრედების პროლიფერაციის დონე ისედაც შემცირებულია,^ შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ^ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი მიტოზური ინდექსის მკვეთრი შემცირება გამოწვეულია ეთანოლის ტოქსიკური ზემოქმედებით პროლიფერაციის პროცესზე.

მაკე ვირთაგვების მიერ ეთანოლთან ერთად დოლივინის მიღების შემდეგ G18 და G20 გვერდითი პარკუჭების მიტოზური ინდექსი მატულობს, ეთანოლით ინტოქსიკაციასთან შედარებით და აჭარბებს კიდეც საკონტროლო ცხოველებისთვის დამახასიათებელ დონეს (ცხრილი 2).

ცნობილია, რომ ^ეთანოლის მიმართ უფრო მგრძნობიარენი არიან მიტოგენური ზრდის ფაქტორით რეგულირებადი უჯრედები (Miller, 1996; Luo, Miller, 1999). პროლიფერაციის პროცესის გააქტივება დოლივინის ზემოქმედების შედეგად შეიძლება აიხსნას მისი მასტიმულირებელი ზემოქმედებით აღნიშნულ ფაქტორებზე.

ალკოჰოლი ზემოქმედებას ახდენს გლიურ უჯრედებზე ან მათ უშუალო პრეკურსორებზე ძირითადად პოსტნატალური განვითარების პერიოდში (P5-P10) და არა მათ წინამორბედებზე პრენატალურ პერიოდში (Skoff, 1990; Phillips,1993). ცნობილია აგრეთვე, რომ გლიური უჯრედების გაძლიერებული პროლიფერაცია, მომწიფება და მიელინის წარმოქმნა მიმდინარეობს ძირითადად ვირთაგვების თავის ტვინის სწრაფი ზრდის ფაზაში (P7-P10), ამ დროს ალკოჰოლის ზემოქმედება იწვევს თავის ტვინის განსაკუთრებით ძლიერ რედუქციას (Dobbing, Sands, 1979; Wiggins, 1986).

ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, შესწავლილ იქნა გლიურ უჯრედებზე ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებები ვირთაგვების მოტორულ ქერქში P7 ასტროციტების პროლიფერაციული აქტიურობის გამოვლენის მიზნით. მიტოზური ინდექსის დადგენის შედეგად გაირკვა, რომ გლიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობა ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად კლებულობს საკონტროლო

ცხოველებთან შედარებით. რაც შეეხება გლიური უჯრედების პროლიფერაციის პროცესის დარღვევის კორექციას, ამ შემთხვევაში დოლივინის ზემოქმედება ვლინდება აღნიშნული პროცესის ნორმალიზებაში, კერძოდ, მიტოზური ინდექსი შეესაბამება საკონტროლო ცხოველებისთვის დამახასიათებელ დონეს (ცხრილი 2).

2. 3. თავის ტვინის ქერქის ნეირონების ეპრ სპექტროსკოპული 3. ანალიზი in vivo

ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის ზემოქმედების ქვეშ მყოფი მდედრი ვირთაგვების შთამომავლობის თავის ტვინის ქერქში, პროლიფერაციის და მიგრაციის პროცესების დარღვევის შედეგად გამოვლენილი უჯრედების რაოდენობის ცვლილების ფონზე, თავის ტვინის ქერქში მეტაბოლური პროცესების მიმდინარეობის თავისებურებების გამოვლენის მიზნით, ელექტრონულ პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) მეთოდით შესწავლილ იქნა ზრდასრული (60 დღიანი) ნაშიერების თავის ტვინის ქერქში მეტაბოლური პროცესების ცვლილებები და ამ ცვლილებების კორექცია დოლივინის მეშვეობით. ინტაქტური ვირთაგვების თავის ტვინის ეპრ სპექტრში გამოვლინდა თავისუფალი რადიკალების (ფლავინების და უბიქინონების სემიქინონური ფორმით განპირობებული) და FeS ცენტრების შემცველი ცილების (NADH-დეჰიდროგენაზას და სუქცინატდეჰიდროგენაზას) ეპრ სიგნალები, რეგისტრირებული იყო აგრეთვე სპინ-მონიშნული აზოტის ჟანგის (NO) ეპრ სიგნალი.

ეთანოლის მომხმარებელი მდედრი ვირთაგვების შთამომავლობის თავის ტვინის ქერქის ეპრ სპექტრში გამოვლენილ იქნა თავისუფალრადიკალური ეპრ სიგნალის ინტენსივობის მკვეთრად შემცირება, შემცირდა აგრეთვე აღნიშნული სიგნალის ნახევარგანის (ΔH-ის) მნიშვნელობა და FeS ცენტრების ეპრ სიგნალის ინტენსივობაც. ეს მონაცემები მიუთითებენ მიტოქონდრული სუნთქვის ინტენსივობის დაქვეითებაზე, რაც იწვევს უბისემიქინონების ჭარბი რაოდენობით დაგროვებას, ხოლო უბისემიქინონების დიდი რაოდენობით არსებობა მეტყველებს სუპეროქსიდრედუქტაზას გაძლიერებულ გენერაციაზე.

მიტოქონდრული სუნთქვის დაქვეითება იწვევს აგრეთვე მაკროერგული ნაერთების წარმოქმნას, რაც თავის მხრივ განაპირობებს ჰიპოქსანტინის დაგროვებას, შესაბამისად ჰიპოქსანტინოქსიდაზური სისტემის გააქტიურებას და ქსანტინდეჰიდროგენაზას გარდაქმნას ქსანტინოქსიდაზად, რომელიც წარმოადგენს O_2^--ის ჭარბი წარმოქმნის გენერატორს, რაც თავის ტვინის ეპრ სპექტრში ვლინდება Mo^{5+}-ის შემცველი ეპრ სიგნალის გამოჩენით. O_2^--ის ჭარბი რაოდენობით წარმოქმნა იწვევს უბისემიქინონების და ქსანტინოქსიდაზას მიერ სუპეროქსიდდისმუტაზას (სოდ) ინაქტივაციას, რაც თავის ტვინის ეპრ სპექტრში Mn^{2+}-ის იონების დაგროვებით აისახება.

თავის ტვინის ქერქში სუპეროქსიდრადიკალების დაგროვების შედეგად, სოდ-ის ინაქტივაციის ფონზე, ხდება თავისუფალრადიკალური ჟანგვის გაძლიერება და შესაბამისად, მემბრანული ლიპიდების პეროქსიდაცია და საბოლოოდ მემბრანების დაზიანება, რის შედეგად დაზიანებული მემბრანების ცილოვანი კომპლექსებიდან გამოთავისუფლებული Fe^{2+}-ის იონების ჩნდებიან ეპრ სპექტრში. Mn^{2+}-ის და Fe^{2+}-ის იონები, როგორც ცვალებადვალენტოვანი იონები, თავისუფალრადიკალური ჟანგვის მძლავრი პრომოტორები არიან, ამიტომ ისინიც ხელს უწყობენ მემბრანული ლიპიდების პეროქსიდაციას.

მდედრი ვირთაგვების მიერ ალკოჰოლის მიღების შედეგად მათი ნაშიერების თავის ტვინის ქერქში რეგისტრირებულია აგრეთვე სპინ-მონიშნული აზოტის ჟანგის (NO) ეპრ სიგნალი, რაც გამოიხატება ალკოჰოლის მიღების შედეგად თავისუფალი NO-ს შემცველობის მომატებაში. ეს უკანასკნელი ერთვება თავისუფალრადიკალურ პროცესთა ჯაჭვში, აძლიერებს აღნიშნული პროცესის ინტენსივობას, რაც საბოლოოდ განაპირობებს აპოპტოზის კასკადს (ცხრილი 3).

ამგვარად, ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად მიტოქონდრული სუნთქვითი ჯაჭვის მნიშვნელოვანი დარღვევის გამო, ვითარდება ოქსიდაციური სტრესი, რომელიც განაპირობებს შემდგომში უჯრედების დაღუპვას ნეკროზის ან აპოპტოზის გზით.

ეთანოლის ტოქსიკური ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებების კორექციის მიზნით ჩვენს მიერ გამოყენებული იყო დოლივინი. დოლივინის ძირითადი შემადგენელი ნაწილი - ჰიპოქსენი მიტოქონდრიებში ურთიერთქმედებს სუნთქვითი ჯაჭვის ფერმენტებთან. იგი ხელს უწყობს ქსოვილოვანი სუნთქვის მაღალი ხარისხის

შენარჩუნებას ჰიპოქსიის პირობებში, ვინაიდან თავად გადააქვს აღდგენილი ექვივალენტები ფერმენტულ სისტემებამდე უბიქინონის მეშვეობით, მრავალჯერ ახდენს უბიქინონის კომპენსირებას დიდი რაოდენობით აქტიური ცენტრების შემცველობის გამო. ყოველივე ეს განსაზღვრავს ამ პრეპარატის ანტიოქსიდანტურ თვისებებს.

დოლივინის და ალკოჰოლის ერთდროული ზემოქმედების შედეგად მიღებული მონაცემების ანალიზის შედეგად ირკვევა, რომ თავისუფალრადიკალური ეპრ სიგნალის და FeS ცენტრების შემცველი ეპრ სიგნალის ინტენსივობა, ისევე როგორც ნახევარგანის მნიშვნელობა, უახლოვდება საკონტროლო დონეს, ხოლო Mo^{5+}, Mn^{2+} და Fe^{2+} იონების ეპრ სიგნალების რაოდენობა მნიშვნელოვნად მცირდება, რაც მიუთითებს, რომ დოლივინი უზრუნველყოფს ეპრ სპექტროსკოპული პარამეტრების ნორმალიზებას და მაშასადამე, ჟანგვითი მეტაბოლიზმის ინტენსივობის დაქვეითებას (ცხრილი 3).

ცხრილი № 3.

ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსის სპექტრები in vivo

ექსპერიმენტული ჯგუფები	თავისუფალი რადიკალი		ეპრ სპექტრები				
	I	ΔH	FeS	Fe^{2+}	Mo^{5+}	Mn^{2+}	NO
კონტროლი	8.3	12	7.9	0	0	0	27.4
ეთანოლი	4.3	10.2	5.0	12.3	2.8	2.3	36.6
ეთანოლი + დოლივინი	7.8	11.2	6.2	7.0	0.9	1.2	27.0
	$P < 0.01$	$P < 0.05$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$

ამგვარად, ეპრ სპექტროსკოპული ანალიზის შედეგად ირკვევა, რომ მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში ეთანოლით ინტოქსიკაციის ქვეშ მყოფი მდედრი ვირთაგვების ზრდასრული შთამომავლობის თავის ტვინის ქერქში მიმდინარეობს მნიშვნელოვანი ცვლილებები უჯრედების მეტაბოლიზმში, რის შედეგად წარმოქმნილი თავისუფალი

რადიკალები აზიანებენ ნეირონებს და იწვევენ მათ დაღუპვას. აღნიშნული ცვლილებების კორექციის მიზნით ანტიოქსიდანტის დოლივინის გამოყენების შედეგად გამოვლინდა ჟანგვითი მეტაბოლიზმის ნორმალიზება და უჯრედების ოქსიდაციური სტრესის ზემოქმედებისგან დაცვის შესაძლებლობა.

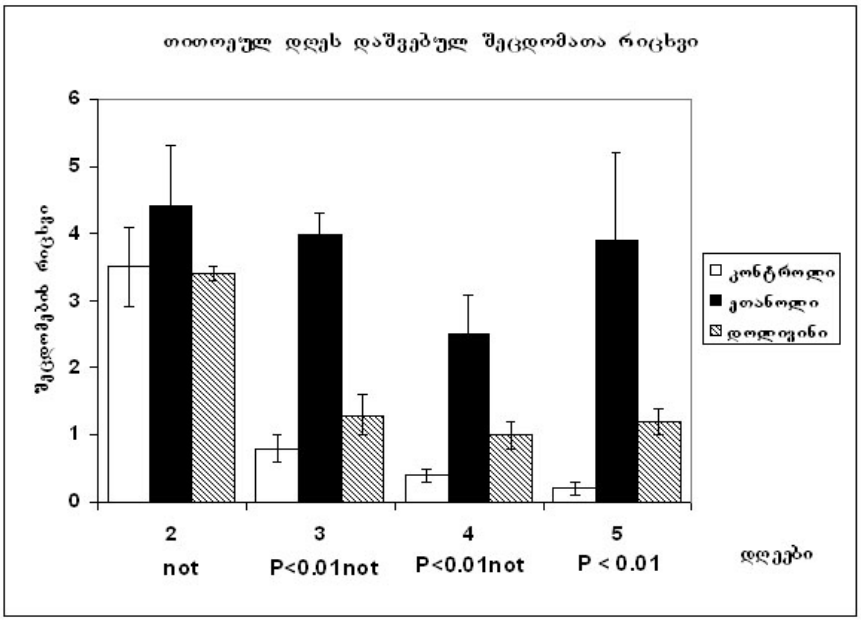
2. 4. ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული ცვლილებები ცხოველთა დასწავლსა და მეხსიერებაში

ჩვენს მიერ გამოვლენილი თავის ტვინში მიმდინარე დესტრუქციული ცვლილებების ფონზე შევისწავლეთ მდედრი ვირთაგვების მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში ქრონიკული ალკოჰოლური ინტოქსიკაციის ზეგავლენა და დოლივინის შესაძლო პრევენციული ეფექტი მათი ზრდასრული (60 დღიანი) ნაშიერების დასწავლასა და მეხსიერების კვალის კონსოლიდაციის უნარზე ესტაკადური ტიპის მრავალსვლიანი ლაბირინთისა და პასიური განრიდების ტესტის მეშვეობით.

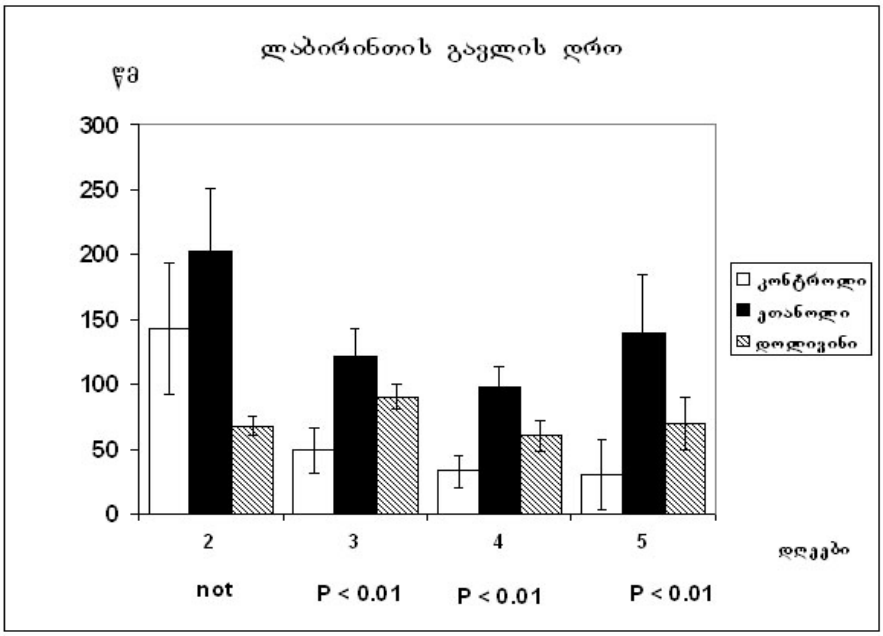
ჩვენს მიერ გამოყენებულ ლაბირინთში მოძრაობის მოტივაცია - არაეტოლოგიური პირობებიდან (ვიწრო პლექსიგლასის ხიდაკები დამაგრებული იყო 25 სმ სიმაღლის ღერძებზე) თავის დაღწევა და ბუდე-ყუთში ჩასვლაა. როგორც ჩვენი, ისე სხვა ავტორების (Митагвария, 1983) მონაცემებიდან ჩანს, ცდის ასეთი პირობები ქმნიან მოტივაციის საკმარის დონეს, რაზეც მიუთითებს ის, რომ I ჯგუფის (საკონტროლო, ანუ ინტაქტური) ყველა ცხოველმა მე-3 დღის ბოლოს აითვისა სივრცითი ინფორმაცია და ისინი ცდის მე-4 დღიდან პრაქტიკულად უშეცდომოდ და მინიმალურ დროში ჩადიოდნენ ბუდე-ყუთში. ამ ჯგუფის ცხოველების 80% გახდა ავტომატი და ლაბირინთის გავლას ანდომებდნენ 10-13წმ-ს ხოლო დანარჩენები ყუთში ჩადიოდნენ 40-60 წმ-ის შემდეგ, აქედან დროის უმეტეს ნაწილს ატარებდნენ სასტარტე ბაქანზე.

II ჯგუფის ცხოველებში (ალკოჰოლიზებული დედების ნაშიერები) დასწავლის პროცესი მკვეთრად დაქვეითებული იყო. ოთხმა ცხოველმა საერთოდ ვერ აითვისა ამოცანა და ცდის ბოლო დღეებშიც ისინი უძრავად ისხდნენ ლაბირინთის რომელიმე მონაკვეთზე. დანარჩენმა ცხოველებმა, მიუხედავად იმისა, რომ დამოუკიდებლად ისწავლეს გზა ბუდე-ყუთისკენ, ორივე მაჩვენებლის მიხედვით (ლაბირინთის გავლის

დრო და შეცდომები) მიღებული მონაცემები სარწმუნოდ (P<0.01) განსხვავდებოდნენ, როგორც საკონტროლო, ისე III ჯგუფის ცხოველების (რომელთა დედები ალკოჰოლთან ერთად ღებულობდნენ დოლივინს) ტესტირებისას მიღებული შედეგებისგან (P<0.01) (სურ. 30).



ა



ბ

სურ. 30

II ჯგუფის ცხოველებისთვის დამახასიათებელი იყო ქცევის მსგავსი სტერეოტიპი:

1. დაქვეითებული კვლევითი აქტიურობა I და III ჯგუფის ცხოველებისგან განსხვავებით, რომლებიც აქტიურად იკვლევდნენ ლაბირინთს. დასწავლის საწყის ეტაპზე ისინი საერთოდ არ შედიოდნენ ლაბირინთის ზოგიერთ მონაკვეთში.

2. ცხოველებს არ აღენიშნებოდათ მაჩვენებლების გაუმჯობესება ყოველდღიური სესიის ბოლო სინჯებში, რაც დამახასიათებელი იყო I და III ჯგუფისთვის.

3. მიუხედავად იმისა, რომ ჩვენს ცდებში ამოცანა არ იცვლებოდა (ანუ სასტარტე ბაქანი ბუდე-ყუთი სულ ერთსა და იმავე პოზიციაში იმყოფებოდნენ, და ასევე უცვლელი იყო ლაბირინთის გარეთ არსებული ორიენტირები) II ჯგუფის ცხოველები, ხშირად ექსპერიმენტის ბოლო დღეებშიც ვერ პოულობდნენ გზას ყუთთან მიმდებარე ლაბირინთის უახლოესი მონაკვეთიდანაც კი, ვარდებოდნენ ნერვული აგზნებადობის მდგომარეობაში, რაც გაძლიერებულ დეფეკაციასა და კანკალში გამოიხატებოდა. მიუხედავად იმისა, რომ ახლოს იყვნენ ბუდე-ყუთთან, ხშირად ბრუნდებოდნენ უკან, სასტარტო ბაქანზე.

4. განსაკუთრებით აღსანიშნავია II ჯგუფის ცხოველების მაღალი ემოციური ფონი, რაც გამოიხატებოდა გახშირებულ დეფეკაციასა დ ურინაციაში ექსპერიმენტის ბოლო დღეებშიც კი, რაც ცდის, I ჯგუფის ცხოველებს ახასიათბთ ცდის პირველ და იშვიათად მე-2 დღეს.

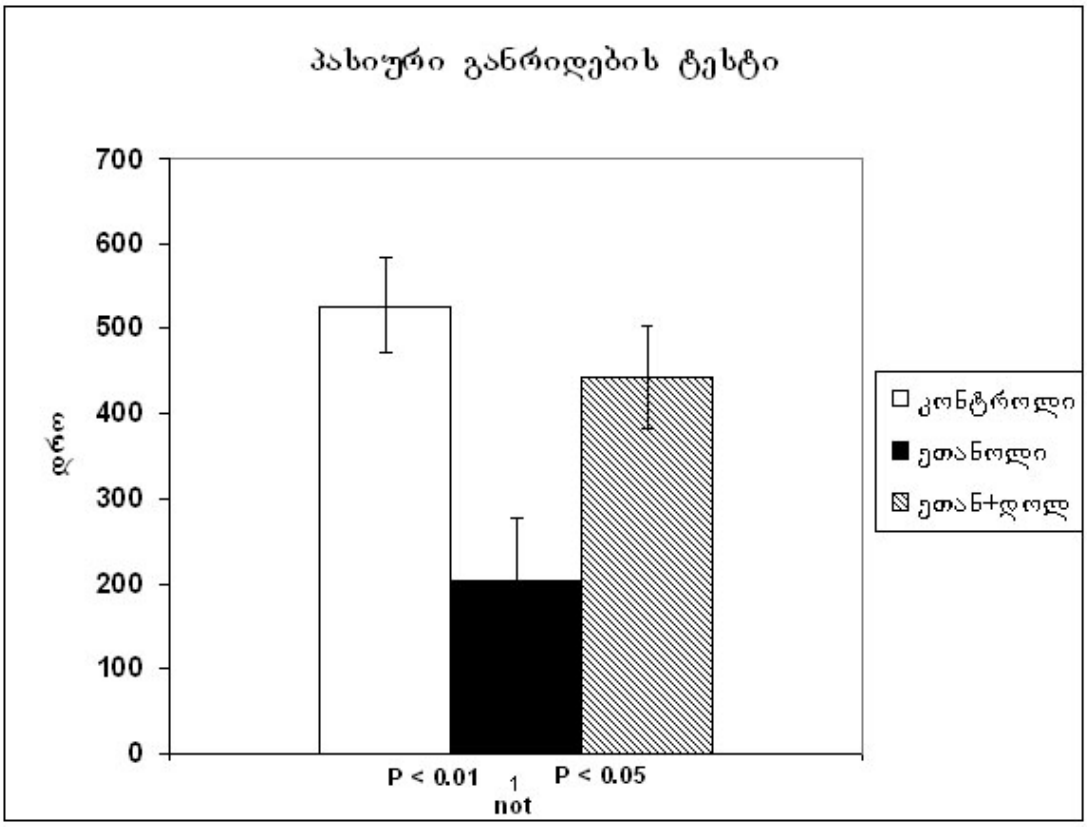
III ჯგუფის ცხოველებს, როგორც აღვნიშნეთ, ისევე, როგორც საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებს ახასიათებთ გაძლიერებული ძიებითი აქტიურობა ექსპერიმენტის საწყის ეტაპზე. ცხოველები შედიან ლაბირინთის სხვადასხვა მონაკვეთში, ხვდებიან ჩიხში, სწრაფად ბრუნდებიან უკან, ეძებენ ოპტიმალურ ტრაექტორიას, და მე-3 დღის ბოლოს, I ჯგუფის ცხოველების მსგავსად პრაქტიკულად ითვისებენ სივრცით ინფორმაციას. III ჯგუფის ცხოველების ტესტირებისას მიღებული შედეგები ორივე მაჩვენებლის მიხედვით, სარწმუნოდ განსხვავდებოდა II ჯგუფის ცხოველების მაჩვენებლებისგან ($P< 0.01$) (სურ. 30).

I და III ჯგუფის ტესტირებისას მიღებული შედეგების შედარებამ გვიჩვენა, რომ შეცდომების რაოდენობის მხრივ, ცდის მე-3 და მე-4 დღეს ეს მაჩვენებლები არ განსხვავდებოდნენ ერთმანეთისგან, ხოლო მე-5 დღეს კვლავ აღემატებოდა საკონტროლო დონეს ($P<0.05$). უნდა აღინიშნოს, რომ ექსპერიმენტი კიდევ

გავაგრძელეთ 4 დღით და მე-5 დღიდან დაწყებული, შედეგები პრაქტიკულად უცვლელი რჩებოდა ორივე მაჩვენებლის მიხედვით. შეცდომების რაოდენობის მხრივ III ჯგუფის მაჩვენებლები ხან უტოლდებოდა, ხან აღემატებოდა საკონტროლო დონეს, ანუ III ჯგუფის ცხოველებში დასწავლის ხარისხი ნაკლებად სტაბილურია საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით, მაგრამ მკვეთრად განსხვავდება II ჯგუფის მაჩვენებლებისგან (სურ. 30,ა).

რაც შეეხება მეორე პარამეტრს (ლაბირინთის გავლის დრო), ცდის მე-3 დღიდან დაწყებული ეს მაჩვენებლები სარწმუნოდ განსხვავდებოდნენ, როგორც I, ისე II ჯგუფის მაჩვენებლებისგან ($P<0.05$) (სურ. 30,ბ). აღსანიშნავია, რომ საკონტროლო ჯგუფისგან განსხვავებით, III ჯგუფის არც ერთი ცხოველი არ გახდა “ავტომატი” და დროის უმეტეს ნაწილს ისინი ატარებდნენ ლაბირინთის რომელიმე მონაკვეთზე, რასაც თან სდევდა გაძლიერებული დეფეკაცია და ურინაცია და შემდეგ უმოკლესი ტრაექტორიით ჩადიოდნენ ყუთში.

მეხსიერების კვალის კონსოლიდაციის უნარი საკონტროლო და საცდელ ცხოველებში შევისწავლეთ პასიური განრიდების ტესტით. 24სთ-ის რეტესტირებისას საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების 70% არ შედიოდა ბნელ კამერაში 10 წუთის განმავლობაში. II ჯგუფის ცხოველებს დარღვეული ჰქონდათ კვალის კონსოლიდაციის უნარი და შენახვის კრიტერიუმი იყო მხოლოდ 30%, ხოლო III ჯგუფში რეაქციის შენარჩუნება შესძლო ცხოველების 50%. რეპროდუქციის ეტაპზე I, II და III ჯგუფის ცხოველების ბნელ კამერაში შესვლის ლატენტური დრო (527.1±56.7, 202.8±75.4 და 443.5±60წმ შესაბამისად) სარწმუნოდ განსხვავდებოდა I და II ჯგუფებსა ($P<0.01$) და ასევე II და III ჯგუფებს შორის ($P<0.05$), ხოლო III ჯგუფის მაჩვენებლები უახლოვდებოდა საკონტროლო დონეს და არ განსხვავდებოდა მისგან (სურ. 31). აღსანიშნავია აგრეთვე, რომ III ჯგუფის ცხოველებს ახასიათებთ გაძლიერებული დეფეკაცია ნათელ კამერაში ყოფნის განმავლობაში ცდის ორივე დღეს, საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით.



სურ.31

მიღებული მონაცემებიდან გამომდინარე, მდედრი ვირთაგვების მაკეობის და ლაქტაციის დროს ეთანოლით ინტოქსიკაცია მათ ზრდასრულ ნაშიერებში იწვევს სივრცითი ინფორმაციის დასწავლისა და მეხსიერების კვალის კონსოლიდაციის უნარის მკვეთრ დაქვეითებას, ხოლო იგივე პერიოდში მათ მიერ ეთანოლთან ერთად დოლივინის მიღება ხელს უწყობს ამ პროცესის ნორმალიზებას.

ამგვარად, ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევის შედეგად გაირკვა, რომ ეთანოლის ზემოქმედება in vitro და in vivo პირობებში მნიშვნელოვნად აზიანებს ნერვული და გლიური უჯრდების ზრდისა და დიფერენცირების პროცესებს, რაც გამოიხატება აქსონების ზრდის, მათი სპრაუტინგის ინტენსივობის და ასტროციტების მიგრაციული აქტიურობის დაქვეითებაში. განვითარებადი თავის ტვინის ქერქში მატრიცული უჯრედების პროლიფერაციისა და მიგრაციის შეფერხების გამო, უჯრედების დაღუპვის შედეგად, თავის ტვინის ქერქის სტრუქტურის ფორმირებაში მონაწილე უჯრედების

რაოდენობის შემცირება თავის მხრივ განაპირობებს თავის ტვინის ქერქის ნორმალური ფორმირების შეფერხებას, შესაბამისად თავის ტვინის აფერენტული და ეფერენტული კავშირების მოშლას და დასწავლა-მეხსიერების პროცესების დათრგუნვას. ეთანოლის ციტოტოქსიკური ზემოქმედება იწვევს თავისუფალრადიკალურ პროცესთა ინტენსიფიკაციას, როგორც ნერვული ქსოვილის კულტივირების დროს, ასევე ზრდასრული შთამომავლობის თავის ტვინის ქერქშიც.

პლაფერონის და დოლივინის მეშვეობით in vitro და დოლივინის მეშვეობით in vivo პირობებში ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ზემოთაღნიშნული დესტრუქციული პროცესების ნორმალიზება განაპირობებს უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის მატებას და მიუთითებს ამ პრეპარატების ანტიოქსიდანტურ თვისებებზე.

IV. მიღებული შედეგების განხილვა

1. ნერვული ქსოვილის თავისებურებები კულტივირების პირობებში

1. 1. ნერვული ქსოვილის დიფერენცირება ზურგის

2. ტვინის კულტივირების დროს

თანამედროვე ნეირომეცნიერებასა და მედიცინაში ალკოჰოლიზმის შესახებ არსებულ მრავალრიცხოვან გამოკვლევებში განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად განვითარებადი ორგანიზმის თავის ტვინში მიმდინარე დარღვევების მორფო-ფუნქციური თავისებურებების შესწავლა. ამ მხრივ ინტერესს იწვევს ცვლილებები ალკოჰოლის მომხმარებელი დედების შთამომავლობაში. ალკოჰოლის ჭარბი რაოდენობით მოხმარების შედეგად ორგანიზმის ფერმენტული უზრუნველყოფა დარღვეულია, რის გამოც არ ხდება მისი სრულად დაჟანგვა და ალკოჰოლის დაშლის დროს წარმოქმნილი ერთ-ერთი პირველადი პროდუქტი, აცეტალდეჰიდი, ეთანოლზე ბევრად უფრო ტოქსიკური ნივთიერება, დიდი რაოდენობით გროვდება ნაყოფის თავის ტვინში. რის შედეგად ვითარდება ნაყოფის

ალკოჰოლური სინდრომი (Fetal Alkohol Syndrom – FAS) (Hamby- Mason et al., 1997). აღნიშნული სინდრომის განვითარება დასაბამს აძლევს ცნს-ის მოშლას, რის შედეგად ვითარდება სხვადასხვა პათოლოგიები, როგორიცაა მიკროცეფალია, ტვინის ასიმეტრია, აზოვნების დეფიციტი, გონებრივი ჩამორჩენა და სხვა (Tsai, Coyle, 1998; Ykonomidou et al., 2000; Goodlett, Horn, 2001).

ალკოჰოლის ზემოქმედებისას გამოვლენილი ანომალიები შეიძლება განვითარდეს სამი ფაქტორის ზემოქმედების შედეგად: 1. უჯრედებზე ალკოჰოლის უშუალო ზემოქმედების შედეგად ვითარდება ნაყოფის ალკოჰოლური სინდრომი (FAS). 2. ალკოჰოლის დაჟანგვის ინტენსივობის დაბალი დონის გამო სისხლში გროვდება აცეტალდეჰიდი, რაც იწვევს ემბრიონის ზრდის და განვითარების შეფერხებას. 3. ალოჰოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ნივთიერებათა ცვლის დარღვევა იწვევს ვიტამინების და მიკროელემენტების დეფიციტს.

ეთანოლით ინტოქსიკაცია პრენატალურ პერიოდში განსაკუთრებით აზიანებს ცნს-ს, ვინაიდან ზემოქმედებას ახდენს თავის ტვინის განვითარების პროცესში ისეთ მნიშვნელოვან პროცესებზე, როგორიცაა მატრიცული უჯრედების პროლიფერაცია და ნეირობლასტების მიგრაცია თავის ტვინის ქერქული და ქერქქვეშა სტრუქტურებისკენ. აღნიშნული პროცესების დარღვევა განაპირობებს თავის ტვინის სტრუქტურების ანომალურ განვითარებას, რაც საბოლოოდ აისახება მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესების მოშლაში.

ცნს-ის რთული ორგანიზაციის და რიგი ფაქტორების ზემოქმედების გამო, ცალკეულ უჯრედებზე გარეშე ფაქტორების ზემოქმედების თავისებურებების გამოვლენა გართულებულია. ამ მხრივ ხელსაყრელ საშუალებას წარმოადგენს ალკოჰოლის უჯრედებზე ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებების შესწავლა ნერვული ქსოვილის კულტურის მოდელურ ექსპერიმენტებში, როდესაც შესაძლებელია უჯრედული აქტიურობის სხვადასხვა გამოვლინებანი შესწავლილ იქნას ცოცხალ უჯრედზე, ორგანიზმის მხრიდან ნეიროჰუმორული კონტროლის შეწყვეტის შემდეგ. განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ნერვული ქსოვილის შესწავლა ორგანოტიპული კულტივირების პირობებში, როდესაც შენარჩუნებულია in vivo პირობებისთვის დამახასიათებელი უჯრედშორისი კავშირების ნორმალური ფორმა (Чубаков, Сотников,

1982; Халанский, Викторов, 1984; Mooney, Miller; 2003). ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად ნერვულ უჯრედებში გამოვლენილი ცვლილებების შესაბამისად გაანალიზებისთვის აუცილებელია იმ თავისებურებების გამოვლენა, რასაც განიცდის ინტაქტური ნერვული ქსოვილი ორგანიზმიდან იზოლირებისა და მისთვის ახალ პირობებში მოთავსების შემდეგ.

ნერვული ქსოვილის კულტივირების დროს, მიუხედავად ორგანიზმის მხრიდან ნეიროჰუმორული კონტროლის შეწყვეტისა, ტრავმირებული ნერვული უჯრედები ინარჩუნებენ მათთვის ორგანიზმში დამახასიათებელ თავისებურებებს. უჯრედების მიერ არჩევითი კონტაქტების ფორმირების უნარი განპირობებულია უჯრედების დიფერენცირების ხარისხით, თუმცა მცირედდიფერენცირებული უჯრედებიც კულტივირების პროცესში განიცდიან გარკვეული ტიპის გარდაქმნებს, რაც განაპირობებს მათ შემდგომ დიფერენცირებას და ფუნქციური კონტაქტების შექმნას ერთი ტიპის და განსხვავებული ტიპის ქსოვილების ექსპლანტატების თანაკულტივირებისას (Коновалов и др., 1979; Бобрышев и др.1990; Исаев, 1990).ю

ჩვენს მიერ ზურგის ტვინის კულტივირების დროს მიღებული შედეგების ლიტერატურის მონაცემებთან შეჯერების შედეგად ირკვევა, რომ ნერვული ქსოვილის კულტივირების დროს ხდება იმ ციტოტოპური ნიშნების განხორციელება, რაც განპირობებულია უჯრედთა გენოტიპით. ნერვული უჯრედები აღნიშნულ პირობებში ინარჩუნებენ მათთვის ორგანიზმის პირობებში დამახასიათებელ თავისებურებებს, რაც გამოიხატება ნერვული უჯრედების მიერ მორჩების წარმოქმნაში, გლიური უჯრედების მიგრაციაში, სხვადასხვა ქსოვილებს შორის ფუნქციურად აქტიური კავშირების შექმნაში. მრავალი გამოკვლევა ეძღვნება ნერვული სისტემის განვითარების სხვადასხვა ასპექტებს და მიმართულია იმ ფაქტორების გამოვლენისკენ, რომლებიც განაპირობებენ ნეირონების დიფერენცირებას და მათ შორის ფუნქციური კავშირების წარმოქმნას (Калюнов, 1990; Козлова, 1990). აღნიშნული კვლევების შედეგად მიღებული მონაცემების ანალიზი საშუალებას იძლევა გავერკვეთ იმ პროცესებში, რომლებსაც ადგილი აქვს სხვადასხვა ფაქტორების ზემოქმედებით გამოწვეული დარღვევის დროს ნერვული სისტემის განვითარების პროცესში (Кривицкая и др.,1980; Викторов, 1984).

ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემების თანახმად, კულტივირების პირობებში ნერვული ქსოვილის დიფერენცირების გამოვლინების ერთერთი გზაა აქსონების ზრდისა და განვითარების ხარისხი. ამ საკითხის შესწავლის მიზნით ჩატარებული გამოკვლევის შედეგად გაირკვა, რომ in vitro ნერვული ქსოვილის ექსპლანტატებიდან აღინიშნება აქსონების და დენდრიტების ზრდა, გაძლიერებულია სპრაუტინგი, რომელიც განპირობებულია, როგორც ქსოვილის საწყისი დიფერენცირების დონით, ასევე სხვა ენდოგენური და ეგზოგენური ფაქტორების ზემოქმედებით (Сванидзе, Мусеридзе, 1990; 1993). ამასთან, ცნობილია მონაცემები, რომელთა თანახმად კულტივირებული ემბრიონული ნერვული ქსოვილის ნეირობლასტები დიფერენცირების პროცესში ექვემდებარებიან რიგ სტრუქტურულ გარდაქმნებს (Wolff et al., 1971; Kim, 1972; Bird, James, 1975; Fischer, Fedoroff, 1977).

ემბრიონული ნერვული ქსოვილის დიფერენცირება, განსაკუთრებით კულტივირების ადრეულ ეტაპებზე, დაკავშირებულია რთულ გარდაქმნებთან, რომლებიც გამოწვეულია აღდგენისა და ადაპტაციის პროცესებით ტრავმირებული ნერვული ქსოვილის ახალ პირობებში მოთავსების და ორგანიზმის მხრიდან ჰუმორული და ნერვული ზემოქმედების შეწყვეტის შემდეგ. კულტივირების პირობებში უჯრედების დიფერენცირება იწყება ქსოვილის ადაპტაციის შემდეგ, რომლის საფუძველს წარმოადგენს უჯრედების პლასტიკურობა და სპეციფიკური ფუნქციური აქტიურობის უნარი. ჩვენს მიერ ზურგის ტვინის კულტივირების ადრეულ ეტაპებზე ექსპლანტატების ულტრასტრუქტურის შესწავლის შედეგად გამოვლენილ იქნა, რომ დესტრუქციისა და ადაპტაციის პროცესები მიმდინარეობს კულტივირების დაწყებიდან პირველი 2-3 დღის განმავლობაში, როდესაც განსაკუთრებულ ცვლილებებს განიცდიან სინაფსური დაბოლოებები, რომლებიც ძირითადად წარმოდგენილი არიან ნაკლებად დიფერენცირებული ორგანიზაციით. როგორც ჩანს, სინაფსური აპარატი განსკუთრებული მგრძნობელობით გამოირჩევა კულტივირების პირობების მიმართ. კულტივირების პირობებში ქსოვილის ჟანგბადით უზრუნველყოფის შეფერხება შესაბამისად იწვევს მიტოქონდრიების ფუნქციის დათრგუნვას, რაც გამოიხატება ასევე მიტოქონდრიების სტრუქტურის დაზიანებით და ზოგჯერ მათი დეგენერაციით. აღწერილი ცვლილებები შემდგომი კულტივირებისას თანდათან ნორმალიზდება და

ძლიერდება აღდგენითი პროცესები, კერძოდ, მატულობს ნეიროპილის მასა და სინაფსური კონტაქტების დიფერენცირების ხარისხი. ეს უკანასკნელი კარგად ვლინდება ნეირონების ფუნქციური აქტიურობის შესწავლის დროს (Мусеридзе и др., 1985).

ადაპტაციის პროცესების დასრულების შემდეგ მიმდინარე რედიფერენცირების პროცესების გამო, ვლინდება ნერვული ქსოვილის მომწიფების ერთ-ერთი ძირითადი ნიშანი - ბიოელექტრული აქტიურობის გამოვლინება ნეირონების ელექტრული გაღიზიანების საპასუხოდ. In vitro ნერვული ქსოვილის დიფერენცირების ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი გამოხატულებაა ნეირონებს შორის კონტაქტების წარმოქმნა და ბიოელექტრული აქტიურობის ჩამოყალიბება (Креин, 1980). ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემების თანახმად, ზურგის ტვინის ნეირონების ბიოელექტრული აქტიურობა კულტივირების ადრეულ ეტაპებზე თანდათან ყალიბდება და კულტივირების დაწყებიდან მე-6-7 დღეს უკვე ვლინდება ბიოელექტრული აქტიურობა, რაც მიუთითებს პოლისინაფსური გადაცემის არსებობაზე კულტივირების აღნიშნულ პერიოდში (Мусеридзе и др., 1985). ჩვენი კვლევის შედეგები ემთხვევა სხვა ავტორების მიერ მიღებულ მონაცემებს.

ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ კულტურაში გამოვლენილი ცვლილებებისგან გნსხვავებით, აღდგენითი პროცესები უფრო მკვეთრადაა გამოხატული ზურგის ტვინის დისოცირებულ კულტურაში. მრავალრიცხოვანი ლიტერატურის მონაცემების თანახმად, მიუხედავად დისოციაციის დროს ნერვული ქსოვილის მთლიანობის დარღვევისა, ნერვული უჯრედები აღიდგენენ ნერვული მორჩების სისტემას, რაც განაპირობებს მათ შორის კავშირის ფორმირებას და შემდგომში აგრეგატების წარმოქმნას (Lodin, et al., 1970; Викторов, Крюкофф,1980; Сванидзе, 1984; Сванидзе и др., 1989;1991).

აღსანიშნავია მონაცემები, ქათმის ემბრიონის შუა ტვინის სახურავის ნერვული და გლიური უჯრედების მიერ დისოცირებულ კულტურაში ორგანიზებული ბადის წარმოქმნის შესახებ, რომელიც კარგად გამოხატული შრეობრივი აგებულებით, ძლიერ ემსგავსება ორგანიზმის პირობებში განვითარების მოცემულ ეტაპზე არსებულ ანალოგიურ სტრუქტურას. ავტორების აზრით აღნიშნული სტრუქტურის ფორმირება

შესაძლოა განპირობებული იყოს უჯრედის გენომით განხორციელებული რეაგრეგაციის მეშვეობით (Svanidze, Didimova, 1982).

ლიტერატურის მონაცემების თანახმად უჯრედებს შორის კონტაქტის ფორმირების დროს განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს კულტივირებული ქსოვილის დიფერენცირების დონე (Oishi et al., 2004). სხვადასხვა ქსოვილის თანაკულტივირების დროს ხდება მხოლოდ იმ კავშირების ფორმირება, რაც დამახასიათებელია მათთვის ორგანიზმის პირობებში. ნერვული ქსოვილის ექსპლანტატები კულტივირების პირობებში ქმნიან ორგანიზმში არსებული, ფუნქციურად გამართლებული კავშირების მსგავს კომპლექსებს, როგორიცაა კონტაქტი ზურგის ტვინისა და ჩონჩხის კუნთოვან უჯრედებს შორის (Мусеридзе, Сванидзе, 1982;1984). ამ მონაცემებს ადასტურებს Xenopus leavis-ის ემბრიონების მიოტომების კუნთოვანი უჯრედების და ზურგის ტვინის მოტონეირონების თანაკულტივირებისას ახლადწარმოქმნილი აცეტილქოლინური რეცეპტორების 90%-ის ფორმირება ნერვ-კუნთოვანი კონტაქტის ჩამოყალიბებისთანავე (Samuels et al., 1990). გამჭვირვალე ძგიდის, ჰიპოკამპის და ნათხემის ერთდროული კულტივირების დროსაც წარმოიქმნება კავშირები, რაც დამახასიათებელია მათთვის in vivo. ჰიპოკამპის ექსპლანტატიდან აცეტილქოლინის შემცველი ბოჭკოები იზრდებიან გამჭვირვალე ძგიდის და არა ნათხემის ანათლების მიმართულებით (Rimvall et al., 1985). ქათმის ემბრიონის ზურგის ტვინის და სომატური კუნთოვანი ქსოვილის თანაკულტივირებისას უჯრედშორისი კონტაქტების წარმოქმნის პროცესი გამოვლინდა აქსონების ზრდის შედეგად ექსპლანტატებს შორის კონტაქტის ფორმირებაში, ზრდის ზონაში გლიური უჯრედების მიგრაციასა და ნეიროპილის მასის ზრდაში (Peterson, Crain, 1970; Robbins, Jonezawa, 1971; Креин, 1980; Мусеридзе, Сванидзе, 1982;).

მრავალი გამოკვლევის შედეგად დადგინდა, რომ ნეირონების მორფოლოგიურ და ბიოქიმიურ განვითარებას კულტურაში ასტიმულირებენ მეზობლად განლაგებული ექსპლანტატები და სამიზნე ქსოვილი (Prochiants et al., 1979; Museridze et al., 1998), ხოლო რამდენიმე ექსპლანტატის ერთდროული კულტივირება ხელს უწყობს არა მარტო აქსონების ინტენსიურ ზრდას ექსპლანტატებს შორის, არამედ გლიური უჯრედების მიგრაციასაც ექსპლანტატიდან (Викторов, 1984; Козлова, 1984; Museridze et

al., 1998). ორი ექსპლანტატის ერთდროული კულტივირებისას, რომელთაგან ერთ-ერთი წარმოადგენს სამიზნეს მეორე ექსპლანტატისთვის, როგორც ეს ხდება ჩვენს მიერ ზურგის ტვინის სომატური კუნთის ექსპლანტატთან თანაკულტივირებისას, ადგილი აქვს მოტონეირონების აქსონების მიმართულ ზრდას მისი სამიზნე სტრუქტურისკენ - კუნთოვანი ქსოვილისკენ. ასევე, ზურგის ტვინის ორი, ან რამდენიმე ექსპლანტატის ერთდროულად კულტივირების დროს აღინიშნება როგორც გლიური უჯრედების აქტიური მიგრაცია, ასევე აქსონების ინტენსიური ზრდა, რომლებიც ქმნიან მძლავრ ნეირიტულ ბოჭკოებს ორ ექსპლანტატს შორის (Сванидзе, Мусеридзе, 1993).

ზურგის ტვინის და კუნთოვანი ექსპლანტატების ერთდროული კულტივირებისას ჩვენს მიერ გამოვლენილია აქსონების ზრდის ორი ტიპი. ერთ შემთხვევაში აღინიშნება ზურგის ტვინის მოტონეირონების აქსონების მიმართული ზრდა მათთვის სამიზნე კუნთოვანი ექსპლანტატისკენ და მეორეს მხრივ, ზურგის ტვინის ექსპლანტატიდან გამოსული მრავალრიცხოვანი მორჩები, ექსპლანტატიდან გამოსვლის შემდეგ, ქმნიან მარყუჟებს და ბრუნდებიან უკან ექსპლანტატისკენ. ეს აქსონები მიეკუთვნებიან ასოციაციური ნეირონების ნეირიტებს, ვინაიდან მათთვის სამიზნეს წარმოადგენს არა სომატური კუნთი, არამედ ექსპლანტატის სისქეში არსებული მოტონეირონები. ამგვარად, მიღებული მონაცემების თანახმად შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ზურგის ტვინის კულტივირების პროცესში იქმნება სისტემა “ასოციაციური ნეირონი - მოტონეირონი”, რომელიც შეესაბამება ორგანიზმისთვის დამახასიათებელი რეფლექსური რკალის ერთ-ერთ ფრაგმენტს (Мусеридзе, Сванидзе, 1984).

ამგვარად, მიღებული მონაცემები მიუთითებენ იმაზე, რომ კულტივირების პროცესში ქსოვილები ინარჩუნებენ სპეციფიკური ზემოქმედების უნარს, რომელიც გავლენას ახდენს აქსონების ზრდაზე. თუ მოტონეირონების აქსონებისთვისს ინერვაციის ობიექტს წარმოადგენენ კუნთოვანი ბოჭკოები, მაშინ ასოციაციური ნეირონებისთვის სამიზნედ აღიქმება ზურგის ტვინის ექსპლანტატში არსებული მოტონეირონები.

უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის და ნეირიტების ზრდის სტიმულირება აღინიშნება აგრეთვე ნერვული წარმოშობის ქსოვილების ექსტრაქტების ზემოქმედების

შედეგად. ასე მაგალითად, ემბრიონული ზურგის ტვინის ექსპლანტატებზე მათივე ექსტრაქტის დამატება ზრდის უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობას, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ ზურგის ტვინის უჯრედები თვითონ წარმოქმნიან ნეირიტების მასტიმულირებელ ფაქტორებს (Tanaka, Obata, 1982). თავის და ზურგის ტვინის ექსპლანტატების თანაკულტივირებისას კორტიკოსპინალური აქსონების ზრდის ინტენსივობა მატულობს ნერვული უჯრედების ტრანსპლანტაციის ან მათი კონდიცირებული არის დამატების შემდეგ, რაც მიუთითებს ნერვული უჯრედების წინამორბედებიდან გამოყოფილი ფაქტორების მონაწილეობაზე აქსონების ზრდის განხორციელებაში (Kamei et al., 2004). ჩვენს მიერ ზურგის ტვინის ექსპლანტატების თანაკულტივირების დროსაც, მათ შორის აქსონების ზრდის შედეგად წარმოქმნილი ნეირიტული ბოჭკოების მეშვეობით კონტაქტის დამყარება, განპირობებული უნდა იყოს მათ მიერ საკვებ არეში ზრდის მასტიმულირებელი ფაქტორის გამოყოფით. ამგვარად, სამიზნე ქსოვილი შეიძლება ჩაითვალოს ნეირიტული ზრდის მარეგულირებელ ფაქტორად.

აქსონების ზრდა და მათ მიერ არჩევითი კონტაქტების ჩამოყალიბება ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ და დისოცირებულ კულტურებში გამოხატავს ნერვული ქსოვილის დიფერენცირების ხარისხს in vitro. აღნიშნულ პირობებში საკვებ არეში ნეიროტროფინების დამატება იწვევს დიფერენცირების პროცესის სტიმულირებას, რაც გამოიხატება აქსონების ზრდის ინტენსივობის და ნეირონების სიცოცხლისუნარიანობის მომატებაში (Braun et al., 1996; Mc Greachie et al., 2001).

ნეირონებისა და კუნთოვანი უჯრედების ერთდროულად კულტივირების პირობებში აღსანიშნავია ნეიროტროფული ფაქტორების ზემოქმედება ზურგის ტვინის მოტონეირონების სიცოცხლისუნარიანობაზე (Fu et al., 1997). ვირთაგვის ემბრიონის ზურგის ტვინის ექსპლანტატებისა და ადამიანის ჩონჩხის კუნთის მიოტუბების თანაკულტივირებისას საკვებ არეში ნეიროტროფინების (NT-3, NT-5, BDNF) დამატება იწვევს მოტონეირონების მიერ ინერვაციის შესაძლებლობის გაძლიერებას (Braun et al., 1996). გლიური უჯრედებიდან წარმოებული ნეიროტროფული ფაქტორი GDNF ასევე აუმჯობესებს კულტივირებული ნეირონების აქსონების ზრდას და მნიშვნელოვნად ამცირებს აპოპტოზური ნეირონების რაოდენობას, რაც ზრდის მათი გადარჩენის

შესაძლებლობას (Leclere et al., 1998; Heaton et al., 1999; Sedel et al., 1999; Chen et al., 2003). ამ მონაცემებიდან გამომდინარე, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ჩვენს მიერ გამოვლენილი მოტონეირონების აქსონების ინტენსიური ზრდა გლიური უჯრედებისგან შექმნილ მემბრანაზე, ზურგის ტვინის ექსპლანტატიდან კუნთოვანი ქსოვილისკენ, გამოწვეულია გლიური უჯრედების მიერ გამოყოფილი GDNF-ის ზემოქმედებით.

ნეიროტროფინები განსხვავებულ ზემოქმედებას ავლენენ სხვადასხვა ქსოვილზე. მაშინ როდესაც გლიური უჯრედებიდან წარმოებული ზრდის ფაქტორი GDGF იცავს ზურგის ტვინის მოტონეირონებს დაღუპვისაგან, მისგან განსხვავებით NGF ავლენს საწინააღმდეგო ზემოქმედებას, რაც გამოიხატება მოტონეირონების 37% დაღუპვაში აპოპტოზური გზით. ამავე დროს იგივე ფაქტორის ზემოქმედება იცავს ქერქის ნეირონებს in vitro პირობებში (Sedel et al., 1999; Heaton et al., 1999). ეპენდიმური ზრდის ფაქტორი (EGF) იწვევს ჰიპოკამპის ნეირონების ნეირიტების ზრდის სტიმულირებას ფიბრობლასტური, მენინგიალური და ეპიდერმული ტიპის უჯრედებით დაფარულ სუბსტრატზე და სისხლძარღვოვანი გარსის ეპენდიმური უჯრედების მონოშრეზე (Kimura et al., 2004; Liu, Neufeld, 2004).

კულტივირების პირობებში ნერვული უჯრედების განვითარებაზე ზემოქმედებას ახდენენ აგრეთვე არანერვული წარმოშობის ქსოვილოვანი ექსტრაქტები, როგორიცაა ზრდასრული ვირთაგვის დენერვირებული ჩონჩხის კუნთის ექსტრაქტი და მიოტუბების შემცველი კონდიცირებული არე (Brooks et al, 1980; Nurcombe et al., 1984 O· Brien, Fischbach, 1986; Braun et al., 1996 Le Esquenazi, 2002).

გლიური და ნერვული უჯრედების დიფერენცირების სტიმულირების მიზნით, ჩვენს მიერ კულტივირებული ზურგის ტვინის და კუნთოვანი ქსოვილის და აგრეთვე ზურგის ტვინის რამდენიმე ექსპლანტატის თანაკულტივირებისას, საკვებ არეში აღნიშნული ფაქტორის გარდა, ადამიანის ჭიპლარის სისხლის შრატის და პლაფერონ ლბ-ს დამატების შედეგად, გამოვლინდა აქსონების და მათი კოლატერალების აქტიური ზრდა და აქსონების შერწყმის შედეგად ნერვული ბოჭკოების ფორმირება, გაძლიერდა აქსონების და დენდრიტების სპრაუტინგი, რიც გამოც ერთი ნეირონის დენდრიტულმა სისტემამ მოიცვა ზრდის ზონის მნიშვნელოვანი ნაწილი, აქსონების ინტენსიური ზრდა

მიმდინარეობდა გლიური უჯრედების აქტიური მიგრაციის ფონზე. ყოველივე ზემოთთქმული შეიძლება აიხსნას აღნიშნული ნივთიერებებში შემავალი ფაქტორების მასტიმულირებელი ზემოქმედებით (Сванидзе, Мусеридзе, 1990; Museridze et al., 1998; Мусеридзе и др., 2004). აღნიშნული ფაქტორების შემადგენლობაში არსებული აქტიური ცილოვანი კომპონენტების გამო, როგორც სხვა მასტიმულირებელი ფაქტორების ზემოქმედებისას, ამ შემთხვევაშიც ადგილი აქვს აქსონების მიმართულ ზრდას ექსპლანტატის ზრდის ზონაში, რაც კიდევ ერთხელ ამტკიცებს მოსაზრებას იმის შესახებ, რომ ენდოგენური და ეგზოგენური ფაქტორების მოქმედება ექსპლანტატების თანაკულტივირების დროს გავლენას ახდენს მათ შორის ფუნქციური კავშირების ფორმირებაზე. აღნიშნულ პირობებში სამიზნე ქსოვილის არსებობა ასევე აძლიერებს ნეირონების მორფოლოგიურ და ბიოქიმიურ დიფერენცირებას, რაც შესაძლოა გამოწვეული იყოს სხვადასხვა ქსოვილების ურთიერთქმედებისას საკვებ არეში ქიმიური ფაქტორების გამოყოფით (Wolf et al.,1971, Bjorklund et al., 1975). ამგვარად, შეიძლება დავასკვნათ, რომ პლაცენტური წარმოშობის ფაქტორების ზემოქმედება, როგორც ჩანს, განპირობებულია პლაცენტური შრატების შემადგენლობაში შემავალი ცილოვანი კომპონენტების მასტიმულირებელი ეფექტით.

ლიტერატურაში არსებული მონაცემების ანალოგიურად, ოპიოიდური პეპტიდის, დალარგინის (ლეი-ენკეფალინის ანალოგის) მასტიმულირებელი ზემოქმედების შედეგად. ჩვენს მიერ გამოვლენილ იქნა გლიური უჯრედების აქტიური მიგრაცია ზურგის ტვინის ექსპლანტატიდან (Ilynsky et al., 1987; Козлова, 1990; Сванидзе, Мусеридзе, 1993), ეს ფაქტი მიუთითებს ენდორფინების ბიოლოგიური აქტიურობის კიდევ ერთ გამოვლინებაზე, რაც გამოიხატება ნერვული და გლიური უჯრედების დიფერენცირების სტიმულირებაში. აქსონების ზრდის ინტენსივობაზე ზემოქმედებას ახდენენ აგრეთვე სხვადასხვა ნივთიერებები. გლუტამატს, როგორც დენდრიტების განვითარების რეგულატორს, შეუძლია მოახდინოს დენდრიტების ზრდის ინჰიბირება (ისქემიური დაზიანების დროს), ან ხელი შეუწყოს მათ ზრდას (განვითარების ადრეულ პერიოდში). NMDA (N-მეთილ-D-ასპარტატი) რეცეპტორის მეშვეობით (Monnerie, Le Roux, 2006). ამავე დროს აღსანიშნავია დოფამინერგული ნეირონების კულტურაში გამოვლენილი გლიური ზრდის ფაქტორის (GGF2) ნეიროტროფული და

ნეიროპროტექტული თვისებები (Zhang et al. 2004). კულტივირებულ დოფამინერგულ ნეირონებზე GDF5-ის (TGFbeta1-ის ოჯახის წარმომადგენლის) ზემოქმედების შედეგად მატულობს მათი რაოდენობან, ნეირიტების ტოტალური რიცხვი, დატოტიანების ხარისხი და სხეულის ზომა და აგრეთვე ასტროციტების რაოდენობაც. ყოველივე ეს საშუალებას იძლევა აღნიშნული ფაქტორი, როგორც დოფამინერგული ნეიროტროფინი, გამოყენებულ იქნას პარკინსონის დაავადების დროს (O·Keefe et al., 2004).

ლიტერატურის და ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემების ანალიზი საშუალებას გვაძლევს დავასკვნათ, რომ სხვადასხვა ფაქტორის ზემოქმედების შედეგად აქსონების ზრდის და სპრაუტინგის სტიმულირება შესაძლოა გამოწვეული იყოს მათ მიერ ნეიროტროფული ფაქტორების სტიმულირებით. აქედან გამომდინარე, აღნიშნული ფაქტორები შეიძლება გამოყენებულ იქნან როგორც ემბრიონული ნერვული ქსოვილის დიფერენცირების სტიმულატორები, მათი ტრანსპლანტაციის დროს მოზრდილი ცხოველების ზურგის ტვინის დაზიანებულ უბანში.

აქსონების ზრდის განხორციელებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ გლიური უჯრედები. აქსონების უშუალო კონტაქტის შედეგად ასტროციტებთან მატულობს აქსონების და დენდრიტრების სპრაუტინგი, რაც დაკავშირებულია აქსონების ზრდის კოლბებში ცილების გადანაწილებასთან (Piontek et al., 2002). აქსონებთან კონტაქტის შემდეგ ასტროციტებში ხდება აქსონების ზრდის მასტიმულირებელი ფაქტორის სინთეზი (Korsching, 1986; Wujek, Akeson, 1987). ამასთანავე გაირკვა, რომ გლიურ სუბსტრატზე ნერვული უჯრედების მორჩების სტიმულირება გამოწვეული უნდა იყოს ამ უჯრედების მიერ გამოყოფილი ფაქტორის ზემოქმედებით (Zhang et al. 2004; O·Keefe et al., 2004). ამიტომ, ასტროციტები, რომლებიც ხასიათდებიან აქსონების ზრდის მასტიმულირებელი მოლეკულების (N-
Cadherin-ის, ლამინინის, ფიბრონექტინის და ტანესცინ-C-ს) ექსპრესიით, ხელსაყრელ სუბსტრატს წარმოადგენენ ნერვული ბოჭკოების რეგენერაციისთვის. აქსონების კარგად გამოხატული ზრდა გამოვლენილია აგრეთვე კოლაგენით დაფარულ სუბსტრატებზე (Gundersen, 1985; 1988; Matsunaga et al., 1988; Matsuda, 1988; Pakaski et al., 1990 Schwab et al., 1988; Shearer et al., 2003)). აღნიშნული მონაცემებიდან გამომდინარე, ჩვენს ექსპერიმენტებში ზრდის ზონაში გლიური უჯრედების მიერ კარგად განვითარებული

გლიური მემბრანის ფორმირება და ნერვული უჯრედების აქსონების ინტენსიური ზრდა, ნაწილობრივ შესაძლოა განპირობებული იყოს ზურგის ტვინის ექსპლანტატების კულტივირებით კოლაგენით დაფარულ სუბსტრატზე.

ამგვარად, აქსონების ზრდის ინტენსივობა ექსპლანტატიდან მიგრირებული გლიური უჯრედებისგან წარმოქმნილ მემბრანაზე, განპირობებულია გლიური უჯრედების მონაწილეობით ნერვული უჯრედების მორჩების ზრდასა და დიფერენცირებაში, რაც კარგად გამოვლინდა ჩვენს მიერ ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ კულტურაში (Мусеридзе и др., 2004; Мусеридзе, 2005).

ლიტერატურის მონაცემების თანახმად, გლიური უჯრედების სხვადასხვა სუბსტრატზე განლაგების თავისებურება ზეგავლენას ახდენს აქსონების ზრდის მიმართულებასა და ინტენსივობაზე. გაირკვა, რომ ასტროციტების მოწესრიგებული და ორიენტირებული განლაგება ხელს უწყობს ნეირიტების სიგრძეში ზრდას in vitro, რაც საშუალებას იძლევა ეს ფაქტი გამოყენებულ იქნას რეგენერირებადი ნეირიტების სიგრძისა და მიმართულების რეგულირებისთვის თავის და ზურგის ტვინის დაზიანების შემთხვევაში (Biran et al., 2003; Deumens et al., 2004).

ნეირონების მორჩების მიმართულ ზრდაში გლიური უჯრედების როლის განსაზღვრის მხრივ ინტერესს იწვევს ჩვენს მიერ აღწერილი გლიური უჯრედების მონაწილეობა აქსონების მიმართული ზრდის განხორციელებაში, როდესაც პლაზმური ან ფიბროზული ასტროციტები თავისი მორჩებით უკავშირდებიან ნერვული უჯრედების აქსონებს, ან მათ კოლატერალებს, რითაც ხელს უწყობენ მათი გარკვეული მიმართულებით გადანაცვლებას. ამგვარ აქსონებს, როგორც წესი, არ გააჩნიათ ზრდის კოლბა და გლიური უჯრედების დახმარებით ისინი საკმაოდ დიდ მანძილზე (150 მკ) გადაადგილდებიან ზრდის ზონაში, ამასთანავე ზრდის პროცესში მათ უვითარდებათ მრავალრიცხოვანი კოლატერალები (Сванидзе и др., 1989). აღნიშნული ფაქტი გამოვლენილ იქნა აგრეთვე ზურგის ტვინის კულტივირებისას საკვებ არეში დალარგინის დამატების შემდეგ, რომელიც ასტიმულირებს პლაზმური ასტროციტების მიგრაციას ზრდის ზონაში (Сванидзе, Мусеридзе, 1993). აღნიშნული ფაქტის განხილვის შედეგად შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ როდესაც აქსონებს არ გააჩნიათ ზრდის კოლბები, მათ დაბოლოებებზე მიმაგრებული ასტროციტები ასრულებენ ზრდის

კოლბების ფუნქციას. გლიური უჯრედების მიერ ზრდის კოლბების შეცვლა დროებითი მოვლენაა და კულტივირების შემდგომ ეტაპებზე აქსონები დამოუკიდებლად გადაინაცვლებენ ზრდის ზონაში.

ამგვარად, ფიბროზული და პლაზმური ასტროციტების ჩვენს მიერ აღწერილი მონაწილეობა აქსონების ზრდაში წარმოადგენს ნეიროგლიური ურთიერთობის გამომხატველ კიდევ ერთ გამოვლინებას in vitro. აქვე უნდა აღინიშნოს ზურგის ტვინის დისოცირებულ კულტურაში გლიური უჯრედების მიერ მკაცრად ორიენტირებული, რადიალური მწკრივების გასწვრივ ცალკეული ნეირონების ლოკალიზება (Сванидзе и др., 1989). ნერვული და გლიური უჯრედების აღნიშნული განლაგება ძლიერ ემსგავსება ემბრიონული განვითარების ადრეულ სტადიაზე ცნს-ის ჰისტოგენეზის პროცესში თავის ტვინის პარკუჭებიდან ნეირონების მიგრაციას, როდესაც ვენტრიკულური და სუბვენტრიკულური ზონიდან წარმოქმნილი ნეირობლასტები მიგრირებენ თავის ტვინის სხვადასხვა სტრუქტურების მიმართულებით რადიალური გლიის მორჩების გასწვრივ.

ამგვარად, ჩვენს მიერ გამოვლენილი და მრავალი მკვლევარის მიერ აღწერილი აქსონების ინტენსიური ზრდა, ექსპლანტატიდან მიგრირებული გლიური უჯრედებისგან წარმოქმნილ მემბრანაზე, განსაზღვრავს გლიური უჯრედების როლს ნერვული უჯრედების მორჩების ზრდასა და დიფერენცირებაში.

კონტაქტების ჩამოყალიბება ნერვულ და გლიურ უჯრედებს შორის in vitro, ლიტერატურის მონაცემების თანახმად, გარდა ზემოთაღნიშნული ფაქტორებისა, ხორციელდება სპეციფიკური ადჰეზიური მექანიზმების მეშვეობით. უჯრედის სხეულის და მორჩების მემბრანაზე განლაგებული უჯრედული ადჰეზიური მოლეკულები (CAM), ასრულებენ მთავარ როლს ამოცნობის პროცესებსა და შემდგომში დიფერენცირებულ ნეირონებს შორის კონტაქტის ჩამოყალიბებაში და სინაფსური პლასტიკურობის რეგულირებაში, რაც დაკავშირებულია მეხსიერებასა და დასწავლასთან (Jorgensen, 1976; Grument et al., 1983; Скибо и др., 1988; Коваль,1984; Skaper, 2005). ნერვული ქსოვილის უჯრედების ადჰეზიური თავისებურებების და მათ შორის სპეციფიკური უჯრედშორისი კონტაქტების წარმოქმნის შესწავლამ გამოავლინა ქსოვილოვანი სპეციფიკურობის მნიშვნელობა უჯრედებს შორის კონტაქტის

ფორმირების დროს. (Svanidze, Didimova, 1982; Викторов и др., 1985; Metsuda et al., 1987). ზურგის ტვინის უჯრედებში გამოვლენილი გლიკოპეპტიდი N-CAM, ახორციელებს ურთიერთკავშირს ნერვულ დაბოლოებესა და კუნთოვან უჯრედებს შორის, ხოლო გლიური უჯრედების ზედაპირზე იდენტიფიცირებული გლიკოპროტეიდი Ng-CAM, განაპირობებს ადჰეზიურ კავშირს სხვადასხვა უჯრედებს შორის ((Svanidze, Didimova, 1982; Викторов и др., 1985; Metsuda et al., 1987; Коваль, 1990).

აქსონების სამიზნე ქსოვილისკენ მიმართული ზრდის კონუსის მოძრაობის განმსაზღვრელ ფაქტორს წარმოადგენს მისი კავშირი სუბსტრატთან, რაც ხორციელდება ნეირონების ზრდის კონუსზე CAM-ის ზემოქმედებით სხვა აქსონების, ან არანერვული უჯრედების ზედაპირთან დაკავშირების დროს (Skaper, 2001, 2005). აქსონების ზრდის კონუსზე გამოვლენილია ნივთიერება P-ს სპეციფიკური რეცეპტორები, ხოლო ვინაიდან იგი მონაწილეობს სინაპტოგენეზსა და ნერვული კავშირების წარმოქმნაში, საგულისხმოა ზრდის კონუსის მნიშვნელობა უჯრედშორისი კონტაქტების ფორმირებაში (Locerbie et al., 1988).

ამგვარად, ჩვენს მიერ მიღებული შედეგების ლიტერატურის მონაცემებთან შედარების შედეგად ირკვევა, რომ ზურგის ტვინის და კუნთოვანი ქსოვილის ექსპლანტატების თანაკულტივირებისას მათ შორის ფუნქციური კავშირის განხორციელებაში მრავალი ფაქტორი მონაწილეობს. მათ შორის, მოტონეირონების აქსონების ორიენტირებული ზრდის სტიმულირება ხდება მათზე სამიზნე ობიექტის, ნეიროტროფული ფაქტორების და ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების შემცველი სხვადასხვა ექსტრაქტების ზემოქმედების შედეგად. კულტივირების პირობებში, ორგანიზმისთვის დამახასიათებელი უჯრედშორისი კონტაქტების ფორმირებაში ასევე აქტიურად მონაწილეობენ უჯრედული ადჰეზიური მილეკულები და გლიური უჯრედები, რომლებიც ხელს უწყობენ აქსონების მიმართულ ზრდას სამიზნე ობიექტისკენ.

1. 2. კულტივირებულ ნერვულ ქსოვილზე ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებები და მათი კორექცია

მკვლევართა დიდი ნაწილის განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს ნერვული ქსოვილის კულტივირების პირობებში ალკოჰოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებები. ნერვული ქსოვილის კულტურა ადექვატურ მოდელს წარმოადგენს განვითარებად ტვინზე ეთანოლის უშუალო ზემოქმედების შესასწავლად (Александров и др., 1990; Мельникова, Коновалов, 1990), ვინაიდან ეთანოლის ზემოქმედება in vitro ანალოგიურია მისი ზემოქმედებისა იმ ვირთაგვების განვითარებად ცნს-ში, რომელთა დედები მაკეობის პერიოდში იმყოფებოდნენ ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის ქვეშ (Luo, Miller, 1998).

ლიტერატურის მონაცემების თანახმად, ეთანოლი ციტოტოქსიკურ ზემოქმედებას ახდენს ნეირონების ზრდასა და დიფერენცირებაზე კულტივირების პირობებში. ნერვული ქსოვილის კულტივირების დროს შესაძლებელია შესწავლილ იქნას ალკოჰოლის ზემოქმედება, როგორც ცალკეულ ინდივიდუალურ უჯრედებზე, ასევე მის გარემომცველ არეზე და აგრეთვე იმ მეტაბოლურ პროცესებზე, რომლებიც მიმდინარეობს უჯრედების დიფერენცირების და მათ შორის ფუნქციური კავშირების დამყარების დროს.

ნერვულ და გლიურ უჯრედებზე ეთანოლის ციტოტოქსიკური ზემოქმედების შედეგად გამოწვეული ცვლილებების შესწავლის მიზნით ჩატარებული გამოკვლევების შედეგების ანალიზი საშუალებას იძლევა დავასკვნათ, რომ ალკოჰოლის ზემოქმედება ხორციელდება სხვადასხვა მექანიზმის მეშვეობით. მათ შორის აღსანიშნავია მონაცემები, რომელთა თანახმად ეთანოლი თრგუნავს აქსონების და დენდრიტების ზრდას, აფერხებს სინაფტოგენეზის და პროლიფერაციის პროცესებს მიტოგენურ ზრდის ფაქტორებზე, ან უჯრედულ ციკლზე ზემოქმედების შედეგად, აძლიერებს აპოპტოზს.

ჩვენს მიერ ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ კულტურაზე ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი იქნა ეთანოლის დამთრგუნველი ზემოქმედება აქსონების ზრდაზე (Мусеридзе и др., 2004; Мусеридзе, 2005). ანალოგიური შედეგები იქნა მიღებული სხვა მკვლევარების მიერ ჰიპოკამპის კულტურაზე ეთანოლის სხვადასხვა დოზით ზემოქმედების შემთხვევაშიც (Clamp, Lindsley, 1998; Yanni, Lindsley, 2000; Lindsley et al., 2002, 2003).

ალკოჰოლი განსხვავებულ ზემოქმედებას ახდენს ნერვულ და გლიურ უჯრედებზე, რაც გამოიხატება ენდოგენური ანტიოქსიდანტური ფერმენტის სოდ-ის აქტიურობაში, რომელიც მიმართულია ალკოჰოლური ინტოქსიკაციის შედეგად წარმოქმნილი თავისუფალი რადიკალების საწინააღმდეგოდ. 100mM ეთანოლის ზემოქმედებისას მისი აქტიურობა კულტივირებულ ნეირონებში არ იცვლება (Ledig et al., 1980), მაშინ, როდესაც ანალოგიურ პირობებში იგი მნიშვნელოვნად შემცირებულია გლიურ უჯრედებში (Mandel et al., 1980), რაც განაპირობებს ასტროციტების უფრო მეტ მგრძნობელობას ალკოჰოლის ზემოქმედების მიმართ, ნეირონებთან შედარებით. სოდ-ის ფორმირება ასტროციტებში ნელა მიმდინარეობს და იგი პიკს აღწევს მხოლოდ კულტივირების დაწყებიდან მე-3 კვირისთვის, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ სოდ არ არის დაკავშირებული დიფერენცირების პროცესთან, ამიტომ ამ ფერმენტის აქტიურობა კულტივირების ადრეულ ეტაპებზე ნაკლებ ეფექტურია ალკოჰოლური ინტოქსიკაცით გამოწვეული თავისუფალი რადიკალების ზემოქმედების მიმართ (Ledig et al., 1991; Meister, Anderson, 1983, Murphy et al., 1990; Ramachandran et al., 2003). ამ ფაქტებიდან გამომდინარე, ჩვენს მიერ ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ზრდის ზონაში გამოვლენილი დესტრუქციული ცვლილებები კულტივირების ადრეულ ეტაპებზე, შესაძლოა გამოწვეული იყოს ენდოგენური ანტიოქსიდანტური ფერმენტული სისტემის განვითარების დაბალი დონით, რის გამოც ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად წარმოქმნილი თავისუფალი რადიკალები იწვევენ გლიური უჯრედების დაღუპვას და ნეირონების მზარდი აქსონების რედუქციას (Мусеридзе и др., 2004; Мусеридзе, 2005).

ეთანოლის ტოქსიკური ზემოქმედება ასტროციტების პირველად კულტურებში იწვევს ციტოქრომ P4502E1 (CYP2E1) ინდუქციას, რომელსაც თან ახლავს თავისუფალი რადიკალების გენერაცია. ამ დროს წარმოქმნილი რეაქტიული ოქსიგენური მოლეკულების მატება თავის მხრივ იწვევს ციტოჩონჩხის ცვლილებებს. ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ჟანგბადის რეაქტიული ნაერთების გაძლიერებული გენერაციის შედეგად ადგილი აქვს გლიური უჯრედების ოქსიდაციურ დაზიანებას (Montoliu, et al., 1995), დნმ-ის და ცილის სინთეზის დაქვეითებას, რაც აფერხებს პროლიფერაციის პროცესს (Snyder et al., 1992). ჰიპოკამპის კულტურაში ეთანოლის ზემოქმედება იწვევს სინაფსების რაოდენობის, დენდრიტების სიგრძის და რიცხვის

შემცირებას (Yanni, Lindsley, 2000). ამგვარად, კულტივირების პირობებში, ეთანოლის ზემოქმედება გლიურ უჯრედებზე ხორციელდება ფაქტორების მთელი კომპლექსის მეშვეობით.

უჯრედების პროლიფერაციის, დიფერენცირების და დაღუპვის პროცესები რეგულირდება რთული მოლეკულური მექანიზმების საშუალებით, რომლებშიც მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება უჯრედშიდა და უჯრედშორის რეტროგრადულ მესენჯერს, აზოტის ჟანგს (NO) (Krischel , et al., 1998; Schon, Ruzicka, 2001). იგი წარმოადგენს პოლიფუნქციურ მაღალრეაქტიულ მოლეკულას, რომელიც სხვადასხვა ფერმენტების ნიტროზილირების ან ნიტრირების საშუალებით, არეგულირებს მათ აქტიურობას (აინჰიბირებს ან ააქტივებს) და ამ გზით მონაწილეობს უჯრედული მეტაბოლიზმის მოდულაციაში (Cotter, 2005; Cheah et al., 2006; Lopachin, Barber, 2006).

ეთანოლის შემცველ საკვებ არეში კულტივირებული ექსპლანტანტების ეპრ კვლევისას, ჩვენს მიერ გამოვლენილი NO-ს წარმოქმნის ძლიერი ინტენსიფიკაცია და სუპეროქსიდრადიკალების ინტენსიური ეპრ სიგნალი განაპირობებს თავისუფალი რადიკალების ციტოტოქსიკურ ზემოქმედებას, რაც ვლინდება ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ კულტურაში ზრდის ზონის განვითარების შეფერხებასა, და შესბამისად, ზრდის ზონაში გლიური უჯრედების მიგრაციის დათრგუნვაში და აქსონების ზრდის რედუქციაში.

ეთანოლის ხანგრძლივი ზემოქმედებისას ნეირონულ კულტურაზე გლუტამატური NMDA რეცეპტორის ექსციტოტოქსიკურობით განპირობებული ოქსიდაციური სტრესის შედეგად წარმოქმნილი თავისუფალი რადიკალების ზემოქმედება იწვევს უჯრედების დაღუპვას აპოპტოზის გზით (Ratan et al., 1994; Lankaster, 1995; Chandler et al., 1997; Crews et al., 1998; Rudolf et al., 1998 Zima et al., 2001). აღნიშნული მონაცემები საფუძველს გვაძლევს ვიფიქროთ, რომ ჩვენს მიერ კულტივირებული ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ზრდის ზონაში ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად განვითარებული ოქსიდაციური სტრესი განაპირობებს აქსონების ზრდის ინტენსივობის დათრგუნვას და გლიური უჯრედების დაღუპვას.

მიტოქონდრიებში რესპირატორული მეტაბოლიზმის შედეგად წარმოქმნლი თავისუფალი რადიკალების განეიტრალება ხდება ენდოგენური უჯრედული

ანტიოქსიდანტებით (სუპეროქსიდდისმუტაზა, გლუტათიონპეროქსიდაზა, გლუტათიონრედუქტაზა, კატალაზა), რომლებიც აკონტროლებენ თავისუფალი რადიკალების მოქმედებას და იცავენ უჯრედებს ოქსიდაციური სტრესით გამოწვეული დაზიანებისგან (Halliwell, 1992; Беридзе и др., 2001). თუმცა, როგორც ადრე აღვნიშნეთ, ანტიოქსიდანტური ფერმენტული სისტემა კულტივირების ადრეულ ეტაპებზე ჯერ არ არის ფორმირებული, რაც განაპირობებს თავისუფალი რადიკალების ზემოქმედებით გამოწვეულ პროცესებს.

ამგვარად, ნერვული ქსოვილის კულტივირების პირობებში, ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი ცვლილებების შესახებ არსებული ლიტერატურის და ჩვენი მონაცემების განხილვიდან გამომდინარე, ეთანოლის ციტოტოქსიკური ზემოქმედება კულტივირების ადრეულ ეტაპებზე მნიშვნელოვან ცვლილებებს იწვევს ნეირონების და გლიური უჯრედების როგორც სტრუქტურულ, ისე მეტაბოლურ დიფერენცირებაში.

ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი დესტრუქციული ცვლილებების თავიდან აცილების მიზნით, ნერვული ქსოვილის კულტურის მოდელურ ექსპერიმენტებში გამოვლენილ იქნა რიგი ნივთიერებებისა (Chen et al., 2004). მაგ., განგლიოზიდები მოქმედებენ ეთანოლის ზემოქმედების საწინააღმდეგოდ სპეციფიკურად გლიურ უჯრედებში (Klemm et al., 1988). ენტორინალური ქერქის და ჰიპოკამპის ორგანოტიპურ კულტურაში ფუროსემიდის დამატება თრგუნავს ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად ლაქტატდეჰიდროგენაზას გამოთავისუფლებას (Collins et al., 1998). აღსანიშნავია აგრეთვე პლაცენტური ფაქტორის P6-ის ანტიაპოპტოზური ეფექტის გამოვლენა ნეირონულ კულტურაში (Barbaqadze, 2000).

მაკეობის განმავლობაში ალკოჰოლიზებული დედების ნაშიერებიდან მიღებული გლიური უჯრედების კულტურაზე Mn-ის და ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად მიღებული მონაცემები მიუთითებენ, რომ Mn-ს ახასიათებს ანტაგონისტური მოქმედების უნარი ეთანოლის მიმართ გლიური უჯრედების განვითარების პროცესში (Ledig et al., 1991). კულტურის ანალოგიურ მოდელზე, ყურძნის ექსტრაქტის ზეგავლენის შესწავლის შედეგად ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული სოდ-ის, გლუტამინ სინთეტაზას და ენოლაზას აქტიურობის ხარისხზე, გაირკვა, რომ ყურძნის

ექსტრაქტში არსებული პოლიფენოლური კომპონენტები ასევე განაპირობებენ მის ანტიოქსიდანტურ თვისებებს (Anokhina et al., 1990).

ჩვენს მიერ ქათმის ემბრიონის ზურგის ტვინის კულტივირებული ექსპლანტატების ეპრ სპექტროსკოპული კვლევის დროს, საკვებ არეში პლაფერონ ლბ-ს დამატების შემდეგ, აქსონების ზრდის სპრაუტინგის და გლიური უჯრდების მიგრაციის ინტენსივობის მკვეთრი გაძლიერების ფონზე, ინტენსიური სპინმონიშნული თავისუფალი NO-ს ეპრ სიგნალი 66,6%-ით გაზრდა, საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით, გამოწვეული უნდა იყოს პლაფერონ ლბ-ს მიერ NO-ს სინთეზის მოდულირების უნარით (Гонгадзе, 2004; Мамамтавришвили, 2003; Мегреладзе, и др., 2003). ზურგის ტვინის ექსპლანტანტების ეთანოლის შემცველ საკვებ არეში ეპრ სპექტროსკოპული კვლევისას სპინმონიშნული თავისუფალი NO-ს და HbNO-კომპლექსების ეპრ სიგნალის წარმოქმნის ძლიერი ინტენსიფიკაცია და ექსპლანტატების ეპრ სპექტრში სუპეროქსიდრადიკალების ინტენსიური ეპრ სიგნალის გამოჩენა განაპირობებს თავისუფალი რადიკალების ციტოტოქსიკურ ზემოქმედებას, რაც გამოიხატება ზრდის ზონის განვითარების დათრგუნვაში და შესაბამისად, ზრდის ზონაში გლიური უჯრედების მიგრაციის შეფერხებასა და ერთეული აქსონების არსებობაში.

ცდების შემდეგ სერიაში, საკვებ არეში ეთანოლთან ერთად პლაფერონ ლბ-ს დამატების შემდეგ, გლიური უჯრედების კარგად გამოხატული მიგრაცია (საკონტროლო სერიის მსგავსად) და აქსონების ინტენსიური ზრდის შედეგად ფართო კონების წარმოქმნა, მიუთითებს ეთანოლის ტოქსიკური მოქმედების შესუსტებაზე მისი და პლაფერონ ლბ-ს ერთდროული ზემოქმედების დროს, რაც მტკიცდება ნეირონების ზრდის ინდექსის მაჩვენებლის მნიშვნელობის მომატებით აღნიშნულ პირობებში (Мусеридзе и др., 2004). ამ შემთხვევაშიც ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული დესტრუქციული პროცესების ნორმალიზება მიუთითებს პლაფერონ ლბ-ს ანტიოქსიდანტური თვისებების გამო ეთანოლის ტოქსიკური ზემოქმედების შესუსტებაზე, მათი ერთდროული ზემოქმედების დროს. იგივე ეფექტი იქნა გამოვლენილი ზურგის ტვინის ექსპლანტატების საკვებ არეში ეთანოლთან ერთად დოლივინის დამატების შემდეგ. (Мусеридзе, 2005). დოლივინის შემადგენლობაში

ჰიპოქსენის, ციტოქრომ C-ს და უბიქინონის მსგავსი ნაერთის არსებობა განაპირობებს მის მიერ ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად დარღვეული სუნთქვითი ჯაჭვის აღდგენას და შესაბამისად ანტიოქსიდანტურ აქტიურობას, რაც გამოიხატება ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ზრდის ზონაში აქსონების სპრაუტინგის მნიშვნელოვან გაძლიერებაში და გლიური უჯრედების აქტიურ მიგრაციაში (Мусеридзе, 2005).

ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად გამოვლენილი ცვლილებების კორექცია, ორივე ანტიოქსიდანტის ზემოქმედების შედეგად, დადასტურდა აქსონების ზრდის ინდექსის რიცხობრივი მაჩვენებლების მნიშვნელობის მომატებით აღნიშნულ პირობებში (Мусеридзе и др., 2004). ვინაიდან აღნიშნული პრეპარატები ცალკ-ცალკე მასტიმულირებლად მოქმედებენ ზურგის ტვინის ექსპლანტატებზე, შეიძლება ვიფიქროთ, რომ მათი ეთანოლთან ერთდროული ზემოქმედებისას ისინი ახდენენ ეთანოლის დამთრგუნველი ზემოქმედების ინჰიბირებას, რითაც ავლენენ პრევენციულ თვისებებს და იწვევენ ეთანოლით გამოწვეული დესტრუქციული ცვლილებების ნორმალიზებას (Мусеридзе и др., 2004; Мусеридзе, 2005).

ამგვარად, ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოწვეული დესტრუქციული ცვლილებების ნორმალიზების მიზნით, ზურგის ტვინის ორგანოტიპური კულტურის საკვებ არეში ეთანოლთან ერთად ანტიოქსიდანტების - პლაფერონ ლბ-ს და დოლივინის დამატება იწვევს ეპრ სპექტრში თავისუფალი NO-ს ეპრ სიგნალის ინტენსივობის შემცირებას და HbNO-კომპლექსების და სუპროქსიდრადიკალების ეპრ სიგნალების გაქრობას, რაც მიუთითებს აღნიშნული პრეპარატების მიერ ეთანოლის ნეიროტოქსიკური ზემოქმედების შესუსტების უნარზე.

ცნობილია, რომ ემბრიონული ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ კულტურაში, სხვა ნეიროტროფინებისგან განსხვავებით, NGF-ის ზემოქმედება იწვევს აპოპტოზური ნეირონების მატებას 37%-ით, ხოლო GDNF**F**აძლიერებს მოტონეირონების სიცოცხლისუნარიანობას და იცავს მათ დაღუპვისაგან, რაც მიუთითებს, რომ GDNF წარმოადგენს ეთანოლის დამაზიანებელი ზემოქმედებისგან დამცავ პოტენციურ ფაქტორს განვითარებადი მოტონეირონებისთვის (Sedel et al., 1999; Heaton et al., 1999). ამ მონაცემების გათვალისწინებით, ჩვენს მიერ მიღებული შედეგების განხილვის შედეგად, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ პლაფერონი ლბ და დოლივინი თრგუნავენ

NGF-ის მოქმედებას და ხელს უწყობენ GDNF-ის ექსპრესიას, რაც განაპირობებს მოტონეირონების აქსონების ინტენსიურ ზრდას და მათ სპრაუტინგს. ეს ფაქტი მით უფრო გასათვალისწინებელია, რომ ჩვენს მიერ ამ პრეპარატების ცალკ-ცალკე ზემოქმედებისას ინტაქტურ კულტურებში, გამოვლენილ იქნა გლიური უჯრედების აქტიური მიგრაცია და აქსონების ინტენსიური ზრდა ზურგის ტვინის ექსპლანტატის ზრდის ზონაში (Мусеридзе и др., 2004).

2. ლიმბურ და მოტორულ ქერქში ეთანოლის ზეგავლენით გამოწვეული ცვლილებები და მათი კორექცია in vivo პირობებში

2. 1. ლიმბურ და მოტორულ ქერქში ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის ცვლილებები ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად

ეთანოლით ინტოქსიკაცია ცნს-ს პრენატალურ პერიოდში, განვითარებად თავის ტვინზე ზემოქმედების შედეგად განსაკუთრებით აფერხებს პროლიფერაციის და მიგრაციის პროცესებს. პროლიფერაციის დათრგუნვა შესაბამისად იწვევს მიგრაციის ინჰიბირებას და შემდგომში თავის ტვინის სხვადასხვა სტრუქტურების ნორმალური განვითარების დარღვევას, რაც საბოლოოდ განაპირობებს ქერქული და ქერქქვეშა სტრუქტურების ასინქრონულ განვითარებას. აღნიშნული დარღვევების შედეგად ვითარდება ალკოჰოლური ემბრიონული სინდრომი - FAS, რომლის ერთ-ერთ ძირითად ნიშანს წარმოადგენს ცნს-ის ფუნქციის მოშლა, რაც თავის მხრივ განაპირობებს სხვადასხვა პათოლოგიებს და ნევროლოგიურ დაავადებებს. დარღვევები ბავშვთა ზრდასა და განვითარებაში, აზროვნების შეფერხება და ხანგრძლივი შემეცნებითი და ქცევითი დეფიციტი წარმოადგენს იმ ბავშვების პრობლენას, რომელთა დედები ფეხმძიმობის პერიოდში ღებულობდნენ ალკოჰოლს (Tanaka, 1997; Tsai, Coyle, 1998; Ykonomidou et al., 2000; Goodlett, Horn, 2001; Guerri, 2002).

მშობლების ალკოჰოლური ინტოქსიკაციის ზეგავლენის შესწავლამ შთამომავლობის თავის ტვინის ქერქის სტრუქტურების ფორმირებასა და განვითარებაზე გამოავლინა კრიტიკული პერიოდები ეთანოლის ზემოქმედების

მიმართ. პირველი პერიოდი მოიცავს ემბრიონულ პერიოდს და პოსტნატალური განვითარების საწყის ეტაპს და გამოიხატება გვერდითი და მესამე პარკუჭების მატრიცული უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობის დათრგუნვაში, შემდგომი პერიოდი კი ემთხვევა უჯრედების მიგრაციას და გამოიხატება ნეირობლასტების განლაგების ინჰიბირებაში ქერქულ სტრუქტურებში, მათი საბოლოო დისლოკაციის ადგილას.

ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი დარღვევების შესასწავლად წარმატებით იყენებენ ცხოველურ მოდელებს, რაც საშუალებას იძლევა ცვლილებები გამოვლენილ იქნას ეთანოლის ზემოქმედებისას ან უშუალოდ ემბრიონულ პერიოდში, ან იმ დედების შთამომავლობაში, რომლებიც მაკეობის პერიოდში იმყოფებოდნენ ალკოჰოლური ინტოქსიკაციის ქვეშ.

ვირთაგვების თავის ტვინი ხასიათდება კარგად განვითარებული ქერქული და ქერქქვეშა სტრუქტურებით. ქერქი, ქერქქვეშა სტრუქტურებისგან განსხვავებით, რომლებიც ერთგვაროვანი უჯრედების დიფუზური განლაგებით ხასიათდებიან, წარმოდგენილია შრეობრივი სტრუქტურით, რაც გულისხმობს სხვადასხვა ტიპის უჯრედების გარკვეული კანონზომიერებით განლაგებას, ეს კი განაპირობებს კავშირების შექმნას სხვადასხვა შრეებსა და სტრუქტურებს შორის, რაც საბოლოოდ განსაზღვრავს აფერენტული და ეფერენტული გზების ფორმირებას. ნეირონების მომწიფების პროცესი უფრო დიდხანს გრძელდება, ვიდრე მათი წარმოქმნა, ამასთან, ქერქის სხვადასხვა უბანში მათი მომწიფება განსხვავებული ტემპით ხასიათდება.

ალკოჰოლის ზემოქმედების მიმართ განსაკუთრებით მგრძნობიარე აღმოჩნდა თავის ტვინის ქერქი. მდედრი ვირთაგვების ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად მიღებულ შთამომავლობაში მნიშვნელოვნად იცვლება ქერქის მორფოლოგიური მახასიათებლები, კლებულობს უჯრედების რაოდენობა, იცვლება კალოზალური პროექციული ნეირონების განლაგება და მათი შრეებში გადანაწილება (Miller, Potempa, 1990; Miller, 1993; 1997; Mooney, Miller, 1999; Попова,1992) აღინიშნება უჯრედების ულტრასტრუქტურული ცვლილებები (Checiu et al., 1989; Ostrovskaia et al., 1990; Попова,1991; Berman, Hannigan, 2000).

ემბრიონების ლიმბური სისტემის ნეირონებში სტრუქტურული და ბიოქიმიური დარღვევები, დედის ალკოჰოლიზაციის პირობებში, შემდგომში აისახება შთამომავლობის ქცევაში, ვინაიდან ლიმბურ სისტემაში შემავალი უბნები მონაწილეობას ღებულობენ ისეთ მნიშვნელოვან ქცევით აქტებში, როგორიცაა დასწავლა, მეხსიერება, ემოციური რეაქციების და ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგულაცია (ნანეიშვილი, 2002; Gogichadze et al., 2004).

ლიმბური ქერქის შემადგენლობაში შემავალი სარტყლისებრი ხვეული პროექციებს აგზავნის ენტორინალური ქერქისკენ, რომელიც წარმოადგენს ჰიპოკამპის ქერქული აფერენტების მთავარ წყაროს, მისი ნეირონები კონტაქტს ამყარებენ ჰიპოკამპის დაკბილული ფასციის მარცვლოვან უჯრედებთან და ამონის რქის CA_1-CA_2 ველების პირამიდულ ნეირონებთან. ეთანოლის ზემოქმედება იწვევს ენტორინალური ქერქის ნეირობლასტების საერთო მასის შემცირებას, რომელიც მონაწილეობას ღებულობს ქერქულ-ჰიპოკამპური და ქერქულ-თალამური კავშირების ჩამოყალიბებაში (Сванидзе и др., 2001). ინტერესს იწვევს ალკოჰოლით გამოწვეული ცვლილებების შესწავლა მამოძრავებელ სისტემაში, რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ცხოველების კოორდინირებული ქცევითი რეაქციების განხორციელებაში.

ამგვარად, ლიმბური და მამოძრავებელი სისტემის ქერქული სტრუქტურების ჰისტოგენეზის დარღვევა გამოიწვევს ქერქის ნეირონების და შესაბამისად მათი აქსონების დაზიანებას, რომლებიც მონაწილეობენ ეფერენტული და ასოციაციური კავშირების შექმნაში, ეს კი საბოლოოდ გამოიწვევს მთლიანად ამ სისტემების ფუნქციური აქტიურობის დაქვეითებას. ამ დროს განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად ნერვული უჯრედების აქსონების განვითარების პროცესის შეფერხება. ამ ფაქტს ადასტურებს ჩვენს მიერ კულტურის მოდელურ ექსპერიმენტებში მიღებული მონაცემები, რომელთა თანახმად, ეთანოლის ზემოქმედება იწვევს ზურგის ტვინის ნეირონების აქსონების ზრდის სრულ ბლოკირებას (Мусеридзе и др., 2004; Мусеридзе, 2005).

ეთანოლის ზემოქმედების შესწავლა ჯერ კიდევ ჩამოუყალიბებელ, ჰისტოგენეზის პროცესში მყოფ ქერქზე,^საშუალებას იძლევა გაირკვეს ეთანოლის ზემოქმედების სხვადასხვა ასპექტები დიფერენცირებად ნერვულ და გლიურ

უჯრედებზე, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს ქერქის ციტოარქიტექტონიკის რღვევა ზრდასრულ ასაკში. ლიმბური და მოტორული ქერქის სტრატიფიკაციის და ნეირო- და გლიოგენეზის შესწავლისას, ეთანოლით ინტოქსიკაციის პირობებში, ჩვენს მიერ განსაკუთრებული ყურადღება ექცეოდა იმას, რომ პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე ამ სტრუქტურების შრეები საბოლოოდ არ არის ფორმირებული და ქერქის სტრატიფიკაცია, ნეირონების აქსონების სპრაუტინგი ჯერ კიდევ გრძელდება, ამიტომ ჩვენი ყურადღება მიმართული იყო უკვე ფორმირებული ზედა და ქვედა სართულებისკენ, რომლებიც შემდგომში შეესაბამებიან I-III და IY-YI შრეებს. თავის ტვინის პარკუჭებიდან მიგრირებული ნეირობლასტები, ქერქის სტრატიფიკაციის პროცესში, განლაგდებიან ქერქის ჯერ ქვედა, ხოლო შემდეგ ზედა შრეებში. ეთანოლის ზემოქმედების გამო ეს პროცესი შეიძლება დაირღვეს, რაც შესაბამისად გამოწვევს ქერქის ასინქრონულ განვითარებას.

ჩვენს მიერ გამოვლენილ იქნა, რომ მაკეობის პერიოდში ეთანოლის ინტოქსიკაციის ქვეშ მყოფი დედების შთამომავლობის თავის ტვინის ქერქის ლიმბურ და მოტორულ ქერქში, მათი პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე, უჯრედების რაოდენობა საგრძნობლად შემცირებულია საკონტროლო ჯგუფის მონაცემებთან შედარებით. ამავე დროს უჯრედების საერთო რაოდენობის შემცირება მიმდინარეობს ქვედა სართულის უჯრედების დაღუპვის ხარჯზე. ეს პროცესი განსაკუთრებით კარგადაა გამოხატული სარტყლისებრი ხვეულის ქვედა სართულში, განსაკუთრებით პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე, (P3, P7, P15 - 59%, 65% და 48%-ით შესაბამისად). ენტორინალური და მოტორული ქერქის ქვედა სართულშიც, ზედა სართულთან შედარებით, ნაკლები რაოდენობის უჯრედებია წარმოდგენილი, თუმცა განვითარების სხვადასხვა ეტაპებზე უჯრედების რაოდენობა სხვადასხვაგვარად იცვლება.

ამგვარად, როგორც გაირკვა, ლიმბურ და მოტორულ ქერქში ეთანოლის ზემოქმედების მიმართ განსაკუთრებულ მგრძნობელობას ავლენენ ქვედა სართულის ნეირონები, თანაც ლიმბურ ქერქში ეს პროცესი უფრო მეტადაა გამოხატული განვითარების ადრეულ ეტაპებზე.

ეთანოლის პრე- და პოსტნატალური ზემოქმედების შედეგად, ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის შემცირება და დენდრიტების განვითარების შეფერხება სენსომოტორული ქერქის Y შრეში გამოვლინდა აგრეთვე სხვა ავტორების მიერ (Попова,1983). პრენატალური ეთანოლით ინტოქსიკაცია მნიშვნელოვან დისტროფიულ ცვლილებებს იწვევს პოსტნატალურ პერიოდში ნერვული უჯრედების ულტრასტრუქტურაში (Попова, 1993; 1996).

ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული ნერვული უჯრედების რაოდენობის ცვლილებები სხვადასხვა მიზეზით შეიძლება იყოს განპირობებული. მათ შორის მნიშვნელოვანია სასუნთქი და დამჟანგავი ფერმენტების აქტიურობა, ვინაიდან, ქსოვილოვანი სუნთქვა ორგანიზმის არსებობისთვის აუცილებელი ენერგიის გამომუშავების წყაროა და ამ პროცესში მონაწილე ფერმენტებს, რომლებიც ქმნიან ერთ მთლიან ანსამბლს – სუნთქვით ჯაჭვს, რომელიც ახორციელებს პროტონების და ელექტრონების მოლეკულურ ჟანგბადზე გადატანას, განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება უჯრედების ცხოველმყოფელობის შენარჩუნებაში.

ცნობილია, რომ პოსტნატალური განვითარების საწყის ეტაპზე ჯერ კიდევ დაბალია სასუნთქი და დამჟანგავი ფერმენტების აქტიურობა. ნერვული ქსოვილის ჟანგვითი პროცესების განვითარების ხარისხი ონტოგენეზში ძირითადად განისაზღვრება მიტოქონდრიებში ციტოქრომული სისტემის აქტიურობით. ცალკეული ფერმენტული სისტემების, ციტოქრომოქსიდაზას და სუქცინატდეჰიდროგენაზას ლოკალიზაციის შესწავლის შედეგად, რომლებიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ სუნთქვით ჯაჭვში ელექტრონების გადატანის განხორციელებაში, გამოვლენილ იქნა განსხვავება ახალშობილი და ზრდასრული ვირთაგვების თავის ტვინის ქერქის ქიმიოარქიტექტონიკაში. ვირთაგვების ქერქის ბიოქიმიური მომწიფება, აღნიშნული ფერმენტების აქტიურობის მიხედვით, მიმდინარეობს პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე და ემთხვევა მისი განვითარების მორფოლოგიური და ფუნქციური დიფერენცირების პერიოდს. ორივე ფერმენტის აქტიურობა საკმაოდ დაბალია დაბადებისთანავე, ხოლო შემდეგ მატულობს და მაქსიმუმს აღწევს P30 პერიოდისთვის (Karki et al., 1962; Пигарева, 1972; Оленев, 1978).

ყოველივე ზემოთაღნიშნულიდან გამომდინარე, პოსტნატალური განვითარების ადრეულ პერიოდში, ჩვენს მიერ გამოვლენილი უჯრედების რაოდენობის შემცირება ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად, შესაძლოა გამოწვეული იყოს ამ ეტაპზე ფერმენტული სისტემის განვითარების დაბალი ხარისხით, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ განვითარების მოცემულ ეტაპზე, ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ოქსიდაციური სტრესით ინიცირებული თავისუფალი რადიკალების წინააღმდეგ ჯერ კიდევ არ არის ფორმირებული უჯრედების ანტიოქსიდანტური სისტემა. ხოლო ბოლო ეტაპებზე, როდესაც აღნიშნული ფერმენტების აქტიურობა მაქსიმუმს აღწევს, ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად უფრო ნაკლები უჯრედები იღუპებიან.

ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად ჩვენს მიერ აღწერილი ნეირონების რაოდენობის შემცირება თავის ტვინის ქერქის ჩამოყალიბების პროცესში შემდგომში განაპირობებს დარღვევებს გამტარი გზების ფორმირებასა და ნორმალურ ფუნქციობაში. მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში, ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის ქვეშ მყოფი^ვირთაგვების შთამომავლობის სენსომოტორულ ქერქში გამოვლენილ იქნა დენდრიტული სისტემის განვითარების შეფერხება და შესაბამისად დეგენერირებული ნეირონები და ნერვული ბოჭკოები (Попова и др 1983; 1993; 1996; Murrey et al.,1981; Popova, 2004).

ლიტერატურის მონაცემების თანახმად, ნეირობლასტების მიგრაცია დამოკიდებულია მათი მრავალრიცხოვანი ციტოპლაზმური წანაზარდების წარმოქმნაზე, ხოლო მორჩების განვითარება კი ზრდის კოლბების ფორმირებაზე. რომელთაც გააჩნიათ საკუთარი ცილის მასინთეზებელი აპარატი (Попова, 1991; Galofre et al., 1987; Harper, 1998; Yanni, Lindsley, 2000), ეთანოლის უნარი, დათრგუნოს ცილის სინთეზი, შესაბამისად იქონიებს გავლენას უჯრედების გადანაცვლებასა და აქსონური კონტაქტების ფორმირებაზე.

პრენატალური ინტოქსიკაციის შედეგად ოლიგოდენდროგლიური უჯრედების მიერ მიელინის ძირითადი ცილის რაოდენობის შემცირება განაპირობებს ნეირონულ დისფუნქციას, რაც თავის მხრივ იწვევს ნეიროგენეზის პროცესის დათრგუნვას (Ozer et al., 2000).

ეთანოლის პრენატალური ზემოქმედების შედეგად, ნეირონების რაოდენობის შემცირება აღინიშნება ლიმბური და მოტორული სისტემის ქერქქვეშა სტრუქტურებშიც, თალამუსის ბირთვებში, კუდიან ბირთვში და ნათხემში (Попова, Фрумкина, 1985; Armstrong et al, 1990; Snyder et al., 1992; Krill et al., 1997; Harper, 1998; Mooney, Miller, 1999; Heaton et al., 1999; Japaridze et al., 2002), თუმცა აღინიშნება ნეირონების სხვადასხვა მგრძნობელობა ეთანოლის ზემოქმედების მიმართ. ლიტერატურაში არსებული მონაცემების ანალოგიურად, ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად ჩვენს მიერ გამოვლენილ იქნა აგრეთვე ზურგის ტვინის მოტონეირონების რაოდენობის შემცირება ((Heaton et al., 1999; Ward et al., 1999; მუსერიძე და სხვ., 2003).

2. 2 ეთანოლით გამოწვეული თავის ტვინის გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების და მოტორული ქერქის გლიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობის ცვლილებები

ვინაიდან ქერქული სტრუქტურების ჩამოყალიბების ადრეული ეტაპები მჭიდროდ არის დაკავშირებული მატრიცული უჯრედების გამრავლებასთან და ნეირობლასტების შემდგომ მიგრაციასთან, მიზანშეწონილია ამ უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობის შესწავლა ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის დროს. მრავალი გამოკვლევის შედეგად დადგინდა, რომ ეთანოლი განსაკუთრებით მძიმე ზემოქმედებას ახდენს პროლიფერაციის პროცესზე (Miller, 1986; 1988 1993;Goodlett, Horn, 2001; Gohlke et al., 2002; 2005). ეთანოლის პრე- და პოსტნატალური ზემოქმედების შედეგად თავის ტვინის გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობის დაქვეითება იწვევს პირამიდული ნეირონების რაოდენობის შემცირებას ლიმბურ ქერქსა და ჰიპოკამპში (Miller, 1995; Japaridze et al., 1999; Сванидзе и др., 2001). ცნობილია აგრეთვე, რომ ეთანოლით პრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაცია, ქერქის სტრუქტურული და ფუნქციური ჩამოყალიბებისას, მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ნერვული უჯრედების წინამორბედების პროლიფერაციისა და მიგრაციის პროცესებზე (Miller, 1986; Cartwight et al., 1998; Luo, Miller, 1998). მიუხედავად იმისა, რომ ჩვენს მიერ შესწავლილი

ემბრიოგენეზის ბოლო ეტაპზე (G18-20) ვირთაგვების ემბრიონებში გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების პროლიფერაციის ინტენსივობა ისედაც დაქვეითებულია, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ^ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამოვლენილი მიტოზური ინდექსის მკვეთრი შემცირება აღნიშნულ პერიოდში, საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით, გამოწვეულია ეთანოლის ტოქსიკური ზემოქმედებით პროლიფერაციის პროცესზე, თუმცა,^ პროლიფერირებადი უჯრედების რაოდენობის შემცირება შესაძლოა გამოწვეული იყოს აგრეთვე უჯრედების დაღუპვითაც (Seabold et al., 1998).

მიტოზზე ეთანოლის ზემოქმედების შესწავლისას ჩვენს მიერ პათოლოგიური მიტოზები თითქმის არ აღინიშნებოდა, რაც მიუთითებს ეთანოლის უპირატეს ზემოქმედებაზე უჯრედული ციკლის ინტერფაზაზე. ამ მხრივ აღსანიშნავია მონაცემები, რომელთა მიხედვით ეთანოლის ზემოქმედება პროლიფერირებად უჯრედებზე კულტივირების პირობებში იწვევს უჯრედული ციკლის გახანგრძლივებას და შემდგომში მათ დაღუპვას აპოპტოზის გზით (Hirai et al, 1999; Jakobs, Miller 2002; Gohlke et al., 2002; 2005).

ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული უჯრედული ციკლის დარღვევის შედეგად ხდება დნმ-ის სინთეზის ინჰიბირება, იმ ცილის ბლოკირება, რომელიც აუცილებელია უჯრედული ციკლის G1 ფაზიდან უჯრედების გადასვლისთვის S ფაზაში და შესაბამისად უჯრედების ბლოკირება G_1/G_2 ფაზებში (Guerri et al., 1990; Hunt, 1999). ნეირონების რაოდენობა აგრეთვე შეიძლება შემცირდეს ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული მიტოგენური ზრდის ფაქტორების (FGF, EGF,PDGF, IGF-1) ინჰიბირებით, რადგან ეთანოლის მიმართ უფრო მგრძნობიარენი არიან მიტოგენური ზრდის ფაქტორით რეგულირებადი უჯრედები (Miller, 1996; Luo, Miller, 1999).

ცნობილია, რომ ნეიროგენეზის პროცესში ნეირობლასტების მიგრაცია ეკრანული ან ბირთვული სტრუქტურების მიმართულებით ხორციელდება რადიალური გლიის დახმარებით. პოსტმიტოზური ნეირობლასტები თავის ტვინის პარკუჭების მიმდებარე უბნებიდან მიგრირებენ და უკავშირდებიან რადიალურ გლიას, რომელიც შემდგომში გარდაიქმნება ასტროციტებად (Rakic,1981). თავის ტვინის ქერქის სტრატიფიკაციის პროცესში, ეთანოლის ტოქსიკური ზემოქმედების გამო, შეიძლება დაირღვეს

ნეირობლასტების მიგრაცია თავის ტვინის პარკუჭებიდან ქერქის შესაბამისი უბნებისკენ, ჯერ ქერქის ქვედა, ხოლო შემდეგ კი ზედა შრეებში. პრენატალური ალკოჰოლური ინტოქსიკაცია იწვევს რადიალური გლიის ადრეულ მომწიფებას და მის ასევე ადრეულ გარდაქმნას ასტროციტებად (Miller, Robertson, 1993), რაც აფერხებს ნეირობლასტების მიგრაციას, იწვევს მიგრირებული პოსტმიტოზური ნეირობლასტების ჩარჩენას პროლიფერირებად ზონებში და ექტოპიურ უბნებში, ამიტომ, თავის ტვინის ქერქის სტრატიფიკაციის პროცესში, ეთანოლის ტოქსიკური ზემოქმედების გამო, შეიძლება დაირღვეს ნეირობლასტების მიგრაცია თავის ტვინის პარკუჭებიდან ქერქის შესაბამისი უბნებისკენ, ჯერ ქერქის ქვედა, ხოლო შემდეგ კი ზედა შრეებში. ეს კი განაპირობებს ქერქის ფორმირების აღნიშნული კანონზომიერების დარღვევას და მის ასინქრონულ განვითარებას.

ცნობილია, რომ პოსტნატალური განვითარების მე-7 დღე (P7) განსაკუთრებით კრიტიკულია თეთრი ვირთაგვების თავის ტვინის განვითარების პროცესში, როდესაც მიმდინარეობს გლიური უჯრედების პროლიფერაცია, მომწიფება და მიელინის წარმოქმნა და სინაფტოგენეზის პროცესი (Dobbing, Sands, 1979). ამ მხრივ ინტერესს იწვევს ჩვენს მიერ გამოვლენილი ნეირობლასტების რაოდენობის შემცირება ლიმბურ და მოტორულ ქერქში, განსაკუთრებით P7-ზე. აღსანიშნავია ამავე პერიოდში გლიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობის დაკლება მოტორულ ქერქში, რაც მიუთითებს ნერვული და გლიური უჯრედების განსაკუთრებულ მგრძნობელობაზე ეთანოლის ზემოქმედების მიმართ თავის ტვინის განვითარებისთვის კრიტიკულ პერიოდში.

პროლიფერაციის პროცესზე ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად გამრავლების უნარის მქონე უჯრედების რაოდენობის შემცირება წარმოადგენს ერთ-ერთLმნიშვნელოვან ფაქტორს,^ რომელიც იწვევს ტერმინალური მიტოზის შედეგად წარმოქმნილი უჯრედების მიგრაციის პროცესის დარღვევას და შესაბამისად, იმ უჯრედების რაოდენობის შემცირებას,^ რომლებიც შემდგომში მონაწილეობენ თავის ტვინის ქერქის სტრუქტურის ფორმირებაში.

ამგვარად, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ პრენატალური ინტოქსიკაციისას თავის ტვინის ქერქში ჩვენს მიერ გამოვლენილი უჯრედების რაოდენობის შემცირება

პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე, გამოწვეულია ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად ნეირონების მიგრაციის პროცესზე მატრიცული შრიდან მანტიის შრეში, რაც იწვევს ცვლილებებს ქერქის საბოლოო სტრატიფიკაციასა და ფორმირებაში და შემდგომში განაპირობებს დარღვევებს გამტარი გზების ფორმირებასა და ნორმალურ ფუნქციობაში (Japaridze et al., 1999; 2002; მუსერიძე და სხვ., 2003).

ლიმბურ და მოტორულ ქერქში ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ნერონების რაოდენობის დაკლება ფართობის ერთეულზე სხვადასხვა მიზეზით შეიძლება აიხსნას, მათ შორის, 1. პროლიფერირებადი მატრიცული უჯრედების დაღუპვით, ან პოსტმიტოზური უჯრედების ჩარჩენით პროლიფერირებად ზონებში. 2. რადიალური გლიის ფუნქციის დარღვევით, მისი ასტროციტებად გარდაქმნის დაჩქარების გამო. 3. ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად ნეირობლასტების პროლიფერაციის მასტიმულირებელი მიტოგენური ზრდის ფაქტორების ინჰიბირებით, და მიტოგენური ზრდის ფაქტორების მიმართ მგრძნობიარე უჯრედების დაღუპვით. 4. დენდრიტული სისტემის და აქსონების ინტენსიური სპრაუტინგის შედეგად ფორმირებულ ნეიროპილში ნეირონების ფაშარი განლაგებით, რაც განსაკუთრებით კარგად არის გამოხატული ქერქის ქვედა სართულში. FAS-თვის ძირითადად დამახასიათებელი მიკროენცეფალია შესაძლოა გამოწვეული იყოს როგორც უჯრედების რაოდენობის, ასევე ნეიროპილის მოცულობის ცვლილებითაც (Miller, 1995), ყოველივე ეს მიუთითებს იმაზე, რომ პროლიფერირებადი უჯრედები წარმოადგენენ ეთანოლის პირველად, მაგრამ არა ერთადერთ სამიზნეს

3. 3. ეთანოლის ზეგავლენა თავის ტვინის ქერქში მიმდინარე მეტაბოლურ პროცესებზე

ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებები ვრცელდება ნეირონებისა და გლიური უჯრედების სხეულზე, მორჩებსა და მათ კოლატერალებზე. განსაკუთრებით ხშირად აღინიშნება ნერვული უჯრედების სხეულის და ბირთვის გაჯირჯვება, აქსონების მემბრანების დაზიანება, ბაზოფილური ნივთიერების

პერიფერიული და ტოტალური ქრომატოლიზი,^ციტოპლაზმის ვაკუოლიზაცია, რომელიც შემდგომში იწვევს უჯრედების დაღუპვას (Eidelberg et al.,1971; Кривицкая и др., 1980; Попова,1981, 1983; Мелникова, Коновалов, 1990).

ეთანოლით ხანგრძლივი ინტოქსიკაციის შედეგად ცილის რაოდენობის ინტერფერომეტრულმა შესწავლამ გამოავლინა დარღვევების ორი ტიპი უჯრედებში წყლის რეჟიმის დარღვევისა და ცილის მეტაბოლიზმის ცვლილებების სახით, რაც საბოლოოდ მთავრდება უჯრედების დაღუპვით (Gershtein, 1997; Svanidze et al., 2002).

მამოძრავებელი და ლიმბური სისტემის ქერქული სტრუქტურების მორფოლოგიური ანალიზის შედეგად ჩვენს მიერ გამოვლენილ იქნა რიგი დისტროფიული ცვლილებებისა, რაც ემთხვევა სხვა ავტორების მიერ მიღებულ მონაცემებს. კერძოდ,აღინიშნება შეჭმუხვნილი, ჰიპერქრომული ნეირონების ჯგუფები^ჰიპერტროფული ბირთვებით, რომლებიც გარსშემორტყმული არიან ჰიპერქრომული გასქელებული გარსით, მუქი, ექსცენტრულად განლაგებული ბირთვაკებით, ზოგჯერ ორბირთვაკიანი მოტონეირონებიც (Попова, 1988).

აღნიშნული ცვლილებები არ არის სპეციფიკური ეთანოლის ზემოქმედებისთვის და შეიძლება გამოვლინდეს ცენტრალური ნერვული სისტემის სხვა პათოლოგიების დროსაც. ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა ბოცვერის ქერქის თხემის წილის ნეირონების ზომისა და მშრალი წონის ცვლილებები თავის ტვინის ოსმოსური შეშუპების დროს. აღმოჩნდა, რომ აღნიშნულ პირობებში პირამიდული ნეირონების 50% განიცდის მნიშვნელოვან დესტრუქციულ ცვლილებებს, რაც გამოიხატება ჰიდრატაციის და დეჰიდრატაციის პროცესებით აღნიშნული პათოლოგიის დროს (Museridze et al., 1989). ისქემიურ-ჰიპოქსიური ფაქტორის შესაძლო როლი განიხილება ალკოჰოლიკი მამრი ვირთაგვების შთამომავლობის სენსომოტორულ ქერქში ნეირონების, ასტროციტების და კაპილარების ულტრასტრუქტურაში გამოვლენილი დესტრუქციული ცვლილებების შესწავლისას (Popova, 2005).

ამგვარად, სხვადასხვა პათოლოგიის დროს განვითარებული ჰიპოქსიის შედეგად ნერვული უჯრედების მემბრანების დაზიანება იწვევს წყლის რეჟიმის და ცილის მეტაბოლიზმის დარღვევას. ამდენად არ არის გამორიცხული, რომ ჩვენს მიერ გამოვლენილი ნეირონების დისტროფიული ცვლილებები, ისეთი პათოლოგიის დროს,

როგორიცაა ეთანოლით ინტოქსიკაცია, გამოწვეული იყოს ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად უჯრედებში წყლის რეჟიმის დარღვევით.

თავის ტვინზე ეთანოლის ზემოქმედების მექანიზმი დაკავშირებულია ნეირონებამდე ჟანგბადის მიწოდების შეზღუდვასთან, რაც განაპირობებს ოქსიდაციური სტრესის ფორმირებას. ამ დროს განსაკუთრებით ირღვევა ჟანგვითი მეტაბოლიზმი მიტოქონდრიებში, რაც იწვევს სუნთქვითი ჯაჭვის დარღვევას, უჯრედების დაღუპვას აპოპტოზის გზით და FAS-ის ფორმირებას.

ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად განვითარებული ოქსიდაციური სტრესი წარმოადგენს აპოპტოზის გამომწვევ ერთ-ერთ ძირითად ფაქტორს, რომლის შედეგად წარმოქმნილი თავისუფალი რადიკალები იწვევენ უჯრედული მემბრანების რღვევას, დნმ-ის და ცილების დაშლას (Halliwel, Gutteridge 1985; Ikonomidou et al., 2000). თავისუფალი რადიკალების ძირითად სამიზნეს წარმოადგენენ მემბრანების ლიპიდური შრის შემადგენლობაში შემავალი პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავები. თავის ტვინის უჯრედების მემბრანები დიდი რაოდენობით შეიცავენ ცხიმოვან მჟავებს,^ რის გამოც ისინი განსაკუთრებით ძლიერ ზემოქმედებას განიცდიან თავისუფალი რადიკალების მხრიდან, ამასთან, მიტოქონდრიების მემბრანების დაზიანება დაკავშირებულია უჯრედების ენერგიით მომარაგების და ატფ-ის დონის რეგულირების დარღვევასთან, რაც განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ნეირონებს შორის კავშირის განხორციელების დროს (Goodlett, Horn , 2001).

ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის შედეგად ჩვენს მიერ გამოვლენილი თავისუფალრადიკალური და FeS ცენტრების ეპრ სიგნალის ინტენსივობის შემცირება მიუთითებს მიტოქონდრიული სუნთქვის ინტენსივობის დაქვეითებაზე, რაც შეიძლება განპირობებული იყოს ან სუბსტრატების დეფიციტით, ან მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის დარღვევით. მიტოქონდრიული სუნთქვის დაქვეითების შედეგად უბისემიქინონების ჭარბი რაოდენობით დაგროვება, მეტყველებს სუპეროქსიდრედუქტაზას გაძლიერებულ გენერაციაზე, ამავე დროს მაკროერგული ნაერთების წარმოქმნის ინტენსივობა განაპირობებს ჰიპოქსანტინის დაგროვებას,^ ჰიპოქსანტინოქსიდაზური სისტემის აქტივაციას და ქსანტინდეჰიდროგენაზას ტრანსფორმაციას ქსანტინოქსიდაზად, რომელიც წარმოადგენს 0_2^--ის ჭარბი წარმოქმნის

გენერატორს. 0_2^--s ჭარბი გენერაცია განაპირობებს უბისემიქინონების და ქსანტინოქსიდაზის მიერ მიტოქონდრული სუპეროქსიდდისმუტაზას (სოდ) ინაქტივაციას. ზემოთაღნიშნული პროცესების გააქტივება იწვევს მემბრანული ლიპიდების პეროქსიდაციას და მემბრანული სტრუქტურების დაზიანებას, ამ დროს ეპრ სპექტრში გამოთავისუფლებული Fe^{2+} და Mn^{2+},^სხვა ცვალებადვალენტოვან მეტალთა იონების მსგავსად, წარმოადგენენ თავისუფალრადიკალური ჟანგვის მძლავრ პრომოტორებს და თავის მხრივ ხელს უწყობენ თავისუფალრადიკალური ჟანგვის გაძლიერებას, ანუ იკვრება მანკიერი წრე.

უჯრედების პროლიფერაციის, დიფერენცირების და სიკვდილის პროცესები რეგულირდება რთული მოლეკულური მექანიზმების საშუალებით, რომლებშიც მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება უჯრედშიდა და უჯრედშორის რეტროგრადულ მესენჯერს, აზოტის ჟანგს (NO). იგი წარმოადგენს პოლიფუნქციურ, მაღალრეაქტიულ მოლეკულას, რომელიც სხვადასხვა ფერმენტების (სუქცინატდეჰიდროგენაზას, NADH-დეჰიდრგენაზას, ცის-აკონიტაზას, გუანილატციკლაზას, რიბონუკლეოტიდრედუქტაზას, კასპაზების და ა. შ.) ნიტროზილირების ან ნიტრირების საშუალებით, არეგულირებს მათ აქტიურობას (აინჰიბირებს ან ააქტივებს) და ამ გზით მონაწილეობს უჯრედული მეტაბოლიზმის მოდულაციაში (Cheah et al., 2006; Lopachin, Barber, 2006). კერძოდ, ცერებრული იშემიის შედეგად განვითარებული ანთების პროცესში NO-ს ექსპრესია დამცველობით ფუნქციას ასრულებს, რადგან იწვევს ვაზოდილატაციას, აუმჯობესებს ქსოვილოვან პერფუზიას, თრგუნავს თრომბოციტების აგრეგაციას და ადჰეზიას, რაც ამცირებს კრიტიკული ცვლილებების წარმოქმნის შანსს. ამავე დროს, იშემიურ მოდელში მაკროფაგული iNOS-ს მაღალი აქტიურობა განაპირობებს NO-ს ჭარბი რაოდენობით წარმოქმნას და შესაბამისად მის ციტოტოქსიკურ ზემოქმედებას ნერვულ უჯრედებზე, რაც მთავრდება ნეკროზით და აპოპტოზით (Беридзе и др., 2001). NO-ს დუალური ხასიათი მნიშვნელოვანწილად დამოკიდებულია მისი სინთეზის ინტენსივობაზე, და გარემომცველი არის რედოქს-სტატუსზე (Whiteman et al., 2006; Kim et al., 2002; Choi et al., 2002). NO-ს ტოქსიკური ზემოქმედება დამოკიდებულია შეფარდებაზე NO-ს და 0_2^--ის შორის. თუ NO-ს კონცენტრაცია აჭარბებს 0_2^--ის კონცენტრაციას, მათი ურთიერთქმედების შედეგად

წარმოიქმნება ძლიერი ტოქსიკური თვისებების მქონე პეროქსინიტრიტი ($ONOO^-$), რომელიც შემდეგ აღდგება NO_2-მდე (Mackenz et al., 1994), ამ დროს ცნს-ში, NO-ს, როგორც უჯრედშიდა მესენჯერის, ტოქსიკური ზემოქმედება გარდაიქმნება პრევენციულ ზემოქმედებაში და იგი მოქმედებს, როგორც ანტიოქსიდანტი (Беридзе и др., 2005).

ნეირონულ კულტურაზე ეთანოლის ხანრძლივი ზემოქმედების შედეგად გლუტამატური NMDA რეცეპტორების სტიმულირება იწვევს NO-ს ფორმირებას, ხოლო უჯრედის დაზიანების შედეგად წარმოქმნილი ციტოკინები ხელს უწყობენ NO-ს პროდუქციის გაძლიერებას, რაც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ალკოჰოლური ინტოქსიკაციით გამოწვეული თავის ტვინის დაზიანებაში (Lankaster,1995; Chandler et al., 1997; Crews et al., 1998). NO-ს მაღალი კონცენტრაცია აზიანებს ნეირონების, გლიის და მიელინის ფორმირებას, ხოლო სინაფსური პლასტიკურობის რეგულირების მეშვეობით იგი კომპლექსურ ზემოქმედებას ახდენს თავის ტვინის განვითარებაზე, და შესაბამისად, მეხსიერების და ქცევის ფორმირებაზე (Zima et al., 2001).

მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის ქვეშ მყოფი მდედრი ვირთაგვების ზრდასრული შთამომავლობის თავის ტვინში ეპრ მეთოდით ჩვენს მიერ გამოვლენილ იქნა თავისუფალი NO-ს შემცველობის ზრდა გლუტამატ-სტიმულირებული NO-ს, ან რეაქციული ჟანგბადით სტიმულირებული NO-ს აქტივაციის შედეგად. ჭარბი NO ირთვება თავისუფალრადიკალურ პროცესთა ჯაჭვში და იწვევს მის ინტენსიფიკაციას და უჯრედების დაღუპვას აპოპტოზის გზით. ეს უკანასკნელი კარგად ვლინდება ზურგის ტვინის კულტურაში ეთანოლის დამატების შემდეგ და ასევე ვირთაგვების ეთანოლით პრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაციის შედეგად მიღებული შთამომავლობის ლიმბური და მოტორული ქერქის ნერვული და გლიური უჯრედების რაოდენობის შემცირებაში მათი დაღუპვის გამო (Мусеридзе и др., 2004; Мусеридзе, 2005).

აპოპტოზი ხორციელდება სიკვდილის ხელისშემწყობი ფერმენტების - კასპაზების აპოპტოზის სუპრესორების (Bcl-2) და ინდუქტორების (Bax, Bak) გააქტივების შედეგად (Bredensen, 1996), რაც იწვევს ცილების დაშლას (Cohen, 1997). კასპაზებით ორიენტირებული აპოპტოზი შეიძლება განვითარდეს სხვადასხვა

მექანიზმებით, მათ შორის თავისუფალი რადიკალების დაგროვებით, გლუტამატის ჭარბი რაოდენობით წარმოქმნით, ზრდის ფაქტორების და მათი რეცეპტორების აქტიურობის შეზღუდვით და ანტიოქსიდანტური სისტემის ინჰიბირებით.

Bcl-2 ოჯახის ზოგ წარმომადგენელს ახასიათებს ანტიაპოპტოზური აქტიურობა, ხოლო Bax, Bak ახდენს აპოპტოზის სტიმულირებას. Bcl-2 ბლოკავს აპოპტოზს სპეციფიკურად მიტოქონდრიის წინააღმდეგ მიმართული ზემოქმედების დროს, არეგულირებს Ca^{2+}-ის და ცილების შესვლას უჯრედში, მონაწილეობს იონების და პროტონების გადატანაში (Беридзе и др., 2001). ეთანოლი განსხვავებულ ზემოქმედებას ახდენს უჯრედების სიკვდილის გამომწვევ ფაქტორებზე (Bcl-2, კასპაზ 3), რაც განაპირობებს ნეირონების გადარჩენას, ან სიკვდილს (Mooney, Miller, 2001). ამგვარად, აპოპტოზის რეგულირება ხდება გენების აღნიშნული ჯგუფების აქტიურობის მიხედვით (კოკიჩაშვილი, 1996; სოლომონია, 1998).

აღნიშნული მონაცემების ფონზე, ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის დროს ჩვენს მიერ გამოვლენილი უჯრედების რაოდენობის შემცირების ერთ-ერთი მიზეზი შეიძლება იყოს ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად კასპაზების სტიმულირებით გამოწვეული აპოპტოზის გაძლიერება.

2. 4. ეთანოლით გამოწვეული ცვლილებების კორექცია ანტიოქსიდანტების მეშვეობით in vivo პირობებში

ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად წარმოქმნილი თავისუფალი რადიკალების მოქმედება ითრგუნება სხვადასხვა ანტიოქსიდანტებით, რომელთა გამოყენება ამსუბუქებს ალკოჰოლით გამოწვეულ დაზიანებას ცხოველურ მოდელებში (Heaton et al., 2000). ორგანიზმის საკუთარი ანტიოქსიდანტური მექანიზმები იცავენ ნეირონებს ოქსიდაციური ზემოქმედებისგან (Somani et al., 1996), ამიტომ ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტიურობის დაქვეითება, ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის შედეგად, ხელს უწყობს უჯრედების დაზიანებას და შემდგომში განაპირობებს მათ დაღუპვას (Guerri 1998; Henderson et al., 1995). In vitro გამოკვლევებით დადგინდა, რომ ეთანოლით გამოწვეული უჯრედების დაღუპვა აღიკვეთება ანტიოქსიდანტების მეშვეობით (Мусеридзе и др., 2004; Мусеридзе, 2005; Chen et al., 2004;).

ალკოჰოლური ინტოქსიკაციის ნორმალიზების მიზნით ფართოდ გამოიყენება რიგი ფარმაკოლოგიური პრეპარატებისა, განსაკუთრებით ხშირად იყენებენ ვიტამინ E-ს, როგორც ანტიოქსიდანტს, ვინაიდან იგი იცავს უჯრედების მემბრანების ფოსფოლიპიდების შემადგენლობაში შემავალ პოლიუჯერ ცხიმოვან მჟავებს ზეჟნგური დაჟანგვისგან (კოკიჩაშვილი, 1996; Горбунов, Ерин 1991; Heaton et al., 2000). ცხოველების მიერ ვიტამინ E-ს მიღების შემდეგ შეფერხებულ იქნა ნათხემის პურკინიეს უჯრედების დაღუპვა (Heaton et al., 2000). ასევე დადებითი ეფექტი აღინიშნა მისი გამოყენებისას, რადიაციის ზემოქმედებით გამოწვეული ლიპიდური პეროქსიდაციის პროცესის ინჰიბირების მიზნით (Tanaka, 1997). გარდა თავისუფალი რადიკალების განეიტრალებისა, ვიტამინი EEასტიმულირებს უჯრედების ენდოგენურ ანტიოქსიდანტურ ფერმენტულ სისტემას (Ланкин и др., 1983). ანტიტერატოგენური, ძლიერმოქმედი სინთეზური (სოდ+კატალაზა-ს მსგავსი) პრეპარატი, EUK-134, აძლიერებს უჯრედის ანტიოქსიდანტურ სისტემას და ამცირებს ეთანოლით გამოწვეულ დაზიანებას. მისი გამოყენება ეთანოლთან ერთად იწვევს აპოპტოზის რედუქციას (Chen et al., 2004). თავის ტვინის ისქემიური შეშუპების რედუქცია და სუპეროქსიდის დამაზიანებელი ზემოქმედების აღკვეთა გამოვლინდა აგრეთვე 21-ამინოსტეროიდიდან სინთეზირებული 074006F და 074500A გამოყენების შემდეგ (Schmidley, 1990).

Mn-ის დამატების შემდეგ იმ ვირთაგვების კვების რაციონში, რომლებიც მაკეობის განმავლობაში (მათ შორის ნეირობლასტების პროლიფერაციის განსაკუთრებული აქტიურობის პერიოდში) ღებულობდნენ ეთანოლს, გამოავლენილ იქნა, რომ მათი ნაშიერების წონა არ განსხვავდება საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებისგან. (Ledig et al., 1991).

უკანასკნელ ხანს განსაკუთრებით აქტიურად მიმდინარეობს ექსპერიმენტული გამოკვლევები, ახალი ფარმაკოლოგიური საშუალებების გამოსავლენად, რომლებიც ხელს შეუწყობენ ალკოჰოლით ინტოქსიკაციისა და სხვა პათოლოგიური პროცესების შედეგად გამოვლენილი თავის ტვინის დაზიანების აღკვეთას (Font et al., 2005; Collins et al., 1998; Han et al., 2004). FAS-ის ექსპერიმენტულ მოდელზე, ცნს-ის უჯრედული პოპულაციის ნეიროგენეზის პროცესში, აცეტილ-L-კარნიტინი ნაწილობრივ იცავს

ეთანოლის დამაზიანებელი ზემოქმედებისგან ნეიროტრანსმიტერებს და მათ რეცეპტორებს (Sbriccolli et al., 1999).

ალკოჰოლის ზემოქმედების და ნევროლოგიური დაავადებების შედეგად აქსონური დეგენერაციის პრევენციის მიზნით გამოიყენება პერიაქსონური შვანის უჯრედებიდან გამოყოფილი ერითროპოეტინი (EPO), რომელიც უკავშირდება რეცეპტორების მეშვეობით ნეირონებს და იცავს მათ აქსონებს დაზიანებისაგან (Keswani et al., 2004). ნეირიტების რეგენერაციის პროცესი სტიმულირდება აგრეთვე Centella asciatica Urban herb-ის ეთანოლური ექსტრაქტის გამოყენებისას (Soumyanath et al., 2005). სხვადასხვა ექსპერიმენტების შედეგად გამოვლენილია აგრეთვე გლიურ უჯრედებზე ეთანოლის ზემოქმედების მიმართ ანტაგონისტური მოქმედების ნივთიერებები (Klemm, et al., 1988).

სინთეზირებული პრეპარატებიდან აღსანიშნავია პლაფერონი ლბ, რომელმაც მრავალი ექსპერიმენტული და კლინიკური გამოკვლევის შდეგად გამოავლინა ანტიჰიპოქსიური, ანტიოქსიდანტური და იმუნომამოდულირებელი თვისებები. იგი აძლიერებს ტრავმული შოკის შედეგად ლიპიდური ოქსიდაციით გამოწვეული ცვლილებების ოპტიმიზაციას, რადგან ახდენს ქსანტინოქსიდაზური აქტიურობის ნორმალიზებას (Nakashidze et al., 2003). მას ჰიპოქსიის პირობებში ახასიათებს უჯრედებში ენერგიის გენერაციის სტიმულირების და აპოპტოზის ბლოკირების უნარი. ვინაიდან მისი მოქმედება მიმართულია ენერგიის წარმოქმნის და ოქსიდაციური პროცესების რეგულირებისკენ, მას შეუძლია დაარეგულიროს NO-ს წარმოქმნის პროცესიც, რაც განაპირობებს პლაფერონ ლბ-ს ანტიჰიპოქსიურ და ნეიროპროტექტულ თვისებებს (Shakarishvili et al., 2003; Беридзе и др., 2005). ეს ფაქტი დადასტურებულ იქნა ჩვენს მიერ ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ კულტურაზე პლაფერონის და ეთანოლის ერთდროული ზემოქმედების დროს, როდესაც გამოვლენილ იქნა აქსონების ზრდისა და გლიური უჯრედების მიგრაციის გააქტიურება, უჯრედებში ეპრ სპექტროსკოპული მეთოდით გამოვლენილი მეტაბოლური პროცესების ნორმალიზების ფონზე (Мусеридзе и др., 2004).

ტვინის სხვადასხვა დარღვევების შემთხვევაში პლაფერონ ლბ ავლენს კარგად გამოხატულ ბიოლოგიურ აქტიურობას, რაც განსაკუთრებით გამოვლინდა თავის

ტვინის ქერქის ფოტოქიმიური თრომბოზით გამოწვეული ინფარქტის შემთხვევაში, როდესაც ტვინის დაზიანებული უბნის ფართი მნიშვნელოვნად (85%-ით) შემცირდა კონტროლთან შედარებით. ამასთანავე აღნიშნულ უბანში ადგილი ჰქონდა კაპილარული სისტემის და სისხლის ნაკადის ნორმალიზებას (Mitagvaria et al., 2001). პლაფერონ ლბ, მისგან მიღებული აქტიური ფრაქცია P6 და მეტადოქსილი ახდენენ ამინომჟავათა ცვლის კორექციას, რის შედეგად ხდება NO-ს მეტაბოლიზმის მოწესრიგება და ქსანტინოქსიდაზას (რომელიც წარმოადგენს თავისუფალი რადიკალების გენერატორს) აქტიურობის დაქვეითება K(Harebava et al., 1999; Barbakadze et al., 2000).

ამგვარად, გაირკვა, რომ სხვადასხვა ფაქტორის დამაზიანებელი ზემოქმედება შეიძლება შეწყვეტილ იქნას ფარმაკოლოგიური პრეპარატების გამოყენების შედეგად. ყოველივე ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, განვითარებადი თავის ტვინის ნერვულ და გლიურ უჯრედებზე ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებების კორექციის მიზნით, ჩვენს მიერ გამოყენებულ იქნა ანტიოქსიდანტი დოლივინი. მისი ძირითადი ნაწილი წარმოდგენილია მაღალი ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე ნაერთითL- ჰიპოქსენით, რომლის მოლეკულები, მიტოქონდრიებში შეღწევისა და სუნთქვით ჯაჭვზე ზემოქმედების შედეგად, ახდენენ ანტიჰიპოქსიურ ზემოქმედებას, რადგან მათი ჟანგვა-აღდგენითი პოტენციალი უახლოვდება ციტოქრომოქსიდაზის პოტენციალს. ამგვარად, ისინი იცავენ უჯრედულ მემბრანებს თავისუფალი რადიკალების დამაზიანებელი ზემოქმედებისგან, რომელიც ვითარდება ლიპიდების პეროქსიდაციის შედეგად. ჰიპოქსენი, მიტოქონდრიებში ურთიერთქმედებს სუნთქვითი ჯაჭვის ფერმენტებთან, რითაც ხელს უწყობს ქსოვილოვანი სუნთქვის მაღალი ხარისხის და აერობული პროცესების ეფექტურობის შენარჩუნებას ჰიპოქსიის პირობებში. მისი ანტიჰიპოქსიური მოქმედება ხორციელდება ელექტრონების ტრანსპორტის შუნტირების შედეგად მიტოქონდრიების სუნთქვით ჯაჭვში, რაც განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია თავის ტვინისთვის, რომლისთვისაც დამახასიათებელია ნივთიერებათა ცვლის მაღალი ტემპი (Попов, 1999). ჰიპოქსიის პირობებში იგი ამსუბუქებს ქსოვილოვან სუნთქვას, ვინაიდან თავად გადააქვს აღდგენილი ექვივალენტები ფერმენტულ სისტემებამდე უბიქინონის (CoQ) მეშვეობით

და მრავალჯერ ახდენს მის კომპენსირებას,^ვინაიდან შეიცავს დიდი რაოდენობით აქტიურ ცენტრებს. ჰიპოქსენის შემადგენლობაში თიოსულფატის ჯგუფის არსებობა განაპირობებს მის ანტირადიკალურ და ნეიროპროტექტულ თვისებებს (Чернов и др., 2001).

კლინიკაში სხვადასხვა დაავადებების მკურნალობისას ჰიპოქსენის (ოლიფენის) გამოყენების შედეგად, ქრონიკული ობსტრუქციული ბრონქიტით დაავადებულ ავადმყოფებში, გამოვლინდა სუნთქვითი უკმარისობის კორექცია. კლინიკური და ლაბორატორიული კვლევის შედეგად გაირკვა, რომ მისი ჩართვა კომპლექსურ თერაპიაში იწვევს კარდიო-რესპირატორული სისტემის მდგომარეობის გაუმჯობესებას,^რაც მიუთითებს იმაზე, რომ ლიპოპეროქსიდაციული პროცესები ორგანიზმში მიმდინარეობენ ანტიოქსიდანტური კონტროლის ქვეშ და ხასიათდებიან პროგრესულობით (Чернов и др., 2001). გარდა ჰიპოქსენისა დოლივინი შეიცავს ამინომჟავებს, მაკრო- და მიკროელემენტებს, პოლისაქარიდებს, ვიტამინ E, და B, PP, H ჯგუფის ვიტამინებს. ყოველივე ეს კიდევ უფრო აძლიერებს დოლივინის პრევენციულ უნარს, დაიცვას უჯრედები თავისუფალი რადიკალების ზემოქმედებისგან (Schmidly, 1990).

დოლივინის და ალკოჰოლის ერთდროული ზემოქმედებისას ეპრ სპექტროსკოპული კვლევის შედეგად მიღებული მონაცემები მიუთითებენ, რომ დოლივინი უზრუნველყოფს ეპრ სპექტროსკოპული პარამეტრების ნორმალიზებას და მაშასადამე, ჟანგვითი მეტაბოლიზმის ინტენსივობის დაქვეითებას, რაც შესაძლოა გამოწვეული იყოს აგრეთვე ამ პრეპარატის მიერ უჯრედების საკუთარი ანტიოქსიდანტური ფერმენტული სისტემის ფუნქციის გაძლიერებით. ამასთანავე, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ დოლივინი, რომლის შემადგენლობაში შედის მაღალი ანტირადიკალური თვისებების მქონე ჰიპოქსენი, ხელს უშლის თავისუფალი რადიკალების მიერ უჯრედების მემბრანების დაშლას და ელექტრონების გადატანის დარღვეული ჯაჭვის აღდგენით ხელს უწყობს ქსოვილოვანო სუნთქვის ნორმალიზებას.

ჩვენს მიერ დოლივინის პრევენციული ზემოქმედება გამოვლინდა როდესაც მდედრი ვირთაგვები მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში ეთანოლთან ერთდროულად ღებულობდნენ დოლივინს. როგორც გაირკვა, ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად

დარღვეული მატრიცული უჯრედების და მოტორული ქერქის გლიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობა, დოლივინის ზემოქმედების შედეგად, მიუახლოვდა საკონტროლო დონეს, ასევე ნორმალიზებული იყო ოქსიდაციური სტრესით გენერირებული თავისუფალი რადიკალების ზემოქმედებით განპირობებული მეტაბოლური ცვლილებები, რაც შესაბამისად აისახა თავის ტვინის ქერქში დაღუპული უჯრედების რაოდენობის შემცირებაში საკონტროლო ცხოველების მაჩვენებლებთან შედარებით და შემდგომში ალკოჰოლიზებული მდედრი ვირთაგვების ზრდასრული ნაშიერების მიერ დასწავლის უნარისა და მეხსიერების კვალის კონსოლიდაციის გაუმჯობესებაში.

დოლივინის პრევენციული ზემოქმედება ასევე გამოვლინდა in vitro მისი ეთანოლთან ერთდროულად ზემოქმედებისას, რაც აისახა აქსონების ზრდის ინტენსივობის, სპრაუტინგის და გლიურ უჯრედების მიგრაციული აქტიურობის გაძლიერებაში (Мусеридзе и др., 2004; Мусеридзе, 2005; Museridze et al., 2006).

ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემების თანახმად, დოლივინის მიერ ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული დესტრუქციული პროცესების დარღვევის ნორმალიზება შესაძლოა აიხსნას ამ პრეპარატის ანტიოქსიდანტური თვისებებით, რაც მდგომარეობს აღნიშნულ პირობებში განვითარებული ოქსიდაციური სტრესის აღკვეთაში და შესაბამისად, აპოპტოზის პროცესის დათრგუნვაში.

2. 5. ეთანოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული ცვლილებები ცხოველთა დასწავლასა და მეხსიერებაში და მათი კორექცია დოლივინის მეშვეობით.

ცნობილია, რომ ალკოჰოლით ინტოქსიკაცია მაკეობის დროს იწვევს ცვლილებებს შთამომავლობის უმაღლეს ნერვულ მოქმედებაში. ალკოჰოლის ზეგავლენას პირველ რიგში განიცდის მეხსიერება, რაც გამოიხატება დასწავლის უნარის დაქვეითებაში, ემოციური რეაქციების და სტრესული სიტუაციიდან თავის დაღწევის უნარის დარღვევაში, ახლისადმი ნეგატიურ დამოკიდებულებაში, კვლევითი ქცევის გაუარესებაში, ხანგრძლივი პოტენციაციის პროცესების შეფერხებაში (Ostrovskaia et al., 1988;1990; Wilcoxon et al.,2005; Christie et al.,2005; Popovic et al., 2004).

ალკოჰოლის ზემოქმედების შედეგად თავის ტვინში მიმდინარე დესტრუქციული ცვლილებების შესახებ არსებული ლიტერატურის და ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემების შეჯერების შედეგად ირკვევა, რომ ეთანოლის პრე- და ადრეული პოსტნატალური ზემოქმედება იწვევს ნერვული უჯრედების რაოდენობის კლებას ლიმბური სისტემის ქერქულ და ქერქქვეშა სტრუქტურებში (Japaridze et al.,2002).

ჰიპოკამპური ფორმაციისა და მისი ძირითადი კავშირების დაზიანება იწვევს ლაბირინთული ამოცანების დასწავლის შეფერხებას, რომელთა შესრულება დამოკიდებულია სივრცითი და მუშა მეხსიერების რეალიზაციაზე. ამასთანავე, ჰიპოკამპში აღმოჩენილია ე.წ. "ადგილის ნეირონები", რომლებიც პასუხისმგებელნი არიან ცხოველთა სივრცეში გადაადგილებაზე (Виноградова 1975; Ониани, 1980; ნანეიშვილი, 2003).

ეთანოლის პრე- და პოსტნატალური ზემოქმედებით გამოწვეული თავის ტვინის გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობის დაქვეითება იწვევს ჰიპოკამპის ფორმირების შეფერხებას, რაც შესაბამისად განაპირობებს კავშირების რღვევას ჰიპოკამპურ ფორმაციაში და ეფერენტული კავშირების მოშლას ლიმბური სისტემის სხვა სტრუქტურებთან, რომლებიც განახორციელებენ ცხოველთა დასწავლისა და მეხსიერების პროცესების რეალიზაციას. ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად ირღვევა აგრეთვე ცილის სინთეზი და წყლის რეჟიმი ლიმბური სისტემის ქერქულ და ქერქქვეშა სტრუქტურების უჯრედებში, რაც შემდგომში იწვევს ამ უჯრედების ჰიდრატაციას ან დეჰიდრატაციას და საბოლოოდ მათ დაღუპვას (Сванидзе и др., 2001; Svanidze et al., 2002).

ლიმბურ ქერქსა და ჰიპოკამპში ზემოთაღნიშნული ცვლილებების ფონზე განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს თუ რა გავლენას ახდენს ეთანოლი ჩვენს მიერ წარმოდგენილ მოდელზე, ეთანოლით ინტოქსიკაციის ქვეშ მყოფი მდედრი ვირთაგვების ზრდასრული (60 დღიანი) შთამომავლობის დასწავლის უნარსა და მეხსიერებაზე და, მეორეს მხრივ, გამოვლენილი ცვლილებების კორექციის რა შესაძლებლობა არსებობს ანტიოქსიდანტ დოლივინის გამოყენებით. მით უმეტეს, რომ ჩვენს მიერ in vitro და in vivo გამოვლენილ იქნა ამ პრეპარატის პრევენციული უნარი

ეთანოლით გამოწვეული უჯრედების რაოდენობის შემცირების და მეტაბოლური პროცესების დარღვევების მიმართ.

როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული, დასწავლისა და მეხსიერების პროცესების შესაფასებლად ვიყენებდით ესტაკადურ, მრავალსვლიან ლაბირინთს და პასიური განრიდების ტესტს. როგორც ჩვენი და სხვა ავტორების (Митагвария, 1983) მიერ მიღებული მონაცემებიდან ჩანს, ცდის ასეთი პირობები ქმნის მოტივაციის საკმარის დონეს დასწავლისათვის, რის გამოც საკონტროლო ჯგუფის (I) ყველა ცხოველი მესამე დღიდან, პრაქტიკულად უშეცდომოდ, უმოკლესი ტრაექტორიით მიდის ბუდე-ყუთისკენ. ალკოჰოლიზებული ვირთაგვების ნაშიერები ასევე სწავლეობდნენ გზას ბუდე-ყუთისკენ, მაგრამ ორივე პარამეტრის მიხედვით (დრო და შეცდომები) სარწმუნოდ განსხვავდებოდნენ საკონტროლო ცხოველებისაგან (P<0,01). ამ ჯგუფის ცხოველებში გამოვლინდა დაქვეითებული კვლევითი აქტიურობა და შიშის რეაქციის თანამდევი ვეგეტატიური კომპონენტების სტაბილურად მაღალი დონე ექსპერიმენტის ყველა ეტაპზე. აღინიშნებოდა აგრეთვე მოტივაციური დონის შემცირება.

პასიური განრიდების ტესტის შესრულებისას მიღებული მონაცემების განხილვის შედეგად აღმოჩნდა, რომ II ჯგუფის ცხოველებს რეტესტირებისას 24 სთ-ის შემდეგ პასიური რეაქციის შენახვის კრიტერიუმები ბევრად დაბალი ჰქონდათ, ვიდრე საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებს (30% და 70% შესაბამისად). რეტესტირებისას, ბნელ კამერაში შესვლის ლატენტური დრო სარწმუნოდ განსხვავდებოდა I და II ჯგუფებს შორის (P<0,01).

არსებული ლიტერატურის მონაცემების თანახმად, პრენატალური ალკოჰოლით ინტოქსიკაციისას, ძიებითი-მოტორული ქცევის დაქვეითების პარალელურად, ღია ველში ცხოველები აშკარად ამჟღავნებენ შიშის რეაქციას (Ostrovskaia et al., 1990; Gogichadze et al., 2004; Wilcoxon et al., 2005). ახალგაზრდა ვირთაგვების შედარებით ხანმოკლე ალკოჰოლიზაციის შედეგად, მეხსიერების კვალის კონსოლიდაციის უნარის შენარჩუნების ფონზე პასიური განრიდების ტესტის შესრულებისას, აგრეთვე, აღინიშნებოდა დეფეკაციის მკვეთრი მატება საცდელ ცხოველებში, ხოლო ლატენტური დროის მაჩვენებლის მატება ახალი ობიექტის გამოკვლევისას ვლინდებოდა მაშინ,

როდესაც კვლევითი აქტიურობის ხანგრძლივობა მნიშვნელოვნად შემცირებული იყო (Popovic et al., 2004).

ალკოჰოლური ინტოქსიკაციით გამოწვეული დარღვევების კორექციის მიზნით, მრავალრიცხოვან ნაშრომებში გამოყენებულია რიგი ფარმაკოლოგიური ნივთიერებებისა. ასე მაგალითად, პოსტნატალურ პერიოდში სინთეზური დიპეპტიდის LPDA (L-pyroglutamyl-D-alaninamide), ნატრიუმის ჰიდროქსიბუტირატის ხანმოკლე ზემოქმედება აუმჯობესებენ პრენატალური ალკოჰოლიზაციის შედეგად გაუარესებულ დასწავლის უნარს პასიური განრიდების ტესტში და კვლევით ქცევას ღია ველში. აღინიშნება გამოვლენილი ემოციური ჰიპერაქტიურობის ნორმალიზება (Ostrovskaia et al., 1988;1990). მაკეობის დროს ჰორმონ თიროქსინის შეყვანა აუმჯობესებს პრენატალური ალკოჰოლური ინტოქსიკაციით გამოწვეული სივრცითი დასწავლის დეფიციტს მორისის ავზის პირობებში (Wilcoxon et al., 2005). “თავისუფალი ვარჯიშის” (გალიაში მბრუნავი ბორბალი) შედეგად უმჯობესდება პრენატალური ალკოჰოლის ინტოქსიკაციით გამოწვეული სივრცითი ინფორმაციის ათვისების დაქვეითებული უნარი და ადგილი აქვს ხანგრძლივი პოტენციაციის მაჩვენებლების ნორმალიზებას (Popovic et al., 2004).

ჩვენს მიერ, მაკეობის პერიოდში ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული დარღვევების კორექციის მიზნით, დოლივინის გამოყენების შედეგად გაირკვა, რომ ცხოველებმა აითვისეს ლაბირინთული ამოცანა და სივრცითი დასწავლის შესაფასებლად გამოყენებული ორივე პარამეტრის მიხედვით სარწმუნოდ განსხვავდებოდნენ II ჯგუფის ცხოველების ტესტირებისას მიღებული მონაცემებისაგან ($P<0,05$). დასწავლის საწყის ეტაპზე ამ ჯგუფის ცხოველებსაც ახასიათებდათ გაძლიერებული კვლევითი აქტიურობა და, შეცდომების გამომხატველი მაჩვენებლებით, ცდის ბოლო დღეებში უახლოვდებოდნენ საკონტროლო დონეს. აღსანიშნავია, რომ II ჯგუფის ცხოველების მსგავსად მათ ახასიათებდათ გაძლიერებული დეფეკაცია და ურინაცია ექსპერიმენტის ბოლო დღეებშიც.

III ჯგუფში პასიური განრიდების რეაქციის შენარჩუნება შესძლო ცხოველების 50% და რეპროდუქციის ეტაპზე ბნელ კამერაში შესვლის ლატენტური დრო სარწმუნოდ განსხვავდებოდა II ჯგუფის მონაცემებისგან ($P<0,01$) და უახლოვდებოდა

საკონტროლო ჯგუფის რეტესტირებისას მიღებულ შედეგებს. ამგვარად, დოლივინის მიღება ეთანოლთან ერთად ვირთაგვების მაკეობის პერიოდში ხელს უწყობს მათი შთამომავლობის მიერ დასწავლის პროცესის გაუმჯობესებას II ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით. ამასთანავე, შეიმჩნეოდა აშკარად გამოხატული ემოციური ჰიპერაქტიურობა.

მიღებული მონაცემებიდან გამომდინარე, მდედრი ვირთაგვების მაკეობის და ლაქტაციის დროს ეთანოლით ინტოქსიკაცია მათ ზრდასრულ ნაშიერებში იწვევს სივრცითი ინფორმაციის დასწავლისა და მეხსიერების კვალის კონსოლიდაციის უნარის მკვეთრ დაქვეითებას, ხოლო იგივე პერიოდში მათ მიერ ეთანოლთან ერთად დოლივინის მიღება ხელს უწყობს ამ პროცესის ნორმალიზებას.

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგებისა და ლიტერატურის მონაცემების სააფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ ნეირონების საყოველთაოდ ცნობილი მაღალი პლასტიკურობის მიუხედავად, კომპენსატორულ-აღდგენითი მექანიზმები თავისთავად არ არის საკმარისი პრენატალური ალკოჰოლით ინტოქსიკაციის შედეგად მიღებული შთამომავლობის დაქვეითებული დასწავლა-მეხსიერების პროცესების აღსადგენად. გარდა ამისა, უნდა აღინიშნოს, რომ ჩვენს მიერ წარმოდგენილ მოდელში გამოყენებული ეთანოლის დოზა (15%) არ იწვევს ტოლერანტობას ალკოჰოლის ზემოქმედების მიმართ, რაც გამოვლინდა ჩვენს მიერ ეპრ-ის მეთოდით თავის ტვინის ქერქის უჯრედების მეტაბოლური აქტიურობის შესწავლისა და დასავლა-მეხსიერების ტესტით კვლევის დროს, როდესაც დოლივინის და ეთანოლის ერთდროული ზემოქმედებისას აღინიშნებოდა უჯრედების ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული ცვლილებების ნორმალიზება.

ამგვარად, ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ ეთანოლის ზემოქმედება **in vitro** და **in vivo** პირობებში მნიშვნელოვნად აზიანებს ნერვული და გლიური უჯრდების დიფერენცირებას, რაც გამოიხატება აქსონების ზრდის, სპრაუტინგის და ასტროციტების მიგრაციის ინტენსივობის დაქვეითებაში, განვითარებადი თავის ტვინის ქერქში მიმდინარე პროლიფერაციისა და მიგრაციის შეფერხებაში. აღნიშნული პროცესების გამო უჯრედების დაღუპვის შედეგად კლებულობს თავის ტვინის ქერქის სტრუქტურის ფორმირებაში მონაწილე უჯრედების

რაოდენობა, რაც თავის მხრივ განაპირობებს თავის ტვინის ქერქის ნორმალური ფორმირების შეფერხებას, შესაბამისად თავის ტვინის აფერენტული და ეფერენტული კავშირების მოშლას და დასწავლისა და მეხსიერების პროცესების დათრგუნვას. ეთანოლის ციტოტოქსიკური ზემოქმედების შედეგად აღინიშნება თავისუფალრადიკალურ პროცესთა ინტენსიფიკაცია, როგორც ნერვული ქსოვილის კულტივირების დროს, ასევე ზრდასრული შთამომავლობის თავის ტვინის ქერქშიც.

ეთანოლის ზემოთაღნიშნული ციტოტოქსიკური ზემოქმედება მნიშვნელოვნად მცირდება ანტიოქსიდანტის დოლივინის ეთანოლთან ერთდროული ზემოქმედებისას, როგორც in vitro, ასევე in vivo პირობებში. In vitro პირობებში დოლივინის პრევენციული ზემოქმედება,Pმისი ეთანოლთან ერთდროულად ზემოქმედებისას, აისახება აქსონების ზრდის ინტენსივობის, სპრაუტინგის და გლიურ უჯრედების მიგრაციული აქტიურობის გაძლიერებაში.

მდედრი ვირთაგვების მიერ მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში ეთანოლთან ერთდროულად დოლივინის მიღების შედეგად ასევე გაირკვა, რომ მათი შთამომავლობის თავის ტვინის გვერდითი პარკუჭების ეთანოლით ინტოქსიკაციის შედეგად დარღვეული მატრიცული უჯრედების და მოტორული ქერქის გლიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობა, დოლივინის ზემოქმედების შედეგად, უახლოვდება საკონტროლო დონეს, ასევე ნორმალიზებულია ოქსიდაციური სტრესის შედეგად, თავისუფალი რადიკალების ზემოქმედებით განპირობებული მეტაბოლური ცვლილებები, რაც შესაბამისად აისახება თავის ტვინის ქერქში დაღუპული უჯრედების რაოდენობის შემცირებაში და შემდგომში ალკოჰოლიზებული მდედრი ვირთაგვების ზრდასრული ნაშიერების მიერ დასწავლის უნარისა და მეხსიერების კვალის კონსოლიდაციის გაუმჯობესებაში.

დასკვნები:

1. სხვადასხვა მასტიმულირებელი ნივთიერებების ზემოქმედების შედეგად ემბრიონული ზურგის ტვინის კულტივირების პროცესში ნერვული და გლიური უჯრედები ინარჩუნებენ უჯრედთა გენოტიპით განპირობებულ ციტოტოპურ ნიშნებს.

2. ეთანოლის ზემოქმედების მიმართ ზურგის ტვინის ორგანოტიპურ კულტურაში განსაკუთრებული მგრძნობელობით გამოირჩევიან მოტონეირონების აქსონები და მათი კოლატერალები და ნერვული და გლიური უჯრედების მიგრაცია, რაც შესაბამისად გამოიხატება დიფერენცირების პროცესის შეფერხებაში.

3. ზურგის ტვინის ექსპლანტატებზე ეთანოლთან ერთად ანტიოქსიდანტების პლაფერონ ლბ-ს ან დოლივინის ზემოქმედება იწვევს გლიური უჯრედების მიგრაციის და აქსონების ზრდის ინტენსივობის ნორმალიზებას.

4. ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად ზურგის ტვინის ექსპლანტატების ეპრ სპექტრში ვლინდება NO-ს წარმოქმნის ძლიერი ინტენსიფიკაცია და სუპეროქსიდრადიკალების ინტენსიური ეპრ სიგნალი. ეთანოლთან ერთად ანტიოქსიდანტის, პლაფერონ ლბ-ს, ზემოქმედების შედეგად ეპრ სიგნალების ინტენსივობის შემცირება მიუთითებს აღნიშნული პრეპარატის ნეიროპროტექტორულ თვისებებზე, რის გამოც იზღუდება, ან სრულიად ითრგუნება ეთანოლის ციტოტოქსიკური ეფექტი.

5. მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში ეთანოლით ინტოქსიკაციის ქვეშ მყოფი მდედრი ვირთაგვების ნაშიერების თავის ტვინის ლიმბურ და მოტორულ ქერქში, ეთანოლის ციტოტოქსიკური ეფექტით გამოწვეული ნერვული უჯრედების დაღუპვა, განაპირობებს პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე უჯრედების საერთო რაოდენობის შემცირებას. ეთანოლთან ერთად დოლივინის ზემოქმედება თავის ტვინის ქერქის პოსტნატალური განვითარების ადრეულ ეტაპებზე ასუსტებს ეთანოლის ციტოტოქსიკურ ეფექტს.

6. მაკეობის პერიოდში მდედრი ვირთაგვების ეთანოლით ინტოქსიკაცია აფერხებს ემბრიონების თავის ტვინის გვერდითი პარკუჭების მატრიცული უჯრედების და 7 დღიანი ნაშიერის მოტორული ქერქის გლიური უჯრედების პროლიფერაციულ აქტიურობას. დოლივინის ზემოქმედება იწვევს აღნიშნული პროცესის ნორმალიზებას.

7. მაკეობის და ლაქტაციის პერიოდში, ეთანოლით ინტოქსიკაციის ქვეშ მყოფი მდედრი ვირთაგვების ზრდასრული შთამომავლობის თავის ტვინის ქერქში ეპრ მეთოდით გამოვლენილი NO-ს ჭარბი რაოდენობის ჩართვა თავისუფალრადიკალურ პროცესთა ჯაჭვში იწვევს მის ინტენსიფიკაციას და უჯრედების დაღუპვას. აღნიშნული

პროცესის კორექციის მიზნით დოლივინის გამოყენება უზრუნველყოფს ეპრ სპექტროსკოპული პარამეტრების ნორმალიზებას, და შესაბამისად, ჟანგვითი მეტაბოლიზმის ინტენსივობის დაქვეითებას.

8. ეთანოლით პრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაცია, თავის ტვინის ქერქში გამოვლენილი უჯრედების რაოდენობის დაკლების და თავისუფალი რადიკალების ზემოქმედების შედეგად განვითარებული ოქსიდაციური სტრესის ფონზე, იწვევს ცხოველთა მიერ სივრცითი ინფორმაციის დასწავლისა და მეხსიერების კვალის კონსოლიდაციის უნარის მკვეთრ დაქვეითებას. ეთანოლთან ერთად დოლივინის მიღება ხელს უწყობს ამ პროცესის გაუმჯობესებას.

9. ეთანოლის ზემოქმედების შედეგად მატრიცული უჯრედების პროლიფერაციული აქტიურობის დათრგუნვის გამო მათი რაოდენობის შემცირება იწვევს მიგრირებული ნეირობლასტების რიცხვის დაკლებას, და შესაბამისად, იმ უჯრედების რაოდენობის შემცირებას, რომლებიც შემდგომში მონაწილეობენ თავის ტვინის ქერქის სტრატიფიკაციასა და სტრუქტურის ჩამოყალიბებაში, რაც თავის მხრივ განაპირობებს თავის ტვინის ქერქის ნორმალური ფორმირების შეფერხებას, შესაბამისად, აფერენტული და ეფერენტული კავშირების მოშლას და დასწავლა-მეხსიერების პროცესების დათრგუნვას. ანტიოქსიდანტის დოლივინის პრევენციული ზემოქმედება ასუსტებს ეთანოლის ციტოტოქსიკურ ეფექტს, რაც ხელს უწყობს ალკოჰოლიზებული მდედრი ვირთაგვების შთამომავლობაში ეთანოლის ზემოქმედებით გამოწვეული დესტრუქციული პროცესების შესუსტებას.

ლ ი ტ ე რ ა ტ უ რ ი ს ს ი ა

ბერიძე მ., სიხარულიძე დ., შაქარიშვილი რ. სისხლში აზოტის ჟანგის შემცველობის დინამიური მაჩვენებლების პროგნოზული მნიშვნელობა იშემიური ინსულტის მწვავე პერიოდში. საქ.მეცნ. აკად. მაცნე, ბიოლ.სერია.2001. 27 (4-6): 299-311.

კოკიჩაშვილი მ. სამედიცინო ბიოქიმია (I) თბილისი, 1996.

მუსერიძე დ. დიდიმოვი ე. ჯაფარიძე ნ. ბრეგვაძე ი. ცაიშვილი ც. ღვინაძე ნ. გეგენავა ლ. სვანიძე ი. ცაგარელი ს. ონაშვილი ე. მამოძრავებელი სისტემის

ქერქული და ქერქქვეშა სტრუქტურების ფორმირება თეთრი ვირთაგვის ალკოჰოლით პრე- და პოსტნატალური ინტოქსიკაციის დროს. საქ. მეცნ. აკად. მაცნე, ბიოლ.სერია. 2003, 29(1-2):105-113.

ნანეიშვილი თ. სინაფსი მოლეკულიდან ქცევამდე. თბილისი, "მეგობარი".

ნანეიშვილი თ. ქცევის ფიზიოლოგია. თბილისი, 2003.

სოლომონია რ. ბიოქიმია (I, II) თბილისი, 1998. 2000.

Александров О.И., Саркисова Э.Ф., Чубаков А.Р. Морфофункциональное развитие гиппокампа крыс в культуре ткани при длительном воздействии этанола. Материалы II Всесоюзного симпозиума «Возбудимые клетки в культуре ткани », Пущино, 1990, 67.

Бабаян Э.А., Гонопольский М.Х. Наркология. Москва, «Медицина», 1987, 336.

Беридзе М., Мегрелишвили М., Шакаришвили Р. Динамика азозависимого оксидантного стресса в острой стадии ишемического инсульта. Ж. невропатол. и психиатрии им. С.С.Корсакова, приложение "Инсульт", 2005, 13:58-62б.

Беридзе М. Урушадзе И. Шакаришвили Р. Механизмы отсроченной гибели нейронов при острой церебральной ишемии в эксперименте. Ж. невропатол. и психиатрии им. С. С. Корсакова, приложение "Инсульт", 2001, 3:41-44.

Бобырев В.Н., Воскресенский О.Н. Изменение активности антиксидантных ферментов при экспериментальном синдроме пероксидации у кроликов. Вопр. мед. химии. 1982, 2:75-78.

Бобрыщев Ю.В., Балабанов Ю.В., Чеботарев Н.А., Конопищева Л. А. Гибель астроцитов в органотипических культурах спинного мозга плодов крыс с односторонней микромелией. Онтогенез, 1990, 21, 4, 380-387

Бородкин Ю.С., Грекова Т.И. Алкоголизм. Причины, следствия, профилактика Ленинград, Наука, 1987, 159.

Викторов И.В. Некоторые закономерности развития нейронов ЦНС в условиях органотипической культуры нервной ткани. Нейроногенез, реактивные и регенераторные процессы в нервной системе. Мат. республ.совещ., Тбилиси, 1974.

Викторов И.В. Формирование связей между изолированными органотипическими эксплантатами мозга. Функционально-структурные основы системной деятельности и механизмы пластичности мозга. 1976, Сб. науч. тр. Ин-та мозга АМН СССР, М., 5, 78-82.

Викторов И.В. Методика культивирования диссоциированных и реагрегированных клеток мозга в коллагеновой лунке. Цитология, 1980, 22, 9, 1129-1133.

Викторов И.В. Современное состояние исследований регенерации Центральной Нервной Системы in vitro и in situ. Материалы I Всесоюзного симпозиума «Возбудимые клетки в культуре ткани », Пущино, 1984.

Викторов И.В., Перелыгина Т.Л., Хаспеков Л.Г. Исследования развития и дифференцировки чувствительных ганглиев мышей в условиях органотипической культуры ткани. Функционально-структурные основы системной деятельности и механизмы пластичности мозга. Сб. научн. тр., 1974, Вып. 3, М..: АМН СССР, Ин-т мозга, 156-60.

Викторов И.В., Вербицкая Л.Б. Дифференцировка нейронов и формирование синапсов в культуре спинного мозга эмбрионов мыши. Проекцион. и ассоциативн. сист. мозга. Сб. науч. тр. Ин-та мозга АМН СССР, М.,1977, 6, 33-7.

Викторов И. В., Лыжин А.А. Шашкова Н.А. Культивирование реагрегированных клеток мозга в быстро вращающихся мини-роллерах. Бюл. эксперим. биол. и мед., 1985, №5, 632-5.

Вильнер Б.Я., Лущицкая Н.И., Жуков В.В. К совместному культивированию in vitro нервной и мышечной ткани. Механизмы нервной и гуморальной регуляции функции. Минск, Наука и техника, 1979, 200-206.

Виноградова О.С. Гиппокамп и память. «Наука», М. 1975.

Гагуа М., Дзидзигури Д., Бахуташвили В. Изучение воздействия Плаферона ЛБ на морфо-функциональное состояние гепатоцитов белых крыс в норме и после двухсторонней адреналэктомии. Кутаисский медицинский журнал, 3/4, 1999, 17-9.

Галаган М.Е., Киладзе А.С., Ванин А.Ф., Реакция динитрозильных комплексов негемового железа с диэтилдитиокарбаматом в крови анестезированных крыс: ее специфическое проявление еа физико-химическом и физиологическом уровнях. Биофизика., 1997, в. 3 (42), 687-92.

Геладзе Н.М., Дадиани Л.Н,. Бахуташвили В.И. Применение препарата плаферон в раннем неонатальном периоде у недоношенных и новорожденных с церебральными нарушениями., Плаферон, Мецниереба, 1995, 89-94.

Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. Медицина, Ленинград, 1986, 277.

Горбунов Н.В., Ерин А.Н. Механизм антиоксидантного действия карнозина. Бюлл. эксп. биол. и мед. 1991, 5: 477-8.

Гонгадзе М., Роль плаферона ЛБ в регуляции окислительного стресса и обусловленного им апоптоза. Дис. Канд. Биол. Наук., 2004.

Дидимова Е.В., Сванидзе И.К. Изменение нервных и глиальных клеток мозжечка куринного эмбриона в диссоциированных культурах. Онтогенез, 1980, 5, 536-37.

Ильинский О.Б., Козлова М.В., Кондрикова Е.С., Каленчук В.У. Особенности действия опиоидных пептидов и налоксона на ткань центральной и периферической нервной системы в условиях культивироваеия. Нейрофизиология, 1986, 18, 2, 227-33.

Исаев Н.К. Развитие холинергических нейронов базальных ядер переднего мозга крыс в диссоциированных культурах. Мат. II Всесоюзного симпозиума «Возбудимые клетки в культуре ткани »,1990, Пущино.

Калюнов В.Н. Регуляторная функция фактора роста нервов (ФРН) в системе мехклеточных взаимоотношений. Мат. II Всесоюзного симпозиума «Возбудимые клетки в культуре ткани », 1990, Пущино.

Кацарава З.Р. Исследование антиишемического эффекта плаферона на неинвазивной

модели инфаркта коры головного мозга белых крыс. Морфология, 1993, 7-8, 41-2.

Коваль Л.М. Гликоконюгаты поверхности мембраны развивающихся нервных клеток. Мат. II Всесоюзного симп. «Возбудимые клетки в культуре ткани», 1990, Пущино.

Козлова Е.Н. Дифференцировка нервных и глиальных клеток неокортикальных трансплантатов, помещенных в мозг взрослых крыс. Онтогенез, 1990, 21, №4, 388-94.

Кокина Н.Н. Принципы регуляции клеточного поведения в процессе нейроонтогенеза. Мат. II Всесоюзного симп. «Возбудимые клетки в культуре ткани », 1990, Пущино.

Коновалов Г.В., Чумасов Е.И., Чубаков А.Р., Никонов А.А. Морфологическая характеристика затылочной области коры головного мозга крыс в условиях культуры ткани. Докл. АН СССР, 19 78, 239, 1, 214-6.

Крейн С., Нейрофизиологические исследования в культуре ткани, «Мир», М., 1980.

Кривицкая Г.Н., Гельфанд В.Б., Попова Э.Н. Деструктивные и репаративные процессы при очаговых поражениях головного мозга . М., Медицина, 1980, 216.

Кэндел Э. Клеточные основы поведения. 1980, М., Мир.

Ланкин В.З., Ракита Д.П., Вихерт А.М. Влияние α-токоферола на супероксиддисмутазную и глютатионпероксидазную активнсть цитозоля и митохндрии печени мышей. Биохимия, 1983, 9:1555-59.

Латенков В.П., Губин Г.Д. Метаболизм этанола и основные механизмы его токсического действия. Биоритмы и алкоголь, Новосибирск, Наука, 1987.

Мамамтавришвили Н.Д. «Роль редокс-статуса в развитии дисфункции эндотелия
при недостаточности сердца». Автореферат дис. докт. мед. наук., Тбилиси, 2003, 33, 6.

Мегреладзе И.И., Саникидзе Т.В., Бахуташвили В.И., Джапаридзе Л.А. Влияние плаферона-ЛБ на изменения ЭПР сигналов крови больных при остром инфаркте миокарда. (на груз. языке), Известия Академии Наук Грузии, 2003, 29: № 3-4, 387-97.

Мельникова Т.Н., Коновалов Г.В. Ультраструктура нейронов органотипической культуры коры головного мозга при действии этанола. Мат. II Всесоюзного симп. «Возбудимые клетки в культуре ткани », Пущино, 1990.

Микеладзе Д.Г., Джанашия Н.А., Джанашвили Ц.А., Бахуташвили В.И., Картозия Л.Б. Действие плаферона на основные возбуждающие и тормозные нейротрансмиттерные системы мозга. Плаферон. Мецниереба, Тбилиси, 1995, 136-41.

Митагвария Н.П. Устойчивость циркуляторного обеспечения функций головного мозга. Тбилиси, Мецниереба, 1983.

Митагвария Н.П., Небиеридзе М.И., Кацарава З. Р., Азикури Г.С. Влияние плаферона ЛБ на формирование тромбозного инфаркта в коре головного мозга. Морфология, 1996, 111:6, 32-6.

Мусеридзе Д.П. Влияние этанола на рост и дифференцировку мотонейронов спинного мозга и возможность коррекции этого влияния в условиях in vitro. Бюлл. эксп. биол. и мед., 2005, 5: 597-600.

Мусеридзе Д.П. Сванидзе ИК. Особенности роста миобластов и мышечных трубочек при одновременном культивировании соматической мышечной ткани и спинного мозга. Изв. АН ГССР, сер. биол. 1981, 7(3):222-25.

Мусеридзе Д.П. Сванидзе И.К. Особенности поведения нервных и мышечных клеток в смешанных культурах слелетной мышцы и спинного мозга куриных эмбрионов. Цитология 1982, 24(5):610-11.

Мусеридзе Д.П. Сванидзе И.К. Особенности роста аксонов нервных клеток эмбрионального спинного мозга кур в тканевой культуре. Онтогенез, 1984, 3:313-16.

Мусеридзе Д.П., Цаишвили Ц.С., Гигинейшвили Ц.В., Сванидзе И.К. Морфофункциональные особенности нейронов спинного мозга на ранних этапах культивирования. Цитология, 1985, 27(12):1407-10.

Мусеридзе Д.П., Сванидзе И.К., Бахуташвили В.И. Изучение влияния этанола на рост аксонов in vitro и коррекция этого влияния плафероном-ЛБ. Известия АН Грузии, сер.биол. А, 2004, 30, 4, 547-52.

Нестлер В.М., Шпор Г.Х., Штейнхаузен Г.Х. Алкогольная эмбриопатия. Многостороннее изучение последствий алкоголизма во время беременности. Ж. Невропат.и и психиатрии им. С.С. Корсакова,1982, 82, 7, 140-2.

Оленев С.Н. Развивающийся мозг. Ленинград, «Наука», 1978.

Ониани Т.Н. Интегративная функция лимбической системы. «Мецниереба», Тбилиси, 1980.

Пигарева З.Д. Биохимия развивающегося мозга. М., Медицина, 1972.

Попова Э.Н. Особенности структурной организации сенсомоторной коры при естественном развитии и у потомства алкоголизированных животных. Ж. невропат. и психиатрии, 1983, 83, 7, 1053-1056.

Попова Э.Н. Ультраструктура нейронов сенсомоторной коры у потомства крыс, получавших алкоголь во время беременности. Архив АГЭ , 1988, 44 (3): 5-10.

Попова Э.Н., Смольникова Н.М., Стрекалова Н.С. и др. Таламо-стрио кортикальные взаимоотношения. М., 1981, т.2, 73-7.

Попова Э.Н., Фрумкина Л.Е. Изменения нейронов и межнейрональных связей высших отделов двигательной системы у потомства алкоголизированных самок и самцов крыс. Ж. невропатол. и психиатрии им. С.С. Корсакова, 1985, 82 (7): 1059-66.

Попов В.Г. Новое антигипоксическое вещество – гипоксен. Матер. Конференции, посвященной памяти акад. Блохиной. М. 1999

Пулатова М.К., Рихирева Г.Т., Куроптьева З.В. Электронный парамагнитный резонанс в биологии и медицине. Москва, 1989.

Сванидзе И.К. Поведение клеток в диссоциированных и реагрегированных культурах ЦНС. Мат. I Всесоюзного симпозиума «Возбудимые клетки в культуре ткани», Пущино, 1984.

Сванидзе И.К., Брегвадзе И.А., Дидимова Е.В., *Мусеридзе Д.П.* Реактивные изменения морфологии глиальных клеток ЦНС в культуре ткани. Цитология, 1989, 31(8):923-27,

Сванидзе И.К., Дидимова Е.В., Цаишвили Ц.С. Пролиферативная активность матричных клеток боковых желудочков и гранулярных клеток зубчатой извилины гиппокампа крыс в условиях пре- и постнатальной алкогольной интоксикации. Известия АН , сер. биол. 2001,1:1117-120б.

Сванидзе И.К., Мусеридзе Д.П., Рост аксонов в органотипической культуре спинного мозга. Бюлл. эксп. биол. и мед. 1990, 109(2):186-8.

Сванидзе И.К., Мусеридзе Д.П. Стимуляция роста аксонов и дендритов нейронов спинного мозга в тканевой культуре. Бюлл. эксп. биол. и мед. 1993, 116(12):650-52.

Сванидзе И.К., Мусеридзе Д.П., Гегенава Л.Г. Особенности аггрегации клеток крыши среднего мозга эмбрионов кур и коры головного мозга новорожденных крыс в смешанных культурах. Цитология, 1991, 33(10):94-8.

Сванидзе И.К., Кацарава Р.П., Дидимова Е.В., Использование полимерных волокон
в качестве субстрата при культивировании нервной ткани, Цитология, 1987, 29, 5, 611-15.

Сванидзе И.К., Дидимова Е.В., Цаишвили Ц.С., Изучение пролиферативной активно
сти матричных клеток боковых желудочков и гранулярных клеток зубчатой извилины гиппо
кампа крыс в условиях пре- и постнатальной алкогольной интоксикации, Изв. АН Грузии, сер. биол., А, 2001, 1, 117.

Сировский Э.Б., Амчеславский В.Г., Инаури Г.А., Дадиани Л.Н., Пагава К.И., Бахуташвили В.И. Применение препарата плаферон у нейрохирургических больных в условиях раннего послеоперационного периода, Плаферон, Мецниереба, 1995, 110.

Скибо Г.Г., Коваль М.Д., Луцик М.Д. Электронно-цитохимическое выявление детерминант поверхностной мембраны культивируемых нейроновю ДАН СССР., 1988, т.300, №4, 971-973.

Соколовский В.В. Окислительно-восстановительные процессы в биохимическом механизме действия экстремальных факторов внешней среды. В кн.: Антиоксиданты и адаптация: Сб. научн. тр. ЛСГМИ. Л. 5-19, 1984.

Сотников О.С. Динамика структуры живого нейрона. Ленинград, Наука,1985.

Тихомирова Т.И., Шестопалова Н.М. Тонкое строение дифференцирующихся элементов скелетной мускулатуры в культуре тканей. Арх. анат., гистол. и эмбр 1966, 22-30.

Халанский А.С., Викторов И.В. Сканирующая электронная микроскопия первичных органотипических культур больших полушарий мозга крысы. Мат. I Всесоюзного симпозиума «Возбудимые клетки в культуре ткани », Пущино, 1984.

Чернов СЮ. Батыщева ГА. Акульшина НС. Эффективность клинического применения препарата «олифен» у больных хроническим обструктивным бронхитом. MEDLINE, 2001.

Чубаков А.Р., Сотников О.С. Формирование связей между ядрами шва и гиппокампа в культуре ткани (прижизненные функциональные морфологические исследования). Архив анатом., гистол. и эмбриол., 1982, 82, 3, 11-20.

Чубаков А.Р., Громова Е.А. Влияние нейропептидов и нейромедиаторов на рост, дифференцировку и функциональную активность ткани ЦНС в условиях культивирования. Мат. I Всесоюзного симпозиума «Возбудимые клетки в культуре ткани », 1984, Пущино.

Чуппина Л.М. Виды биоэлектрической активности созревающих нервных клеток коры больших полушарий мозга и коры мозжечка в условиях культивирования. Мат. I Всесоюзного симпозиума «Возбудимые клетки в культуре ткани », Пущино, 1984.

Шаронова И.Н., Хаспенков Л.Г., Воробьев В.С., Скребицкий В.Г. Пластические свойства нейронов гиппокампа in vitro. Вестн. АМН СССР, 1978, 12, 36-43.

Шеперд Г. Нейробиология, Мир, М., 1987, т.1, 260-65.

Ягужинский Л.С., Имедидзе Э.А., Дадиани Л.Н., Бахуташвили В.И., Барнова Т.В. Действие препарата плаферон на энергетику митохондрии. Плаферон, Мецниереба, Тбилиси, 1995, 10-3.

Aletta J.M., Greene L.A. Growth cone configuration and advance: a time-lapse study using video enhanced differential interference contrast microscopy. J.Neurosci., 1988, 8(4):1425-35.

Albert J., Whitehead J., Eldredge L., Carter J., Gao X., Tourtellotte W.G. Transcriptional regulation of myotube fate specification and intrafussal muscle fibers morphogenesis. J. Cell Biol., 2005, Apr., 25, 169(2):257-68.

Al-rabiai S., Miller M.W. Effect of prenatal exposure to ethanol on the ultrastructure of layer V of mature rat somatosensory cortex. J. Neurocytol., 1989, Dec., 18,(6):711-29.

Anokhina I.P., Ovchinnikova L.M., Shumakina I.Yu. Mechanisms of pathological influence of parent alcoholism on the progeny: possible means of prophylaxis. Alcohol Alcohol Suppl., 1990, 1: 443-47.

Armstrong R., Friesdrich V.L. Jr., Holmes K.V., Dubois-Daleq M. In vivo analysis of the oligodendrocyte lineage during demyelination and remyelination. J.Cell Biol .,1990, 111:1183-95.

Aschner M., Lo Pachin R.M. Astrocytes targets and mediators of chemical-induced CNS injury. J. Toxicol Envirom Health. 1993, 38, 329-42.

Atkins F., Swea T.T. Reactive oxygen species activity dependent neuron-glia signalling in output fibers of the hippocampus. J Neurosci, 1999.19:7241-48.

Ba A., Seri B.V., Han S.H. Thiamine administration during chronic alcohol intake in pregnant and lactating rats: effects on the offspring neurobehavioural development. Alcohol Alcohol., 1996, Jan., 31 (1): 27-40.

Bakhutashvili A.V., Jaguzhinski L.S., Bakhutashvili I.V., Kadagidze Z.G., Barishnikov A.W., Sokolovskaia A.A., Zabotina T.N., Bakhutashvili V.I, -"Amnion apoptosis modulators." Inter. J. Immunorehabilitation., 2001, 3: 17-23.

Bandtiow Ch., Zachleder Th., Schwab M.E. Oligodendrocytes arrest neurite growth by contact inhibition. Neurosci, 1990,10 (12): 3837-40.

Bannister J., Allen H., Hill O. Chemical reactivity of oxygen-derived radicals with reference to biological systems. Biochem. Soc. Transact., 1982, 10, 2, 68-9.

Barakat J., Sensenbrenner M. Brain extracts that promote the proliferation of neuroblasts from chick embryo in culture. Develop. Brain Res., 1981, 1, 355-68.

Barbakadze N. et al. Prevention of NMDA-receptor induced apoptosis by placental factor P_6. 2nd Convention of Georgian Physiologists, 2000, 18-20.

Barres B.A., Raff M.C. Proliferation of oligodendrocyte precursor cells depends on electrical activity in axons. Nature, 1993, 361: 258-60.

Batchelor A.M., Garthwaite J. Novel synaptic potentials in cerebellar Purkinje cells: probable mediation by metabotropic glutamate receptors. Neuropharmacology, 1993, Jan,

32(1):11-20.

Beltran B., Orsi A. Clementi E. Moncada S. The effect of nitric oxide on cell respiration: A key to understanding its role in cell survival or death. British J. of Pharmacol., 2000,129:953-60. *Bennet M.R., Lai K., Narcombe V.* Identification of embryonic motoneurons in vitro: their survival is dependent on skeletal muscle. Br. Res., 1980, 190, 2, 537-42.

Beridze M., Shakarashvili R., Sanikidze T. The role of blood nitrogen and oxygen redical species in acute ischemic stroke., Annals of biomedical research and education., 2005, 5 (3):168-72.

Berman R.F., Hannigan J.H. Hippocampus, 2000,10 (1): 94-110.

Biran R., Noble M.D., Tresco P.A. Directed nerve outgrowth is enhanced by engineered glial substrates. Exp. Neurol. 2003, Nov., 184 (1): 141-52.

Bird M., James D. W. Myelin formation in cultures of previosly dissociated mouse spinal cord. Cell Tissue Res., 1975, 162, 93-105.

Bjorklund A., Lindvall O. Dopamine in dendrites of substancia nigra neurons: suggestion for a role in dendritic terminals. Brain Res., 1975, 83, 531.

Bondy S.C, Guo S.X. Regional selectivity in ethanol-induced pro-oxidant events within the brain. Biochem Pharmacol. , 19956, Jan , 49 (1): 69-72.

Braun S., Croizat B., Lagrange M.C., Warter J.M., Poindron P. Neurotrophins increase motoneurons ability to innervate skeletal muscle fibers in rat spinal cord – human muscle cocultures. J.Neurol. Sci., 1996, 136 (1-2): 17-23.

Bredensen D.E. Keeping neurons allive: The molecular control of apoptosis. The neuroscientist , 1996, 2: 181-90.

Brinkley B.R., Chang J.P. Embedding in Situ. Tissue culture Method and applications, Acad.Press.,New York-London, 1973, 438-43.

Brookes N., Burt D.R., Goldberg A.M., Bierkam G.G. The influence of muscle-conditioned medium on cholinergic maturation in spinal cord cell cultures. Brain Res., 1980, 186, 474-79.

Bures J., Petran M., Zaghar J. Electrophysiological methods in biological research. Prague: Academic publishing house of the Czechoslovak Academy of Sciences, 1967, 824.

Burrows R.C. Effects of ethanol on the development of the rat oculomotor nucleus. M.S. Thesis, Montana State Univers. 1992.

Caday G.G, Apostolides P.J.,Benowitz J.I., Perrone-Bizzozero N.I., Finklestein S.P. Partial purification and characterization of a neurite-promoting factor from the injured goldfish optic nerve. Mol Brain Res., 1999, 5(1): 45-50.

Caroni P., Shneider C. Stimulation of nerve growth in the intactive neuromuscular system: Signaling by insulin-like growth factors. Experientia, 1991, 47, 61.

Cartwight M.M., Tessmer L.L., Smith S.M. Ethanol-induced neural crest apoptosis is coincident with their endogenous death, but is mechanistically distinct. Alcoholism: Clinical and experimental Research, 1998, 22:142-49.

Chandler L.I., Sutton G., Norwood D., Sumners C., Crews F.T. Chronic ethanol increases N-methyl-D-aspartate- stimulated nitric oxide formation but not receptor density in cultured cortical neurons. Mol.Pharmacol. 1997, May, 51 (5): 733-40.

Cheah J.H, Kim S.F, Hester L.D, Clancy K.W, Patterson S.E 3rd, Papadopoulos V., Snyder S.H. NMDA Receptor-Nitric Oxide Transmission Mediates Neuronal Iron Homeostasis via the GTPase Dexras1.Neuron. 2006, Aug, 17, 51 (4): 431-40.

Checiu I., Craciun C.,Craciun V. Ultrastructural changes in the mouse fetal neocortex following chronic maternal alcoholization. Morphol Embriol (Bucur), 1989, Jan., 35 (1): 3-7.

Chen J., Butowt R., Rind H.B., von Bartheld C.S. GDNF increases the survival of developing ocolomotor neurons through a target-derived mechanism. Mol.Cell Neurosci., 2003, Sep., 24 (1): 41-56.

Chen S.Y., Dehart D.B., Sulik K.K. Protection from ethanol-induced limb malformation by the superoxide dismutase/catalase mimetic, EUK – 134. FASEB J. 2004 Aug., 18 (11): 1234-36.

Chiappelli F., Taylor A.N., Espinosa de los Monteros A. de Vellis J. Fetal alcohol delays the developmental exspression of myelin basic protein and transferrin in rat primary oligodendrocyte cultures. Int J Dev Neurosci, 1991, 9:57-75.

Choi D.W. Calcium: Still center-stage in hypoxic ischemic neuronal death. Trends in Neuroscience, 1995, 18, 58-60.

Choi B., Pae H., Jang S.I., Kim Y.M., Chung H.T. Nitric oxide as a pro-apoptotic as well as anti-apoptotic modulator. J Biochem Mol Biol. 2002, Jan., 31, 35 (1):116-26.

Christic B.R., Swann S.E., Fox C.J., Froc D., Lieblich S.E., Redila V., Webber A. Voluntary exercise rescues deficits in spatial memory and long-term potentiation in prenatal ethanol-exposed male rats. Eur. J. Neurosci., 2005, Mar., 21 (6): 1719-26.

Chung J.H, Kim J.S., Lee W.B. Distribution of neuronal nitric oxide synthase-immunoreactive neurons in the cerebral cortex and hippocampus during postnatal development, J. Mol. Histol., 2004, Nov. 35(8-9), 765-70.

Ciani F., Contestabile A. Diifferenziamento in vitro dei neuronidei centri nervosi dell' embrione di polle. Riv. Biol., 1970, 63, 3-4, 345-58.

Clamp P.A., Lindsley T.A. Early events in the development of neuronal polarity in vitro are altered by ethanol. Alcohol Clin. Exp. Res., 1998, Sep., 22 (6): 1277-84.

Clark W.M., Lanten J.D., Beamer N.B., Coull B.M. Cytokine and superoxide production in clinical stroke. Stroke Cerebrovasc. Dis., 1995, 166-71.

Cohen G.M. Caspases: The executioners of apoptosis. Byochem J., 1997, 326: 1, 16.

Collins M.A., Zou J.V., Neafsey E.J. Brain damage due to episodic alcohol exposure in vivo and in vitro: furosemide neuroprotection implicates edema-based mechanism. FASEB J. 1998, Feb, 12 (2): 221-30.

Colombo G., Addolorato G., Agabio R., Carai M.A., Pibiri F., Serra S., Vacca G., Gessa G.L. Role of GABA(B) receptor in alcohol dependence: reducing effect of balcofen on alcohol intake and alcohol motivational properties in rats and amelioration of alcohol withdrawal syndrome and alcohol craving in human alcoholies. Neurotox. Res., 2004, (5): 403-14.

Cotter V.T. Restraint free care in older adults with dementia. Keio J. Med., 2005 Jun., 54 (2): 80-4.

Crain S.M. Development of functional neuromuscular connections between separate explants of fetal mammalian tissues after maturation in culture. Anat. Rec., 1968,160, 466.

Crain S.M. Electrical activity of brain tissue developing in culture. In: Basic Mechanisms of Epilepsies, H.H. Jasper, A.A. Ward and A. Pope(eds.,), 1969, 506-516. Little, Brown, Boston.

Crain S.M. Bioelectric interactions between cultured fetal rodent spinal cord and skeletal muscle after innervation in vitro. J. Exp. Zool. 1970,173, 353-370.

Crews F.T., Stec J.C., Chandler L.J., Yu C.I., Day A. Ethanol, stroke brain damage, and excitotoxicity. Pharmacol Biochem Behav 1998, Apr., 59 (4): 981-91.

Davies D.J., Cox W.E. Delayed growth and maturation of astrocytic cultures following exsposure to ethanol: electron mycroscopic observations. Brain Res , 1991, 547: 53-61.

Davies D.J., Ross T.M. Long-term ethanol exsposure markedly changes the cellular composition of cerebral glial cultures. Dev Brain Res, 1991, 62:151-58.

Davies D.J., Vernadakis A. Effects of ethanol on cultured glial cells: proliferation and glutamate activity. Dev Rrain Res, 1984, 16: 27-35.

De Sampaio e Spohr T.C., Martinez R. da Silva E.F., Neto V.M., Gomes F.C. Neuro-glia interaction effects on GFAP gene: a novel role for transforming growth factor-betal. Eur. J. Neurosci., 2002, dec., 16 (11): 2059-69.

Deumens R., Koopmans G.C., Den Bakker C.G., Maquet V., Blacher S., Honig W.M., Jerome R., Pirard J.P., Steinbusch H.W., Joosten E.A. Alignment of glial cells stimulates dirrectional neurite growth of CNS neurons in vitro. Neuroscience, 2004, 125 (3): 591-604.

Dikranian K., Qin Y.Q., Labruyere J., Nemmers B., Olney J.W. Ethanol-induced neuroapoptosis in the developing rodent cerebellum and related brain stem structures. Brain Res Dev Brain res., 2005, Mar, 22, 155 (1):1-13.

Dobbing J., Sands J. Comparative aspects of the brain growth spurt. Early Hum.dev., 1979, 3, 79-83.

Dotti C.G., Sulivan C.A., Banker G.A. The estamblishment of polarity by hippocampal neurons in culture. J. Neurosci., 1988, Apr. 8(4), 1454-68.

Dribin L.B., Barret J.N. Conditioned medium enhances neuritic outgrowth from rat spinal cord explants. Develop. Biol., 1980, 74, 1, 184-195.

Edstrom A., Ekstrom P.A., Tonge D. Axonal outgrowth and neuronal apoptosis in cultured adult mouse dorsal root ganglion preparations: effects of neurotrophins of inhibition of neurotrophin actions and of prior axotomy. Neuroscience, 1996, Dec., 75: 4, 1165-74.

Eidelberg E., Bond N.Z., Ketler A. Effect of alcohol on cerebellar and vestibular neurons. Arch. Inter. Pharmacodyn Ther., 1971, 192, 213-19.

England K., Cotter T.G. Direct oxidative modifications of signalling proteins in mammalian cells and their effects on apoptosis. Redox Rep., 2005, 10 (5): 237-45.

Erzyrmulu R.S., Jhaveri S., Takahashi H., McKay R.D.G. Target-derived influences on axon growth modes in explan cocultures of trigeminal neurons. Proc Natl Acad Sci USA 1993, 90: 7235-39.

Esplugues J.V., British J. NO as a signaling molecule in the neurons system, Pharmacol. 2002, 135:1079-95.

Fakoya P.A. Persistent neocortical astrogliosis in adult wistar rats following prenatal ethanol exposure. Brain Dev., 2005, Jun, 27 (4): 259-65.

Famy C., Streissguth A.P.,Unis A.J. Mental illness in adult with fetal alcohol syndrome or fetal alcohol effects. Psuchiatr, 1998, 155, 552.

Farber N.B., Heinkel C., Dribbin W.H., Nemmers B., Jiang X. In the adult CNS, ethanol prevents rather than Produces NMDA antagonist-induced neurotoxicity. Brain Res 2004, Nov 26:1028, 66-74.

Fawcett J.W., Rokos J., Barkst I. Oligodendrocytes repel axsons and cause axonal growth cone collapse. J . Cell Sci , 1989, 92 (1): 93-100.

Feldman S.C., Brown L.L., Bornstein M. B. Catecholamine-conteining neurons in cultures of fetal rat hypothalamus: distribution, morphology and maturation. Cell Mol. Neurobiol., 1981, 1, 3, 279-88.

Fletcher T.L., Shain W. Ethanol-induced changes in astrocyte genes expression during rat central nervous system development. Alcohol Clin exp Res., 1993, 17: 993-1001.

Feurstein G.Z., Wang X., Yue T.L., Barone F. Inflammatory cytokines and stroke: emerging new strategies for stroke therapentics, Cerebrovascular Disease – 1995: 75-91.

Fischbach G.D. Synapse formation betwiin dissociated nerve and muscle cells in low density cell cultures. Dev. Biol., 1972, 28, 407-429.

Fischbach G.D. Early events in nerve-muscle synapse formation. “Eur. J. Cell Biol.”, 1980, 22, 1, 240.

Fischbach G.D., Dichter M.A. Electrophysiologic and morphologic properties of neurons in dissociated chick spinal cord cultures. Dev. Biol., 1974, 37, 100-16.

Fisher K.R.S., Fedoroff S. The development of chick spinal cord in tissue culture. 1. Fragment cultures from embryos of varios developmental stages. In vitro, 1977, 13, 569-79.

Font L., Miquel M., Aragon C.M. Prevention of ethanol-induced behavioral stimulation by D-penicillamine: a sequestration agent for acetaldehyde. Alcohol Clin Exp. Res., 2005, Jul., 29 (7): 1156-64.

Fryer R.H., Kaplan D.R., Feinstein S.C., Radeke M.J., Grauson D.R., Kromer L.F. Developmental and mature expresion of full-length and truncated trkB receptors in the rat forebrain. J.Comp.Neurol., 1996, 374, 21-40.

Fu A.K.Y., Ip F.C.F., Lai K.O., Tsim K.W.K., Ip N.I. Muscle-derived neurotrophi-3 increases the aggregation of acetylcholine receptors in neuron-muscle co-cultures. Neuro Report, 1997, Dec., 8 (18): 3895-900.

Galofre E., Ferrer I., Fabregues I., Lopez-Tejero D. Effects of prenatal ethanol expozure on dendritic spines of layer V pyramidal neurons in the somatosensory cortex of the rat. J.Neurol.Sci., 1987, Nov., 81 (2-3): 185-95.

Garthwaite G., Garthwaite J. Nitric oxide does not mediate acute glutamate neurotoxicity, nor is it neuroprotective, in rat brain slices. Neuropharmacology, 1994, Nov., 33(11):1431-38.

Gershtein L.M., Nikołskaya K.A., Savonenko A.V. Morphochemical features of sensorimotor cortex and neostriatum neurons in rats with different levels of alcohol preference. Neurosci Behav. Physiol., 1997, Jan-Feb., 27 (1): 53-8.

Gogichadze M., Oniani N., Omiadze N., Mchedlidze O., Emukhvary N., Dabrundashvili N., Basishvili T. Influence of acute administration on high doses of ethanol on some features of the sleep-wakefulness cycle in rats. Proc. Georgian Acad. Scie., Ser. A., 2004, 30, 3, 329-335.

Gohlke J.M., Griffith W.C., Bartell S.M., Levandowski T.A., Faustman E.M. A computational model for neocortical neuronogenesis predicts ethanol-induced neocortical neuron number deficits. Dev. Neurosci., 2002, 24 (6): 467-77.

Gohlke J.M., Griffith W.C., Faustman E.M. A systems-based coputational model for dose-response comparisons of two mode of action hypotheses for ethanol-induced neurodevelopmental toxicity. Toxicol Sci. 2005, Aug., 86 (2): 470-84.

Goldstein G.W., Bets A.L. The blood-brain burrier. Sci. Am. 1986, 255: 74-83.

Goodlett Ch.R., Leo J.T., O'Callagan J.P., Mahoney J.C., West J.R. Transient cortical astrogliosis induced by alcohol exsposure during the neonatal brain growth spurt in rats. Dev Brain Res 1993, 72: 85-97.

Goodlett C.R., Horn K.H. Mechanisms of alcohol-induced damage to the developing nervous system. Alcohol Res. Health., 2001, 25 (3): 175-84.

Goslin K., Schreyer D.J., Skene J.H., Banker G. Development of neuronal polarity: GAP-43 distinguishes awonal from dendritic growth cones. Nature , 1988, 336 (6200): 672-74.

Guerri C. Neuroanatomical and neurophisiological mechanisms induced by prenatal alcohol exposure. Alcohol Clin Exp Res.,1998, 22: 304-12.

Guerri C. Mechanisms involved in central nervous system dysfunctions induced by prenatal ethanol exposure. Neurotox. Res., 2002, Jun., 4 (4): 327-35.

Guerri C., Saez ., Sancho-Tello M., Martin de Aquilera E.,Renau-Piqueras J. Ethanol alters astrocyte development: a study of crucial periods using primary cultures. Neurochem Res., 1990, 15: 559-65.

Gundersen R. Sensory neurite growth cone guidance by substrate adsorbed nerve growth factor. J. Neurosci. Res., 1985, 13, 139-212.

Gutteridge M. Fate of oxygene free radicals in extracellular fluids. Biochem Soc Transact 1982, 10 (2): 72-73.

Grosse G., Lindner G. Untersuchungen zur differenzierung isolierter nerven und gliazellen des zentralnervosen gewebes von huhnerembryonen in der zellkultur. J. Hirnforsch., 1970, 22, 3, 207-15.

Grument M., Ratishauser U., Edelman G.M. Neuron-glia adhesion is inhibited by antibodies to neural determinants . Science, 1983, 222, 60-62.

Haallenbeck J.M. Mechanisms of secondary brain damage in cerebral ishemia and trauma. New-York, 1996, 27-31.

Halliday G., Baker K., Harper C. Serotonin and alcohol-related brain damage. Metab. Brain Dis., 1995, Mar., 10 (1): 25-30.

Halliwell B., Gutteridge JMC. Oxygen radicals and the nervous system. Trends Neurosci., 1985, 8: 22-6.

Halliwell B. Oxygen radicals as key mediators in neurological disease: fact or fiction? Ann. Neurol., 1992, 32 (Suppl.), 510-15.

Hamby-Mason R., Chen J.J., Schenker S., Perez A., Henderson G.I. Catalase mediates acetaldehyde formation from ethanol in fetal and neonatal rat brain. Alcoholism: Clinical and Experimental Research, 1997, 21:1063 -72.

Han S., Zhang KH., Lu PH., Xu XM. Effects of annexins II and V on survival of neurons and astrocytes in vitro. Acta Pharmacol Sin., 2004, May, 25 (5): 602-10.

Harper C. The neuropathology of alcohol-specific brain damage, or does alcohol damage the brain. J. Neuropathol Exp. ,Neurol. 1998 Feb., 57 (2): 101-10.

Hassan M., Fridowich I. Superoxide dismutases: detoxication of a free radical. In: Enzymatis Basis of Detoxication/Ed.W. Jakoby N.Y., London, Toronto, Sydney, San Francisco, 1980, 1, 311-32.

Hatten M., Mason C. Neuron-astroglia interactions in vitro and in vivo. Trends Neurosci., 1986, 9, 168-70.

Heaton M.B., Kidd K., Bradley D., Paiva M., Mitchell J., Walker D.W. Prenatal ethanol exposure reduces spinal cord motoneuron namber in the fetal rat but does not affect GDNF target tissue protein. Dev. Neurosci., 1999, 21 (6): 444-52.

Heaton M.B., Mitchell J.J., Paiva M. Amelioration of ethanol-induced neurotoxicity in the neonatal rat central nervous system by antioxidant therapy. Alcohol Clin exp Res 2000, 24: 512-18.

Heaton M.B., Paiva M., Madorsky I., Shaw G. Etanol effects on neonatal rat cortex: Comparative analyses of neurotrophic factors, apoptosis-related proteins, and oxidative processes during vulnerable and resistana periods. Brain Res Dev . Brain Res 2003, Nov, 12, 145 (2): 249-62 .

Henderson G.I., Devi B.G., Perez A., Schenker S. In utero ethanol exposure elicits oxidative stress in the rat fetus. Alcoholism: Clinical and Experimental Research 1995, 19: 714-20.

Hirai K., Yoshioka H., Kibara. M., Hasegawa K., Sawada T., Fushiki S. Effects of ethanol on neuronal migration and neural cell adhesion molecules in the embryonic rat cerebral cortex: a tissue culture study. Brain Res. Dev. Brain Res., 1999, Dec., 10,118 (1-2): 205-10.

Hirano M., Goldman I.E. Gliogenesis in rat spinal cord evidence for origin of astrocytes and oligodendrocytes from radical precursors. J Neurosci Res 1988, Oct-Dec 21(2-4):155-67.

Hirata K., Yamaguchi H., Takamura Y., Takagi A., Fukushima T., Iwakami N., Saitoh A., Nakagawa M., Yamada T. A novel neurotrophic agent, T-817MA [1-{3-[2-(1-benzothiophen-5-yl) ethoxy] propyl}-3-azetidinol maleate}, attenuates amyloid-beta-induced neurotoxicity and promotes neurite outgrowth in rat cultured central nervous system neurons. J. Pharmacol. Exp. Ther., 2005, Jul., 314 (1): 252-9.

Hotter M.F.D. Selective attachment of neural cells to specific substrates including Cell-Tak, a new cellular adhesive.. Exp. Cell Res., 1988, 177, 2, 237-246.

Hozumi I., Chiu F.C., Norton W.T. Biochemical and immunocytochemical changes in the glial fibrillary acidic protein after stab. wounds. Brain Res., 1990, 524: 64-71.

Hunt T. Cell cycle moke cyclings. Nature 1991, 350: 462-63.

Ikonomidou Ch., Bittigau P., Ishimaru M.J., Wozniak D.F., Koch Ch., Genz K., Price M.T., Stefovska V., Horster F., Tenkova T., Dikranian K., Olney J.W. Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome. Science, 2000, Feb, 287 (11): 1056-60.

Ilynsky O.B., Kozlova M.V., Kondrikova E.S., Kalentchuk V.U., Titov M.I., Bespalova Zd.D. Effects of opioid peptides and naloxon on nervous tissue in culture. Neuroscience, 1987, 22, 2, 719-35.

Intebi A.D., Flaxman M.S., Ganong W.F., Deschepper C.F. Angiotensinogen production by rat astroglial cells in vitro and in vivo. Neurosci .,1990, 34 (3): 545-54.

Jacobs J.S., Miller M.W. Cell cycle kinetics and immunohistochemical characterization of dissociated fetal neocortical cultures: evidence that differentiated neurons have mitotic capacity. Brain Res. Dev. Brain Res., 2000, 30, 122 (1): 67-80.

Jacobs J.S., Miller M.W. Proliferation and death of cultured fetal neocortical neurons: effects of ethanol on the dynamics of cell growth. J. Neurocytol ., 2002 May, 30, 5: 391-401.

Jamerson P.A., Wulser M.J., Kimler B.F. Neurobehavioral effects in rat pups whose sires were exposed to alcohol. Brain Res Dev Brain Res., 2004 Apr., 19, 149 (2):103-11.

James D.W., Tresman R.L. De novo formation of neuro-muscular junctions in tissue culture. Nature, 1968, 22, 384-85.

Japaridze N., Museridze D., Didimova E., Svanidze I. Influence of pre- and postnatal alcohol intoxication on the proliferative activity of the matrix cells in the lateral ventricle walls and on the number of neurons in the limbic cortex of the rats. . Proc.Georgian Acad.Sci.,Biol.Ser., 1999, 25 (4-6): 345-348.

Japaridze N., Gvinadze N., Bregvadze I., Svanidze I. Influence of ethanol intoxication on the development of some nuclear structures of limbic system in the rats offspring. Georgian J. of Neurosci , 2002, 1-2: 65-69.

Jorgenson O.S, Localization of the antigens D1, D2 and D3 in the rat brain synaptic membrane. J. Neurochem. 1976, 27, 1223-27.

Kamei N., Oishi Y., Tanaka N., Ishida O., Fujiwara Y., Ochi M. Neural progenitor cells promote corticospinal axon growth in organotypic co-cultures. Neuroreport, 2004, 3, 15 (17): 2579-83.

Kane CJ., Berry A., Boop FA., Davies DL. Proliferation of astroglia from the adult human cerebrum is inhibited by ethanol in vitro. Brain Res., 1996, Aug., 26, 73 (1-2): 39-44.

Kano M., Shimada Y. Innervation of skeletal muscle cells differentiated in vitro from chick embryo. Brain Res., 1971a, 27, 402-405.

Kano M., Shimada Y. Innervation and acetylcholine sensitivity of sceletal muscle cells differentiated in vitro from chick embryo. J.Cell Physiol., 1971b, 78, 233-242.

Karki N., Kuntzman R., Brodi B. Storrage synthesis and metabolism of monoamines in the developing brain. J. Neurochem., 1962, 9, 53-8.

Kayness Cook . Axon guidance molecules. Cell , 1995, 83:161-68.

Keswani S.C., Buldanlioglu U., Fischer A., Reed N., Polley M., Liang H., Zhou C., Jack C., Leitz G.J., Hoke A. A novel endogenous erythropoietin mediated pathway prevents axonal degeneration. Ann. Neurol., 2004, Dec., 56 (6): 815-26.

Kharebava G., Todadze K.H., Shanshiashvili L., Zaalishvili E., Sanikidze T., Bakhutashvili V., Lezhava G., Mikeladze. Influences of plaferon-LB, P6 and metadoxyl on the amino acid content, nitrogene oxide biosynthesis, and intensity of the EPR signals in the brain of alcoholized rats. Proc. Georgian Acad. Sci., Biol. Ser., 1999, 25, 1-3, 77-86.

Kim S.V., Oh T.H., Johnson D.D. Development changes of acetylcholinesterase and pseudocholinesterase in organotypic cultures of spinal cord. Exp. Neurol., 1972, 35, 274-81.

Kim K.M., Kim P.K., Kwon Y.G., Bai S.K., Nam W.D., Kim Y.M. Regulation of apoptosis by nitrosative stress. J. Biochem Mol Biol., 2002, Jan, 31, 35 (1): 127-33.

Kimelberg H.K., Bourke R.S. Mechanisms of astrocytic swelling. Cerebral ishemia: Proc. XXX Intern. sump. cerebral circulation. Amsterdam etc., 1984, 131-46.

Kimura K., Matsumoto N., Kitada M., Mizoguchi A., Ide C. Neurite outgrowth from hippocampal neurons is promoted by choroid plexus ependymal cells in vitro. J.Neurocytol., 2004, 33 (4): 465-76.

Klemm W.R., Boyles R., Mathew J., Cherian L. Gangliosides or sialic acid antagonize ethanol intoxication. Life Sci., 1988, 43: 1837-43.

Koenig J. Formation de jonctions neuromusculaires dans des cultures embryonnaires de rat. C.r.Acad. Sci., 1978, 20, 1451-53.

Kornblum H.J., Raymon H.K., Morrison R.S., Cavanangh K.P., Bradshaw R.A., Laslie F.M. Epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor. Effects on An overlapping population of neocortical neurons in vitro. Brain Res., 1990, 535 (2): 255-63.

Korsching S. The role of nerve growth factor in the CNS Trends Neurosci., 1986, 9, 11-12, 570-73.

Kotch L.E., Chen S.Y. and Sulik K.K. Ethanol-induced teratogenesis: Free radical damage as a possible mechanism. Teratology, 1995, 52: 128-36.

Krill J.J., Halliday G.M., Svoboda M.D., Cartwight H. The cerebral cortex is damaged in chronic alcoholics. Neuroscience, 1997, 79 (4): 983-98.

Krischel .V Bruch-Gerharz .D Suschek C, Kroncke K.D., Ruzicka T, Kolb-Bachofen V. Biphasic effect of exogenous nitric oxide on proliferation and differentiation in skin derived keratinocytes but not fibroblasts. J Invest Dermatol., 1998, Aug, 111 (2): 286-91.

Kroemer G., Zamzami N., Susin S.A. Mitochondrial control of apoptosis. Immunology Today, 1997, 18, 44-51.

Krum J.M. Effect of selective astroglial damage on blood-brain barrier development in vivo. Soc. Neurosci. Abstr. 1991, 17: 239.

Lancaster F.E. Alcohol and the brain: what·s NO got to do with it? Metab. Brain Dis., 1995, Jun, 10 (2): 125-33.

Land C., Spear N.E. Fear conditioning is impaired in adult rats by ethanol doses that do not affect periadolescents. Int. J. Dev. Neurosci., 2004, Aug-Oct., 22 (5-6): 355-62.

Landreth G.E., Agranoff B.W. Explant culture of adult goldfich retina: A model for the study of CNS regeneration. Brain Res., 1979, 161, 39-53.

Lankford K.L., Letourneau P.C. Evidence that calcium may control neurite outgrowth by regulating the stability of actin filaments. J.Cell Biol., 1989, 109, 1229-43.

La Vail J.H., Cowan W.M. The development of the chick optic tectum. II Autoradiograghic studies. Brain Res., 1971, 28, 421-41.

Leclere P., Ekstrom P., Edstrom A., Priestley J., Averill S., Tonge D.A. Effects of glial cell line-derived neurotrophic factor on axonal growth and apoptosis in adult mammalian sensory neurons in vitro. Neuroscience, 1998, 82, 2 , 545-58.

Ledig M., M.·Paria J.R., Louis J.C., Fried R., Mandel P. Effect of ethanol on superoxide dismutase activity in cultured neural cells. Neurochem. Res., 1980, 5: 1155-61.

Ledig M., Megias-Megias L., *Tholey G*. Effect of maternal alcohol consumption on nerve cell development in the offspring. Alcohol Alcohol Suppl., 1991a, 1: 403-8.

Ledig M., Megias-Megias L., Tholey G. Maternal alcohol exposure before and during pregnancy: effect on development of neurons and glial cells in culture. Alcohol Alcohol, 1991b, 26: 169-176.

Ledig M., Megias-Megias L. , Tholey G., Kopp. P. , Wedler F. Combined effect of ethanol and manganese on cultured neurons and glia. Neurochem Res., 1991, 16: 591-596.

Le Esquenazi S. Astrocytes mediate cerebral cortical neuronal axon and dendrite growth, in part, by release of fobroblast growth factor. Neurol. Res., 2002, Jan, 24 (1): 81-92.

Lindsley TA., Comstock LL, Rising LJ. Morphologic and neurotoxic effects of ethanol vary with timing of exposure in vitro. Alcohol, 2002, Nov., 28 (3): 197-203.

Lindsley T.A., Kerlin A.M., Rising L.J. Time-lapse analysis of ethanol's effects on axon growth in vitro. Brain Res. Dev. Brain Res., 2003, Dec, 30, 147 (1-2):191-9.

Liu B., Neufeld A.H. Activation of epidermal growth factor receptors directs astrocytes to organize in a network surrouding axons in the developing rat optic nerve. Dev. Biol., 2004, Sep., 15, 273 (2): 297-307.

Locerbie R.O., Beaujouan J.C., Saffroy M., Glowinski J. An isolated growth cone-enriched fraction from developing rat brain has sustance P binding sites. Dev. Brain Res., 1988, 40, 1, 1-9.

Lodin L., Boocher J., Kasten F.H. Phase-contrast cinematographic study of dissociated neurons from embrionic chick dorsal root ganglia cultured in Rose chamber. Exp Cell Res., 1970, 60, 27-39.

Lopachin R.M., Barber D.S. Synaptic Cysteine Sulfhydryl Groups as Targets of Electrophilic Neurotoxicants. Toxicol Sci., 2006 Jul., 31.

Luo J., Miller M.W. Basic fibroblast growth factor and plateled-derived growth factor-mediated cell proliferation in B104 neuroblastoma cells: effect of ethanol on cell cycle cinetics. Brain Res., 1997, oct., 3, 770 (1-2): 139-50.

Luo J., Miller M.W. Growth factor-mediated neural proliferation target of ethanol toxicity. Brain Res Rev., 1998 Jul , 27 (2): 157-67.

Luo J., Miller M.W. Plateled-derived growth factor-mediated signal transduction underlayng astrocyte proliferation: site of ethanol action. J.Neurosci.,1999, Nov,15, 19, (220): 114.

Mackenz L., Graham A.J., Merilli J.E. In "The neurobiology of NO and HO (Eds Chiuch CC.). The New York Acad of Sciences, 1994, 3: 436-46.

Majocha R., Pearse R., Baldessarini R., et al. The noradrenergic system in cultured aggregates of fetal rat brain cells: morphology of the aggregates and pharmacological induces of noradrenergic neurons . Brain Res., 1981, 230, 1-2, 235-52.

Maksimova N.V., Nagovitsyn A.V., Maksimov G.V. Role of ionic transport in regulation of hemoglobin affinity for oxygen in diabets mellitus. Bull Exp Biol Med ., 2002 Apr, 133: 396-8.

Malhotra S.K., Shnitka T.K., Elbrink J. Reactive astrocytes-a review. Cytobios., 1990, 61:133-60.

Mann K., Widmann U. The neurobiology of alcoholism. Neuropathology and CT/NMR findings. Forischr. Neurol. Psychiatr., 1995, Jun, 63 (6): 238-47.

Mandel P., Ledig M., M-Paria J.R. Ethanol and neuronal metabolism. Pharmacol. Biochem Behav., 1980, 13 (suppl. 1): 175-182.

Markelonis G.J., Ou T.H. A protein fraction from peripheral nerve having neurotrophic effects on skeletal muscle cells in culture. Exp. neurol., 1978, 58, 2, 285-95.

Matthews D.B., Silvers J.R. The use of acute ethanol administration as a tool to investigate multiple memory systems. Neurobiol. Learn Mem., 2004 Nov, 82 (3): 299-308.

Mattson M.P, Guthrie P.B, Kater S.B. Components of neurite outgrowth that determine neuronal cytoarchitecture: Influence of calcium and the growth substrate. J Neurosci Res., 1988,

20, (3): 331-45.

Matsuda M. Serum proteins enhance aggregate formation of dissociated fetal rat brain cells in an aggregating culture. In Vitro Cell and Dev. Biol., 1988, 24, 10,1031-36.

Matsunaga M, Hatta K., Nagafuchi A., Takeichi M. Guidance of optic nerve fibers by N-cadherin adhesion molecules. Nature, 1988, 334, 36, 177, 62-4.

Markelonis G.J., Ou T.H. A protein fraction from peripheral nerve having neurotrophic effects on skeletal muscle cells in culture. Exp. Neurol., 1978, 58, 2, 285-95.

*Martinez Garcia M. del C., Cuervas-mons Finat M., Latorre Macarron E., Bullon M.*M., *Gayoso Rodriguaez M.J.* Responses of the astroglia in sensory deprived olfactory bulb of developing rats. Histol. Histopathol., 1991, 6: 235-39.

McGeachie A.B., Koishi K., Imamura T., McLennan I.S. Fibroblast growth factor-5 is expressed in Schwann cells and is not essential for motoneurone survival. Neuroscience, 2001,104 (3): 891-9.

Meister A., Anderson M.E. Glutathione. Aannu Rev Biochem 1983, 52, 711-60.

Meng F., Lowell C.A. Lipopolysaccharide (LPS)-induced macrophage activation and signal

transduction in the absence of Src-family kinases Hck, Fgr, and Lyn. J. Exp Med ., 1997, 185: 166-70.

Metsuda M., Oohire A., Matsul F., Shoji R. Effects of heparin on reagregation histotipic pattern formation of dissociated fetal rat brain cells. Кэциуго сосики.(Connect. Tissue), 1987, 19, 93-9.

Mikeladze D., Janashia N., Janashvili Ts., Bakhutashvili V., Kartozia L. Effect of plaferon on the brain's activating and inhibitory neurotransmitters systems. In: Plaferon. Metsniereba Publishing House, Tbilisi, 1995, 137-41.

Miller M.W. Effects of alcohol on the generation and migration of cerebral cortical neurons. Science, 1986, Sep., 19, 233 (4770): 1308-11.

Miller M.W. Maturation of rat visual cortex: IY.The generation, migration, morphogenesis and connectivity of atipically oriented pyramidal neurons. J.Comp Neurol, 1988, Aug 15, 274(3):387-405.

Miller M.W.. Migration of cortical neurons is altered by gestational exposure to ethanol. Alcohol Clin exp Res., 1993 Apr., 17 (2): 304-14.

Miller M.W. Effect of pre- or postnatal exposure to ethanol on the total number of neurons in the principal sensory nucleus of the trigeminal nerve: cell proliferation and neuron al death. Alcohol Clin. Exp. Res., 1995, Oct., 19 (5): 1359-63.

Miller M.W. Limited ethanol exposure selectively alters the proliferation of precursor cells in the cerebral cortex. Alcohol Clin exp Res 1996a, Feb., 20 (1): 139-43.

Miller M.W. Effects of early exposure to ethanol on the protein and DNA contents of specific brain regions in the rat. Brain Res., 1996b Sep. 23, 734(1-2): 286-94.

Miller M.W. Effects of prenatal exposure to ethanol on callosal projection neurons in rat somatosensory cortex. Brain Res., 1997, Aug., 22, 766 (1-2): 121-8.

Miller M.W. Effects of prenatal exposure to ethanol on the development of cerebral cortea: 1.Neuronal degeneration. Alcohol Clin exp Res., 1998 Jun.,12 (3): 440-9.

Miller M.W. Kinetics of the migration of neurons to rat somatosensory cortex. Brain Res Dev. Brain Res., 1999 Jun., 2, 115 (2): 111-22.

Miller M.W., Dow-Edwards D.L. Structural and metabolic alterations in rat cerebral cortex induced by prenatal exposure to ethanol.Brain Res., 1988 Dec., 6, 474 (2): 316-26.

Miller M.W., Potempa G. Numbers of neurons and glia in mature rat somatosensory cortex:effects of prenatal exposure to ethanol. J.Comp. Neurol., 1990 Mar.,1, 293 (1): 92-102.

Miller M.W., Nowakowski R.S. Effect of prenatal exposure to ethanol on the cell cycle kinetics and growth fraction in the proliferative zones of fetal rat cerebral cortex. Alcohol Clin. Exp. Res., 1991, Mar., 15 (2): 229-32.

Miller M.W. Robertson S. Prenatal exposure tj ethanol alters the postnatal denelopment and transformation of radial glia to astrocytes in the cortex. J. Comp Neurol., 1993, Nov., 337 (2): 253-66.

Minana R., Climent E., Barettino D., Segui J.M., Renau-Piqueras J., Guerri C. Alcohol exposure alters the expression pattern of neural cell adhesion molecules during brain development. J. Neurochem., 2000, Sep., 75 (3): 954-64.

Mitagvaria N., Bakhutashvili V., Sanikidze T., Nebieridze M., Pipia N. Plaferon LB prevents development of cerebral infarction after photochemica;;y induced thrombosis in the rats. Georgian Journal of Neurosciences, 2001, 1 (1): 13-25.

Monard D., Stookel K., Goodman R., Thoenen H. Distinction between nerve growth factor and glial factor. Nature, 1975, 258, 5534, 444-45.

Montoliu C., Sancho-Tello M., Azorin I., Burgal M.,Valles S., Renau-Piqueras J., Guerri C. J. Neurochem., 1995, 65, 2561-70.

Moonerie H., Le Roux P.D. Glutamate receptor agonist kainate enhances primary dendrite number and length from immature mouse cortical neurons in vitro. J. Neurosci Res., 2006 Feb., 23.

Mooney S.M., Miller MW. Effects of prenatal exposure to ethanol on systems matching: the number of neurons in the ventrobasal thalamic nucleus of the matue rat. Brain Res Dev. Brain Res. 1999, Oct., 20, 117 (1): 121-5.

Mooney S.M., Miller M.W. Ethanol-induced neuronal death in organotypic cultures of rat cerebral cortex. Brain Res. Dev. Brain Res., 2003 Dec., 30, 147 (1-2): 135-41.

Muhlach W.L., Pollack E.D. Target tissue control of nerve fiber growth rate and periodicity in vitro. Dev. Br. Res. 1982, 4, 3, 361-4.

Murphy T.H., Baraban J.M., Glutamate toxicity in immature cortical neurons precedes development of glutamate receptor currents. Dev. Brain Res. 1990, 57, 146-150.

Murray H.M., Saland I.C., Reys E. Anat. Rec., 1981, 199, 178.

Museridze D.P., Svanidze I.K., Sikharulidze NV. Studies of dry weight of cortical neurins under conditions of osmotic brain edema development in rabbits. Neuropat.Pol.,1989, 27 (1): 77-84.

Museridze D.P. Svanidze I.K. Japaridze N.D. Stimulation of spynal cord motoneuronal axonal growth in vitro. Proc.Georgian Acad.Sci.,Biol.Ser. , 1998, 24 (1-6): 271-5.

Museridze D.P., Didimova E.V., Svanidze I.K., Bregvadze I.A. Influence of ethanol on proliferation of the lateral ventricle matrix cells and the motor cortex gliocytes in the rats and correction of this influence. Georgian J. of Neurosci. 2006, 2 (1): 75-9.

Morris R., Souwtham E., Gittins S.R., de Vente J., Garthwaite J. Eur. J., The NO-cGMP pathway in neonatal rat dorsal horn. Neurisci, 1994, May,1; 6(5):876-9.

Nadergaard P.S. Direct signaling from astrocytes to neurons in cultures of mammalian brain cells. Science, 1994, 263:1768-71.

Nacamura H., Fujisawa H., Watanabe K., Kubo S., Ibata Y. Mouse muscle cell differentiation in clonal culture. Develop.Growth a differ., 1978, 20, 1, 49-54.

Nakashidze I., Chikovani T., Sanikidze T., Bakhutashvili V. Manifestations of oxidative stress and its correction in traumatic shock. Anesteziol. Reanimatol., 2003, Sep.-Oct., (5): 22-4.

Nurcombe V., Bennet M.R. Evidence for neuron-survival and neurite-promoting factors from skeletal muscle: their effects on embrionic spinal cord. Neurosci. Let., 1982, 34, 1, 89-93.

Nurcombe V., Hill M.A., Eagleson K.L., Bennet M.R. Motor neuron survival and neuritic extension from spinal cord explants induced by factors released from denervated muscle. Brain Res., 1984, 291, 1, 19-28.

Obata K., Tanaka H. Conditioned medium promotes neurite growth from both central and peripheral neurons. Neurosci Lett., 1980, 16, 1 , 27-33.

O ' Brien R.J., Fischbach G.D. Isolation of embrionic chock motoneurons and their survival in vitro. J.Neurosci., 1986, 6, 11, 3265-74.

Oishi Y., Baratta J., Robertson R.T., Steward O. Assesment of factors regulating axon growth between the cortex and spinal cord in organotypic co-cultures: effects of age and neurotrophic factors. J.Neurotrauma, 2004, Mar., 21 (3):339-56.

O ' keefe G.W., Dockery P., Sullivan A.M. Effects of growth/differentiation factor 5 on the survival and morphology of embrionic rat midbrain dopaminergic neurones in vitro. J. Neurocytol. 2004, Sep., 33 (5): 479-88.

Ostrovskaia RU., Trofimov SS., Gudasheva TA.,Smołnikova NM., Nemova EP., Krapivin SV., Savchenko NM.,Tsirenina ML., Ushakov AN., Mełnik EL. et al. L-pyroglutamyl-D-alanine amide normalizes the function of the developing brain damaged by antenatal alcoholization in rats. Biull. Eksp. Biol. Med., 1990, Dec., 110 (12): 613-6.

Ostrovskaia RU., Smoł nikova NM., Savchenko NM., Trofimov SS., Nemova EP. Sodium oxybutyrate correction of the disorders in higher nervous activity in the progeny of alcoholized annimals. Farmakol. Toksikol. 1988, May, 51 (3): 89-94.

Ozawa E. Trophic effects on chick muscle cells of a factor promoting chick myoblast multiplication. Proc.Jap.Acad., 1977, 53, ser.B., 3, 130-2.

Ozer E, Sarioglu S, Gure A. Effects of prenatal ethanol exposure on neuronal migration, neuronogenesis and brain myelination in the mice brain. Clin Neuropathol 2000 Jan-Feb;19(1):21-5

Pakaski M., Kasa P., Joo F., Wolf J.R. Cerebral endothelial cell-derived laminin promotes the outgrowth of neurites in CNS neuronal cultures. J. Dev. Neurosci. 1990, 8, 2, 193-8.

Payne H., Burden S., Lemmon V. Modulation of growth cone morphology by substrate-bound adhesion molecules. Cell Motil. Cytoskeleton, 1992, 21, 65-73.

Peiffer J., Majewski F., Fischbach H., Bierich J.R., Volk B. Alcohol embryo- and fetopathy. J. Neurol. Sci., 1979, 41: 125-37.

*Peng H.B., Yang J.F., Dai Z., Lee C.W., Hung H.W., Feng Z.H., Ko C.P.*Differential effects of neurotrophins and schwann cell-derived signals on neuronal survival/growth and synaptogenesis. Neuroscience., 2003, Jun., 15, 23(12),:5050-60.

Peterson E.R. Culture of adult skeletal muscle with fetal mouse spinal cord complex. TCA Man., 1978, 4, 4, 921-24.

Peterson E.R., Murray M.R. Myelin sheat formation in cultures of avian spinal ganglia, Am. J. Anat., 1955, 96,319-56.

Peterson E.R., Crain S.M., Murray M.R. Differentiation and prolonged maintenance of bioelectrically active spinal cord cultues (rat, chick and human), Z. Zellforsch., 1965,66, 130-54.

Peterson E.R., Crain S.M. Innervation in cultures of fetal rodent skeletal muscle by organotypic explants of spinal cord from different animals, Z. Zellforsch., 1970, 106, 1-21.

Phillips D.E. Effects of alcohol on the development of glial cells and myelin. In: Watson R.R., ed. Alcohol and Neurobiology: Brain Development and Hormone Regulation. Boca Raton, FL:CRC Press, 1992, 83-108.

Phillips D.E. , Krueger S.K. Effects of postnatal ethanol exposure on glial cell development in rat optic nerve. Exp. Neurol., 1990, 107, 97-105.

Phillips D.E. , Krueger S.K., Rydquist J.E. Short- and longterm effects of combined pre- and postnatal ethanol exposure (three trimester equivalency) on the development of myelin and axons in rat optic nerve. Int. J.Dev.Neurosci., 1991. 9, 631-47.

Phillips D.E. , Krueger S.K. Effects of combined pre- and postnatal ethanol exposure (three trimester equivalency) on glial cell development in rat optic nerve. Int. J.Dev.Neurosci., 1992, 10, 197-206.

Phillips D.E. , Smoyer L., Krueger S.K. Effects of developmental alcohol expozure on the maturation of elements of the blood-brain barier in rat optic nerve. Alcohol Clin Exsp Res 1993, 17:484 (abstract).

Piontek J., Regnier-Vigouroux A., Brandt R. Contact with astroglial membranes induces axonal and dendritic growth of human CNS model neurons and affects the distribution of the growth-associated proteins MAPIB and GAP43. J. Neurosci Res., 2002, feb., 15, 67 (4): 471-83.

Popova E.N. Frumkina L.E. Changes in neurons and interneuronal connections of the higher sections of the motor system in the progeny of alcoholized male and female rats. Neurosci Behav. Physiol., 1985, Nov,15 (6): 476-79.

Popova E.N. Changes in interneuronal connections in the sensory-motor cortex of the offspring of moderately alcoholized female rats. Biull. Eksp. Biol. Med. 1991, May, 111(5): 548-51.

Popova E.N. Reparative changes in the sensorymotor cortex of the offspring in moderate prenatal alcoholism. Biull. Eksp. Biol. Med., 1992, Jul., 114 (7): 106-9.

Popova E.N. Prenatal moderate effects of alcohol on ultrastructure of cortical cappilares in the offspring. Biull. Eksp.Biol. Med., 1992, Feb., 113 (2): 161-4.

Popova E.N. Changes in the cortical astrocytes of the progeny from the moderate alcoholization of female rats. Biull. Eksp. Biol. Med., 1993, Sep, 116 (9): 318-21.

Popova E.N. Distrophic and reparative changes in the cortical neurons of rat progeny in moderate prenatal alcoholization. Morfologiia, 1996, 109 (2): 23-7.

Popova E.N. Structure of the sensomotor area of the cerebral cortex in the offspring of alcoholized rats. Neurosci Behav. Physiol., 2004, Sep., 34 (7): 663-9.

Popova EN. Ultrastructure of the sensorimotor cortex of pubertal offspring of alcoholic male rats. Neurosci Behav. Physiol., 2005, Nov., 35 (9): 877-80.

Popovic M., Caballero-Bleda M., Puelles L., Guerri C. Multiple binge alcohol consumption during rat adolescence increases anxiety but does not impair retention in the passive avoidance task. Neurosci Lett., 2004, Mar., 4, 357 (2): 79-82.

Prochiantz A., di Porzio U., Kato A. et al. In vitro maturation of mesencephalic dofaminergic neurons from mouse embryos is enHanced in the presence of their striatal target cells. Proc Natl Acad Sci (Wash) , 1979, 76, 5387-91.

Qiu M-S, Green S.H. NGF and EGF rapidly activate p21 ras in PC12 cells by distinct, convergent pathways involving tyrosine phosphorylation. Neuron., 1992, 9:705-17 [ISI][Medline].

Parpura V., Scemes E., Spray D.C. Mechanisms of glutamate release from astrocytes: gap junction "hemichannels" purinergic receptors and exitotic release. Neurochem. Int., 2004, Jul-Aug, 45(2-3), 259-64.

Rafitz R. Neurotrophin-evoked rapid excitation through TrkB receptors. Nature, 1999, 401:918-22.

Raff M.C. Glial cell diversification in the rat optic nerve. Science, 1989, 243: 1450-55.

Rafuse V.F., Milner L.D., Landmesser L.T. Selective innervation of fast and slow muscle regions during early chick neuromuscular development. J. Neurosci., 1996 Nov., 1, 16 (21): 6864-77.

Rajakrishnan V., Visvanathan P., Rajasekharan K.N., Menon V.P. Neuroprotective role of curcumin from curcuma longa on ethanol-induced brain damage. Phytotherap. Res., 1999, Nov., 13 (7): 571-4.

Rakic P. Developmental events leading to laminar and areal organization of the neocortex. In the Organization of the Cerebral Cortex (op.cit), 1981, 7-28.

Rakic P. Mechanisms of neuronal migration in developing cerebellar cortex. In: Edelman GM. Gall WE. Cowan WM. eds Molecular Bases of Neural Development New York: John Wiley a. Sona, 1985, 139-60.

Ramachandran V, Watts L.T., Maffi SK., Chen J., Schenker S., Henderson G. J.Neurosci Res., 2003, Nov., 15,74 (4): 577-88.

Ratan R.R., Murphy T.H. and Baraban J.M. Oxidative stress induces apoptosis in embruonic cortical neurons. J. Neurochemistry, 1994, 62, 376-379.

Renau-Piqueras J., Sancho-Tello M., Zaragoza R., Guerri C. Effect of ethanol on the development of astrocytes in primary culture. Adv. Biosci., 1988, 71: 269-73.

Renau-Piqueras J., Zaragoza R., Depaz P., Baguena-cervellera R., Megias L., Guerri C. Effects of prolonged ethanol exposure on the glial fibrillary acidic protein-containing

intermediate filaments of astrocytes in primary culture; a quantitative immunofluorescence and immunogold electron microscopic study. J., Histochem. Cytochem., 1989, 37: 229-40.

Rimvall K., Keller F., Waser P. Development of cholinergic projections in organotypic cultures of rat septum, hippocampus and cerebellum. Dev. Brain Res., 1985, 19, #2, 267-78.

Robbins N., Yonezawa T. Physiological studies during formation and development of rat neuromuscular junctions in tissue culture. J. Gen. Physiol., 1971,58, 467-81.

Robinson JK. Mair RD. MK-801 prevents prain lesions and delayed-nonmatching-to-sample defocots produced by Pyrithiamine-induced encephalopathy in rats. Behav Neurosci, 1992, 106:623-33.

Roivainen R., Hundle B., Messing R.O. Ethanol enhances growth factor activation of mitogen-activated protein kinases by a protein kinase C-dependent mechanism. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1995, 92: 1891-95.

Ronnback L., Hansson E., Alling C. Primary astroglial cultures in alcohol and drug research. Alcohol Alcohol, 1988, 23 (6): 465-75.

Rosenberg P.A., Aizenman E. Hundred-fold increase in neuronal vulnerability to glutamate toxicity in astrocyte-poor cultures of rat cerebral cortex. Neurosci. Lett., 1989, 103 (1): 162-8.

Rudge J.S. Astrocyte-derived neurotrophic factors. In: Murphy S. ed. Astrocytes: Pharmacology and Function. San Diego. Academic. Press. 1993, 267-305.

Rudolf JG., Lemasters JJ., Crews FT. Effects of chronic ethanol expozure on oxidation and NMDA-stimulated neuronal death in primary cortical neuronal cultures. Alcohol Clin Exp Res., 1998, Dec, 22 (9): 2080-5.

Rukhadze R., Sanikidze T., Bakhutashvili V., Chikovani T., Nikoleishvili L., Panculaia I. Ifluence of Plaferon LB on metabolic disorders in liver during experimental hyperthyroidism., Proc. Geo Sci., 1998, 24:91-5.

Salie R.S., Steeves I.D. IGF-1 and BDNF promote chick bulbespinal neurite outhghowth in vitro. Int. J. Dev. Neurosci., 2005, Nov., 23 (7): 587-98.

Samuels P.L., Riml H., Cohen M.W. Formation and survival of postsynaptic specialization in cultures of embrionic xenopus nerve and muscle cells. Dev. Biol. 1990, 141, #2, 399-411.

Sbriccoli A., Carreta D., Santarelli M., Granato A., Minciacchi D. An optimised procedure for prenatal ethanol exposure with determination of its effects on central nervous system connections. Brain Res. Brain Res. Protoc. 1999, Jan, 3 (3): 264-9.

Schmidley J.W. Free radicals in central nervous system ishemia. Current Concepts of Cerebrovascular Disease and Stroke., 1990, 25: 7-12.

Schon MP. Ruzicka T. Psoriasis: the plot thickens..Nat Immunol. 2001, Feb. 2(2):91.

Schwab ME., Savio T., Caroni P. Oligodendrocytes and myelin inhibit growth of neurites in the mammalian CNS. Pap. 16 th CYNP Cong.Munich., 15-19 Aug., 1988, Abstr. "Psychopharmacology" 96, suppl. 15.

Schwartz J.P., SimantovR. Developmental expression of proenkephalin mRNA in rat striatum and striatal cultures. Brain Res., 1988, 468 (2): 311-4.

Seabold GK. Luo J. Miller MW. Effect of ethanol on neurotrophin-mediated cell survival and receptor eapression in cultures of cortical neurons. Brain Res Dev Brain Res 1998, Jun. 15, 108(1-2):139-45.

Sedel F., Bechade C., Triller A. Nerve growth factor (NGF) induces motoneuron apoptosis in rat embrionic spinal cord in vitro. Eur. J. Neurosci. 1999,11,(11):3904-12.

Seeds N.W. Biochemical differentiation in reaggregating brain cell culture. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1971, 68, 1858-1861.

Seil F.J., Herndon R.M. Cerebellar granule cells in vitro. A light and electron microscopic study. J.Cell Biol., 1970, 45, 212-20.

Schmidley J.W. Free radicals in central nervous system ischemia. Stroke 1990 Jul., 21, 7:1086-90.

Shakarishvili r., Sanikidze T., Mitagvaria N., Beridze M., Mikeladze M., Bakhutashvili V. The role of oxygen and nitrogen reactive species in pathogenesis of ishemic stroke. Creatine kinaze and Brain Energy Metabolism. T.Kekelidze and D.Holtman (Eds (Ios press. Function and Disease, 2003, 171-182.

Shearer MC., Niclou SP., Brown D., Asher RA., Holtmaat AJ., Levine JM., Verhaagen J., Fawcett JW. The astrocyte/meningeal cell interface is a barrier to neurite outgrowth which can be overcome by manipulation of inhibitory molecules or axonal signalling pathways. Mol Cell Neurosci. 2003, Dec., 24 (4): 913-25.

Sherry A.K., Phillips D.E. Effects of prenatal ethanol exposure on the development of Bergmann glia and astrocytes in rat cerebellum; an immunohistochemical study. J.Comp. Neurol., 1992, 321: 19-32.

Shimada Y., Fischman D.A., Moscona A.A. The development of nerve-muscle junctions in monolayer cultures of embryonic spinal cord and skeletal muscle cells. J. Cell Biol., 1969, 43, 382-87.

Shimada Y., Fischman D.A. Scanning electron microscopy of neuromuscle contacts in embryonic cell culture Proc. 10th Internat. Congr. Anatom.and 8th ann.meet. Jap.Assoc.Anatom. Tokyo, 1975, 318.

Shinoda H., Marini A.M., Cosi C., Schwartz J.P. Brain region and gene specificity of neuropeptide gene expression in cultured astrocytes. Science, 1989, 245 (49):415-17. .

Shults C.W., Hashimoto R., Brady R.M., Gage F.H. Dopaminergic cells align along radial glia in the developing mesencephalon of the rat. Neuroscience, 1990, 38, 427-36.

Skaper SD. Neuronal growth-promoting and inhibitory cues in neuroprotection and neuroregeneration. Ann NY Acad.Sci. 2005, Aug.1053:376-85.

Skaper S.D., Moore S.E., Walsh F.S. Cell signalling cascades regulating neuronal growth-promoting and inhibitory cues. Prog. Neurobiol., 2001, Dec., 65 (6): 593-608.

Skoff R. . Gliogenesis in rat optic nerve: astrocytes are generated in a single wave before oligodendrocytes. Dev. Biol. 1990, 139: 149-168.

Snyder AK. Singh SP. Ehmann S. Effects of ethanol on DNA, RNA and protein synthesis in rat astrocyte cultures. Alcohol Clin exp Res, 1992, 16(2):295-300.

Somani SM., Hussain K., Diaz-Phillips 1., Lanzotti DJ., Kareti KR ., Trammell Gl. Interaction of exercise and ethanol on antioxidant enzymes in brain regions of the rat. Alcohol. 1996, Nov-Dec., 13 (6): 603-10.

Soumyanath A. Zhong YP. Gold SA. Yu X. Koop DR. Bourdette D. Gold BG. Centella asiatica accelerates nerve regeneration upon oral administration and contains multiple active fractions increasing neurite elongation in vitro. J. Pharm. Pharmacol. 2005, Sep, 57 (9):1221-9.

Southam E., Garthawaite J. Intercellular action of nitric oxide in adult rat cerebellar slices. Neuroreport,1991,Nov.2(11):658-60.

Spoerri PE. Müller G. Markakis E. K^+ potentiation of non-NGF mediated neurite outgrowth in sensory ganglia. Eur J Cell Biol ., 1989., 48 (1) :154-58.

Spoerri PE. Caple CG. Roisen FJ. Taurine-induced neuronal differentiation. The influence
of calcium and the gangliozide GN1. Int J Dev Neurosci., 1990, 8 (4): 491-503.

Srivastova N., Vernadabis A. Maturation of cerebellar granule cells is delayed in cultures derived from ethanol treated chick embryos. Int.J.Dev. Neurosci. 1995, 13, 6, 529-37.

Stoeckli ET. Molecular mechanisms of ,<b> <j> growth <j> <b> cone guidance stop and go? Cell Tissue Res., 1997, Nov., 290 (2): 441-9.

Svanidze I.K., Didimova E.V. Plane reconstruction of the structure of mesencephalic tectum from hen embryos in dissociated culture. Brain Res, 1982, v. 247,121-28.

Sulik KK. Lauder JM. Dehart DB. Brain malformations in prenatal mice following acute maternal ethanol administration. Int. J.Dev. Neurosci. 1984, 2:203-14.

Surai P.F. Tissue-specific changes in the activities of antioxidant enzymes during the development of the chicken embryo. Br. Poult. Sci., 1999 Jul., 40 (3): 397-405.

Svanidze I. Didimova E. Gvinadze N. Dry weight and size dynamics of the neurons in the brain subcortical structures of the limbic systems in the offspring of the alkoholized albino rats.Georgian J. Neurosci 2002, 1-2:35-42.

Sweet M.J., Hume DA.. J. Endotoxin signal transduction in macrophages. Eukocite Biol. 1996, 60: 8-26.

Tanaka H. Maternal environment and developmental brain damages. No To Hattatsu, 1997, May, 29 (3): 183-9.

Tanaka H., Hideaki M. In vitro servival of chick embryo spinal neurons capable of forming synapses on skeletal muscle cells. Dev. Brain Res., 1982, 6, #1, 85-90.

Tennekoon G.I., Kishimoto Y., Singh I., Nonaka I., Bourre J.M. The differentiation of oligodendrocytes in the rat optic nerve. Dev. Biol., 1980, 79, 149-58.

Thomas J.D., Garrison M., O Neill T.M. Perinatal choline supplementation attenuates behavioral alterations associated with neonatal alcohol exposure in rats. Neurotoxicol. Teratol., 2004, Jan-Feb., 26 (1): 35-45.

Thomas J.D., O Neill T.M., Dominguez H.D. Perinatal choline supplementation does not mitigate motor coordination deficits associated with neonatal alcohol exposure in rats. Neurotoxicol. Teratol., 2004, Mar.-Apr., 26 (2): 223-9.

Thurston A.W., Shukla S. Ethanol modulates epidermal growth factor-stimulated tyrosine kinase and phosphorylation of PLC-gammal. Biochem .Biophys. Res. Commun., 1992, 185: 1062-68.

Totar M. Cultivation conditions influencing de novo development of nerve-muscle junctions in vitro. Physiol.Bochemosl., 1980, 29, 5, 393-99.

Trapp B., Honegger P., Richelson E., Webster H. Morphological differentiation of mechanically dissociated fetal rat brain in aggregating cell cultures. Brain Res., 1979, 160, 1, 117-30.

TsaiG. and Coyle J.T. The role of glutamatergic Neurotransmission in the pathophysiology of alcoholism. Annu. Rev. Med., 1998, 49: 173-84.

Valenzuela C.F., Kazlauskas A., Weiner J.L. Roles of platelet-derived growth factor in developing and mature nervous systems. Brain Res. Rev. 1997, 24: 77-89.[ISI][Medline].

Valles S, Sancho-Tello M. Minana R. Climent E. Renau-piqueras J. Guerri C. Glial fibrillary acidic protein expression in rat brain and in radial glia culture is delayed by prenatal ethanol esposure. J.Neurochem. 1996, Dec.67(6):2425-33.

Vibulsreth S., Hefti F., Ginsberg M.D.,Dietrich D.D., Busto R. Astrocytes protect cultured neurons from degeneration induced by anoxia. Brain Res., 1987, 422 (2): 303-11.

Victorov I.V., Krukoff T.L. Patterns of reagregation and formation of linear aggregate chains in collagen-well cultures of dissociated mouse brain and spinal cord. Brain Res., 1980, 198, 167-82.

Ward IL., Romeo RD., Denning JH., Ward OB. Fetal alcohol exposure blocks full masculinization of the dorsolateral nucleus in rat spinal cord. Physiol. Behav., 1999, Jun., 66 (4): 571-5.

West J.R., Goodlett C.R. Teratogenic effects of alcohol on brain development. Ann Med., 1990, 22, 319-25.

West J.R., Chen W.-J.A., Pantazis N.J. Fetal alcohol syndrome: The vulnerability of the developing brain and possible mechanisms of damage. Metabolic Brain Disease, 1994, 9:291.

White A.M., Swartzwelder H.S. Age-related effects of alcohol on memory and memory-related brain function in adolescents and adults. Recent Dev. Alcohol., 2005, 17: 161-76.

Whiteman M, Chua YL, Zhang D, Duan W, Liou YC. Armstrong JS. Nitric oxide protects
against mitochondrial permeabilization induced by glutathione depletion: role of S-nitrosolation Biochem Biophys Res Commun. 2006 Jan. 6,339(1):255-62.

Wiggins R.C. Myelination: a critical stage in development. Neurotoxicology 1986, 7:103-120.

Wilcoxon JS., Kuo AG., Disterboft JF., Redei EE. Behavioral deficits associated with fetal alcohol exposure are reversed by prenatal thyroid hormone treatment: a role for maternal thyroid hormone deficiency in Fae. Mol.Psychiatry, 2005, Oct.10 (10): 961-71.

Wisniewski K., Dambska M., Sher J.H., Qazi Q. A clinical neuropathological study of the fetal alcohol syndrome. Neuropedia, 1983, 14, 197-201.

Wolff I.R., Hosli E., Hosli L, Basement membrane material and glial cells in spinal cord cultures of newborn rats. Br. Res., 1971, 32,198-202.

Wozniak D.F., Hartman R.E., Boyle M.P., Vogt S.K., Brooks A.R., Tenkova T., Young C., OlneyJ.W., Muglia L.J. Apoptotic neurodegeneration induced by ethanol in neonatal mice is associated with profound learning/memory deficits in juveniles followed by progressive functional recovery in adults. Neurobiol. Dis., 2004, Dec., 17 (3): 403-14.

Wuarin I., Sidell N., Vellis J. Retinoids increase perinatal spinal cord neuronal survival and astroglial differentiation. Int.J.Dev.Neurosci., 1990, 8, 3, 317-26.

Wujek J.R., Akeson R.A. Extracellular matrix derived from astrocytes stimulates neuritic outgrowth from PC12 cells in vitro. Dev.Br.Res. , 1987, 34, #1, 87-97.

Yamamoto Y. Kenderson CE. Patterns of programed cell death in populations of developing
spinal motoneurons in chicken, mouse and Rat. Dev Biol, 1999, Oct.214(1):60-71.

Yanni PA., Lindsley TA. Ethanol inhibits development of dendrites and synapses in rat hippocampal pyramidal neuron cultures. Brain Res. Dev. Brain Res. 2000, Apr., 14, 120 (2): 233-243.

Yavin Z., Yavin E. Survival and maturation of cerebrall neurons on poly(L-lysine) surfaces in the absence of serum.Develop. Biol. 1980, 75, 454-59.

Zhang L., Fletcher-Turner A., Marchionni MA., Apparsundaram S., Lundgren KH., Yurek DM., Seroogy KB. J. Neurotrophic and neuroprotective effects of the neurogelin glial growth factor-2 on dopaminergic neurons in rat primary midbrain cultures. Neurochem., 2004, Dec., 91 (6): 1358-68.

ZhengJ.L., Stewart R.R., Gao W.Q. Neurotrophin-4/5, brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 promote survival of culture vestibular ganglion neurons and protect them against neurotoxicity of ototoxins. J.Neurobiol. 1995, 28, 330-40.

Zima T., Fialova L., Mestek O., Janebova M., Crkovska J., Malbohan I., Stipek S., Mikulikova L., Popov P. Oxidative stress, metabolism of ethanol and alcohol-related diseases. J.Biomed. Sci., 2001, Jan-Feb., 8 (1): 59-70.