

단회 혹은 반복적인 전기경련충격이 흰쥐의 해마에서 신경세포 및 성상교세포에 미치는 영향에 관한 연구

A Study on the Effects of Single and Repeated Electroconvulsive Shocks on Neurons and Astrocytes in Hippocampus of the Rats

권오영¹ · 황세진² · 정호삼² · 임병훈¹

Oh-Young Kwon, M.D.¹, Se-Jin Hwang, M.D.²,
Ho-Sam Chung, Ph.D.² and Byeong Hoon, M.D.¹

ABSTRACT

Objectived : Electroconvulsive therapy (ECT) is an effective treatment for some disorders including depression. While definitive structural damage of brain induced by ECT is still controversial, evidences of neuronal damage were reported by many authors. It has been also suggested that neuronal activation by various manners including electroconvulsive shock (ECS), could alter the astroglial gene expression. To investigate the effects of ECS on the neurons and astrocytes of hippocampus, we observed the changes in morphology and the immunoreactivity of glial fibrillary acidic protein(GFAP) and S-100 protein, the specific markers for astrocytes. **Subjects and Methods** : Experimental animals were treated with single or repeated (once/day, for 10 days) ECS (100 V, AC, for 0.9sec) and sacrificed at 1 day or 10 days after last ECS. Luxol fast blue-cresyl violet stain, GFAP and S-100 immunohistochemistry were performed. **Result** : 1) No histological and immunohistochemical changes were observed in rats treated with single ECS. 2) Neuronal atrophy and nuclear pyknosis of hippocampal pyramidal cells and dentate granular cells were observed at 1st day after repeated ECS, but these findings were not found at 10th day after repeated ECS. 3) Increase of GFAP immunoreactivity in dentate gyrus, and S-100 protein immunoreactivity in dentate gyrus and CA1 area of hippocampus were observed at 1st day after repeated ECS, but these findings were not found at 10th day after repeated ECS. **Conclusion** : It is consequently suggested that repeated ECS may transiently induce the morphologic change of neurons and increase of GFAP and S-100 protein immunoreactivity, the latter may be related with neuroprotection in hippocampus of the rats. (J Korean Epilep Soc 1 : 60-70, 1997)

KEY WORDS : Electroconvulsive therapy · Hippocampus · Morphologic change of neurons · GFAP and S-100 protein immunoreactivity · Neuroprotection.

서론

전기경련요법 (electroconvulsive therapy, ECT)은 우울증 등의 정신 질환에 효과적인 치료수단으로, Parkins-

¹경상대학교 의과대학 신경과학교실

Department of Neurology, Gyeongsang National University College of Medicine, Gyeongsang Institute for Neuroscience, Gyeongsang National University, Chinju, Korea

²한양대학교 의과대학 해부학교실

Department of Anatomy, Hanyang University College of Medicine, Seoul, Korea

교신저자 : 권오영, 660-702 경남 진주시 칠암동 90

TEL : (0591) 50-8073 · FAX : (0591) 758-6364

on 병에도 효과가 있다고 보고되었다.¹⁾ 전기경련요법이 우울증에 치료 효과를 가지는 기전은 명확히 알려져 있지 않으나 현재까지의 연구에서의 중추신경계의 dopamine계, choline계 및 opioid계 신경세포에서 주요한 작용을 나타내는 것으로 추측되고 있다. Newman과 Lerer등²⁾은 반복적 ECT 후 선조체에서 선택적으로 도파민의 D1 수용체의 활성이 증가한 것을 관찰하였고, 파킨슨 증후군에 대한 ECT의 치료적 효과를 이 도파민 D1 수용체의 증가로 설명하였다.

ECT가 임상적으로 유용한 치료 수단으로 널리 이용되고 있는 반면에, 이에 의해 유발된 경련 발작이 뇌에 악영향을 미칠 수 있다는 주장이 제기되어 왔으며,³⁾ 오랫동안 논란의

대상이 되어왔다. ECT의 임상적 부작용으로는 기억 및 인식의 장애와 뇌허혈에 대한 민감성 등이 오래전부터 알려져 왔고,⁴⁾ 뇌의 손상은 ECT의 적용 방법과 조건등에 따라 다양한 양상을 나타내는 것으로 알려져 있으며, 현재는 초기의 방법과는 달리 이러한 부작용을 예방하기 위하여 마취, 산소 투여, 혹은 근육 이완제의 투여가 병용되고 있다.⁵⁾ 실험 동물을 이용한 전기경련충격 (electroconvulsive shock, ECS)의 신경 독성에 관련된 연구도 있었으며, 초기의 연구부터 ECT에 의한 뇌의 형태학적 변화가 보고되었으나 이는 과도한 전기자극과 심혈관계의 손상에 따른 2차적인 변화로 판명되었고,⁶⁾ 최근에는 ECT로 유발된 경련에 의한 뇌손상에 의하여 발생하는 신경 독성과 관련된 유전 인자의 변화 및 생화학적 변화 등에 관한 연구가 다양하게 이루어지고 있다.

중추신경계에 분포하는 신경교세포의 일종인 성상교세포는 다양한 물리적, 화학적 및 병리적 손상에 의해 성상교세포증(astrogliosis)을 유발하고,⁵⁾ 이 과정에서는 성상교세포는 증식 뿐 아니라 비대(hypertrophy)가 특징적으로 나타난다고 알려져 있으며,⁶⁾ 이러한 상태의 성상교세포를 반응성 성상교세포(reactive astorcyte)라고 한다. 전기 자극에 의해 활성화된 신경세포가 성상교세포 내 유전자 발현을 증가시키는 사실이 보고되었는데 이 현상도 성상교세포증의 반영이라고 할 수 있으며 과거에는 성상교세포증이 단순한 증식으로만 인식되었으나, 비대해진 반응성 신경교세포는 신경세포의 기능에 관련되며 신경영양성 인자(neurotrophic factor)를 생성하여 손상된 신경세포의 생존과 성장을 증진시킨다.⁷⁾

본 연구는 흰쥐에서 단회 혹은 반복적인 ECS를 가하고 흰쥐 해마의 각 지역의 신경세포의 형태학적 변화 및 성상교세포의 표지 인자인 GFAP와 S-100 단백질의 변화를 관찰하고자 하였다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 동물 및 실험군

본 실험에 사용된 실험 동물은 체중 250~300 gm의 Sprague-Dawley계 specific pathogen free (SPF) 웅성 흰쥐 (대한실험동물주식회사)를 사용하였다. 실험 기간중 식수와 사료 (신촌사료주식회사)는 무제한으로 공급하였다. 본 실험의 실험 군은 단회의 전기 자극과 임상적으로 적용되는

방법인 일정 기간의 반복적인 ECS의 효과를 비교 연구하기 위하여 대조군, ECS 단회 처치 군 및 10회 반복 처치 군 등의 세 군으로 분류하였고 각각 10마리의 흰쥐를 배정하였다. 단회 및 반복적인 ECS 처치 군의 실험 동물은 ECS 후 1일 및 10일 경과 시에 각각 희생시켰다.

2. 전기경련충격 (ECS)

ECS는 실험 동물의 일조 주기에 따른 영향을 배제하기 위하여 동일한 시간 (오전 11시~12시)에 시행하였으며, 처치는 흰쥐를 ECS 처치대에 놓은 후 양측의 이개 (auricle)에 귀 집게 (ear clip)를 적용시키고 0.9초간 교류 100V의 전기 충격을 가한 후 즉각 귀 집게를 제거하였으며 경련이 끝난 후 실험 동물 우리 (cage)에 복귀시켰다. 반복 처치 군의 흰쥐는 단회 처치 군과 같은 조건으로 1일 1회씩 10일간 반복하여 ECS를 시행하였으며, 모든 실험 군의 흰쥐는 처치가 완료된 날 부터 1일 및 10일 경과 후에 각각 희생시켰다.

3. Luxol fast blue-cresyl violet 이중 염색

흰쥐에서 ECS 처치 후 해마의 형태학적 변화를 관찰하기 위하여 Luxol fast blue-cresyl violet 이중 염색을 시행하였다. 모든 실험 동물은 ECS를 시행하고 각각의 해당 기간 경과 시에 50 mg/kg의 pentobarbital을 복강 내에 투여하여 마취시킨 후 좌심실을 통하여 상행 대동맥에 삽관술을 시행하고 50 ml의 생리식염수 및 300 ml의 10% 중성 완충 포르말린액 (neutral buffered formalin)을 차례로 관류 고정된 다음 뇌를 제거하였으며 간뇌 부위에서 3 mm의 두께로 관상 절단하여 동일한 고정액에서 3~4일간 고정된 후 수세, 탈수 및 파라핀 포매 과정을 거쳐 두께 8 mm의 관상 절편을 제작하고 luxol fast blue-cresyl violet⁸⁾ 이중 염색을 시행하였다.

Luxol fast blue-cresyl violet 이중 염색은 조직 절편을 탈파라핀 시킨 후 36 °C의 항온기에서 luxol fast blue 수용액으로 4시간동안 반응시키고 lithium carbonate 용액으로 적정한 횟수로 탈색시킨 다음, cresyl violet 염색 및 탈색 과정을 거치고 탈수, 청명 과정을 거쳐 permount로 봉입하여 해마의 배측 (dorsal) 부위를 광학현미경으로 관찰하였다.

4. GFAP 및 S-100 단백질의 면역조직화학염색

흰쥐에 ECS 처치 후 해마에서 성상교세포의 변화를 관

찰하기 위하여 GFAP 및 S-100 단백질의 면역 염색을 시행하였다. 모든 실험 동물은 ECS를 시행하고 1일 후 및 10일 후의 각각의 해당 시간 경과 시에 50 mg/kg의 pentobarbital을 복강에 투여하여 마취시킨 후 좌심실을 통하여 상행 대동맥에 삽관술을 시행하고 50 ml의 0.1M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) 및 300 ml의 4% paraformaldehyde-0.5% glutaraldehyde (in PBS)를 사용하여 관류 고정한 후 뇌를 제거하였으며 간뇌 부위에서 3 mm의 두께로 관상 절단을 하여 동일한 고정액에서 1일간 후고정한 다음 30% sucrose-PBS 용액에서 1일 이상 침적시켰고 냉동 절편기를 이용하여 -15 °C에서 두께 40 µm의 관상 절편을 제작하였으며, 24 well tissue culture plate를 이용하여 PBS 내에서 free floating 방법으로 면역조직화학염색을 시행하였다.

GFAP 면역조직화학염색에 사용된 일차 항체는 rabbit anti-cow GFAP (DAKO)를 0.2% triton X-100와 3% normal horse serum이 포함된 PBS에 1 : 500으로 희석하여 실온에서 24시간 동안 반응시켰으며, PBS-triton X-100 용액으로 수세 후 이차 항체 (biotinylated horse anti-mouse)를 1 : 200으로 희석하여 30분간 반응시키고 avidin biotin peroxidase complex (Vectastain ABC kits, Vector Co.)를 1시간 동안 반응시킨 후 발색을 위한 기질로 0.05% 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)에 100 : 1의 30% 과산화수소수 (H₂O₂)를 첨가하여 5분 동안 발색시켰다.

S-100 단백질의 면역조직화학염색은 냉동조직 절편을 0.1% trypsin으로 5분간 반응시킨 후, 일차 항체로 mouse anti S-100 protein (Chemicon Co.)을 사용하였으며 이차 항체는 biotinylated hrse anti-mouse IgG (Vector Co.)를 사용하였고 이후의 과정은 GFAP 면역 염색과 동일한 과정으로 시행하였다. 발색이 끝난 모든 면역조직화학염색 표본은 chromalum-gelatin으로 처리된 slide glass에 옮긴 후 12시간 이상 건조시키고 탈수 및 투명 과정을 거친 다음 permount로 봉입하고 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. ECS처치 후 일반적인 증상

모든 실험 동물은 ECT 처치 후 20~30초간 지속되는 경련을 나타내었다. 경련은 사지를 완전히 신전시킨 상태에서

전신성 강직간대성 경련의 양상을 보였으며 이후 2~3분간 행동이 감소되고 자극에 대한 흥분성을 나타내었으나 10분 정도 경과시에는 정상적으로 회복되었다. 또한 10일간 ECS 처치를 받은 실험 동물은 처치 개시일부터 현저한 체중 감소를 나타내었다.

2. Luxol fast blue-cresyl violet 염색 소견

1) 대조군

대조군 흰쥐의 뇌에서 해마는 간뇌의 배측부 대뇌 피질과 뇌량 (corpus callosum)의 하부에서 관찰되었다. 해마의 복측에는 C자 형태로 과립세포층 (granular layer)이 형성된 치상회 (dentate gyrus)가 관찰되었고, 치상회의 배측과 외측에서는 해마자체 (hippocampus proper) 혹은 암모니스 각 (cornu ammonis, CA)의 추체세포층 (pyramidal cell layer)이 큰 C자 형태를 이루며 연속된 CA1, CA2, CA3 및 치상회문 (hilum of the dentate gyrus)으로 돌출된 CA4 영역으로 구분되었다 (Fig. 1). 치상회에서 6~7층의 과립세포가 밀집되어 있는 과립세포층을 관찰할 수 있었으며, 과립세포는 핵질이 풍부한 핵을 지니고 있었고, 치상회문의 내부에 존재하는 CA4 영역은 다른 영역에 비하여 신경세포가 분산된 양상을 나타내었다 (Fig. 1-A). 해마의 외측에서 C자 형태의 고리를 이루는 CA3 영역에서는 4~5층의 신경세포가 밀집되어 있었으며 (Fig. 1-B, Fig. 3-D), CA3 영역의 배내측에 위치한 CA2 영역에서는 CA3 영역에 비하여 신경세포의 층수가 감소되어 있었다 (Fig. 1-C, Fig. 4-A). CA2 영역의 복외측에 위치한 CA1 영역은 2~4층의 신경세포로 구성되어 있었다 (Fig. 1-D, Fig. 4-D).

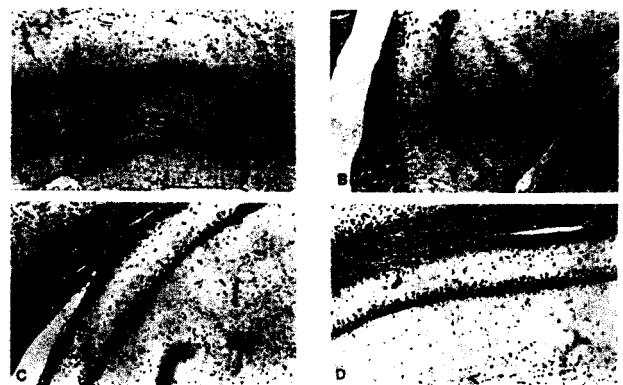


Fig. 1. Low power view of individual areas of hippocampus of the control rat. A) dentate gyrus ; B) CA3 area of hippocampus ; C) CA 2 area of hippocampus ; D) CA1 area of hippocampus. Luxol fast blue-cresyl violet stain, ×63.

2) ECS 단회 처치군

ECS 단회 처치 후 1일 경과 군의 해마에서 치상회 CA1, CA2, CA3 영역에서 대조군과 유사한 소견을 나타내었으며 형태학적 변화는 관찰되지 않았다. 또한 10일 경과 시에도 형태학적인 변화를 관찰할 수 없었다.

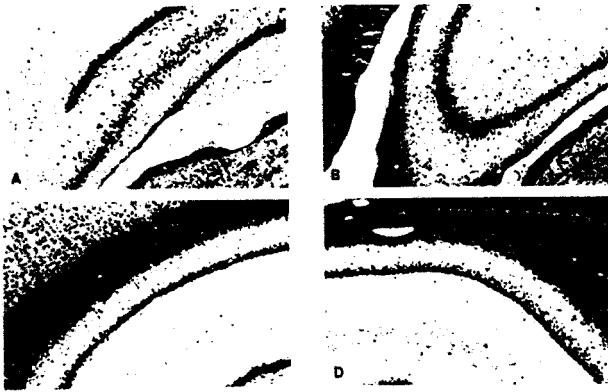


Fig. 2. Low power view individual hippocampal areas of the rat, 1 day after repeated ECS. A) dentate gyrus ; B) CA3 area of hippocampus ; C) CA2 area of hippocampus ; D) CA1 area of hippocampus. Cellular atrophy and nuclear pyknosis are noted in the all hippocampal areas. Luxol fast blue-cresyl violet stain, X63.

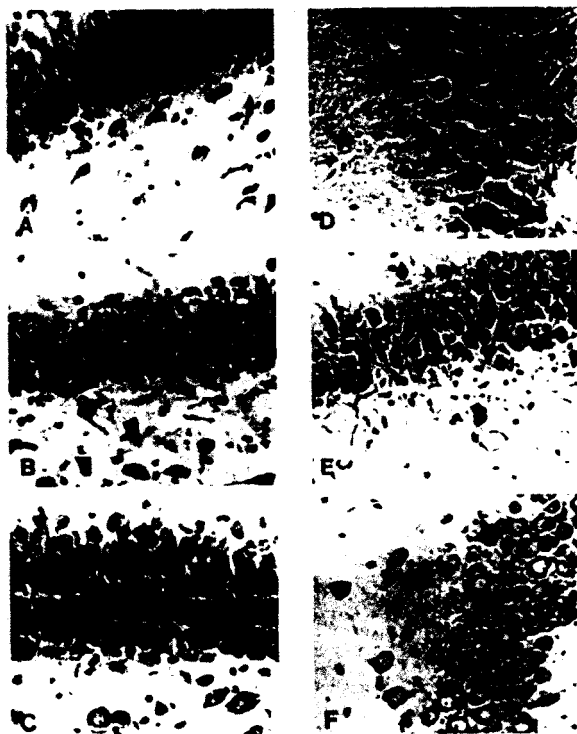


Fig. 3. High power view of dentate gyrus (A, B and C) and CA3 area (D, E and F) of hippocampus in the rats of control and repeated ECS-treated groups. A and D) dentate gyrus and CA3 area of the control rat ; B and E) dentate gyrus and CA3 area of the rat, 1 day after repeated ECS treatment ; C and F) dentate gyrus and CA3 area of the rat, 10 days after repeated ECS treatment. Luxol fast blue-cresyl violet stain, X200.

3) ECS 반복 처치군

ECS 반복 처치 후 1일 경과 군 환주의 치상회에서는 과립세포에서 세포의 위축 (atrophy), 핵응축 (pyknosis)의 소견이 관찰되었다 (Fig. 2-A, Fig. 3-B). 또한 CA3, CA2 및 CA1 영역의 추체세포에서도 유사한 소견이 관찰되었다 (Fig. 3-E, Fig. 4-B, E). 그러나, ECS 10회 반복 처치 후 10일 경과 군에서는 치상회 및 CA의 각 영역에서 특이한 형태학적 변화는 관찰할 수 없었다.

3. GFAP의 면역 염색 소견

1) 대조군

대조군의 해마에서 GFAP의 면역반응도는 치상회의 과립세포층 (granular cell layer)과 해마자체의 추체세포층 (pyramidal cell layer)에서는 미약한 양성반응 (±)을 나타냈으나, 분자층 (molecular layer)과 다형층 (polymorphic layer)에서는 약한 양성반응 (+)을 나타내었다 (Table 1, Fig. 5-A, Fig. 6-A, Fig. 6-C).

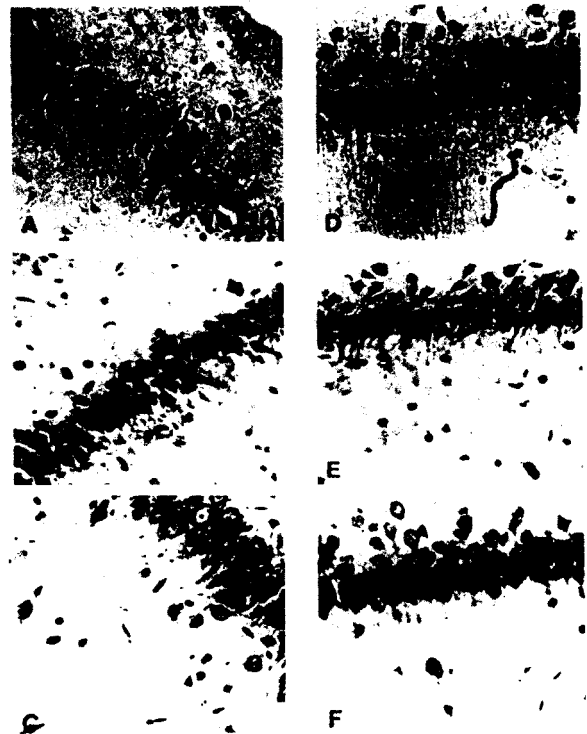


Fig. 4. High power view of CA2 area (A, B and C) and CA1 area (D, E and F) of hippocampus in the rats of control and ECS-treated groups. A and D) CA2 and CA1 area of the control rat ; B and E) CA2 and CA1 area of the rat, 1 day after repeated ECS treatment ; C and F) CA2 and CA1 area of the rat, 10 days after repeated ECS treatment. Luxol fast blue-cresyl violet stain, X200.

Table 1. GFAP and S-100 protein immunoreactivity of dentate gyrus and hippocampus (CA1) in control and repeated ECS-treated rat

	GFAP						S-100 protein					
	Dentate gyrus			Hippocampus			Dentate gyrus			Hippocampus		
	Mol.	Gr.	Pol.	Mol.	Py.	Pol.	Mol.	Gr.	Pol.	Mol.	Py.	Pol.
Control	+	±	+	+	±	+	-,±	±	-,±	-,±	±	-,±
ECS(R)-1d	+	±	++	+	±	+	+	++	+	+	++	+
ECS(R)-10d	+	±	+	+	±	+	-,±	±	-,±	-,±	±	-,±

ECS(R)-1d : 1 day after repeated ECS treatment, ECS(R)-10D : 10 days after repeated ECS treatment

Mol. : molecular layer, Gr. : granular layer, Pol. : polymorphic layer, Py. : pyramidal layer, - : negative immunoreactivity
± : trace immunoreactivity, + : weak immunoreactivity, ++ : moderate immunoreactivity, +++ : strong immunoreactivity

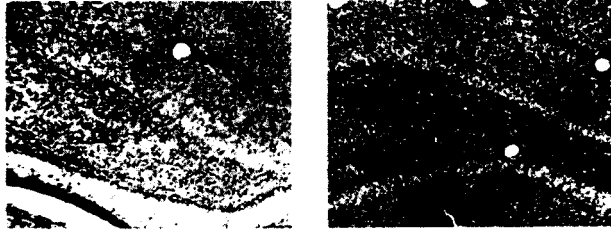


Fig. 5. Low power view of GFAP immunoreactivity in hippocampus of control (A) and repeated ECS treated rat (B) at 1 day after repeated ECS treatment. Increased immunoreactivity of GFAP is observed at dentate gyrus (DG) of repeated ECS treated rat. Peroxidase-antiperoxidase method, X63.

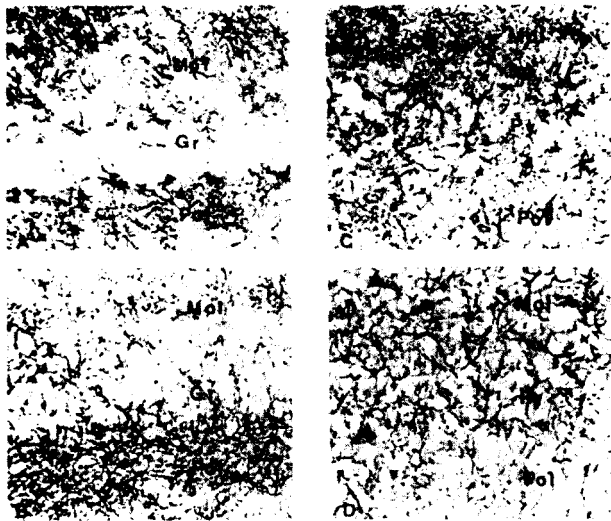


Fig. 6. High power view of GFAP immunoreactivity in dentate gyrus (A and B) and CA1 area (C and D) of control and repeated ECS-treated rats. A and C) dentate gyrus and CA1 area of the control rat ; B and D) dentate gyrus and CA1 area of the rat, 1 day after repeated ECS ; Increased immunoreactivity of GFAP is observed in polymorphic layer (Pol) of dentate gyrus. Gr (granular layer) ; Mol (molecular layer). Peroxidase-antiperoxidase method, X200.

2) ECS 단회 처치 군

ECS 단회 처치 후 1일 경과 군의 해마자체 및 치상회에서 GFAP의 면역반응도(immunoreactivity)는 전체적으로 대조군과 유사한 소견을 나타내었으며 10일 경과 시에도 명확한 차이를 관찰할 수 없었다.

3) ECS 반복 처치 군

ECS 반복 처치 후 1일 경과 군 흰쥐에서 GFAP의 면역반응도는 치상회에서 과립세포층은 미약한 양성반응(±)을 나타내었고, 분자층에서는 약한 양성반응(+)을 나타내었으며 다형층에서는 중등도의 양성반응(++)을 나타내었다 (Table 1, Fig. 5-B, Fig. 6-B). 해마자체의 추체세포층은 미약한 양성반응(±)을 나타내었고, 분자층과 다형층은 약한 양성반응(+)을 나타내었다 (Table 1, Fig. 5-B, Fig. 6-D). ECS 반복 처치 후 10일 경과 군의 해마자체 및 치상회에서 GFAP의 면역반응도는 대조군과 유사한 소견을 나타내었다 (Table 1).

4. S-100 단백질 면역 염색 소견

1) 대조군

대조군 흰쥐의 치상회에서 S-100 단백질의 면역반응도는 분자층 및 다형층에서 음성 반응(-) 혹은 미약한 양성반응(±)을 나타내었고 과립세포층에서는 미약한 양성반응(±)을 나타내었다 (Table 1, Fig. 7-A). 해마자체의 각 영역에서도 분자층 및 다형층에서는 음성 반응(-) 혹은 미약한 양성반응(±)을 나타내었고, 추체세포층에서는 미약한 양성반응(±)을 나타내었다 (Table 1, Fig. 7-D).

2) ECS 단회 처치 군

ECS 단회 처치 후 1일 경과 군 흰쥐의 해마 및 치상회에서 S-100 단백질의 면역반응도는 대조군과 유사한 소견을 나타내었고 10일 경과 시에도 면역반응도의 변화를 관찰할 수 없었다.

3) ECS 반복 처치 군

ECS 반복 처치 후 1일 경과 군 흰쥐의 치상회에서 S-100 단백질의 면역반응도는 분자층 및 다형층에서 약한 양성반응(+)을 나타내었으며, 과립세포층에서는 중등도의 양성반응(++)을 나타내었다. 또한 해마자체의 각 영역에

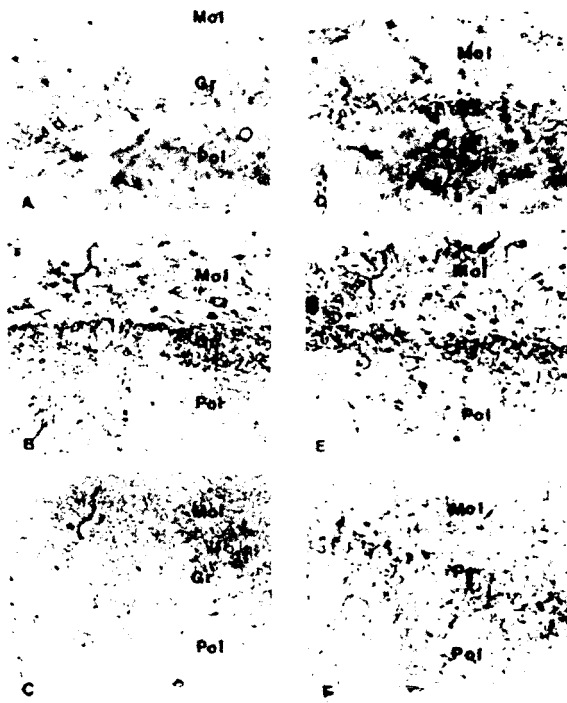


Fig. 7. High power view of S-100 protein immunoreactivity in dentate gyrus (A, B and C) and CA1 area (D, E and F) of control and repeated ECS-treated rats ; A and D) dentate gyrus and CA1 area of the control rat ; B and E) dentate gyrus and CA1 area of the rat, 1 day after repeated ECS ; C and F) dentate gyrus and CA1 area of the rat, 10 days after repeated ECS. Increased immunoreactivity of S-100 protein is observed in molecular layer (Mol), granular (Gr) or pyramidal (Py) layers of dentate gyrus and CA1 area at 1 day after repeated ECS, prominent on Gr or Py, but it was decreased to normal pattern at 10 days after repeated ECS. Peroxidase-antiperoxidase method, X200.

서도 추체세포층은 중등도의 양성 반응 (++)을 나타내었고 분자층 및 다형층에서는 약한 양성 반응 (+)을 나타내었다 (Table 1, Fig. 7-B, Fig. 7-D). 그러나 ECS 반복 처치 후 10일 경과 군 흰쥐의 해마자체 및 치상회에서 S-100 단백질의 면역반응도는 치상회의 분자층 및 다형층에서 음성 반응 (-) 혹은 미약한 양성 반응 (±)을 나타내었고 과립세포층에서는 미약한 양성 반응 (±)을 나타내었다 (Table 1, Fig. 7-C). 해마자체의 분자층 및 다형층에서도 음성 반응 (-) 혹은 미약한 양성 반응 (±)을 나타내었고 추체세포층에서는 미약한 양성 반응 (±)을 나타내었다 (Table 1, Fig. 7-F).

고 찰

ECS는 19세기부터 시도되었다. 초기에는 정신분열증의 치료에 이용되었으나,⁹⁾ 이후 우울증 및 급성 조증에 대한

치료 효과가 알려짐에 따라 우울증의 치료에 주로 이용되고 있으며, 임상적인 우울증의 치료에서 단회의 충격은 치료 효과가 없고 반복적인 충격시 일정 기간 동안 지속되는 효과가 있다고 알려져 있다.¹⁰⁾ 최근에는 파킨슨 병에도 효과가 있다고 보고되고 있다.¹¹⁾ 우울증에 대한 ECS의 치료 효과의 기전은 명확하지 않으나 현재까지의 연구에 의하면, 중추신경계에서 catecholamine, opioid 및 acetylcholine성 신경세포에서 다양한 영향을 미친다고 보고되고 있으며 이러한 효과는 우울증의 발병 기전과 직접적인 관련을 지니고 있다고 알려져 있다. Newman과 Lerer등²⁾은 반복적 ECS 후 선조체에서 선택적으로 도파민의 D1 수용체의 활성이 증가한 것을 관찰하였고, 파킨슨 증후군에 대한 ECS의 치료적 효과를 이 도파민 D1 수용체의 증가로 설명하였다.

ECS의 catecholamine계에 대한 영향은 다양하며, dopamine 수용체의 활성화, norepinephrine의 대사 회전 (turnover)의 증가, 세포 내 norepinephrine 농도의 증가, 고친화력 흡수계 (high-affinity uptake system)에서 norepinephrine에 대한 친화성의 감소등이 알려져 있다.²¹⁻²²⁾ Masserano등¹³⁾은 흰쥐에게 단회 및 매일 1회씩 7일간의 반복적인 ECS를 가한 후 뇌의 각 지역과 부신 수질에서 catecholamine 합성의 주요한 효소인 tyrosine hydroxylase (TH)의 활성을 관찰한 결과, 단회의 ECS는 효소 활성의 변화를 유발하지 않았으나 반복적 충격시 청색반점 (locus ceruleus), 고속핵 (nucleus of tractus solitarius), 해마, 소뇌 및 전두피질에서 충격 1일 후 부터 4~8일간 지속되는 효소 활성의 증가를 관찰하였으며, 부신 수질에서는 24일 이상 증가되었다고 보고하였다. Opioid와 관련된 ECS의 항우울 작용에 관한 연구에서 Hitzemann등¹⁴⁾은 반복적인 ECS 후 [³H]dipernorphine의 결합을 관찰한 결과 후구 (olfactory bulb), 측좌핵 (nucleus accumbens), 중격 (septum), 시상하부 및 이상피질 (pyriform cortex)에서 현저한 수용체 결합의 증가가 유발된다고 하였으며, Xie 등¹⁵⁾은 ECS가 해마 등에서 prodynorphine mRNA의 발현을 감소시키고 proenkephalin mRNA의 발현은 증가시킨다고 보고하였다. Janowsky 등¹⁶⁾은 우울증이 acetylcholine 수용체의 과민성에서 기인한다고 주장하였으며, Lerer 등¹⁷⁾은 흰쥐에 단회의 ECS를 가한 경우에는 무스카린성 콜린성 수용체 (muscarinic cholinergic receptor)의 결합체인 [³H] quinuclidinyl benzilate ([³H] QNB)의 결합에

영향이 없었으나, 7일간 반복적으로 ECT를 가한 결과 [³H] QNB의 결합이 대뇌피질과 해마에서 각각 15%와 13%의 감소를 나타내었다고 하였고, 이러한 결과에 따라 ECT의 항우울 작용이 무스카린성 콜린성 수용체의 변화와 밀접히 관련되며 이는 또한 임상적으로 ECT 이후에 흔히 나타나는 부작용인 기억 상실 효과와도 연관된다고 주장하였다.

ECT는 오랫동안 사용되어 온 치료 수단으로 몇가지 질환에 효과를 지닌 것으로 인정되고 있으나, 이에 의해 나타나는 부작용들은 초창기 부터 논란의 대상이 되고 있다. ECT 치료를 받은 환자에서 가장 일반적인 부작용은 인식의 장애와 선행성 건망증으로 이러한 증상들은 환자의 우울증의 정도와 이에 따른 ECT의 강도에 비례하고 ECT를 시행하고 수주가 지난 후에는 거의 나타나지 않는다고 알려져 있다. 근래에 이르러서는 마취, 산소 공급 및 근이완 등으 전처치가 적절하게 이루어짐에 따라 건망증 등의 부작용은 현저하게 감소되었다고 보고되었다.^{18,20} ECT로 인한 뇌의 형태학적 손상 가능성을 규명하기 위하여 ECT 치료를 받은 환자의 MRI 소견과 사후 부검 소견을 통한 연구가 이루어졌으나, MRI에서 나타나는 소견들은 ECT 치료 이전부터 존재하는 병변인 경우가 대부분이며 ECT는 뇌의 특이적인 손상을 유발하지 않음이 밝혀졌고,^{21,22} 1950년대 이전의 환자의 부검 소견에서 저산소성 뇌증 (anoxic encephalopathy)과 점상 출혈 및 혈관 주위 hemosiderin 침착을 포함한 허혈성 뇌손상이 보고된 바 있으나,²³ 이역시 ECT와의 직접적 연관성은 없다고 이해되며 근래에는 ECT로 인한 뇌출혈의 보고는 찾을 수가 없다.³⁾

ECT에 의해 유발되는 경련과 간질성 경련 발작과의 관련성에 대하여 많은 연구가 이루어져 왔으며 해마형성 (hippocampal formation)은 간질성 경련 발작과 밀접한 관련이 있다. 해부학적으로 해마형성은 지각 (subiculum), 치상회 (dentate gyrus) 및 암모니스각으로 이루어져있다.²⁴ 암모니스각은 Lorente de No²⁵에 의해 CA1, CA2, CA3 및 CA4의 세부 지역으로 구분되었으며, Blackstad²⁶는 설치류에서 암모니스각의 세부 지역을 좀더 세밀하게 정의하였다. 인간과 설치 동물의 해마는 차이가 있으며, 설치 동물의 해마에서 CA1은 추체세포가 밀집되어 있고, CA2는 인간에 비해 작고 회미하며, CA3는 해마가 치아이랑으로 들어가기 전에 곡선을 이루는 곳에 위치하며, CA4는 치아이랑으로 들어가는 부분인데 현재는 치상회문 (dentate hilus)이라고 불린다.²⁴ 이중에 특히 CA1 구역은 측두엽 간질이나 허

혈의 경우에 세포 손상이 특히 심하게 일어나는 지역으로 Sommer영역²⁷이라고 불린다.

ECT의 경련 유발 기전에 관한 연구로서, Hong²⁸은 흰쥐에게 ECT, perforant pathway의 자극 및 amygdaloid kindling을 시행하고 enkephalin과 dynorphine의 변화를 측정한 결과 모든 실험 동물에서 초기의 enkephalin, dynorphine의 증가와 이후의 enkephalin 증가 및 dynorphine 감소가 유발되었으며 이러한 결과로 보아 ECT는 perforant path의 자극을 통하여 enkephalin의 증가를 유발시킨다고 주장하였다. 실험 동물에서 perforant path 혹은 편도체 등을 통한 전기 자극은 간질 발작의 기전과 밀접히 관련되어 있으며 이는 해마에서 신경세포의 손상을 유발시킨다. Sloviter^{29,30}는 흰쥐에서 perforant path의 자극은 치상회문세포 (hilar cell)의 손상을, C3의 자극은 이곳에서 직접적으로 신경로가 투사되는 CA1의 손상을 야기하며, 이는 신경 연결 전부에서 흥분성 신경전달물질의 과도한 분비에 의하여 신경 연결 후부에서 수상 돌기의 팽창과 세포 괴사를 유발하기 때문이라고 하였다. 또한 Bertram 등³⁰은 perforant path를 통한 반복적인 전기 자극은 CA1 구역의 세포 손상을 유발하며 자극의 빈도의 증가는 부가적인 신경 세포 손상을 유발하지 않으나 CA1 신경세포의 수상 돌기 분포 영역 (dendritic field)을 증가시킨다고 주장하였다.

본 연구에서는 실험 동물에 단회의 ECS를 가한 경우에는 형태학적 손상이 관찰되지 않았고, 10회의 ECS를 가한 경우에 치상회를 비롯한 해마의 대부분 구역에서 신경세포의 위축과 핵용축이 관찰되었으나, 명확한 신경세포의 괴사 소견은 나타나지 않았다. Devanand 등³¹은 과거의 실험 동물 연구에서 보고된 ECS에 의한 형태학적 손상은 뇌 이외의 부위에 전류가 통함으로 인하여 2차적인 심폐 기능의 이상에 의한 저산소증 및 허혈 손상이 동반되고, 실험 동물의 뇌조직 처리 과정에서 관류 고정을 하지 않아서 발생한 결과일 것이라고 예상하였으며, ECS 자체에 의한 경련 발작은 간질의 경련 발작과 달리 지속 시간이 비교적 짧으며 처치 직후에만 일어나므로 특징적인 해마의 손상은 유발하지 않는다고 주장한 바 있다. 또한 실험 동물을 통한 많은 맹대 조군 연구 (blind controlled studies)에서는 저산소나 허혈에 손상을 쉽게 받는 해마 및 소뇌의 Purkinje 세포를 포함한 모든 뇌영역의 신경세포의 수는 ECS를 시행 받은 군과 대조군 동물에서 차이가 없었다고 보고되었다.^{32,36)}

ECT에 의한 신경세포의 괴사는 확인할 수 없으나, 최근

의 분자 생물학을 응용한 신경 과학 분야에서는 신경세포의 손상과 직접 혹은 간접으로 관련된 다양한 유전자 혹은 전사 인자 (transcription factor)가 새로 제시되었으며, 많은 연구를 통하여 ECT가 이러한 인자들에 다양한 영향을 미치는 사실이 입증되고 있다. Heat shock protein (hsp)은 뇌의 물리적 손상, 허혈 및 신경 독성 물질의 투여시에 증가되는 스트레스 단백질 (stress protein)의 일종이며,³⁷⁾³⁸⁾ Passarelli 등³⁹⁾은 흰쥐에 단회 및 반복적인 ECS를 가한 결과 치상회, CA3 및 내측고삐핵 (medial habenular nucleus)등의 변연계에서 hsp73 mRNA의 발현이 증가되었으며 특히 치상회에서는 정상 뇌에서는 나타나지 않는 hsp70 mRNA의 발현이 나타났다고 하였고, 이는 ECS후 2시간대 부터 현저하고 7일 이후에는 정상으로 회복된다고 하였다. 또한 근래에 알려진 c-fos와 c-jun은 세포의 외부 자극에 대한 반응으로서 초기에 발현되어 세포의 성장, 분화 등에 관련된 유전자를 조절하는 기능을 지닌 immediate early gene으로서, 신경세포에서 장기적인 기능 조절에 관여한다고 알려져 있으며 신경세포 손상에 의한 경련 발작에서 c-fos의 mRNA 발현이 증가되는 것으로 보고된 바 있다.⁴⁰⁾ DCosta 등⁴¹⁾은 단회의 ECS가 1시간 이내에 c-fos의 면역반응성을 증가시킨다고 하였으며, Cole 등⁴²⁾은 만성적인 ECS가 c-fos mRNA의 발현을 지속적으로 증가시킨다고 하였다. 또한 Winston 등⁴³⁾은 만성적인 ECS가 c-fos와 c-jun의 mRNA 발현을 증가시키나, 8~10회의 연속적인 ECS 후 단회의 ECS를 시행한 경우는 대조 군에서 단회의 ECS를 가한 경우보다 증가율이 감소한다고 하였다.

본 연구에서는 ECS를 가한 후 해마에서 성상교세포의 변화를 관찰하고자 하였다. 중추신경계에서 전체 용적의 1/2 이상을 차지하고 있는 신경교세포는 크게 거대교세포 (macroglia) 및 미교세포 (microglia)로 분류된다. 거대교세포는 신경계의 지지역할, glutamate에 의한 신경전달의 조절 기능 등을 지닌 성상교세포와, 수초를 생성하는 회돌기교세포로 세분된다. ECT 및 뇌내 특정 부위의 직접 자극을 통한 뇌의 전기 자극과 흥분성 독성 물질의 투여는 신경세포 뿐 아니라 신경교세포에도 많은 영향을 미치며, 간질 발작을 유발할 수 있는 모든 요인은 직접 혹은 간접적으로 성상교세포의 유전자 발현을 증가시키고 항상성 (homeostasis)을 변형시킨다고 생각되고 있다.⁴⁴⁾ Steinhauser 및 Gallo⁴⁵⁾는 성상교세포 및 회돌기교세포에는 glutamate 수용체가 존재하며 신경세포의 흥분시에 수용체가 활성화되어

신경교세포의 유전자 발현을 활성화시키며 또한 신경교의 전구 세포는 glutamate 수용체에 의하여 분화 및 분열이 조절된다고 주장하였다. Steward등⁴⁶⁾은 흰쥐 뇌의 CA3 구역에 전극을 설치하고 지속적인 자극을 준 결과 GFAP mRNA의 발현이 일시적으로 증가되고 반복적으로 자극하는 경우에는 지속적으로 증가되었으나 자극이 종료되면 수일내 정상으로 회복되는 사실을 관찰하였으며, 신경세포의 흥분은 뇌의 미세 환경을 조절하는 기능을 지닌 신경교세포의 유전자 발현을 변화시킨다고 주장하였다. 또한 Mitchell등⁴⁷⁾은 흥분성 신경 독성 물질인 kainic acid를 흰쥐의 뇌실내에 투여한 결과 해마의 CA3 구역에서 3개월간 지속되는 반응성 성상교세포증 및 미교세포의 활성화가 유발되었다고 하였다.

본 연구에서는 성상교세포 활성화의 지표 물질로 GFAP 및 S-100 단백을 사용하였다. 성상교세포의 표지 물질로는 GFAP, S-100 단백질, glutamine synthetase, enolase, carbonic anhydrase 등이 알려져 있으며, 이들 중 성상교세포질 돌기의 구성 단백질인 GFAP는 가장 민감한 성상교세포 활성화의 지표로 알려져 있다. 성상교세포에서 GFAP는 직경 10 nm 정도의 중간 섬유에서 핵심 단백질 (core protein)의 구성 성분으로 존재하고 있다. Liem⁴⁸⁾은 소의 뇌에서 신경원과 성상교세포에 존재하는 중간 섬유를 분리하였으며, Patel 등⁴⁹⁾은 흰쥐 뇌의 각 지역에서 GFAP의 정량 분석을 시행한 결과 GFAP가 척수와 후구 (olfactory bulb)에 고농도로 존재하는 반면 선조체와 교뇌, 연수 등에서는 다른 지역에 비하여 낮은 농도로 존재한다고 하였다. Bignami와 Dahl⁵⁰⁾ 및 Takamiya 등⁵¹⁾은 물리적 손상을 입은 실험 동물의 뇌에서 GFAP의 면역반응도가 증가되었다고 하였으며, Jensen 등⁵²⁾ 및 Balaban 등⁵³⁾은 대표적인 신경 독성 물질로 알려진 MPTP 및 trimethyltin에 의하여 유발된 뇌의 손상에서 GFAP의 면역반응성의 증가를 보고하였다. 또한 전기 자극과 GFAP의 관계에 대하여 Steward⁴⁶⁾은 ECS가 치상회 및 동측의 대뇌 반구의 피질의 GFAP mRNA 발현을 증가시킨다고 보고한 바 있다. 본 실험의 결과 단회의 ECS는 해마에서 GFAP의 변화를 유발하지 않았으나, 반복적인 ECS 후 1일 경과 시에는 치상회에서 GFAP 면역반응성의 증가가 관찰되었고 해마에서는 대조군과 유사한 정도의 반응을 나타내었다. 이는 다른 학자 등의 연구에서 나타난 바와 같이 변연계의 전기 자극에 의한 손상 시에는 해마의 CA1 CA3가 민감하게 손상되는데 비

하여 ECS의 경우에는 치상회가 가장 민감하다는 견해와 일치하는 것으로 보인다. 또한 반복적인 ECS 후 10일 경과 시에는 대조군과 유사한 정도의 반응을 나타내었으며 이는 ECS가 변연계에서 유발하는 손상은 일시적이기 때문인 것으로 생각된다.

S-100 단백질은 소의 뇌에서 처음 분리된⁵⁴⁾ 칼슘 결합 단백질로서 화학 조성에 따라 S-100a0, S-100a 및 S-100b의 3가지 이형체가 존재하며 일반적인 S-100 단백질은 3가지 이형체의 복합물이다. S-100 단백질은 중추 신경계를 비롯하여 사람의 피부의 흑세포 (melanocyte)와 Langerhans 세포 등의 신경외배엽 (neuroectoderm) 기원의 세포에 주로 분포하며,⁵⁵⁾ 중추 및 말초 신경계에서는 대부분이 성상교세포와 회돌기교세포 등에 존재하는 것으로 알려져 있다.⁵⁶⁾⁵⁷⁾ S-100 단백질의 기능은 명확히 알려져 있지 않은 상태이나 현재까지의 보고로는 단백질 인산화효소, ATPase, adenylate cyclase, aldolase 등의 세포내 효소 활성화에 관여하고, 또한 칼슘 이온 존재하에서 미세소관과 미세섬유등의 세포 골격 (cytoskeleton)을 조절하며 특히 세포외에 존재하는 S-100 단백질은 신경세포의 성장 및 분화, 신경교세포의 증식 및 prolactin 분비에 관여한다고 추측되고 있다.⁵⁸⁾ Bhattacharyya 등⁵⁹⁾은 S-100 단백질이 발생 과정의 척수 신경절과 척수의 감각 신경세포 및 운동 신경세포에서 발생 제 5일경부터 관찰된다고 하였으며, Winningham-Major 등⁶⁰⁾은 S-100 단백질이 신경세포의 생존과 신경돌기의 성장에 관여할 것이라고 주장하였다.

본 연구에서 S-100 단백질의 면역반응성은 단회의 ECS 후에는 변화가 없었으나 반복적인 ECS 후 1일 경과 시에는 치상회와 해마자체의 CA1 영역에서 증가되었다. 동일한 실험 군에서 GFAP의 면역반응성의 증가가 치상회에 국한되었으나 S-100 단백질의 경우는 치상회와 해마의 CA1 구역에서 증가된 것은 GFAP와 S-100 단백질이 성상교세포의 변화 시에 동일한 반응을 나타내지 않으며 다른 기능에 각각 관여함을 암시한다고 유추해 볼 수 있다. 또한 GFAP와 S-100 단백질의 분포는 많은 차이점을 지니고 있었다. GFAP는 성상교세포에서 핵을 제외한 모든 세포질과 세포질의 돌기에 분포하는 양상을 나타내었으나 S-100 단백질은 해마의 추체세포, 치상회의 과립세포 및 세포 외 성분에서도 나타나는 것으로 추측되었으며 특히 반복적 ECS 후의 면역반응도의 증가는 세포 외 성분 및 신경세포에서 현저한 것으로 생각되었다. 일반적으로 S-100 단백질은 신경교세포에 분포

한다고 알려져 있으나 Isobe 등⁶¹⁾은 S-100 단백질의 구성 성분인 α subunit가 해마의 신경세포와 자율신경절에서도 존재한다고 주장한 바 있으며, 본 실험에 사용된 S-100 단백질의 항체는 S-100 단백질의 3가지 구성 성분에 대한 항체이므로 해마의 신경세포에서 S-100 단백질의 발현이 증가될 가능성이 있는 것으로 추측되나, 사실상 이는 S-100 단백질에 대한 면역 전자현미경적 연구로 규명되어야 한다고 생각된다.

본 연구에서 ECS가 성상교세포 활성화의 지표를 증가시켰고 이는 여러 학자들의 연구에서 주장한 바와 같이 신경세포의 과도한 흥분이 성상교세포의 활성화에 영향을 미친 결과로 해석할 수 있다. 또한 이러한 성상교세포의 증가는 단회의 ECS 자극에서는 관찰할 수 없었고 10일간 반복적인 자극 후 유발되었으며, 자극 종료 후 10일이 경과된 경우에는 정상적으로 회복되어 있었다. 이는 대부분의 학자들의 연구 결과에서 나타난 바와 같이 ECS가 다양한 신경 독성 및 생화학 지표들을 일시적으로 증가시키며 7~8일정도 경과 시에는 정상으로 회복된다는 견해와 일치하는 것으로 보인다. 이상과 같이 ECS 처치 후의 조직 형태학적 소견과 면역염색의 결과를 종합할 때 반복적인 전기 경련 충격은 흰쥐에서 해마 및 치상회의 신경세포의 일시적인 형태학적 변화를 초래하고 동시에 성상교세포에 관련된 GFAP와 S-100 단백질의 면역반응도를 일시적으로 증가시키며 이는 성상교세포의 신경세포 보호 기능과 관련되는 것으로 생각된다.

결 론

본 연구는 흰쥐에서 단회 및 반복적인 ECS가 해마의 신경세포 및 성상교세포에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 Sprague-Dawley계 흰쥐에 단회 혹은 10년(1회/1일)의 ECS를 교류 100 volt 0.9초간 전기충격을 가하고 최종 충격 후 1일 및 10일 경과후에 관류고정후 희생시켰으며, 신경세포의 형태학적 변화를 관찰하기 위하여 GFAP 및 S-100 단백질의 면역조직화학법을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 단회의 전기 충격은 해마의 신경세포의 형태학적 변화 및 GFAP와 S-100 단백질의 면역반응도의 명확한 변화를 유발하지 않았다.
- 2) 10일간(1회/1일) 반복적인 전기충격을 가하고 1일 경과 시에 해마의 전 영역 및 치상회에서 추체세포 및 과립세포의 위축 및 핵응축이 관찰되었으나 10일 경과 시에는 정

상적인 소견을 나타내었다.

3) 10일간(1회/1일) 반복적인 전기 증축후 1일 경과시에 GFAP의 면역반응도가 치상회의 다형층에서 증가되었으며 10일 경과 후에는 정상적으로 회복되었다.

4) 10일간(1회/1일) 반복적인 전기 충격 후 1일 경과시에 S-100 단백질의 면역반응도가 해마의 CA1 및 치상회의 전층에서 증가되었고 추체세포층 혹은 과립세포층에서 뚜렷하였

으며, 10일 경과 후에는 정상적으로 회복되었다.

중심 단어 : 전기경련요법 · 해마 · 신경세포의 형태학적 변화 · GFAP 및 S-100 단백질의 면역반응도 · 신경세포 보호.

• 논문접수일 : 1997년 9월 19일
• 심사완료일 : 1997년 10월 27일

REFERENCES

- 1) Faber R, Trimble MR. Electroconvulsive therapy in Parkinson's disease and other movement disorders. *Movement Disorders* 1991; 6:293-303.
- 2) Newman ME, Lerer B. Effects of chronic electroconvulsive shock on D1 and D2 receptor-mediated activity of adenylate cyclase in homogenates of striatum and limbic forebrain of rat. *Neuropharmacology* 1989;28:787-90.
- 3) Devanand DP, Prohovnik I, Tatemichi TK, Brown RP, Linder J, Sackeim HA. Cerebral perfusion during ECT in a patient with stroke. *Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol* 1988;1:289-93.
- 4) Friedberg J. Shock treatment, brain damage, and memory loss: A neurological perspective. *Am J Psychiatry* 1977;134:1010-14.
- 5) Yu AC, Lee YL, Eng LF. Astrogliosis in culture: I. The model and the effect of antisense oligonucleotides on glial fibrillary acidic protein synthesis. *J Neurosci Res* 1993; 34:295-303.
- 6) Henon VK, Landerholm TE. Intralesion injection of basic fibroblast growth factor alters glial reactivity to neural trauma. *Exp Neurol* 1994;129:142-54.
- 7) Steward O, Torre ER, Tomasulo R, Lothman E. Neuronal activity upregulates astrogial gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:6819-23.
- 8) Klüber H and Barrera E. A method for the combined stain of cells and fibers in the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 1953; 12:400-3.
- 9) Crowe RR. Electroconvulsive therapy-a current perspective. *New Engl J Med* 1984;311:163-7.
- 10) Grahame-Smith EG and Green AR. Electroconvulsive shock increases tyrosine hydroxylase activity in the brain and adrenal gland in the rat. In: Lindenlaub E ed. Depressive disorders. New York, Schattauer, 1977 : 141 Cited from Masserano JM Takimoto GS, Weiner N. Electroconvulsive shock increases tyrosine hydroxylase activity in the brain and adrenal gland in the rat. *Science* 1981;214:662-5.
- 11) Kety SS, Javoy F, Thierry AM, Julou L, Glowinski J. *Proc Natl Acad Sci USA* 1967;58 :1249 Cited from Masserano JM, Takimoto GS, Weiner N. Electroconvulsive shock increases tyrosine hydroxylase activity in the brain and adrenal gland in the rat. *Science* 1981;214:662-5.
- 12) Bergstrom DA, Kellar KJ. *Nature (London)* 1979;278:464 Cited from Masserano JM Takimoto GS, Weiner N. Electroconvulsive shock increases tyrosine hydroxylase activity in the brain and adrenal gland in the rat. *Science* 1981;214:662-5.
- 13) Masserano JM, Takimoto GS, Weiner N. Electroconvulsive shock increases tyrosine hydroxylase activity in the brain and adrenal gland of the rat. *Science* 1981;214:662-5.
- 14) Hitzemann RJ, Hitzemann BA, Blatt S, et al. Repeated electroconvulsive shock: effect on sodium dependency and regional distribution of opioid-binding sites. *Mol Pharmacol* 1987;31:562-6.
- 15) Xie CW, Lee PH, Takeuchi K, Owyang V, Li SJ, Douglass J, Hong JS. Single or repeated electroconvulsive shocks alter the levels of prodynorphin and proenkephalin mRNAs in rat brain. *Brain Res Mol Brain Res* 1989; 6:11-9.
- 16) Janowsky DS, El-Yousef MK, Davis JM, Sinker HJ. A cholinergic hypothesis of mania and depression. *Lancet* 1972;1:632-5.
- 17) Lerer B, Stanley M, Demetriou S, Gershon S. Effect of electroconvulsive shock on muscarinic cholinergic receptors in rat cerebral cortex and hippocampus. *J Neurochem* 1983; 41:1680-3.
- 18) Steif BL, Sackeim HA, Portnoy S, Decina P, Malitz S. Effects of depression and ECT on anterograde memory. *Biol Psychiatry* 1986; 21:921-30.
- 19) Weiner RD, Rogers HJ, Davison JR, Squir LR. Effects of stimulus parameters on cognitive side effect. *Ann NY Acad Sci* 1986;462 :315-25.
- 20) Sackeim HA, Prudic J, Devanand DP, et al. Effects of stimulus intensity and electrode placement on efficacy and cognitive effects of electroconvulsive therapy. *N Engl J Med* 1993;328:839-46.
- 21) Mander AJ, Whitfield A, Kean DM, Smith MA, Douglas RH, Kendell RE. Cerebral and brain stem changes after ECT revealed by nuclear magnetic resonance imaging. *Br J Psychiatry* 1987;151:69-71.
- 22) Scott AI, Douglas RH, Whitfield A, Kendell RE. Time course of cerebral magnetic resonance changes after electroconvulsive therapy. *Br J Psychiatry* 1990;156:551-3.
- 23) Alexander L. The question of brain damage from electric treatment and insulin coma treatment. In: Treatment of mental disorder. Philadelphia, WB Saunders, 1953 Cited in Devanand DP, Dwork AJ, Hutchinson ER, Bolwig TG, Sackeim HA. Does ECT alter brain structure? *Am J Psychiatry* 1994;151:957-70.
- 24) Issacson RL. Hippocampus. In: Adelman G, ed. Encyclopedia of Neuroscience. Boston, Birkhauser Press, 1987:492.
- 25) Lorente de N6 R. Studies on the structures of the cerebral cortex II. Continuation of the study of the Ammonic system. *J Psychol Neurol* 1934;46:113-7, Cited from Knowles WD. Normal anatomy and neurophysiology of the hippocampal formation. *Journal of Clinical Neurophysiology* 1992;9:252-63.
- 26) Blackstad TW. Commissural connections of the rat hippocampal region in the rat with special reference to their mode of termination. *J Comp Neurol* 1956;105:417-538 Cited from Knowles WD. Normal anatomy and neurophysiology of the hippocampal formation. *Journal of Clinical Neurophysiology* 1992;9:252-263.
- 27) Sommer W, Erkrankung des Ammonshorns als aetiologisches Moment der Epilepsie. *Arch Psychiatr Nervenkr* 1880;10:631-675 Cited from Knowles WD. Normal anatomy and neurophysiology of the hippocampal formation. *Journal of Clinical Neurophysiology* 1992;9:252-63.
- 28) Hong JS. Hippocampal opioid peptides and seizures. *Epilepsy Res Suppl* 1992;7:187-95.
- 29) Sloviter RS. Epileptic brain damage in rats induced by sustained electrical stimulation of the perforant path. I Acute electrophysiological and light microscopic studies. *Br*

- ain Res Bull* 1983;10:675-97.
- 30) Sloviter RS. Permanently altered hippocampal structure, excitability and inhibition after experimental status epilepticus in the rat: the dormant basket cell hypothesis and its possible relevance to temporal lobe epilepsy. *Hippocampus* 1991;1:41-66.
 - 31) Bertram EH, Lothman EW, Lenn NJ. The hippocampus in experimental epilepsy: A morphometric analysis. *Ann Neurol* 1990;27:43-8.
 - 32) Wasterlain CG, Plum F. Vulnerability of developing rat brain to electroconvulsive seizures. *Arch Neurol* 1973;29:38-45.
 - 33) Colon EJ, Notermans SL. A long term study of the effects of electroconvulsions on the structure of the cerebral cortex. *Acta Neuropathol (Berl)* 1975;32:21-5.
 - 34) Dam AM, Hertz M, Bolwig TG. The number of hippocampal neurons in rats after electrically-induced generalized seizures. *Brain Res* 1980;193:268-72.
 - 35) Dam M, Bolwig T, Hertz M, Bajorec J, Lomax P, Dam AM. Does seizure activity produce Purkinje cell loss? *Epilepsia* 1984;25:747-51.
 - 36) Laursen H, Gjerris A, Bolwig TG, Barry DI. Cerebral edema and vascular permeability to serum proteins following electroconvulsive shock in rats. *Convulsive Therapy* 1991;7:237-44.
 - 37) Vaas K, Berger ML, Novak TS Tr. Induction of stress protein hsp70 in nerve cells after status epilepticus in the rat. *Neurosci Lett* 1989;100:259-64.
 - 38) Wong ML, Weiss SRB, Gold PW, et al. Induction of constitutive heat shock protein 73 mRNA in the dentate gyrus by seizures. *Mol Brain Res* 1992;13:19-25.
 - 39) Passarelli F, Angeletti B, Orru D, Orzi F, Dambrosio E. Effects of electroconvulsive shock on the levels of hsp70 and hsp73 mRNA in the rat brain. *Neurosci Lett* 1994;177:147-50.
 - 40) White JD, Gall CM. Differential regulation of neuropeptide and proto-oncogene mRNA content in the hippocampus following recurrent seizure. *Mol Brain Res* 1987;3:21-9.
 - 41) DCosta A, Breese CR, Boyd RL, Booze RM, Sonntag WE. Attenuation of Fos-like immunoreactivity induced by a single electroconvulsive shock in brains of aging mice. *Brain Res* 1991;567:204-11.
 - 42) Cole AJ, Abu-shakra S, Saffen DW, Baraban JM, Worley PF. Rapid rise in transcription factor mRNAs in rat brain after electroshock-induced seizures. *J Neurochem* 1990;55:1920-7.
 - 43) Winston SM, Hayward MD, Nestler EJ, Duman RS. Chronic electroconvulsive seizures down-regulate expression of the immediate-early genes c-fos and c-jun in rat cerebral cortex. *J Neurochem* 1990;54:1920-5.
 - 44) Torre ER, Lothman E, Steward O. Glial response to neuronal activity: GFAP mRNA and protein levels are transiently increased in the hippocampus after seizures. *Brain Res* 1993;631:256-64.
 - 45) Steinhauser C, Gallo V. News on glutamate receptors in glial cells. *Trend Neurosci* 1996;19:339-45.
 - 46) Steward O. Electroconvulsive seizures upregulate astroglial gene expression selectively in the dentate gyrus. *Brain Res Mol Brain Res* 1994;25:217-24.
 - 47) Mitchell J, Sundstrom LE, Wheal HV. Microglial and astrocytic cell responses in the rat hippocampus after an intracerebroventricular kainic acid injection. *Exp Neurol* 1993;121:224-30.
 - 48) Leim R. Simultaneous separation and purification of neurofilaments and glial filament proteins from brain. *J Neurochem* 1982;38:142-50.
 - 49) Patel AJ, Weir MD, Hunt A, Tahourdin CSM, Thomas DTG. Distribution of glutamine synthetase and glial fibrillary acidic protein and correlation of glutamine synthetase with glutamate decarboxylase in different regions of rat central nervous system. *Brain Res* 1985;331:1-9.
 - 50) Bignami A and Dahl D. The astroglial response to stabbing, Immunofluorescence studies with antibodies to astrocyte specific protein (GFA) in mammalian and submammalian vertebrates. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1976;2:99-100.
 - 51) Takamiya Y, Kohsaka S, Toya S, Otani M, Tsukada Y. Immunohistochemical studies on the proliferation of reactive astrocytes and expression of cytoskeletal protein following brain injury in rats. *Dev Brain Res* 1988;38:201-10.
 - 52) Jensen KF, Miller DB, O'Callaghan JP, Reinhard JF. Immunohistochemical characterization of MPTP induced degeneration in striatum and substantia nigra of C57 mice. *Soc Neurosci Abstr* 1989;15:402, 13, 1011.
 - 53) Balaban CD, O'Callaghan JP, Bilingsley ML. Trimethyltin induced damage in the rat brain: comparative studies using silver degeneration stains, immunohistochemistry and immunoassay for neurotypic and gliotypic proteins. *Neuroscience* 1988;26:337-61.
 - 54) Moore BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Comm* 1965;19:739-44.
 - 55) Cocchia D, Michetti F, Donato R. Immunohistochemical and immunocytochemical localization of S-100 antigen in normal human skin. *Nature* 1981;294:85-7.
 - 56) Ludwin SK, Kosek JC, Eng LF. The topographical distribution of the S-100 and GFA proteins in the rat brain: An immunohistochemical study using horseradish peroxidase labelled antibodies. *J Comp Neurol* 1976;165:197-208.
 - 57) Steffanson K, Wollmann RL, Moore BW. Distribution of S-100 protein outside the nervous system. *Brain Res* 1982;234:309-12.
 - 58) Donato R. Perspectives in S-100 protein biology. *Cell Calcium* 1991;12:713-26.
 - 59) Bhattacharayya A, Oppenheim RW, Prevetie D, Morre BW, Brackenbury R, Ratner N. S-100 is present in developing chicken neurons and Schwann cells and promotes motor neuron survival in vivo. *J Neurobiol* 1991;23:451-66.
 - 60) Wittingham-Major F, Staecker JL, Barger SW, Coats S, Van Eldik LJ. Neurite extension and neuronal survival activities of recombinant S100b proteins that differ in the content and position of cysteine residues. *J Cell Biol* 1989;109:3063-71.
 - 61) Isobe R, Takahashi K, Okuyama T. S100a0 (aa) protein is in neurons of the central and peripheral nervous system. *J Neurochem* 1984;43:1494-6.