



საქართველოს საკათარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის  
სახელობის ქართული უნივერსიტეტი

მარიამ ჭილაძე

ბიოლოგია/სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა დოქტორის  
აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი სადისერტაციო  
ნაშრომი

ოკადაიკის მჟავით გამოწვეულ ალცჰეიმერის  
დაავადების ცხოველურ მოდელში მეხსიერების  
სხვადასხვა ფორმისა და ჰიპოკამპში  
ნეიროტრანსმიტერთა აქტიურობის კვლევა ვირთაგვებში

*დოქტორანტის სამეცნიერო ხელმძღვანელი*

*მანანა დაშნიანი*

*ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი*

თბილისი

2016

## სარჩევი

ანოტაცია	5
Annotation	9
შესავალი	12
თავი I. ლიტერატურის მიმოხილვა	16
1.1. ალცჰეიმერის დაავადება	16
1.2. AD-ს თანმდევი ქცევითი და კოგნიტიური ფუნქციების დარღვევები	32
1.3. AD-ის სამკურნალო სამიზნეების შესახებ	38
1.4. AD-ის ცხოველური მოდელები	46
თავი 2. ექსპერიმენტის მეთოდოლოგია (ზოგადი ნაწილი)	52
2.1. მასალა	52
2.2. ნეიროქირურგიული ოპერაციები	52
2.3. ჰისტოლოგია	53
2.4. სტატისტიკური ანალიზი	54
თავი 3. მიღებული შედეგები	55
3.1. ტვინის პარკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავას მიკროინექციის ეფექტები მეხსიერებასა და ჰიპოკამპის სტრუქტურაზე	55
3.1.1. ჰიპოკამპში ნეიროდეგენერაციული პროცესების კვლევა ტვინის პარკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავის მიკროინექციის მეორე და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში	55
3.1.1.1. ჰისტოლოგიური კვლევის შედეგები	55
3.1.2. ტვინის პარკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავას მიკროინექციის ეფექტები ამოცნობის მეხსიერებაზე	60
3.1.2.1. მეთოდები	60
3.1.2.2. მიღებული შედეგები	64
3.1.3. ტვინის პარკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავის მიკროინექციის ეფექტები სივრცით მეხსიერებაზე	69

3.1.3.1. მეთოდები	70
3.1.3.2. მიღებული შედეგები	71
3.2. მემანტინის ნეიროპროტექტორული ეფექტები ოკადაიკის მჟავით გამოწვეულ მეხსიერების დარღვევასა და ჰიპოკამპში სტრუქტურულ და მოლეკულურ ცვლილებებზე.	77
3.2.1. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები ოკადაიკის მჟავით გამოწვეულ ნეიროტრანსმიტერების აქტიურობის ცვლილებაზე ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში და ჰიპოკამპში ნეირონების დაღუპვაზე.	78
3.2.1.1. მეთოდები.	79
3.2.1.2. მიღებული შედეგები	80
3.2.2. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები ოკადაიკის მჟავით გამოწვეულ სივრცით ხანმოკლე მეხსიერების დეფიციტზე	86
3.2.2.1. მეთოდები	86
3.2.2.2. მიღებული შედეგები	87
3.2.3. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები ოკადაიკის მჟავით გამოწვეულ სივრცითი ხანგრძლივი მეხსიერების დეფიციტზე	91
3.2.3.1. მეთოდები	92
3.2.3.2. მიღებული შედეგები	94
მიღებული შედეგების საერთო განხილვა	99
დასკვნები	113
ლიტერატურის სია	116

## ხშირად გამოყენებული შემოკლებები:

AChE - Acetylcholinesterase - აცეტილქოლინესთერაზა

AD - Alzheimer's Disease - ალცჰეიმერის დაავადება

APOE - Apolipoprotein E - აპოლიპროტეინი E

APP - Amyloid precursor protein - ამილოიდის წინამორბედი ცილა

A $\beta$  - amyloid beta - ბეტა ამილოიდი

BDNF - Brain-derived neurotrophic factor - ტვინში გამოყოფილი ნეიროტროფული ფაქტორი

ChAT - choline acetyltransferase - ქოლინ აცეტილტრანსფერაზას

EAAT - excitatory amino acid transporter - ამაგზნებელი ამინომჟავა ტრანსპორტერი

IGF - insulin-like growth factor - ინსულინის მსგავსი ზრდის ფაქტორი

IL - Interleukin - ინტერლეიკინი

IR - Insulin receptor - ინსულინური რეცეპტორის

LTD - longterm depression - ხანგრძლივ დეპრესია

LTP - long-term potentiation - ხანგრძლივი პოტენციაცია

NFTs - neurofibrillary tangles - ნეიროფიბრილური გორგლები

NMDA - *N*-methyl-D-aspartate receptor - *N*-მეთილ-D-ასპარტატული რეცეპტორი

OA - Okadaic Acid - ოკადაიკის მჟავა

PP - Protein Phosphatases - პროტეინ ფოსფატაზები

PS - Preselin პრესენილინი

ROs - reactive oxygen species - ჟანგბადის აქტიური ფორმები

SP - Senile plaques - სენილური ფოლაქები

Th1 - T helper cells - T დამხმარე უჯრედები

$\alpha$ 7-nAChR - alpha-7 nicotinic receptor -  $\alpha$ 7 ნიკოტინური რეცეპტორი

$\alpha$ TNF- $\alpha$  - tumor necrosis factor - სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი

## ანოტაცია

ალცჰეიმერის დაავადება (AD) წარმოადგენს ნეიროდეგენერაციულ დარღვევას, რომელიც ხასიათდება კოგნიტიური და ქცევითი ფუნქციების გაუარესებით და უპირატესად 65 წლის ასაკიდან ვლინდება, თუმცა, იშვიათად ადრეულ ასაკშიც შესაძლოა გამოვლინდეს. ამ დაავადების მქონე ინდივიდებს აღენიშნებათ მეხსიერების დეფიციტი, ხოლო ამ ინდივიდების ტვინის ჰისტოლოგიური კვლევებით გამოვლენილია ნეირონთა დეგენერაცია, ასევე უჯრედშიგა ნეიროფიბრილური გორგლებისა და უჯრედგარეთა  $\beta$ -ამილოიდური გროვების წარმოქმნა.

მიუხედავად გარკვეული შეზღუდვებისა, პროგრესი AD-ს პათოგენეზის შესწავლასა და მკურნალობის გზების განსაზღვრაში მნიშვნელოვნად უკავშირდება ცხოველური მოდელების შექმნას და/ან განვითარებას. სხვადასხვა ფარმაკოლოგიური ან ქიმიური სუბსტანციის ტვინში შეყვანით ან ტვინის განსაზღვრული უბნის დაზიანებით შესაძლებელია AD-ს ზოგიერთი მახასიათებლის რეპლიკაცია.

აღიარებულია, რომ თავის ტვინში პროტეინ ფოსფატაზების (PP) აქტიურობის ცვლილება ჩართულია AD-ს პათოგენეზში. ნეიროფიბრილური გორგლები წარმოიქმნება ნეირონთა შორის წყვილი სპირალური ფილამენტების აკუმულაციით და უპირატესად შეიცავენ ჰიპერფოსფორირებულ ტაუ პროტეინს. ნაჩვენებია, რომ AD-ს განვითარების დროს ტაუს ჰიპერფოსფორილიზაცია გამოწვეულია ნეირონებში კინაზის აქტიურობის ზრდით ან ფოსფატაზის აქტიურობის დაქვეითებით.

ოკადაიკის მჟავა (Okadaic acid - OA), წარმოადგენს ტოქსინს, რომელიც წარმოადგენს პროტეინ ფოსფატაზა (PP)1-სა და PP2A-ს პოტენციურ და სელექტიურ ინჰიბიტორს. ფოსფატაზა აქტიურობის შემაკავებელი უნარის გამო, OA ასოცირდება პროტეინის ფოსფორილირებასთან, რაც განაპირობებს მის გამოყენებას სხვადასხვა რეგულატორული მექანიზმებისა და ნეიროტოქსიკურობის შესასწავლად. პროტეინ ფოსფატაზების შეკავების გზით, თავის ტვინში OA-ს ინექციამ, შესაძლოა ნეიროდეგენერაციულ ცვლილებებთან ერთად იმოქმედოს ნეიროტრანსმიტერების აქტიურობაზე

ტვინის სხვადასხვა უბანში. თუმცა, მეხსიერებასთან დაკავშირებულ რა ტიპის სინაპსურ ტრანსმისიაზე მოქმედებს OA, უცნობია. AD-ს წარმატებული მკურნალობის საშუალებების შექმნისათვის აუცილებელია როგორც კოგნიტიური ასევე თანმდევი სტრუქტურული და მოლეკულური ცვლილებების კვლევა. მუდმივად იმატებს იმ მტკიცებულებათა რაოდენობა, რომლებშიც ნაჩვენებია, რომ AD პაციენტებში კოგნიტიურ სინდრომს წინ უსწრებს პათოლოგიური ცვლილებები ტვინის იმ სტრუქტურებში, რომლებიც მეხსიერების პროცესებში არის ჩართული.

მრავალი მონაცემი არსებობს, რომელიც ამტკიცებს დისრეგულირებული გლუტამატის როლს ნეიროდეგენერაციულ დაავადებებსა და ექსციტოტოქსიკურობაში. AD პაციენტების ტვინში ასევე აღწერილია ქოლინერგული აქტიურობის დაკნინება ჰიპოკამპსა და ნეოკორტექსში. შესაბამისად, დღეისათვის AD-ს მკურნალობისათვის ძირითადად იყენებენ ქოლინესთერაზა ინჰიბიტორებსა და NMDA ანტაგონისტებს.

ყოველივე ზემოთქმულიდან გამომდინარე, წარმოდგენილი ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა ჰიპოკამპსა და თავის ტვინის პარაკუჭებში OA-ის ინექციის ეფექტების კვლევა მეხსიერების სხვადასხვა ფორმასა და დასწავლის პროცესებზე ჰიპოკამპში ნეიროტრანსმიტერულ აქტიურობასა და სტრუქტურულ ცვლილებებთან კორელაციაში, ასევე ანტიდემენციური წამლით – მემანტინით ამ ცვლილებათა პრევენციის შესაძლებლობის შეფასება.

ჩატარებული კვლევის შედეგად შესაძლებელი გახდა დასკვნების ჩამოყალიბება:

1. OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ან ჰიპოკამპში ბილატერალური მიკროინექცია ამცირებს პირამიდული ნეირონების რაოდენობას ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში; CA1 ველში აღნიშნული შემცირება უფრო მნიშვნელოვანია;
2. OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ბილატერალური მიკროინექციის პირობებში ჰიპოკამპის ნეირონთა რაოდენობრივი შემცირება ნაკლებია, ვიდრე OA-ს ჰიპოკამპში მიკროინექციისას;
3. OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ბილატერალური მიკროინექცია იწვევს ჰიპოკამპის სხვადასხვა ველში AChE-მგრძნობიარე ნეირონების, ხოლო

მედიალურ სექტუმში ChAT და GABA-ერგული პარვალბუმინმგრძობიარე ნეირონების სარწმუნო შემცირებას;

4. OA-ს ჰიპოკამპში ბილატერალური მიკროინექცია იწვევს ამოცნობის მეხსიერების დარღვევას; OA-ს ტვინის პარაკუჭებში მიკროინექცია არ მოქმედებს ამოცნობის მეხსიერებაზე;
5. გამოვლინდა კორელაცია OA-ს ინექციით განპირობებულ ამოცნობის მეხსიერების დარღვევასა და ჰიპოკამპის ნეირონების დაკარგვის ინტენსივობას შორის; OA-ით გამოწვეული ამოცნობის მეხსიერების დეფიციტი, ნაწილობრივ მაინც, შესაძლოა უკავშირდებოდეს ნეიროტოქსინის გავლენით ჰიპოკამპის ნეირონების დაკარგვას;
6. OA-ს მიკროინექცია (პარაკუჭებში ან ჰიპოკამპში) არ აუარესებს დასწავლის პროცესს და ხანმოკლე სივრცით მეხსიერებას, თუმცა იწვევს ხანგრძლივი სივრცითი მეხსიერების დეფიციტს წყლის აუზის ამოცანაში.
7. OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ბილატერალური მიკროინექციის მქონე ვირთაგვები წარმატებით ასრულებენ წყლის აუზის ამოცანას ხილულბაქნიან ვერსიაში, თუმცა ვერ სწავლობენ ბაქნის ადგილმდებარეობას სივრცეში, რაც მიანიშნებს ჰიპოკამპდამოკიდებული სივრცითი მეხსიერების დარღვევასა და OA-ს სელექტიურ ნეიროტოქსიკურობაზე;
8. ჰიპოკამპდამოკიდებული სივრცითი მეხსიერების დარღვევა OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ბილატერალური მიკროინექციის პირობებში შესაძლოა უკავშირდებოდეს სექტოჰიპოკამპური ქოლინერგული და GABAერგული პროექციების დაზიანებას; მეხსიერების დარღვევის მექანიზმად სექტოჰიპოკამპური დისფუნქცია შეიძლება განვიხილოთ;
9. OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ბილატერალური მიკროინექცია იწვევს სივრცითი მორიგეობის დარღვევას; ეს დარღვევა შესაძლოა მოიცავდეს როგორც ხანმოკლე მეხსიერებას, ასევე არამნემონურ პროცესებს, როგორცაა ყურადღება და შესაძლოა გამოწვეული იყოს ჰიპოკამპში ქოლინერგული დისფუნქციით;

10. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედება სარწმუნოდ აღმოჩნდა OA-ს ტვინის პარაკუქებში ბილატერალური მიკროინექციით გამოწვეული სივრცითი მეხსიერების დეფიციტს და ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში განვითარებულ ნეიროპათოლოგიურ ცვლილებებს;
11. მემანტინის პრევენციული ეფექტი აჩვენებს OA-ით გამოწვეულ ტოქსიკურობაში NMDA რეცეპტორების ჩართულობას.

ამრიგად, OA-ს ტვინის პარაკუქებში ან ჰიპოკამპში ბილატერალური მიკროინექცია იწვევს სივრცითი მეხსიერების დეფიციტს და ჰიპოკამპის ნეირონების დაკარგვას, ამ მოდელში პირველად არის ნაჩვენები მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული და GABAერგული ნეირონების რაოდენობის შემცირება. ასეთი ცვლილებები აღწერილია ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტებში და შესაბამისად, ადასტურებს ამ მოდელის ეფექტურობას თერაპიული საშუალებების ახალი სტრატეგიების განსაზღვრისათვის. მიღებული შედეგები მნიშვნელოვანია მეხსიერებასთან დაკავშირებული სხვადასხვა რეგულატორული მექანიზმების უკეთ შეცნობაში.



## Annotation

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease that causes progressive cognitive and behavior deterioration in the elderly over age 65, although the less prevalent early-onset AD can occur much earlier. Individuals suffering from this disease suffer memory loss, and histological examination of the brains of such individuals has revealed neuronal neurodegeneration and the presence of neurofibrillary tangles within neurons and extracellular deposits of  $\beta$ -amyloid. AD in human is much more complicated and animal models can only mimic partial symptoms of AD. In spite of the limitations of each animal model, the urgent progress toward a cure for AD depends on the strengths of animal models.

It is widely believed that changes in the cerebral activity of protein phosphatases (PP) have been implicated in the pathogenesis of AD. Neurofibrillary tangles result from accumulation of paired helical filaments within neurons, and such filaments consist largely of hyperphosphorylated tau protein. Hyperphosphorylation of tau has been suggested to be caused by an increase in kinase activity or by a decrease in phosphatase activity within the neurons during the development of AD.

Okadaic acid (OA) is toxin - a potent and selective inhibitor of PP1 and PP2A. Because of its property to inhibit phosphatase activity, OA is associated with protein phosphorylation and has been proved to be a powerful probe for studying the various regulatory mechanisms and neurotoxicity. Some researchers reasoned that injection of OA into the brain would increase tau phosphorylation by inhibiting PP2A, since this enzyme is predominantly responsible for the dephosphorylation of this protein. It was therefore suggested that intracerebral injection of OA, through its ability to inhibit protein phosphatases, can affect the activity of neurotransmitters in brain areas. But, what types of synaptic transmission are affected by OA in relation to memory function is less clear. The identification of synaptic components that are differentially affected by OA becomes important in developing effective therapeutics for disease intervention. It is clear that successful AD treatments will need to rescue cognitive as well as structural and molecular dysfunctions. Increasing evidence suggests the cognitive syndromes found in AD patients are preceded by changes in synaptic efficacy.

There is considerable evidence to support the role of dysregulated glutamate in the pathophysiology of neurodegenerative disorders and excitotoxicity. Also described degeneration of cholinergic activity in the hippocampus and neocortex. Hence, current treatment of AD has been focused on the use of cholinesterase inhibitors and NMDA antagonists.

Based on all abovementioned the purpose of research was to investigate neurotoxic consequences at the behavioral, structural and molecular level induced by (ICV) injection of okadaic acid and the potential of antidementic drug – memantine to prevent these effects.

Our results indicate that:

1. ICV or hippocampal bilateral microinjection of OA decreased the number of pyramidal neurons in the CA1 and CA3 regions of the hippocampus which is most pronounced in CA1 region;
2. the hippocampal cell loss is lower in the ICV OA injected rats than in hippocampal injected ones;
3. ICV microinjection of OA decreased the number of AChE sensitive neurons in different regions of the hippocampus and decreased the number of ChAT and GABAergic parvalbumin sensitive neurons in medial septal nucleus;
4. microinjection of OA into the hippocampus induced impairment in recognition memory; in contrast ICV microinjection of OA did not affect recognition memory;
5. there is correlation between recognition memory impairment and the extent of hippocampal cell loss induced by OA treatment. OA-induced recognition memory impairment may be attributed, at least in part, to the hippocampal cell death caused by the drug;
6. OA treatment (hippocampal or ICV injection) did not affect learning process and short-term spatial memory but induced impairment in spatial long-term memory assessed in the water maze;

7. ICV OA injected rats acquired the visible platform version of the water maze task but failed to learn the platform location in space indicating hippocampal-dependent spatial memory impairment and selective neurotoxicity of OA.
8. ICV injection of OA may impair the hippocampus-dependent spatial memory through damaging the septohippocampal cholinergic and GABAergic projections; septohippocampal dysfunction may be at least part of the underlying mechanisms.
9. ICV microinjection of OA induced impairment of spatial alternation behavior. This impairment reflect a disruption of either short-term memory or non-mnemonic process such as attention and may be due to a cholinergic dysfunction of the hippocampus;
10. chronic administration of memantine significantly attenuated OA (ICV) induced spatial memory impairment and the OA-induced neuropathological changes in the hippocampus and in the medial septal nucleus;
11. The preventive effect of memantine revealed the involvement of NMDA receptors in OA (ICV) induced toxicity.

In conclusion, bilateral ICV and hippocampal injection of OA induced spatial memory deficit and caused hippocampal cell loss in this model and demonstrated, for the first time to our knowledge, decreased cholinergic activity in the hippocampus and the number of cholinergic and GABAergic medial septal neurons. These changes have been observed in patients with Alzheimer's disease, and therefore reinforce the importance of this model for the investigation targets of new therapeutic strategies. It may also lead to new strategies in development effective therapeutics for disease intervention, also as well as to a better understanding of the fundamental neurobiology of memory.

# შესავალი

## თემის აქტუალობა

მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაციის პროგნოზით უახლოეს მომავალში AD-მ შესაძლოა გადააჭარბოს ისეთ გავრცელებულ დაავადებებს, როგორცაა შეძენილი იმუნოდეფიციტის სინდრომი ან კარდიოვასკულური დარღვევები, რაც მძიმე შედეგების მომტანი იქნება მილიონობით დაავადებულთათვის, მათი ოჯახებისა და ჯანმრთელობის დაცვის ორგანიზაციებისათვის.

მეხსიერების და დასწავლის პროცესების ცვლილებებთან კავშირში ჰიპოკამპში ნეიროტრანსმიტერული სისტემების მარკერების კვლევა, აგრეთვე ჰიპოკამპის მორფოლოგიის შესწავლა ვირთაგვებში OA-ს შეყვანის პირობებში, მნიშვნელოვანია OA-ს ნეიროტოქსიკურობის და ანტიდემენციური წამლების პრეკლინიკური კვლევისათვის აღნიშნული მოდელის ვალიდურობის შესახებ, რაც ხელს შეუწყობს დაავადებათა სამკურნალო ეფექტური თერაპიული საშუალებების ახალი სტრატეგიების განსაზღვრას; მიღებული შედეგები სრულყოფილ სურათს შექმნის მეხსიერებასთან დაკავშირებული სხვადასხვა რეგულატორული მექანიზმების შესახებ და მნიშვნელოვან წვლილს შეიტანს მეხსიერების ნეირობიოლოგიის ფუნდამენტური მექანიზმების უკეთ შეცნობაში.

## კვლევის ძირითადი მიზანი და ამოცანები:

სადისარტაციო ნაშრომის მიზანია ოკაიდაიკის მჟავას (OA) ვირთაგვების ტვინის პარაკუჭებში შეყვანით გამოწვეული ნეიროტოქსიკური ეფექტების შესწავლა ქცევით, სტრუქტურულ და მოლეკულურ დონეზე და ასევე, ანტიდემენციური წამლით – მემანტინით OA-ით გამოწვეულ ცვლილებათა პრევენციის შესაძლებლობის კვლევა. ლაბორატორიულ ექსპერიმენტებში შეისწავლებოდა მეხსიერების სხვადასხვა ფორმა (დეკლარატიული, არადეკლარატიული) და დასწავლის პროცესები (ასოციაციური, არასოციაციური), აგრეთვე, ჰიპოკამპში მორფოლოგიური ცვლილებები (უჯრედების დაღუპვის ხარისხი), ნეიროტრანსმიტერების აქტიურობა

ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში. ასევე შესწავლებოდა OA-ით გამოწვეული ტოქსიკური ეფექტების პრევენციის შესაძლებლობა.

**ამოცანები:**

- ღია ველში კვლევითი ქცევის, ჰაბიტუაციის და ამოცნობის მეხსიერების შესწავლა ვირთაგვების თავის ტვინის პარაკუჭებში ან ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავას ბილატერალური მიკროინექციის პირობებში და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში.
- სივრცითი მეხსიერების შეფასება ვირთაგვების თავის ტვინის პარაკუჭებში ან ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავას ბილატერალური მიკროინექციის პირობებში და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში.
- ჰიპოკამპში უჯრედების რაოდენობრივი შეფასება ვირთაგვების თავის ტვინის პარაკუჭებში ან ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავას ბილატერალური მიკროინექციის პირობებში და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში.
- ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში ნეიროტრანსმიტერების აქტიურობის შესწავლა ტვინის პარაკუჭებში ოკადაიკის მჟავას ბილატერალური მიკროინექციის პირობებში და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში.
- მემანტინის ნეიროპროტექტორული პოტენციალის შესწავლა ოკადაიკის მჟავით გამოწვეულ ნეიროპათოლოგიურ ცვლილებებზე ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში
- ოკადაიკის მჟავით გამოწვეულ მეხსიერების დეფიციტზე მემანტინის პრევენციული პოტენციის შესწავლა.

**ნაშრომის მეცნიერული სიახლე და პრაქტიკული მნიშვნელობა**

სადისერტაციო ნაშრომში მიღებული შედეგები გააფართოვებს ცოდნას მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესების და მათი დარღვევების, ასევე OA-ით ინდუცირებული ტოქსიკური ეფექტების მარეგულირებელი მექანიზმების შესახებ. მეხსიერების დეფიციტთან ასოცირებული ნეიროტრანსმიტერული სისტემების მარკერების, აგრეთვე ჰიპოკამპში სტრუქტურული ცვლილებების კვლევა, ხელს შეუწყობს დაავადებათა სამკურნალო ეფექტური თერაპიული საშუალებების ახალი სტრატეგიების განსაზღვრას და ასევე, მნიშვნელოვან

წვლილს შეიტანს მეხსიერების ნეირობიოლოგიის ფუნდამენტური მექანიზმების უკეთ შეცნობაში.

### ნაშრომის აპრობაცია

ნაშრომში მოყვანილი ძირითადი შედეგები მოხსენებულ იქნა 2 სამეცნიერო კონფერენციაზე და სასწავლო პროგრამით გათვალისწინებულ 3 კოლოკვიუმზე.

### თეზისები:

1. **2015 - ჭილაძე მ.**, ბიოლოგიისა და მედიცინის აქტუალური საკითხები „ამოცნობის მეხსიერებისა და არაასოციაციური დასწავლის პროცესების კვლევა ოკადაიკის მჟავას ტვინის პარაკუჭებსა და ჰიპოკამპში შეყვანის პირობებში“ თელავი, საქართველო.
2. **2016 - ჭილაძე მ.**, ახალგაზრდა მეცნიერთა კონფერენცია „ოკადაიკის მჟავით გამოწვეული სივრცითი მეხსიერების დეფიციტი და ჰიპოკამპის უჯრედების დაღუპვა“ ბაკურიანი, საქართველო.
3. **2015-2016** - საგანმანათლებლო პროგრამით გათვალისწინებული 3 კოლოკვიუმი.

### პუბლიკაციები

დისერტაციაში მიღებული ძირითადი შედეგები გამოქვეყნებულია 3 სამეცნიერო ნაშრომში.

1. Naneishvili T., **Chighladze M.**, Dashniani M., Burjanadze M., Chkhikvishvili N., Beselia G., Kruashvili L., Pochkhidze N., „Recognition Memory Impairment and Neuronal Degeneration Induced by Intracerebroventricular or Intrahippocampal Administration of Okadaic Acid“, Bulletin of the Georgian national Academy of Science, 2015, vol.9, no.3, (155-161) ;
2. **Chighladze M.**, Dashniani M., Beselia G., Kruashvili L., Naneishvili T. „Spatial Memory Impairment and Hippocampal Cell Loss Induced by Okadaic Acid“ Georg. Med. News. 2016, no 1 (250) 83-87;

3. Dashniani M., **Chighladze M.**, Burjanadze M., Beselia G., Kruashvili L.,  
“Memantine Attenuates The Okadaic Acid Induced Short-Term Spatial memory  
Impairment And Hippocampal Cell Loss in Rats” Georg. Med. News. 2016, no 3  
(252) 59-63;

### **დისერტაციის სტრუქტურა და მოცულობა**

დისერტაციის სტრუქტურა შესაბამისობაშია კვლევაში დასმულ ამოცანებსა და მიზნებთან. იგი შედგება შემდეგი ძირითადი თავებისაგან:

- შესავალი, რომელიც მოიცავს ნაშრომის ზოგად დახასიათებას და მიღებული შედეგების აქტუალობას, სამეცნიერო და პრაქტიკულ მნიშვნელობას.
- შინაარსის (სადისერტაციო ნაშრომის ძირითადი ნაწილი) შემცველი სამი თავი;
- მიღებული შედეგების საერთო განხილვა;
- შემჯამებელი დასკვნები;
- ლიტერატურის სია.

დისერტაციის სრული მოცულობა შეადგენს 141 გვერდს, და მოიცავს 21 სურათს, ერთ ცხრილს და 275 დასახელების ციტირებული ლიტერატურის სიას.

# თავი I. ლიტერატურის მიმოხილვა

## 1.1. ალცჰეიმერის დაავადება

ალცჰეიმერის დაავადება (Alzheimer's Disease - AD) წარმოადგენს ნეიროდეგენერაციულ დაავადებას, რომელიც ხანდაზმულებში, უპირატესად 65 წლის ასაკის შემდეგ, იწვევს კოგნიტიური და ქცევითი ფუნქციების პროგრესირებად გაუარესებას (Ferri et al., 2005). ნაკლებად არის გავრცელებული AD-ის ის ფორმა, რომელიც უფრო ადრეულ ასაკში ვითარდება. AD პირველად 1906 წელს გერმანელმა ექიმმა ა. ალცჰეიმერმა (Alzheimer, 1906) აღწერა. იგი ჯერ კიდევ 1901 წელს აკვირდებოდა და შეისწავლიდა ქერქის ზედა შრეებში AD-ის თანმდევ ჰისტოლოგიურ ცვლილებებს "ფოლაქებისა" და "გორგლების" ჩათვლით, რომელიც შემდგომ 1907 (O'Brien, Auguste, 1996) წელს გამოაქვეყნა. იმავე წელს, ოსკარ ფიშერმა, ხანდაზმულთა ჰკუასუსტობის შემთხვევებში, ასევე აღმოაჩინა და აღწერა ნეირიტული ფოლაქები (Gouras et al., 2005), თუმცა მისი სახელი AD-ის ისტორიიდან დაკარგული იყო 2009 წლამდე. პრალაში, ალცჰეიმერისა და პარკინსონის დაავადებისადმი მიძღვნილ მე-9 საერთაშორისო კონფერენციაზე მისი კვლევები აღიარებულ იქნა Michel Goedert-ის მიერ (Goedert and Fischer, 2009). 1995 წელს, ალცჰეიმერის ნაშრომები, კლინიკური ჩანაწერებისა და ტვინის ანათლების ჩათვლით, თავიდან იქნა შესწავლილი Maurer-ისა და კოლეგების მიერ, რომელიც 1997 წელს გამოაქვეყნდა (Maurer et al., 1997). ალცჰეიმერის პირველი პაციენტი იყო 51 წლის ქალბატონი, რომლის თავის ტვინის ჰისტოლოგიური ანათლების თანამედროვე კვლევამ გამოავლინა გენეტიკური ფონის არსებობა: მას აღენიშნებოდა ε3/ε3 Apolipoprotein E (APOE) გენოტიპი (Graeber et al., 1998).

AD-ის მქონე პაციენტების ტვინი ხასიათდება სენილური ფოლაქებისა (Senile plaques - SP) და ნეიროფიბრილური გორგლების (neurofibrillary tangles - NFTs) არსებობით და ბაზალური წინატვინის ქოლინერგული ნეირონების დაკარგვით (Selkoe, 2001). დღეისთვის, არა თუ არ არსებობს AD-ს მკურნალობის საშუალებები, არამედ არ არის გამოვლენილი ის მიზეზები და ფაქტორები, რომლებიც განაპირობებს AD-ის განვითარებას. თუმცა, AD-ის მქონე პაციენტებში პროგრესირებადი ნეიროდეგენერაციის განვითარებაში ბეტა ამილოიდური



პეპტიდის (amyloid beta peptides - A $\beta$ ) და ტაუ პროტეინის საკვანძო როლი აღიარებულია (Huang and Jiang, 2009).

*AD-სთან დაკავშირებული გენური მუტაციები.* 65 წლის ასაკამდე განვითარებულ AD-ს მიაკუთვნებენ ადრეულ ფორმას და AD-ის შემთხვევათა მხოლოდ 10%-ს შეადგენს. უმეტეს შემთხვევაში ეს ფორმა დაკავშირებულია მემკვიდრეობით მიღებულ აუტოსომურ-დომინანტურ გენურ მუტაციებთან, მათ შორის ამილოიდის წინამორბედი ცილის (Amyloid precursor protein - APP) - შეადგენს AD-ის ადრეულ ფორმის შემთხვევათა 16%-ს; პრესენილინ 1-ის 30%-70%-ს; პრესენილინ 2-ის 5%-ს (Cacquevel et al., 2012). AD-ის ამ ფორმას ოჯახურ ფორმას მიაკუთვნებენ. APP გენის მუტაცია აადვილებს A $\beta$ -ს წარმოქმნას, ხოლო პრესენილინ 1 და პრესენილინ 2 ზრდის A $\beta$ 42-ის წარმოქმნას  $\gamma$ -სეკრეტაზის საშუალებით (Selkoe, 2001).

AD, რომელიც 65 წლის ასაკის შემდეგ ვითარდება ამ დაავადების შემთხვევათა 85%-95%-ს შეადგენს (Selfridge et al., 2013). AD-ის ამ ფორმისთვის APOE-ს გენი ერთ-ერთ მნიშვნელოვან გენეტიკურ რისკ-ფაქტორს წარმოადგენს. APOE არის მე-19 ქრომოსომის ერთი გენის პროდუქტი (Mahley et al., 1996) და ძირითადად, წარმოიქმნება ასტროციტებისა და მიკროგლიის მეშვეობით. იგი ჩართულია ქოლესტეროლისა და ტრიგლიცერიდების ტრანსპორტირებასა და მეტაბოლიზმში (Beffert et al., 2004). AD-სთან დაკავშირებული APOE-ის სამი იზოფორმაა (APOE2, APOE3, APOE4) იდენტიფიცირებული, რომელთა გავრცელების სიხშირე AD პაციენტებში განსხვავდება: APOE3 (77%-78%); APOE4 (14%-16%); APOE2 (7%-8%) (Cedazo-Minguez, 2007). ადამიანებში APOE-ს გენი წარმოდგენილია სამი სხვადასხვა ალელით ( $\epsilon$ 2,  $\epsilon$ 3 და  $\epsilon$ 4). APOE-ს  $\epsilon$ 4 ალელი აღიარებულია, როგორც მთავარი რისკ-ფაქტორი, რომელიც დაავადების განვითარების რისკს ჰეტეროზიგოტებში 3-ჯერ, ხოლო ჰომოზიგოტებში 15-ჯერ ზრდის (Bertram and Tanzi, 2012); თუმცა, გენეტიკური ფაქტორით AD-ის ამ ფორმის განვითარების რისკი შემთხვევათა მხოლოდ 10%-20%-ს შეადგენს. გარდა ამისა, გენომის ფართომასშტაბიანი კვლევებით AD-სთან ასოცირებული 22 გენეტიკური ლოკუსი გამოვლინდა (Hollingworth et al., 2011; Naj et al., 2011; Lambert et al., 2013), რომელთა დეტალური აღწერა გამოქვეყნებულია (Guerreiro et

al., 2013). APOE-სა და სხვა ათეულობით გენეტიკური რისკ-ფაქტორის გამოვლენის მიუხედავად, საჭიროა სხვა, ახალი რისკ-ფაქტორების გამოვლენა, მათი ფუნქციური მნიშვნელობისა და მონაწილეობის შესაფასებლად.

**ამილოიდური ჰიპოთეზა.** "ამილოიდური ჰიპოთეზა", რომელიც AD-ის ცენტრალურ მოვლენად და ფუნდამენტურ მიზეზად A $\beta$ -ს დაგროვებას განიხილავს, პირველად 1991 წელს იქნა შემოთავაზებული (Hardy et al., 1992). AD-ის მქონე პაციენტების ტვინში სენილური ფოლაქების ძირითადი კომპონენტი არის 39-43 ამინომჟავას პეპტიდი. A $\beta$  არის  $\beta$  და  $\gamma$  სეკრეტაზების დახმარებით (Yin et al., 2007) APP-ის ტრანსმემბრანული გლუკოპროტეინის თანმიმდევრული დაშლის შედეგი (Tanzi et al., 1987). A $\beta$ -ს ყველაზე გავრცელებული იზოფორმებია A $\beta$ 40 და A $\beta$ 42, რომელთაგან A $\beta$ 42 უფრო ფიბრინოგენულია, მისი მეტი ჰიდროფობური ბუნების გამო (Jarrett et al., 1993). ამილოიდური თეორია გამყარებულია იმ ფაქტით, რომ დაუნის სინდრომის მქონე პაციენტებს, რომლებსაც 21-ე ქრომოსომა გასამმაგებული აქვთ და სადაც არის ლოკალიზებული APP-ს გენი, 40 წლის ასაკისთვის უვითარდებათ ისეთი ნეიროპათოლოგია, რომელიც საკმარისია AD-ის ადრეული ფორმის დიაგნოზირებისთვის (Lott and Head, 2005). უფრო მეტიც, მე-10 ქრომოსომის ლოკუსი, რომელიც AD-ის მოგვიანე ფორმის განვითარებასთან ასოცირდება, ასევე ასოცირდება A $\beta$ -ს გენერაციის ზრდასთან (Myers et al., 2000). AD-ის გვიანი ფორმის განვითარების კიდევ ერთი გენეტიკური რისკ-ფაქტორი არის APOE4, რომელიც განაპირობებს A $\beta$ -ს აკუმულირებას თავის ტვინის ქერქში AD-ის კლინიკურ გამოვლენამდე. ამილოიდური ჰიპოთეზის უფრო მეტი მტკიცებულებები მიღებულია ადამიანის APP-ის გენით მუტანტ ტრანსგენურ თაგვებზე, რომლებშიც გამოვლენილია ამილოიდური ფოლაქები და სივრცითი დასწავლის დეფიციტი (Hsiao et al., 1996). შემდეგი მტკიცებულება უკავშირდება ამილოიდური ვაქცინის კვლევას. A $\beta$ -ს როგორც პასიური, ასევე აქტიური ვაქცინაცია იწვევს ტრანსგენურ თაგვებში როგორც ქცევითი ფენოტიპის, ასევე ამილოიდური ფოლაქების განვითარების შეჩერებას, ან თუნდაც ალაგებას (Morgan et al, 2000).

მიუხედავად ზემოთქმულისა, მრავალი მტკიცებულებაა, რომელიც ეწინააღმდეგება ამილოიდურ ჰიპოთეზას. მაგალითად, ამილოიდური ვაქცინა

განიხილებოდა AD-ის მკურნალობის პერსპექტიულ თერაპიულ საშუალებად. მიუხედავად იმისა, რომ ის იწვევდა ამილოიდური ფოლაქებისაგან გასუფთავებას დაავადების ადრეულ სტადიაში, დემენციის პროცესების განვითარების შეჩერება ან გაუმჯობესება ვერ შეძლო (Holmes et al., 2008). უფრო მეტიც, ამილოიდური ფოლაქების დაგროვება არ კორელირებს ჰიპოკამპში ნეირონების დაკარგვის ხარისხთან AD-ის ტრასგენურ თაგვის უმეტეს მოდელში (Bryan et al., 2009).

ამასთან, მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ A $\beta$  ჩანართები ვლინდება 40% ნორმალური კოგნიტიური ფუნქციების მქონე, დემენციის არ მქონე ხანდაზმულებში და შეიძლება მიაღწიოს AD-ისთვის დამახასიათებელ ნეიროპათოლოგიის დონეს (Price et al., 2009). ერთ-ერთ შრომაში აღწერილია, რომ ნორმალური კოგნიტიური ფუნქციების მქონე ხანდაზმულების მხოლოდ 17%-ში არ გამოვლინდა ტვინის დეგენერაციული ცვლილებები (Davis et al., 1999), ხოლო ნეიროვიზუალიზაციის ამილოიდ-PET მეთოდის გამოყენებით გამოვლინდა, რომ ნორმალური კოგნიტიური ფუნქციების მქონე ინდივიდების 10-30% შემთხვევაში სკანირების შედეგები ამილოიდ-დადებითია (Chetelat et al., 2013). რადგან AD-ის დროს მცირე კოგნიტიური დარღვევები A $\beta$  ჩანართებთან ასოცირდება (Morris et al., 2009), ამ თეორიის მხარდამჭერები ვარაუდობენ, რომ ინდივიდები, რომლებსაც არ აქვთ კოგნიტიური ფუნქციის დარღვევა, თუმცა აღენიშნებათ A $\beta$  დეპოზიტების დიდი რაოდენობა, იმყოფებიან AD-ის პრეკლინიკურ სტადიაში (Snitz et al., 2013). A $\beta$ -სგან განსხვავებით, AD-ის სხვა მარკერები - სინაპსების რაოდენობრივი შემცირება, NFTs, და მიკროგლიის აქტივაცია - კორელირებს დაავადების მიმდინარეობასთან (Chetelat, 2013). ასევე აღსანიშნავია, რომ დაუნის სინდრომის მქონე ინდივიდებში, რომლებსაც გასამმაგებული აქვთ APP, ყველა შემთხვევაში აქვთ მომატებული A $\beta$  და დიფუზური არაფიბრილური ფოლაქები, რომელთა განვითარება იწყება 8 წლის ასაკიდან, თუმცა არ წარმოადგენს 70 წლის ასაკისთვის დემენციის განვითარების აუცილებელ წინაპირობას (Zigman et al., 2008). ამრიგად, განხილული ფაქტობრივი მასალის მიხედვით A $\beta$  ჩანართებსა და დაავადებას შორის მიზეზ-შედეგობრივი კავშირის არსებობა ჯერ-ჯერობით გაურკვეველია.

**ტაუ ჰიპოთეზა.** ტაუ ჰიპოთეზის მიხედვით AD-ის პათოგენეზში ცენტრალური მოვლენა არის ტაუს პათოლოგია. ტაუპათია განეკუთვნება AD-ის მსგავსს სხვადასხვა ნეიროდეგენერაციულ დაავადებათა ჯგუფს, რომელთაც აქვთ საერთო პათოლოგიური თავისებურება - ტაუ პროტეინის ანომალური ძაფების უჯრედშიგა აკუმულაცია. დაახლოებით 100 წელია მას შემდეგ, რაც აღცქვიმერმა AD-ის მქონე ერთ-ერთ პაციენტში პირველად აღწერა ნეიროფიბრილური გორგლები. ბოლო 20 წელია, დიდი ძალისხმევა არის მიმართული ტაუსა და ტაუს ფოსფორილირების საკითხების შესწავლისადმი ნორმასა და პათოლოგიაში, თუმცა მრავალი საკითხი დამატებით კვლევას მოითხოვს. ნეიროფიბრილური გორგლები, რომლებიც ნანახია AD-ის მქონე პაციენტების ნეირონებში (Alonso et al., 1996), წარმოადგენს პათოლოგიური ტაუ პროტეინის აგრეგატებს, რომლებიც შედგება ჰიპერფოსფორილირებული ტაუ პროტეინისაგან.

ტაუ პროტეინი წარმოადგენს მიკროტუბულებთან ასოცირებულ პროტეინს და ფართოდ არის წარმოდგენილი ცენტრალური ნერვული სისტემის ნეირონებში (Weingarten et al., 1975). ჩვეულებრივ, ფიზიოლოგიურ პირობებში, ტაუ მნიშვნელოვან როლს ასრულებს მიკროტუბულების სტაბილიზაციაში, აქსონურ ტრასპორტსა და ნეირიტული წანაზარდების წარმოქმნაში (Avila et al., 2004; Johnson and Stoothoff, 2004). AD-ის მსგავსად, ჰიპერფოსფორილირებული ტაუ პროტეინის ჩანართები ნანახია სხვადასხვა ნეიროდეგენერაციული დარღვევის მქონე პაციენტებში (Avila et al., 2004; Lace et al., 2009). ტაუ პათოლოგია, ასევე აღწერილია ხანდაზმულ ადამიანთა ტვინში (Lace et al., 2009). თუმცა, კავშირი ასაკთან დაკავშირებული ტაუ პათოლოგიისა და ტაუპათიის განვითარებას შორის, და ასევე ტაუ პროტეინის პათოლოგიური აგრეგაციით განპირობებულ ნევროლოგიურ დარღვევებსა და კოგნიტიურ დარღვევებს შორის, არ არის დადგენილი.

ტაუ ჰიპოთეზა განმტკიცებულია კლინიკური კვლევებით, სადაც ნაჩვენებია, რომ NFTs-ის რაოდენობა კორელირებს დემენციის სიღრმესთან (Nagy et al., 1995). ასევე გამოვლენილია, რომ NFTs იწვევენ ნეირონების სატრანსპორტო სისტემის დეზინტეგრაციას და ნეირონების კვდომას (Hernandez et al., 2007). არსებობს სხვა მრავალი მტკიცებულება ტაუ ჰიპოთეზის სასარგებლოდ (Santacruz

et al., 2005), თუმცა არ არის ნათელი NFTs არის AD-ის გამწვები ფაქტორი თუ დაავადების პროცესის მარკერი და როგორ ურთიერთქმედებაშია დაავადების სხვა მახასიათებლებთან.

ტაუ პროტეინის ექსპრესია და ფოსფორილირება კარგად რეგულირებადი პროცესია (Ihara et al., 1986). მიუხედავად იმისა, რომ მრავალი კინაზა განიხილება პოტენციურ ტაუ პროტეინ კინაზად, მხოლოდ რამდენიმე ითვლება მნიშვნელოვნად *in vivo* პირობებში; განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება 3β გლიკოგენ სინთაზა (Glycogen synthase kinase 3β - GSK3β) და ციკლინზე დამოკიდებულ (cyclin-dependent kinases - cdk5) კინაზებს. ტრანსგენურ თაგვებზე ჩატარებულ ექსპერიმენტებში ნაჩვენებია, რომ GSK3β-ის ჭარბი ექსპრესია იწვევს ტაუს ჰიპერფოსფორილირებას, ნეირონების დაღუპვას და სივრცითი დასწავლის გაუარესებას (Hernandez et al., 2002). ეს მონაცემები წარმოადგენს მყარ მტკიცებულებას, რომ GSK3β არის ერთ-ერთი კინაზა, რომელიც მონაწილეობს ტაუს *in vivo* ფოსფორილირებაში. ტაუ კინაზას მეორე *in vivo* კანდიდატი არის cdk5, რომელიც ასევე ფართოდ არის წარმოდგენილი ტვინოვან ქსოვილში (Uchida et al., 1994).

ტაუ პროტეინის დეფოსფორილრებას განაპირობებს პროტეინ ფოსფატაზები (Protein Phosphatases - PP). გამოვლენილია ხუთი სხვადასხვა (PP1, 2A, 2B, 2C და 5) ფოსფოსერინ/ფოსფოთრეონინ ფოსფატაზა (Gong et al., 2005), რომლებსაც ძუძუმწოვართა ტვინში ახასიათებთ მაღალი ხარისხის ექსპრესია. გამოვლენილია, რომ PP1, PP2A/B და PP5 ახდენს ტაუს დეფოსფორილრებას *in vitro* (Gong et al., 2005), თუმცა მათი როლი ადამიანის ტვინში მიმდინარე საიტ-სპეციფიკური ფოსფორილირების პროცესებში არ არის ცნობილი. რაოდენობრივმა და კინეტიკურმა ანალიზმა გამოავლინა, რომ ადამიანის ტვინში PP2A, PP1, PP5 და PP2B-ს ფოსფატაზური აქტიურობა შესაბამისად შეადგენს მთელი ფოსფატაზური აქტიურობის 71%, 11%, 10% და 7%-ს (Liu et al., 2005). AD-ის მქონე პაციენტების თავის ტვინში აღწერილია PP-ის ექსპრესიისა და აქტიურობის მნიშვნელოვანი შემცირება. თავის ტვინში ერთ-ერთი მთავარი ტაუ ფოსფატაზა არის PP2A (Liu et al., 2005). ტაუს ჰიპერფოსფორილირება *in vitro* პირობებში შესაძლებელია PP1/2A ინჰიბიტორით - ოკადაიკის მჟავით (Okadaic Acid - OA; Planel et al., 2001).

ვარაუდობენ, რომ PP2A ცენტრალურ როლს ასრულებს AD-ის მქონე პაციენტებში ტაუს ჰიპერფოსფორირების პროცესში (Planel et al., 2001).

დღეისათვის მზარდია იმ მონაცემთა რაოდენობა, რომლებშიც გამოვლენილია AD-ის პათოგენეზში სხვა ისეთი მექანიზმების ჩართულობა, რომლებიც ტაუსა და A $\beta$  პათოლოგიის განვითარებამდე ვლინდება (Krstic et al., 2012; Chetelat, 2013). ასეთი პოტენციური გამწვები მექანიზმები მოიცავს მიტოქონდრიის დისფუნქციას (Ankarcrona et al., 2010), ოქსიდატიურ სტრესს (Castellani and Perry, 2012), ჰიპოქსიას (Oresic et al., 2011), ინსულინის მიმართ რეზისტენტობას (Kuusisto et al., 1997), სისხლძარღვოვან (ვასკულარულ) პათოლოგიას (Zlokovic, 2011) და ქრონიკულ ნეიროანთებას (Krstic and Knuesel, 2013), თუმცა არ შემოირფარგლება მხოლოდ ამ მექანიზმებით.

**ნეიროანთების და გლიის როლი AD-ს პათოგენეზში.** AD-სთან ასოცირებული გენეტიკური, უჯრედული და მოლეკულური ცვლილებები სულ უფრო აძლიერებს შეხედულებას, რომ ნეიროანთება არის ერთ-ერთი საკვანძო კომპონენტი AD-ის ნეიროდეგენერაციულ პროცესში (Naj et al., 2011). ნეიროანთების სიმძიმე და ხანგრძლივობა მერყეობს გამომწვევი მიზეზის შესაბამისად: ნეიროანთებათა სპექტრის ერთ მხარეს არის აუტოიმუნური დარღვევები, ისეთი როგორცაა გაფანტული სკლეროზი და გამოხატავს Th1 (T helper cells) უჯრედებით განპირობებულ ქრონიკულ ნეიროანთებას (Frohman et al., 2006); სპექტრის მეორე მხარეს არის ქრონიკული ნეიროანთების ნაკლებად სწრაფი, "ჩამქრალი" ფორმა, რომელიც თანდაყოლილი იმუნური უჯრედებით არის განპირობებული (Lehnardt et al., 2003). ეს უკანასკნელი უპირატესად გამოწვეულია ანტი-ანთებითი მექანიზმების ასაკთან დაკავშირებული დარღვევებით (Guerreiro et al., 2013; Naj et al., 2011) და იწვევს ტვინის ტრავმული დაზიანებით გამოწვეული ნეიროანთების მსგავსად, მსუბუქ კლინიკურ სიმპტომებს, რომელიც შეიძლება გრძელდებოდეს წლობით, AD-ის კლინიკურ მანიფესტაციამდე (Johnson et al., 2013). AD-ს პათოგენეზში ანთებითი პროცესების მნიშვნელობის შესახებ ყველაზე თანამედროვე ჰიპოთეზა შემოთავაზებულია Krstic-ისა და Knuesel-ის მიერ (Krstic and Knuesel, 2013), სადაც აღწერილია AD-ის განვითარების პათოლოგიური მოვლენების თანმიმდევრობა. ამ ჰიპოთეზის

მიხედვით, ნეირონების ბუნებრივი პასუხი ანთებით გამოწვეულ სტრესზე, მოიცავს ტაუს ჰიპერფოსფორილირებას და მის გადაადგილებას სომატოდენტრიტულ უბანში, ისევე როგორც APP-ის სინთეზის მატებას (Krstic and Knuesel, 2013).

ნეირონების დაზიანების თანმიმდევრობა მოიცავს აქსონის ციტოსკელეტონის დაზიანებას, რაც იწვევს აქსონური ტრანსპორტის გაუარესებას, APP აგრეგატების ფორმირებას, აქსონური შეშუპებების და საბოლოოდ, დისტროფიული ნეირიტების ფორმირებას (Krstic and Knuesel, 2013). ნეირონული დეგენერაციის მეორადი მოვლენა არის უჯრედშიგა APP აგრეგატებიდან A $\beta$  ფოლაქების ფორმირება (Krstic and Knuesel, 2013). ჩვეულებრივ, ფიზიოლოგიურ პირობებში წარმოქმნილი APP აგრეგატები იწმინდება ნეიროპროტექტორული მიკროგლიით. თუმცა, პათოლოგიური დაზიანების პროცესში, მაგალითად, შუა ასაკის ადამიანებში, ჭარბი წონისა და სიმსუქნის დროს, მიკროგლია ხდება ჰიპერრეაქტიული, რაც გამოიხატება ანთების ხელშემწყობი ციტოკინების გაზრდილი გამოყოფით და ფაგოციტოზის დისფუნქციით (Krstic and Knuesel, 2013). შემდგომ, ეს ქმნის ნეირონებისთვის ნეიროტოქსიკურ, ანთების ხელშემწყობ გარემოს.

უკანასკნელ პერიოდში, გლიის როლი AD-ის პათოგენეზში განსაკუთრებულ ყურადღებას იმსახურებს. განვითარების პროცესში მიკროგლია შესაძლოა მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ტვინის რემოდელირებაში, სავარაუდოდ, არასაჭირო აპოპტოზური ნეირონების ამოღების გზით (Caldero et al., 2009). მიკროგლიური პროცესებით სინაპსების დაკარგვა ნაჩვენებია in vivo მიკროსკოპიული კვლევებით (Wake et al., 2009), და აღწერილია მიკროგლიის პოტენციური როლი ნორმალურ სინაპსურ რემოდელირებაში.

დღეისათვის მიკროგლია განიხილება, როგორც ტვინის რეზიდენტი მაკროფაგები, და მიჩნეულია ერთ-ერთ ძირითად მოთამაშედ იმუნო/ანთებითი პროცესების განვითარებაში, სხვადასხვა ნევროლოგიური დაავადებების დროს, მათ შორის პარკინსონის დაავადების (Rogers et al., 2007), მრავლობითი სკლეროზის (Muzio et al., 2007), ამიოტროფული ლატერალური სკლეროზის (Dewil et al., 2007), ალცჰეიმერის დაავადების (Mandrekar-Colucci and Landreth, 2010), და

სხვა დაავადებათა დროს. მეცნიერები თანხმდებიან მიკროგლიის აქტიურობის მექანიზმების შესახებ, როგორც ნორმალურ, ასევე დაავადებულ ტვინში და რომ ამ უჯრედებს აქვთ შესაძლებლობა გამოავლინონ მათი ზემოქმედება კლასიკურ პრო-და ანტიანთებით მედიატორებსა და რეცეპტორებზე (Wake et al., 2009; Cameron and Landreth, 2010). შესაბამისად, მიკროგლიას შეუძლია გამოავლინოს, როგორც ანთების ხელშემწყობი, ასევე ანთების საწინააღმდეგო ეფექტები. პირველი ხასიათდება ანთების ხელშემწყობი ციტოკინების სეკრეციით და იწვევს ნეიროგენეზის გაუარესებას (Monje et al., 2003), ხოლო მეორე, ინსულინის მსგავსი ზრდის ფაქტორ-1-ის (insulin-like growth factors: IGF-1) პროდუცირებით ხელს უწყობს ნეიროგენეზს (Ziv et al., 2006). მიკროგლია მონაწილეობს A $\beta$ -ს ფაგოციტოზში და ანთებითი პასუხის ფორმირებაში, რაც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს AD-ის განვითარებაში (Okun et al., 2010; Guilliams et al., 2014).

აღწერილია, რომ AD პაციენტებში მიკროგლია გააქტივებულია, ხასიათდება მოკლე, გასქელებული დატოტიანებით და დატოტიანების პროცესების შემცირებით. ასაკოვანთა თავის ტვინში მიკროგლია ნაკლებად დატოტიანებულია და ხასიათდება ფრაგმენტაციით და ბოლქვისმაგვარი შემუპებებით. აღსანიშნავია, რომ ასაკთან დაკავშირებული ამ სახის ცვლილებები მღრნელებისთვის არ არის დამახასიათებელი (Derecki et al., 2014). მიკროგლიის პათოლოგიური აქტივაცია ხასიათდება ანთების ხელშემწყობი ისეთი ფაქტორების გამოთავისუფლებით როგორც არის ინტერლეიკინ-1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ TNF- $\alpha$ ), რეაქტიული აზოტის და ჟანგბადის ფორმები (Block et al., 2007). ყველა ეს ფაქტორი განსაკუთრებით ნეიროტოქსიკურია, თუ ქრონიკული ნეიროანთების პროცესში ხდება მათი დაგროვება (Block et al., 2007). კულტურასა და ცხოველურ მოდელებში ამ ფაქტორთა მომატება ტიპურია ნეიროდეგენერაციისათვის, და ყველა ამ ფაქტორის მომატება აღწერილია AD პაციენტების ტვინის პათოლოგიაში ჩართულ რეგიონში (Landreth and Reed-Geaghan, 2009).

გარდა ამისა, იმუნური სისტემის დაბერების პროცესში ზოგიერთი მიკროგლია ზიანდება (Streit et al., 2014). ჰისტოპათოლოგიურად ეს პროცესი ვლინდება მიკროგლიის დისტროფიით, რომელიც განსხვავდება ციტოპლაზმის



ჰიპერტროფიისგან, რაც გვხვდება გააქტივებულ მიკროგლიაში. დისტროფიული მიკროგლია ასოცირდება AD პაციენტების ტვინის, განსაკუთრებით საფეთქლის წილის, ნეიროფიბრილურ დეგენერაციასთან (Streit et al., 2009). ამ კვლევებმა საფუძველი დაუდო ჰიპოთეზას, რომლის მიხედვით, შესაძლოა, თავისთავად მიკროგლიის დაბერება იყოს AD-ის ნეიროპათოლოგიის გამწვები; ამ შემთხვევაში AD განხილულ უნდა იქნას იმუნური დაბერების და არა ნეიროანთების კონტექსტში (Streit et al., 2009; Streit et al., 2014). აღსანიშნავია, რომ ასეთ დისტროფულ, ჰიპერრეაქტიული რეჟიმის მსგავს მდგომარეობაში მიკროგლიას არ შეუძლია განახორციელოს თავისი ფიზიოლოგიური ფუნქცია - გაწმინდოს ნეიროტოქსიკური აგრეგატები (Li, 2013) და ნეიროტროფული ფაქტორების პროდუცირებით ხელს უწყობს ნეიროდეგენერაციული პროცესების პროგრესირებას. დაავადების ადრეულ სტადიაში მიკროგლიის აქტიურობის შეზღუდვამ შესაძლოა შეანელოს დაავადების განვითარება, თუმცა გვიან სტადიაში, მან შესაძლოა დააჩქაროს პროცესი დისტროფიული მიკროგლიის ნეიროპროტექტორული და გაწმენდითი ფუნქციის შეზღუდვის შედეგად (Caldeira et al., 2014). მიუხედავად იმისა, რომ მნიშვნელოვანი ცოდნაა დაგროვილი AD-ის პათოგენეზში გლიის როლთან დაკავშირებით, მრავალი საკითხი მოითხოვს შემდგომ კვლევას. მაგალითად, შესასწავლია მიკროგლიის აქტივაციის შუალედური მდგომარეობა (Colton and Willcock, 2010) და მიკროგლიის ურთიერთქმედება პეპტიდ Aβ-სთან (Lee and Landreth, 2010).

მიკროგლიის მსგავსად, ასტროციტები სწრაფად პასუხობენ პათოლოგიური პროცესების დროს მორფოლოგიური და ფუნქციური ცვლილებებით და ეს რეაქტიულობის ფაზა შესაძლოა ხასიათდებოდეს დროში განვითარებული როგორც სასარგებლო, ასევე დამაზიანებელი მიმდინარეობით (Sofroniew and Vinters, 2010). კარგადაა ცნობილი ასტროციტების ნეირონებთან ურთიერთკავშირი ტრანსმიტერების გამოთავისუფლებისა და რეციკლირების პროცესში, იონთა ჰომეოსტაზში, ენერგო-მეტაბოლიზმის რეგულაციაში, სინაპსის რემოდელირებაში და ოქსიდატიური სტრესის მოდულაციაში. AD პაციენტების ტვინში (Sofroniew and Vinters, 2010) და AD-ის თავის ტრანსგენურ მოდელებში (Rodriguez et al., 2009), რეაქტიული ასტროციტები იკავებენ წინა-ფოლაქურ

პოზიციას, გარს ეხვევიან Aβ დეპოზიტურ გროვებს გლიური ნაწიბურების მსგავსად, ანუ ქმნიან ერთგვარ ბარიერს ჯანმრთელ და დაზიანებულ ან ინფიცირებულ უბნებს შორის (Sofroniew and Vinters, 2010).

ასტროციტებში გლუტამინ სინთეტაზის ზემოქმედებით გლუტამატი გარდაიქმნება გლუტამინად. შემდეგ გლუტამინი გამოიყოფა და მიიტაცება ნეირონით და მიტოქონდრიის გლუტამინაზით გარდაიქმნება გლუტამატად. Aβ42 და ოქსიდატიური სტრესი მნიშვნელოვნად ამცირებს გლუტამინ სინთეტაზას აქტიურობას, განსაკუთრებით AD-ის მქონე პაციენტების ჰიპოკამპსა და ახალ ქერქში, რაც იწვევს გლუტამატის დონის მომატებას და ახანგრძლივებს NMDA რეცეპტორის აქტიურობას (Butterfield and Pocernich, 2003). გარდა ამისა, AD პაციენტებში აღწერილია გლუტამატ ტრასპორტერის აქტიურობის მნიშვნელოვანი შემცირება, რომელიც ასევე ასოცირდება მომატებულ ექსციტოტოქსიკურობასთან და ნეიროდგენერაციასთან (Masliah et al., 1996). უჯრედგარეთა სივრცეში ასტროციტები მთავარი მოთამაშეები არიან გლუტამატის მიტაცებაში, რაც უჯრედგარეთა გლუტამატს ტოქსიკურზე დაბალ დონეზე ინარჩუნებს. გლუტამინ სინთეტაზას ექსპრესიის შემცირება ზრდის ნეირონების ექსციტოტოქსიკურობას (Zou et al., 2010). გლუტამინ სინთეტაზა-დადებითი ასტროციტების რაოდენობის ასაკთან დაკავშირებული მნიშვნელოვანი შემცირება აღწერილია ტრანსგენური (სამმაგი მუტაციის მქონე AD-ის თავის მოდელი - 3xTg-AD) თავების ჰიპოკამპში, ხოლო 12 თვის ასაკისთვის იგივე ტრანსგენურ თავებში გლუტამინ სინთეტაზას ექსპრესია შემცირებულია მედიალური პრეფრონტალური ქერქის ასტროციტებში.

**ინსულინის მეტაბოლიზმი და AD.** უკანასკნელ პერიოდში დაგროვდა მონაცემები, რომლის მიხედვით მეორე ტიპის შაქრიანი დიაბეტი არის პოტენციური რისკ-ფაქტორი AD-ის განვითარებაში, რომელიც სავარაუდოდ, განპირობებულია ინსულინითა და ინსულინის მსგავსი ზრდის ფაქტორებით (insulin-like growth factor - IGF-1, IGF-2). ინსულინის რეცეპტორების (Insulin რეცეპტორს - IRs) მაღალი დონის ექსპრესია გამოვლენილია საყნოსავ ბოლქვებში, თავის ტვინის ქერქში, ჰიპოკამპში, ჰიპოთალამუსში და ნათხეშში (Schulinkamp et al., 2000). ხოლო, IGF-1-ის რეცეპტორების (IGF-1R) ექსპრესია გამოვლენილია თავის ტვინის ქერქში, ჰიპოკამპსა და თალამუსში (Fernandez and Torres-Aleman,

2012). ამ რეცეპტორებზე მოსული სიგნალები გავლენას ახდენენ ნეირონებისა და გლიის ფუნქციებზე, მათ შორის გლუკოზის მეტაბოლიზმსა და ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმზე. IRS არის უმნიშვნელოვანესი ინსულინის სიგნალის გადაცემაში და ხელს უწყობს უჯრედების ზრდას, უჯრედების გადარჩენას, უჯრედულ მეტაბოლიზმს (Sesti et al., 2001). იგი ოთხი წევრით არის წარმოდგენილი: IRS-1, IRS-2, IRS-3 და IRS-4 (White, 2003). IR/IGF-ის სასიგნალო გზის ძირითადი მედიატორები არიან IRS-1, IRS-2 (Schubert et al., 2003); ამ სუბსტრატების დეფიციტის მქონე თაგვებში დაჩქარებულია ტაუს ჰიპერფოსფორილირება (Killick et al., 2009). ამასთან, AD-ის მქონე პაციენტების ტვინში მნიშვნელოვნად არის შემცირებული IRs, IGF-1R, IRS-1 და IRS-2.

ინსულინ/IGF სასიგნალო გზის დისფუნქცია, რომელიც ხასიათდება ინსულინისა და IGF რეცეპტორების IRS-სთან დაკავშირების შემცირებით და ასევე, შემცირებული უნარით უპასუხოს ინსულინისა და IGF-ის სტიმულაციას, იწვევს ოქსიდატიურ სტრესს, მიტოქონდრიის დისფუნქციას და ანთებას. თავის მხრივ, ოქსიდატიური სტრესით პროდუცირებული ჟანგბადის აქტიური ფორმები (reactive oxygen species - ROSs) და მიტოქონდრიის დისფუნქცია, ისევე როგორც ანთების პროცესში სეკრეტირებული ციტოკინები, ამწვავებენ ინსულინ/IGF რეზისტენტობას, რომელიც დამახასიათებელია როგორც AD-სთვის, ასევე მეორე ტიპის შაქრიანი დიაბეტისთვის (De Felice et al., 2014; Butterfield et al., 2014). ტვინის ინსულინური სიგნალიზაცია მნიშვნელოვანია მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებისთვის (Dou et al., 2005) და იკლებს ასაკის მატებასთან ერთად (Cole and Frautschy, 2007). ინსულინსა და IGF-1-ს, ასევე შეუძლიათ ნეირონების დაცვა A $\beta$ -ს მიერ ინდუცირებული სინაპსური ტოქსიკურობისაგან (Fernandez and Torres-Aleman, 2012).

**ოქსიდატიური სტრესი.** დაბერების პროცესში და AD-ის დროს განსაკუთრებით მძაფრდება პრო-ოქსიდანტურ და ანტიოქსიდანტურ სისტემებს შორის დისბალანსი, რაც შეიძლება ოქსიდატიური სტრესის განვითარების მიზეზი გახდეს. ოქსიდატიური სტრესისათვის დამახასიათებელია ჟანგბადის აქტიური ფორმები (ROSs), რომლებიც ძირითადად მიტოქონდრიაში წარმოიქმნება და იწვევს ცხიმების, უჯრედული ცილების, ნუკლეინის მჟავების და გლუკოზის

დაშლას, რაც ვლინდება ცხიმების ზეჟანგვით, ცილების, დნმ/რნმ-ის დაჟანგვით (Gella and Durany, 2009). ტვინში ყველაზე გავრცელებული ანტიოქსიდანტი არის გლუტათიონი, რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ROSs-ის დეტოქსიკაციაში (Pocernich and Butterfield, 2012). გლუტათიონის დონე მნიშვნელოვნად მცირდება ასაკთან ერთად და AD-ის მქონე პაციენტებში (Saharan and Mandal, 2014).

**ცილების მეტაბოლიზმი და AD.** AD-ის განვითარებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ცვლილებები ცილების მეტაბოლიზმში. ცილების ჰომეოსტაზის ფუნქციური დაქვეითება იწვევს დაზიანებული და არასწორად აწყობილი ცილების აკუმულირებას დაბერებულ უჯრედებში და AD-ის განვითარებას (Taylor and Dillin, 2011). ცილების სინთეზის მთავარი საიტი არის, ენდოპლაზმური ბადე. გაშლილი ან არასწორად დახვეული ცილები, ენდოპლაზმური ბადის სივრცეში აკუმულირების შედეგად, იწვევს ენდოპლაზმური ბადის სტრესს, რომელიც თავის მხრივ ჩართავს სასიგნალო მოვლენების რთულ ქსელს და უჯრედულ პროცესებს, რომელიც უბიკვინ-პროტეასომის სისტემის სახელით არის ცნობილი და მონაწილეობს სტრესის მოხსნასა და ჰომეოსტაზის აღდგენაში (Schroder and Kaufman, 2005). თუ ამ სისტემის პროტექტორული მექანიზმი დარღვეულია, იგი ვერ აღადგენს ჰომეოსტაზს, პროაპტოზური სიგნალები, დაზიანებული უჯრედების დალუპვასთან ერთად, გამოიწვევს ენდოპლაზმატური ბადის ჭარბ და გახანგრძლივებულ სტრესს, რომელიც თავის მხრივ, განაპირობებს ნეირონთა აპოპტოზურ დალუპვას.

**სისხლძარღვოვანი დისფუნქცია.** AD-ის განვითარებაში ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ფაქტორად განიხილება სისხლძარღვოვანი დისფუნქცია. სისხლძარღვების საშუალებით ნეირონები ღებულობენ საჭირო ჟანგბადსა და საკვებ ნივთიერებებს და ასევე, ხდება ტვინის უჯრედმორისი სითხიდან ნახშირორჟანგისა და სხვა პოტენციური ტოქსიკური მეტაბოლიტების გამოტანა. ადამიანის თავის ტვინში ცირკულარული სისტემის მნიშვნელობაზე მიაწინების ის ფაქტი, რომ ტვინი სხეულის მთელი მასის დაახლოებით 2%-ს შეაგენს, თუმცა კარდიალური გამოსავლის 20%-ს ღებულობს და მოიხმარს მთელი ორგანიზმის მიერ მოხმარებული ჟანგბადის 20% -ს და გლუკოზის 30%-ს. შესაბამისად,

სისხლის ნაკადის შეჩერება რამდენიმე წამითაც კი იწვევს ნეირონების დაზიანებას (Moskowitz et al., 2010). უკანასკნელი მონაცემების საფუძველზე ვარაუდობენ, რომ სისხლძარღვოვანი დისფუნქცია იწვევს ნეირონების დისფუნქციას და ნეიროდეგენერაციას და შესაძლებელია ისეთი დაავადებების განვითარების მიზეზი გახდეს, როგორცაა  $\beta$ -ამილოიდოზი და ამილოიდური ანგიოპათია. ამ დროს ხდება ამილოიდ- $\beta$  პეპტიდის აკუმულირება ტვინსა და სისხლძარღვების კედლებზე, რაც თავის მხრივ, AD-ის დამახასიათებელი ნიშნებია (Zlokovic, 2008).

**ნეიროექსციტოტოქსიკურობა.** არსებობს ჰიპოთეზა AD-ის პათოგენეზში გლუტამატის ექსციტოტოქსიკურობის მნიშვნელობის შესახებ. ამ გზაში ჩართულია გლუტამატის ტრანსპორტერების დისფუნქცია (Jacob et al., 2007). ნაჩვენებია, რომ ჰიპოკამპის ამაგზნებელი ამინო მჟავა ტრანსპორტერი 1 EAAT1 და 2 EAAT2-ის (excitatory amino acid transporter - EAAT) ექსპრესია მნიშვნელოვნად არის შემცირებული AD-ს დროს (Morris, 2003), რაც მნიშვნელოვნად ზრდის გლუტამატის დონეს AD პაციენტების ტვინში. ამას გარდა, ნეიროტრანსმიტერის მიტაცების დეფექტები და ვეზიკულებიდან გლუტამატის არანორმალური გამოთავისუფლება განიხილება, როგორც უჯრედგარე გლუტამატის რაოდენობის ზრდის მიზეზი AD პაციენტების ტვინში (Brito-Moreira et al., 2011). გლუტამატის რეცეპტორების მომატებული აქტივაცია იწვევს თავისუფალი რადიკალების გენერაციას და მიტოქონდრიის განვლადობის აქტივაციას, რაც თავის მხრივ, იწვევს აპოპტოგენური ცილების გამოთავისუფლებას ციტოზოლში, სადაც ისინი აღძრავენ კასპაზებზე დამოკიდებულ აპოპტოზს ან აუტოფაგიას (Lau and Tymianski, 2010).

ნაჩვენებია, რომ  $A\beta$  აკავებს გლუტამატის მიტაცებას ვირთაგვების ტვინის ცოცხალ ანათლებში, ქერქულ სინაპტოსომებში და უჯრედთა კულტურაში (Li et al., 2011). ეს მონაცემები ეთანხმება იმ შედეგებს, რომლებიც მიღებულია ვირთაგვების ტვინის პარაკუჭებში  $A\beta$ -ს შეყვანის პირობებში, რაც იწვევს ინტერსტიციალურ სითხეში გლუტამატის დონის სწრაფ მატებას, გამა ამინო-ერბო მჟავას ან ასპარტატის მატების გარეშე (O'Shea et al., 2008). ჰიდროფობურ  $A\beta$  ოლიგომერებს შეუძლიათ დაუკავშირდნენ მემბრანულ ლიპიდებს და ამ გზით, მეორადად შეწყვიტონ ტრანსმემბრანული ტრანსპორტერების (გლუტამატის

ტრანსპორტერების) სტრუქტურა და ფუნქცია, რის გამოც, მოიმატებს უჯრედგარეთა გლუტამატის კონცენტრაცია.

ელექტრონულ მიკროსკოპიული კვლევებით გამოვლინდა, რომ ჰიპოკამპში მემბრანული რეცეპტორები ლოკალიზებულნი არიან ექსტრასინაპსურად, მაშინ როცა, უჯრედის მემბრანული რეცეპტორების მხოლოდ 1–2%-ია ლოკალიზებული სინაპსურ საიტებზე (Rusakov et al., 1998). შესაბამისად, ქიმიური ნაერთები ნაწილდება ექსტრაუჯრედულ სითხეში და უპირატესად, უკავშირდება ექსტრასინაპსურ რეცეპტორებს. ექსტრასინაპსური *N*-მეთილ-D-ასპარტატული (*N*-methyl-D-aspartate – NMDA) რეცეპტორები, რომლებიც არ აქტიურდებიან დაბალსიხშიროვან სინაპსურ განმუხტვებზე, შეიძლება ლოკალიზებულნი იყვნენ უჯრედის სხეულებზე, დენდრიტულ განშტოებაზე, დენდრიტული ქიცვზე. ნაჩვენებია, რომ სინაპსური NMDA რეცეპტორის აქტივაცია მნიშვნელოვანია ნეირონების დაცვისთვის, მაშინ როცა ექსტრასინაპსური NMDA რეცეპტორები ჩართულია უჯრედების დაღუპვის გზებში (Papouin and Oliet, 2014). სხვადასხვა მეთოდით ნაჩვენებია, რომ A $\beta$  სწრაფად და მნიშვნელოვნად ზრდის ექსტრასინაპსური NMDA რეცეპტორების პასუხებს. ხსნადი A $\beta$  ოლიგომერები ააქტიურებენ ექსტრასინაპსურ NR2B სუბერთეულის შემცველ NMDA რეცეპტორებს, რითაც ზრდიან კალპაინის სიგნალებს და მიტოგენ-გააქტიურებული p38 პროტეინკინაზების აქტიურობას (Li et al., 2011). გარდა ამისა, A $\beta$  ოლიგომერები არღვევენ გლუტამატის მიტაცებას ან მოქმედებენ გლიური უჯრედებიდან გლუტამატის გამოთავისუფლებაზე, რის გამოც, იზრდება გლუტამატის დონე, რაც იწვევს სინაპსურ დისფუნქციას. ზოგიერთ შრომაში ნაჩვენებია, რომ NR2 რეცეპტორების სელექტიური ანტაგონისტები A $\beta$ -თი გამოწვეული დისფუნქციის პრევენციას ახდენენ (Li et al., 2011). ამ მონაცემებთან თანხმობაშია ინფორმაცია იმის შესახებ, რომ მემანტინის დაბალი კონცენტრაციის შემთხვევაში მისი სამიზნე ექსტრასინაპსური NMDA რეცეპტორია (Leveille et al., 2008).

**ქოლინერგული თეორია.** ქოლინერგული სისტემისა და მეხსიერების ურთიერთკავშირის კვლევას განსაკუთრებული ყურადღება იმ კლინიკური და ექსპერიმენტული მონაცემების შესწავლის შემდეგ მიექცა, რომლებშიც ნანახია,

რომ ალცჰეიმერის დაავადების თანმხლები დემენცია დადებით კორელაციაშია ქოლინერგული სისტემის აქტიურობის შემცირებასთან (Francis et al., 1985). ალცჰეიმერის დაავადების დროს ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი ცვლილება თავის ტვინის ქერქსა და ჰიპოკამპში ქოლინ აცეტილტრანსფერაზას (Choline Acetyltransferase - ChAT) აქტიურობის დაქვეითებაა (Mullan, 2000). ქოლინერგული ნეირონების სელექტიური შემცირება აღინიშნება ქოლინერგულ პროექციებში, რომლებიც გამჭვირვალე ძგიდის, ბროკას დიაგონალური ღარის მახლობლად, ღრმად მდებარე ბირთვებიდან იწყება და ჰიპოკამპისაკენ მიემართება და იმ ქოლინერგულ პროექციებში, რომლებიც მეინერტის ბაზალური ბირთვის მახლობლად იწყება და ნეოკორტექსისა და თავის ტვინის ქერქისაკენ მნიშვნელოვან ქოლინერგულ შესავალს აგზავნის (Katzman, 1989).

ე.წ. “ალცჰეიმერის დაავადების ქოლინერგული თეორია” 70-იან წლებში განვითარდა. თავდაპირველად, ნაჩვენები იქნა, რომ ახალგაზრდა ჯანმრთელ სუბიექტებში ქოლინერგული რეცეპტორების ბლოკადა მეხსიერების ისეთივე დეფიციტს იწვევს, როგორც ალცჰეიმერის დაავადებისათვის არის დამახასიათებელი (Drachman and Leavitt, 1974), ხოლო მოგვიანებით, თითქმის ერთდროულად, ორმა ბრიტანულმა ჯგუფმა დამოუკიდებლად აღმოაჩინა, რომ ალცჰეიმერის დაავადება დაკავშირებულია თავის ტვინის ქერქში ქოლინერგული მარკერების მკვეთრ დაქვეითებასთან (Bowen et al., 1976).

ამ აღმოჩენამ ალცჰეიმერის დაავადება სიმპტომების ბურუსით მოცული ერთიანობიდან, ტრანსმიტერებთან დაკავშირებულ პათოფიზიოლოგიურ დაავადებად გადააქცია, რაც თანამედროვე ნეირომეცნიერულ მიდგომას ექვემდებარება. ეს აღმოჩენა დაემთხვა ნეიროტრანსმიტერების გამოკვლევების ზენიტს. ამავე დროს იქნა დაზუსტებული ცენტრალური ქოლინერგული გზების ნეიროანატომია (Mesulam and Van Hoesen, 1976). ნანახი იქნა, რომ ალცჰეიმერის დაავადების დროს, დემენციის დონე დადებით კორელაციაშია ქოლინერგული გადაგვარების დონესთან (Francis et al., 1985). ალცჰეიმერის დაავადების დროს კლასიკური ნეიროპათოლოგიური დარღვევა, როგორცაა სენილური ფოლაქები, დაკავშირებული აღმოჩნდა ქოლინერგულ დენერვაციასთან და ქოლინერგული დაზიანების მქონე ცხოველები, რომლებსაც მეხსიერების დარღვევა

აღნიშნებოდათ, მიჩნეული იქნა, როგორც ალცჰეიმერის დაავადების მოდელი (Bartus et al., 1982). გამოითქვა მოსაზრება, რომ ალცჰეიმერის დაავადება არის ქოლინერგული დაავადება, ისევე როგორც პარკინსონის დაავადება არის დოფამინერგული და ისევე დაექვემდებარება ქოლინერგულ მკურნალობას, როგორც პარკინსონი დოფამინერგულ მკურნალობას (Coyle et al., 1983). ამ მოსაზრებას აძლიერებდა ის აღმოჩენა, რომ ალცჰეიმერის დაავადების დროს, აცეტილქოლინესტერაზას ინჰიბიტორები სიმპტომურ გაუმჯობესებას იწვევდნენ (Summers et al., 1986). მანიპულაციები, რომლებიც ფარმაკოლოგიურად გამოწვეული მეხსიერების დეფიციტის პრევენციას ახდენს, ასევე ჰიპოკამპში აცეტილქოლინის დონის ცვლილებების პრევენციას იწვევს (Darnaudey et al., 2002). ამრიგად, Aβ-ს და ტაუს ფორმირება და აკუმულირება ოლიგომერიზაციის ჩათვლით, ენდოპლაზმური ბადის სტრესი, ოქსიდატიური სტრესი, ინსულინი/IGF - ის მიმართ რეზისტენტობა, გლიის დისფუნქცია - ყველა ეს პათოლოგია მონაწილეობს AD-ის განვითარებაში და ყველა მათგანი პირდაპირ და/ან არაპირდაპირ ურთიერთკავშირში მონაწილეობს AD-ის პათოგენეზსა და ქმნიან მანკიერ წრეს თავის ტვინში AD-ის პროგრესირებისთვის. დაბერების პროცესი განამტკიცებს ქრონიკული ანთების პროცესს, რომელიც ასევე ჩართულია AD-ის პათოგენეზში. ამრიგად, AD-ის პათოგენეზს ასაკთან და სხვადასხვა პათოლოგიასთან ასოცირებული პროცესების მრავალმხრივი ურთიერთკავშირის არსებობა განაპირობებს.

## 1.2. AD-ს თანმდევი ქცევითი და კოგნიტიური ფუნქციების დარღვევები

AD წარმოადგენს ნეიროდეგენერაციულ დაავადებას, რომელიც უკავშირდება არა მხოლოდ კოგნიტიური უნარების შესუსტებას, არამედ სხვა არაკოგნიტიური სიმპტომების წარმოქმნას (როგორცაა, ფსიქოზები, დეპრესია, აპათია) და დარღვევებს, რომლებიც აუარესებენ ყოველდღიურ ყოფას (Mohs, 2005). ფიქრობენ, რომ დემენციის ქცევითი და ფსიქოლოგიური სიმპტომები AD პაციენტებში გამოწვეულია სხვადასხვა ნეიროტრანსმიტერული სისტემის (აცეტილქოლინი, დოფამინი, ნორადრენალინი და სეროტონინი) დისბალანსით



ემოციურ პროცესებში ჩართულ ტვინის სპეციფიკურ უბნებში (პარაჰიპოკამპური ხვეული, დორსალური რაფეს ბირთვი და ლურჯი ლაქა), ასევე, მეტაბოლიზმის პროცესების დაქვეითებით ქერქულ უბნებში (Lanari et al., 2006). არსებობს ასევე, მონაცემები ქოლინერგული სისტემის მნიშვნელობაზე AD-ის თანმდევი ნეიროფსიქიატრიული სიმპტომების განვითარებაში (Minger et al., 2000). სხვა მონაცემების მიხედვით, გამოვლენილია მონოამინების ჩართულობა AD-ის პათოგენეზში და იმ დარღვევებში, რომელთაც ახლავს გონებასუსტობა. დოფამინერგული და სეროტონინერგული ნეიროტრანსმისიის ცვლილებები ასოცირდება აკვიატებულ და აგრესიულ ქცევასთან (Engelborghs et al., 2008). დონეზეპილის ქრონიკული შეყვანა ამცირებს ნეიროფსიქიატრიულ სიმპტომებს პაციენტებში, რომელთაც აღენიშნებათ AD-ს საშუალო ან მძიმე ფორმა (Carrasco et al., 2011). შესაბამისად, მონოამინერგული აქტიურობის სტიმულაცია აცეტილქოლინესტერაზა (Acetylcholinesterase - AChE) აქტიურობის შემცირებასთან ერთად, შესაძლოა გამოყენებულ იქნას AD-ს და მასთან დაკავშირებული ფსიქიატრიული დარღვევების სამკურნალო გზების განსაზღვრისათვის.

**AD და მეხსიერების დარღვევები.** AD ხასიათდება მეხსიერების პროგრესული დაქვეითებით, რომელსაც თან ახლავს ასევე ქცევითი დარღვევები (McKhann et al., 1984). AD პაციენტებში საბოლოო დემენციურ მდგომარეობას წინ უსწრებს მეხსიერების იზოლირებულად დაქვეითების პერიოდი, რომელიც ცნობილია მსუბუქი კოგნიტიური დარღვევის სახელით (Petersen et al., 1999). AD-სთან ასოცირებული მეხსიერების დარღვევების შესაძლო მექანიზმების გაცნობამდე, განვიხილავთ სამეცნიერო ლიტერატურაში არსებულ მონაცემებს მეხსიერების უჯრედული და მოლეკულური საფუძვლების შესახებ.

ფართოდ არის გაზიარებული მოსაზრება იმის შესახებ, რომ მეხსიერების ფორმირებას საფუძვლად უდევს სინაპსური ტრანსმისიის ხანგრძლივი ცვლილებები. ამ იდეის პირველ ავტორად ითვლება ჰები, რომელმაც ივარაუდა სინაპსურ კავშირებში პრე- და პოსტსინაპსური ნეირონების ერთდროული აქტიურობის მნიშვნელობა (Hebb, 1949). სინაპსური კავშირების გაძლიერებას უწოდებენ ხანგრძლივ პოტენციაციას [long-term potentiation (LTP)] და იგი ექსპერიმენტულად გამოიწვევა მაღალსიხშიროვანი გალიზიანებით (Bliss and Lomo,

1973), მაშინ როცა, სინაპსური კავშირების შესუსტება გამოიწვევა დაბალსიხშიროვანი სტიმულაციით (Mulkey and Malenka, 1992), რასაც ხანგრძლივ დეპრესიას [long-term depression (LTD)] უწოდებენ. ხანგრძლივი სინაპსური პლასტიკურობის ამ ფორმებს აქვთ მეხსიერების სხვადასხვა ფორმის გამოწვევის, განვითარების, კონსოლიდაციის და გაძლიერების მსგავსი მექანიზმები (Bliss et al., 2003). მიიჩნევენ, რომ LTP-სა და LTD-სათვის დამახასიათებელი სინაპსური ტრანსმისიის ხანგრძლივი ცვლილებები წარმოადგენს მეხსიერების ფორმირების უჯრედულ სუბსტრატს.

მიუხედავად იმისა, რომ LTP და LTD ტვინის სხვადასხვა უბანშია აღწერილი, უმთავრესი მონაცემები მათი მოლეკულური მექანიზმების შესახებ მოპოვებულია შრომებში, რომლებშიც იკვლევდნენ ჰიპოკამპს. ნაწილობრივ ეს განპირობებულია იმით, რომ ჰიპოკამპი წარმოადგენს ტვინის იმ უბანს, რომელიც კრიტიკულად არის მნიშვნელოვანი ხანგრძლივი მეხსიერების ფორმირებისათვის (Lynch, 2004). ამასთან, ჰიპოკამპი წარმოადგენს ალცჰეიმერის დაავადებულთათვის დამახასიათებელი ამილოიდური პათოლოგიისადმი ერთ-ერთ ყველაზე მეტად მგრძობიარე უბანს (Walsh and Selkoe, 2004). შესაბამისად, სინაპსური პლასტიკურობის მექანიზმებს ჰიპოკამპის მაგალითზე განვიხილავთ. ჰიპოკამპში აღწერილია LTP-სა და LTD-ს ორი ძირითადი ფორმა: ერთი, რომელიც უკავშირდება NMDA რეცეპტორების აქტივაციას და მეორე, რომელიც არ არის დამოკიდებული NMDA რეცეპტორებზე (Whitlock et al., 2006). LTP-სა და LTD-ს ცნობილი ფორმების უმრავლესობა შესწავლილია CA1 ველის NMDA რეცეპტორებზე და მათი მექანიზმები კარგადაა დახასიათებული. NMDA რეცეპტორების გააქტიურება იწვევს უჯრედში  $Ca^{2+}$ -ის იონების შესვლას (Kovalchuk et al., 2000), რომელსაც შეუძლია იმოქმედოს როგორც მეორადმა მესენჯერმა და პოსტსინაპსურ ნეირონში გამოიწვიოს მასზე დამოკიდებული სხვადასხვა ეფექტორის აქტივაცია. ფიქრობენ, რომ LTP-ს ან LTD-ს განვითარებას,  $Ca^{2+}$ -ის იონების მატების მაგნიტუდა და დროითი პატერნი, პროტეინკინაზებისა და ფოსფატაზების აქტიურობის განსხვავებულად რეგულირების გზით განსაზღვრავს (Lisman, 1989).

*AD-სთან ასოცირებული მეხსიერების დარღვევა.* როგორც აღვნიშნეთ, მეხსიერების დარღვევებს მნიშვნელოვნად განსაზღვრავს სინაპსური პროცესების დისფუნქცია. სინაპსური დისფუნქციის პროცესებში A $\beta$ -ს როლის ზუსტი ტესტირებისათვის მრავალ შრომაში სინაპსურ მახასიათებლებსა და სინაპსურ პლასტიკურობას იკვლევდნენ A $\beta$  პეპტიდის ეგზოგენური აპლიკაციის პირობებში. In vitro ექსპერიმენტებში ნანახია, რომ A $\beta$  პეპტიდების (მაგ., A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, ან A $\beta$ 25-35) ეგზოგენური შეყვანა, დაკბილული ხვეულის მარცვლოვან უჯრედებთან შემავალ პერფორანტულ გზაში ან CA1 ველში შემავალ შაფერის კოლატერალებში, აკავებს LTP-ს წარმოქმნას, თუმცა არ მოქმედებს ბაზისურ სინაპსურ ტრანსმისიაზე (Zhao et al., 2004). მსგავსი შედეგებია მიღებული in vivo ექსპერიმენტებში, რომლებშიც ჰიპოკამპის CA1 ველში შეყავდათ APP-ს მუტაციის მქონე (V717F მუტირებული APP751-ში) უჯრედებიდან ნატურალურად სეკრეტირებული A $\beta$  პეპტიდი, რაც ხელს უშლიდა LTP-ს სტაბილურ შენარჩუნებას (Walsh et al., 2002). ეს შრომა ასევე აჩვენებს, რომ ხსნადი A $\beta$  ოლიგომერები და არა მონომერული A $\beta$ , ან A $\beta$  ფიბრილები, არიან პასუხისმგებელი LTP-ს ბლოკირებაზე (Walsh et al., 2002). ამასთან, ნაჩვენებია, რომ A $\beta$  პეპტიდების in vivo ინექცია (მაგ., A $\beta$ 42 ან APP-ს C-ტერმინალი, რომელიც შეიცავს A $\beta$ -ს ფრაგმენტს) აადვილებს LTD-სა და LTP-ს რევერსს (იგივე დეპოტენციაცია) CA1 ველში (Kim et al, 2001). რადგან სენილურ ფოლაქებში ნანახია ფიბრილური A $\beta$ -ს აკუმულაცია, რაც ნიშანდობლივია AD-სთვის, მკვლევართა უმრავლესობა ვარაუდობს, რომ ეს ხსნადი A $\beta$  ოლიგომერები არღვევენ სინაპსურ ფუნქციას და იწვევენ ნეიროდეგენერაციას AD პაციენტებში (Walsh et al., 2002).

AD პაციენტების ტვინში ნანახია ნეირონთა ზედაპირზე მიბმული ხსნადი A $\beta$  ოლიგომერები (Gong et al., 2003), განსაკუთრებით სინაპსების პოსტსინაპსურ ნაწილთან (Lacor et al., 2004), რაც მიანიშნებს, რომ A $\beta$ -ს შეუძლია პირდაპირ არეგულიროს პოსტსინაპსური ფუნქცია. A $\beta$ -ს ერთ-ერთ სამიზნეს წარმოადგენს NMDA რეცეპტორი. ნანახია, რომ სინთეტურ A $\beta$ 40 პეპტიდებს შეუძლიათ სელექტიურად გაზარდონ ჰიპოკამპის დაკბილული ხვეულის ცოცხალ ანათლებში NMDA რეცეპტორული დენები,  $\alpha$ -ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოიეპროპიონული (acid  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic

acid - AMPA) რეცეპტორული დენების ცვლილების გარეშე (Wu et al., 1995). ამის მსგავსად, APPI (V717F მუტაცია) ტრანსგენურ თაგვებში ნანახია NMDA - AMPA რეცეპტორებს შორის შეფარდებაზე დამოკიდებული სინაპსური ტრანსმისის მატება CA1 ველში (Hsia et al., 1999). თუმცა, საწინააღმდეგო შედეგებია აღწერილი მოგვიანებით. ამ კვლევებში გამოვლინდა, რომ ორივე - სინთეტური A $\beta$ 42 პეპტიდების და APPS ტრანსგენურ თაგვებში ნატურალურად სეკრეტირებული A $\beta$  ხელს უწყობს NMDA რეცეპტორების ენდოციტოზს და იწვევს NMDA რეცეპტორული დენების დეპრესიას ქერქის ნეირონების კულტურაში (Snyder et al., 2005). უფრო მეტიც, მათ ასევე აჩვენეს NMDA რეცეპტორების ექსპრესიის შემცირება APPS ტრანსგენური თაგვების ქერქის ნეირონების კულტურაში (Snyder et al., 2005).

ამასთან, აღწერილია A $\beta$ -ს ზემოქმედებით პრესინაპსური ცვლილებები. სინთეტური A $\beta$  პეპტიდების აპლიკაცია ჰიპოკამპის ნეირონების კულტრაზე იწვევს დინამინის (პროტეინის, რომელიც აუცილებელია სინაპსური ვეზიკულების ენდოციტოზისათვის) შემცირებას და წყვეტს სინაპსური ვეზიკულების რეციკლირების პროცესს (Kelly and Ferreira, 2007). ეს მონაცემები თანხმობაშია იმ ფაქტთან, რომ AD პაციენტების ტვინში შემცირებულია დინამინის დონე (Yao et al., 2003).

ქოლინერგული  $\alpha$ 7-ნიკოტინური რეცეპტორი (alpha-7 nicotinic cholinergic receptor -  $\alpha$ 7-nAChR) - Ca<sup>2+</sup> იონების გამტარი იონური არხი - მრავლად არის წარმოდგენილი ჰიპოკამპსა და ტვინის ქერქში (Seguela et al., 1993) და წარმოადგენს A $\beta$ -ს ერთ-ერთ პოტენციურ სამიზნეს. A $\beta$ 42 პეპტიდებსა და  $\alpha$ 7-nACh რეცეპტორებს შორის დაკავშირების მაღალაფინურობა (Wang et al., 2000) განაპირობებს  $\alpha$ 7-nACh რეცეპტორების შეკავებას (Chen et al., 2006), ან გააქტიურებას (Dineley et al., 2001).  $\alpha$ 7-nACh რეცეპტორებზე A $\beta$  პეპტიდების ზემოქმედების ეფექტები დამოკიდებულია A $\beta$  პეპტიდის კონცენტრაციაზე: A $\beta$  პეპტიდის ნორმალური კონცენტრაცია (პიკომოლების რანგში),  $\alpha$ 7-nACh რეცეპტორების გააქტიურების გზით, პოზიტიურად არეგულირებს ჰიპოკამპის სინაპსებში პრესინაპსურ გამოთავისუფლებას და აადვილებს LTP-ს CA1 ველში და ასევე, დასწავლის პროცესს; თუ A $\beta$  პეპტიდების კონცენტრაციის დონე დაბალია ან

მაღალი (ნანომოლის რანგში),  $\alpha 7$ -nACh რეცეპტორებზე ზემოქმედების გზით, ეს პეპტიდი იწვევს პრესინაპსური ფუნქციის დეფიციტს ან არღვევს ჰიპოკამპში LTP-სა და დასწავლას (Palop and Mucke, 2010).

პრესენილინი 1 (presenilin - PS1) ნოკაუტირებული თავგებისაგან განსხვავებით, PS1/PS2-ის ორმაგი ნოკაუტი იწვევს ორ თვემდე ასაკის თავგებში LTP-ს დაქვეითებას, ხოლო 6 თვის ასაკისათვის ვლინდება უფრო ძლიერი სინაპსური დეფიციტი, პრესინაპსური შესავლის დაკარგვით, გაძლიერებული სინაპსური ტრანსმისიით და LTP-ს შემცირებული დონით (Saura et al., 2004). სავარაუდოდ, სინაპსური ფუნქციის ასეთი გაუარესებით უნდა აიხსნას ამ თავგებში კოგნიტიური ფუნქციების ასაკზე დამოკიდებული გაუარესება (Saura et al., 2004). ეს მონაცემები მიანიშნებს ზრდასრულ ტვინში პრესენილების მნიშვნელოვან როლზე სინაპსურ პლასტიკურობასა და ასევე, მეხსიერებასა და დასწავლის პროცესებში. სინაპსურ პლასტიკურობაზე PS1 ეფექტების უჯრედული მექანიზმების კვლევამ ორმაგ ნოკაუტირებულ თავგებში გამოავლინა პოსტსინაპსურ NMDA რეცეპტორზე დამოკიდებული პასუხის შემცირება, რაც კორელირებდა ქერქული სინაპსური NMDA რეცეპტორების ექსპრესიის შემცირებასთან (Saura et al., 2004). პრესენილინების ფუნქციის დაკარგვა ასევე მოქმედებს NMDA რეცეპტორების აქტივაციაზე დამოკიდებულ სასიგნალო სისტემაზე, რაც ასევე LTP-სა და მეხსიერების ფორმირებასთან ასოცირდება (Lynch, 2004). ეს ყოველივე მიუთითებს, რომ პრესენილინებს NMDA რეცეპტორებზე აქვთ არა მხოლოდ რეგულატორული ეფექტები, არამედ მოქმედებენ LTP-სა და მეხსიერების ფორმირებასთან ასოცირებულ NMDA რეცეპტორების აქტივაციაზე დამოკიდებულ სასიგნალო კასკადებზეც. ამასთან, შრომებში, რომლებშიც სწავლობდნენ ჰიპოკამპის CA1 ველის ნეირონებს, 2 თვემდე ასაკის PS ნოკაუტირებულ თავგების პრე- და პოსტსინაპსურ უბნებში NR2A სუბერთეულის შემცველი NMDA რეცეპტორების მოულოდნელად მაღალი რაოდენობა გამოვლინდა (Aoki et al., 2009).

გარდა ჩვენს მიერ განხილული ექსპერიმენტული მასალისა, არსებობს მრავალი სხვა მტკიცებულება, რომ AD პაციენტებში აღწერილ კოგნიტიურ სინდრომს წინ უსწრებს ცვლილებები სინაპსურ ეფექტურობაში. შესაბამისად,

ნათელია, რომ AD-ის ეფექტური მკურნალობისათვის საჭიროა ისეთი სამკურნალო სამიზნეების განსაზღვრა, რომლებიც მოიცავს, როგორც კოგნიტიურ, ასევე სინაპსურ დისფუნქციას.

### 1.3. AD-ის სამკურნალო სამიზნეების შესახებ

საუკუნეზე მეტია არსებობს ცნობები AD-ის შესახებ, თუმცა ეფექტური სამკურნალო საშუალება ჯერ-ჯერობით არ არსებობს. დღეისათვის AD-ს სიმპტომური მკურნალობისათვის ამერიკის შეერთებული შტატების საკვებისა და წამლების სააგენტოს მიერ დაშვებულია ოთხი წამალი. მსუბუქი და საშუალო სიმძიმის AD-ს დროს რეკომენდირებულია AChE ინჰიბიტორების - დონეპეზილის, რივასტიგმინის და გალანტამინის, ხოლო საშუალო და მძიმე ფორმის AD-ის დროს - NMDA რეცეპტორის არაკონკურენტული ანტაგონისტის - მემანტინის და დონეპეზილის გამოყენება (Querfurth and LaFerla, 2010). ცნობილია, რომ AChE ინჰიბიტორები ACh-ის მაჰიდროლიზირებელი ენზიმის AChE-ს შეკავების გზით, ზრდიან ACh-ის დონეს, რაც ამსუბუქებს ქოლინერგულ დისფუნქციასთან ასოცირებულ დაავადების სიმპტომებს AD პაციენტებში. მემანტინი მოქმედებს NMDA რეცეპტორებზე, აქვეითებს რა გლუტამატერგულ ტრანსმისიაში პათოლოგიურად მომატებულ აქტივაციის ტონურ დონეს, იცავს ნეირონებს ექსციტოტოქსიკურობისაგან და მისგან გამოწვეული ნეიროდეგენერაციისაგან.

კლინიკური მონაცემების თანახმად AD პაციენტებში დონეპეზილით 10 მგ/დღეში დოზით მკურნალობა სარწმუნოდ აუმჯობესებს კოგნიტიურ, ფსიქიატრიულ ფუნქციებს და პაციენტის მდგომარეობას, რაც მნიშვნელოვნად ამსუბუქებს ავადმყოფის მომვლელის დატვირთვას (Carrasco et al., 2011). საშუალო და მძიმე ფორმის AD პაციენტებისათვის დღიური დოზის გაზრდა 23 მგ/დღე-მდე, ასევე არის უსაფრთხო და მათ მიერ ადვილად გადაიტანება (Farlow et al., 2011). მემანტინი აუმჯობესებს კოგნიტიურ ფუნქციებს, ზოგადად, კომუნიკაციის უნარს და ზოგიერთ ქცევით სიმპტომს, მათ შორის აკვიატებული ქცევას და აგრესიას (Schulz et al., 2011; Rainer et al, 2011). საინტერესოა, რომ დონეპეზილს და მემანტინს აქვთ განსხვავებული ქცევითი ეფექტები: დონეპეზილი მოქმედებს დეპრესიაზე,

შფოთვაზე და აპათიაზე, მაშინ როცა, მემანტინი უპირატესად მოქმედებს აკვიატებულ ქცევაზე, აგრესიაზე და დელირიუმზე (Gauthier et al., 2005). თანამედროვე კლინიკურმა კვლევებმა აჩვენა, რომ დონეპეზილით და მემანტინით კომბინირებული მკურნალობა საშუალო და მძიმე ფორმის AD პაციენტებისთვის უსაფრთხოა და კარგად გადაიტანება (Patel and Grossberg, 2011). თუმცა, ზოგიერთი ავტორის მიხედვით, დონეპეზილით და მემანტინით კომბინირებული მკურნალობა არ იძლევა კოგნიტიური ფუნქციების ბევრად სარწმუნო გაუმჯობესებას, ვიდრე ცალკე დონეპეზილით მკურნალობა (Howard et al., 2012).

წამლები, რომლებიც ამჟამად გამოიყენება AD-ის სამკურნალოდ (ქოლინესტერაზა ინჰიბიტორები, NMDA რეცეპტორის ანტაგონისტები, ანტიფსიქოტური პრეპარატები) თერაპიულად ნაკლებეფექტურია. შედარებით ახალი, დაავადების მამოდიფიცირებელი თერაპიული მიდგომები, ძირითადად მიმართულია A $\beta$  და ტაუ პროტეინისკენ. ამილოიდური ჰიპოთეზიდან გამომდინარე, კვლევები რამდენიმე მიმართულებით მიმდინარეობს, რომლებიც ითვალისწინებს A $\beta$ -ს წარმოქმნის შემცირებას, A $\beta$ -ს აგრეგაციის პრევენციას, A $\beta$ -სგან გასუფთავების გაუმჯობესებას და ა.შ.

მიუხედავად იმისა, რომ ამილოიდური ჰიპოთეზის ძირითადი კონკურენტი არის ტაუ ჰიპოთეზა, ტაუზე მიმართული წამლებიდან მხოლოდ ერთმა პრეპარატმა (valproate; valproic acid) მიაღწია კლინიკური კვლევის III ფაზას, თუმცა მისი ეფექტი პაციენტის ფუნქციურ სტატუსსა და კოგნიტიურ ფუნქციებზე არ გამოვლინდა (Tarriot et al., 2009). უკანასკნელ პერიოდში, ტოქსიკური A $\beta$ -ს აგრეგატების წარმოქმნის და უკვე აგრეგირებული A $\beta$ -ს მოცილების მიზნით, მიმდინარეობს კვლევები აქტიური და პასიური იმუნიზაციის გამოყენებით.

თავიდან, AD-ს სამკურნალოდ დაიწყეს აქტიური იმუნიზაციის გამოყენება, რომლის სამიზნე იყო A $\beta$ . ეს ექსპერიმენტები შეჩერდა, რადგან პაციენტთა 6%-ში განვითარდა ასეპტიკური მენინგოენცეფალიტი, რომელიც განპირობებული იყო T-უჯრედებით გამოწვეული აუტოიმუნური პასუხით. მართალია ქერქი გაიწმინდა A $\beta$ -სგან, თუმცა არც კოგნიტიური გაუმჯობესება, ან ტაუ პათოლოგიის, ტვინის ამილოიდური ანგიოპათიის ცვლილებები არ გამოვლინდა (Foster et al., 2009). შესაბამისად, აქტიური იმუნიზაციის ნაცვლად, დაიწყეს პასიური იმუნიზაციის

გამოყენება. კვლევის პირველი და მეორე ფაზის შედეგების მიხედვით სოლანიზუმების (IgG1 - ანტიამილოიდური მონოკლონური ანტისხეულების) ერთჯერადი დოზით ზემოქმედებამ მნიშვნელოვანი კლინიკური გაუმჯობესება არ გამოიწვია. ეს ნაერთი უკავშირდება ხსნად მონომერს და დაბალი მოლეკულური წონის A $\beta$ -ოლიგომერის ფრაგმენტებს და არა ფიბრილირებულ ან მაღალი მოლეკულური წონის A $\beta$ -ოლიგომერის ფრაგმენტებს (Goure et al., 2014). სოლანიზუმების განმეორებითი გამოყენებისას მნიშვნელოვანი ცვლილებები არ გამოვლინდა მსუბუქი ან ზომიერი AD დემენციის მქონე პაციენტებში, თუმცა მსუბუქი AD ფორმის პაციენტების 34%-ში შეანელა კოგნიტიური ფუნქციების დაქვეითების ტემპი (Doody et al., 2014; Siemers et al., 2015). ეს ფაქტი მიუთითებს, რომ ამილოიდზე დამიზნებული თერაპია უფრო ეფექტურია AD-ის ადრეულ სტადიაში, ხილული სიმპტომების გამოვლენამდე (Wisniewski and Goni, 2014; Carrillo et al., 2013; Goure et al., 2014).

ვარაუდობენ, რომ ასაკთან დაკავშირებული AD-ის დროს ამილოიდური და ტაუ პათოლოგია ორი დამოუკიდებელი გზით ვითარდება (Small et al., 2008). ფოსფორილირებული ტაუს წარმოქმნა იწყება ტვინის ღეროში, განსაკუთრებით ლურჯი ლაქის (locus coeruleus) უბანში, ხოლო შემდეგ ტემპორალური ქერქის მედიალურ ნაწილში, ლიმბურ სტრუქტურებში, ასოციაციურ ქერქში და პირველად ქერქულ უბნებში. ამის საწინააღმდეგოდ, A $\beta$  ჩანართები პირველად ვლინდება ასოციაციურ ქერქში, ხოლო შემდგომ სხვა ქერქულ უბნებში, რუხ ნივთიერებაში, ტვინის ღეროსა და ნათხემში (Castellani and Perry, 2014). ვარაუდი, რომ ნეიროფიფრილური გორგლების წარმოქმნა A $\beta$ -სგან დამოუკიდებლად ხდება, გამომდინარეობს აგრეთვე იმ ფაქტიდან, რომ A $\beta$ -ს ვაქცინაცია თითქმის მთლიანად ასუფთავებს ტვინს A $\beta$ -სგან, თუმცა მძიმე და პროგრესირებადი ტაუ პათოლოგია რჩება და კლინიკური გაუმჯობესება არ ვლინდება (Holmes et al., 2008). ყოველივე ამან განაპირობა AD-ის მკურნალობისათვის თერაპიული სამიზნე გამხდარიყო ტაუ პათოლოგია. აქტიური იმუნიზაციის გამოყენება ამ შემთხვევაშიც მოიცავდა ენცეფალიტის ან ნეირონების აპოპტოზის რისკს (Rosenmann et al., 2006). პასიური იმუნიზაციის კვლევებით გამოვლინდა, რომ ანტი-ტაუ ანტისხეულების გამოყენება ეფექტურია, თუ იგი გამოიყენება ტაუ



პათოლოგიის დაწყებამდე (Boutajangout et al., 2011; Chai et al., 2011). აღწერილია, რომ ანტი-ტაუ ანტისხეულების გამოყენება ამცირებს ტაუ პათოლოგიას და აყოვნებს მოტორული დეფიციტის განვითარებას P301S ტრანსგენურ თაგვებში (Chai et al., 2011). ამჟამად, მიმდინარეობს ამ მიმართულებით კლინიკური კვლევები.

აღსანიშნავია, რომ ტაუს ჰიპერფოსფორილებისა და A $\beta$  აკუმულირების პრევენციის მიზნით თერაპიული მიდგომები უნდა ითვალისწინებდეს, რომ ეს თარაპიული საშუალებები არ უნდა მოქმედებდეს მათ (A $\beta$ -ს და ტაუს) ნორმალურ პროტექტორულ ფიზიოლოგიურ ფუნქციებზე. გამოვლენილია, რომ A $\beta$ -ს დაბალი დოზები აუმჯობესებს ხანგრძლივ პოტენციაციას და ჰიპოკამპში აცეტილქოლინის პროდუცირებას, რაც თავის მხრივ, იწვევს მეხსიერების გაუმჯობესებას (Morley and Farr, 2014), ხოლო APP ნოკაუტირებულ თაგვებში გამოვლენილია დეფიციტი სინაპსურ პლასტიკურობასა და ნეირონული ქსელების ფორმირებაში (Muller and Zheng, 2012). ტაუ ნოკაუტირებულ თაგვებში კი ვლინდება ასაკის მატებასთან ერთად პროგრესირებადი მოტორული დისფუნქცია (Ke et al., 2012).

აღცვიმერის დაავადების მქონე ადამიანების თავის ტვინის ბიოქიმიურმა და ნეიროპათოლოგიურმა კვლევებმა ნათლად აჩვენა ანთებითი პროცესების აქტივაცია, რამაც განაპირობა ანტიანთებითი წამლების ხანგრძლივი გამოყენების ეფექტების, როგორც ეპიდემიოლოგიური, ასევე კლინიკური კვლევების მიზანშეწონილობა. 30-ზე მეტ ეპიდემიოლოგიურ კვლევაში ნაჩვენებია ანთების საწინააღმდეგო წამლების შედეგად AD-ის განვითარების რისკის შემცირება ან გადავადება, თუმცა, ამასთან ერთად, აღწერილია უარყოფითი შედეგებიც.

შედარებით ახალ კვლევებში, რომლებშიც მონაწილეობდა ათასობით სუბიექტი, ხდებოდა ანთების საწინააღმდეგო წამლების კლასების მიხედვით კატეგორიზაცია და აღირიცხებოდა მიღებული წამლების რაოდენობა და ხანგრძლივობა. გამოვლინდა, რომ არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო წამლების გამოყენება მნიშვნელოვნად ამცირებს AD-ის განვითარების რისკს (Vlad et al., 2008). უფრო მეტიც, გამოვლინდა, რომ AD-ის განვითარების რისკის შემცირება დამოკიდებულია წამლის მიღების ხანგრძლივობაზე (Szekely et al., 2004). შრომებში, რომლებშიც უარყოფითი შედეგებია მიღებული, ასეთ შედეგს

ხსნიან იმ გარემოებით, რომ არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო წამლების გამოყენება კი არ ამცირებს AD-ის განვითარების რისკს, არამედ ხდება მისი გადავადება უფრო გვიანი ასაკისთვის. მართლაც, პაციენტები, რომლებიც ამ კვლევებში მონაწილეობდნენ უფრო ხანდაზმულები იყვნენ, ვიდრე სხვა კვლევებში მონაწილე პირები.

ეპიდემიოლოგიური კვლევის ფონზე რამდენადმე მოულოდნელი აღმოჩნდა კლინიკური კვლევის შედეგები. მაგ. სტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატის პრედნიზონის გამოყენებამ AD პაციენტებში გამოავლინა დადებითი შედეგების გარეშე გვერდითი ეფექტები - ქვევითი დარღვევების სახით (Aisen et al., 2000). ასევე უარყოფითი შედეგებით დასრულდა სხვა ანტიანთებითი პრეპარატების გამოყენებით მიმდინარე კლინიკური კვლევები. პრევენციის მიზნით AD-ის განვითარების მაღალი რისკის მქონე ჯგუფებზე ანტიანთებითი პრეპარატების გამოყენებით ჩატარებული კვლევებიც წარუმატებლად დასრულდა.

ამრიგად, AD-სთან ასოცირებული გენეტიკური, უჯრედული და მოლეკულური ცვლილებები, ეპიდემიოლოგიურ კვლევებთან ერთად, აჩვენებს, რომ AD-ის პათოგენეზში ანთებითი პროცესი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს და ანთების შეკავება შესაძლოა წარმატებული იყოს AD-ის მკურნალობისათვის. თუმცა, კლინიკური კვლევის შედეგებმა გამოავლინა AD-ის მკურნალობისთვის ანთებითი პროცესების სამიზნეების განსაზღვრის სიმძნელები და კომპლექსური მიდგომის აუცილებლობა.

*ღეროვანი უჯრედები AD-ის მოდელირებასა და მკურნალობაში.*  
უკანასკნელ პერიოდში გამოჩნდა ნეიროდეგენერციულ დაავადებათა, მათ შორის, AD-ის, პარკინსონის დაავადების, ამიოტროფული ლატერალური სკლეროზის მკურნალობაში წარმატებული შედეგები ღეროვანი უჯრედების გამოყენებით (Park et al., 2012; Martinez-Morales et al., 2013; Forostyak et al., 2014; Mazzini et al., 2012). რადგან, უჯრედულ თერაპიას უნარი აქვს დაავადების პათოგენეზში მონაწილე რამდენიმე ფაქტორზე ერთდროულად მოახდინოს ზემოქმედება, ვარაუდობენ, რომ მისი გამოყენება ეფექტური იქნება AD-ის განკურნების ან თუნდაც დაავადების განვითარების გადავადებისთვის.

უჯრედულ თერაპიაში მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედები ყველაზე ფართოდ გამოყენებადია მათი ადვილი წვდომადობის, *in vitro* გამრავლების უნარის და ემბრიონული ღეროვანი უჯრედებისგან განსხვავებით, ეთიკური შეზღუდვების არ აარსებობის გამო. გარდა ამისა, მათი აუტოტრანსპლანტანტად გამოყენების პოტენციალი გამორიცხავს ტრანსპლანტანტის შეუთავსებლობას და/ან იმუნო-დამთრგუნველებით გამოწვეულ გვერდით ეფექტებს. მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების მიღება შესაძლებელია სხვადასხვა ქსოვილიდან - ძვლის ტვინიდან, ჭიპლარის სისხლიდან, ცხიმოვანი ქსოვილიდან, პლაცენტიდან და ა.შ. (Kassem and Abdallah, 2008). აღსანიშნავია, რომ ტვინთან დაკავშირებული დაავადების სამკურნალო საშუალებები უნდა გადიოდნენ ჰემატოენცეფალურ ბარიერს და უნდა შეეძლოთ დაზიანებულ უბნებამდე მიღწევა. მიუხედავად იმისა, რომ მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ინტრავენური შეყვანის დროს გარკვეული ნაწილი აღწევს ტვინის დაზიანებულ უბნებს, უმეტესი ნაწილი შეიძლება ფილტვების მიერ იყოს მიტაცებული (Harting et al., 2008). ინტრავასკულარული (ვენა და არტერია) შეყვანის გარდა, ღეროვანი უჯრედების ინექცია შესაძლებელია ტვინის დაზიანებულ უბნებში ან ტვინის პარაკუჭებში, ასევე ნაზალური აპლიკაციით.

მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ეფექტები მოიცავს ზრდის ფაქტორების და ანტი-ანთებითი ციტოკინების პროდუცირებაზე და ასევე, ანტიაპოპტოზურ რეგულაციაზე მნიშვნელოვან გავლენას და იწვევს ნეირონების რეგენერაციას, რემიელინოზაციას და იმუნომოდულაციას (Urdzikova et al., 2014). არსებული ინფორმაციით, მეზენქიმურ ღეროვან უჯრედებს შეუძლიათ შეამცირონ A $\beta$ -ს დონე ამილოიდოგენეზზე ზემოქმედებით და/ან მიკროგლიის საშუალებით. პლაცენტიდან მიღებული ღეროვანი უჯრედები, APP-ის ექსპრესიისა და  $\gamma$ -სეკრეტაზის აქტიურობის შემცირების გზით, მნიშვნელოვნად ამცირებენ A $\beta$ -ს დონეს და იწვევენ კოგნიტიური ფუნქციების გაუმჯობესებას (Yun et al., 2013). ამ უჯრედების ჰიპოკამპში იმპლანტაცია მნიშვნელოვნად ამცირებს ჰიპერფოსფორირებულ ტაუსს, რაც სავარაუდოდ, A $\beta$ 42 შემცირების შედეგია (Li and Ikehara, 2013).

სუბვენტრიკულურ ზონაში ან დაკბილული ხვეულის მიდამოში მეზენქიმური ღეროვანი უჯრედების ტრასპლანტაცია ასტიმულირებს უჯრედების ზრდას, დიფერენცირებას და ენდოგენური ნერვული ღეროვანი უჯრედების ნეირონულ ფენოტიპად მომწიფებას (Kan et al., 2011). ცხიმოვანი უჯრედებიდან მიღებული ღეროვანი უჯრედების ტვინში ან ინტრავენურად შეყვანა მნიშვნელოვნად ზრდის ენდოგენურ ნეიროგენეზს, სინაპსურ და დენდრიტულ სტაბილურობას (Kim et al., 2012). ლატერალურ პარაკუჭებში ტრასპლანტირებული უჯრედები მიგრირებენ ჰიპოკამპში და დაკბილულ ხვეულში და იწვევენ ჰიპოკამპის ნეიროგენეზის სტიმულირებას (Tfilin et al., 2010), რაც მნიშვნელოვანია ნეირონების დაკარგვის ხარისხის შესამცირებლად AD პაციენტებში.

ზრდასრული ნერვული ღეროვანი უჯრედები წარმოდგენილია სუბვენტრიკულურ და დაკბილული ხვეულის სუბგრანულარულ ზონაში. მღრნელების სუბვენტრიკულური ზონიდან ყოველდღიურად 30000 ნეირობლასტი მიგრირებს საყნოსავი ბოლქვებისკენ, სადაც ისინი დიფერენცირდებიან გრანულარულ და პერიგლომერულურ ნეირონებად (Alvarez-Buylla et al., 2001). ახალგაზრდა ზრდასრული ვირთაგვების დაკბილული ხვეულის სუბგრანულარულ ზონაში ყოველდღიურად გენერირდება დაახლოებით 9000 უჯრედი (თვეში ეს შეადგენს დაახლოებით მთლიანი დაკბილული ხვეულის 6%-ს), თუმცა ამ უჯრედების უმეტესობა დაბადებიდან 1-2 კვირაში კვდება (Cameron and McKay, 2001). დაკბილულ ხვეულში გენერირებული უჯრედები ძირითადად კვლავ დაკბილული ხვეულის უჯრედებად ფორმირდება (Zhao et al., 2008).

დაბერებულ ვირთაგვებში ნერვული ღეროვანი უჯრედების რაოდენობა სუბვენტრიკულურ ზონაში 49%-ით მცირდება, თუმცა სუბგრანულარულ ზონაში მათი რაოდენობა არ მცირდება (Ahlenius et al., 2009). ასაკთან ერთად ნერვულ ღეროვანი უჯრედებში მიტოზის მარეგულირებლის - სურვივინის ექსპრესიის შემცირება იწვევს მათ ინერტულობას (Miranda et al., 2012) და ასაკთან დაკავშირებულ ნეიროგენეზის შემცირებას (Lee et al., 2012). დაბერებული ტვინიდან აღებულ ღეროვან უჯრედებს არა აქვთ ნეირონებად ტრანსდიფერენცირების უნარი, ტელომერების სიმოკლის და ტელომერაზა აქტიურობის დაქვეითების გამო (Ferron et al., 2009). ტვინში ღეროვანი უჯრედების

არსებობა ქმნის თერაპიულ შესაძლებლობას აღადგინოს ტრავმის ან დაავადების შედეგად დაზიანებული ნეირონები. ნერვულ ღეროვან უჯრედებს აქვთ თვითგანახლების უნარი და ტრანსპლანტაციის შემდეგ შეუძლიათ ნეირონებად, ასტროციტებად და ილიგოდენდროციტებად დიფერენცირება (Blurton-Jones et al., 2009). თუმცა, APP ნოკაუტირებულ თაგვებში მათ არ შეუძლიათ ეფექტურად გადაადგილება და ნეირონებად დიფერენცირება მკვდარი ნეირონებიდან სეკრეტირებული APP-ით გამოწვეული გლიოგენეზისის გამო (Sugaya, 2005).

თანამედროვე გენეტიკური ტექნოლოგიის მიღწევები ღეროვან უჯრედებში სპეციფიკური გენის ჩასმის ან ამოღების საშუალებას იძლევა. გენმოდიფიცირებულ უჯრედებს შესაძლოა ჰქონდეთ მძლავრი თერაპიული პოტენციალი AD-ის მკურნალობის საქმეში. ცნობილია, რომ ტვინში გამოყოფილი ნეიროტროფული ფაქტორი (Brain-derived neurotrophic factor- BDNF) პროდუცირდება ენტორინალურ ქერქში და მონაწილეობს ნეირონულ პლასტიკურობაში (Nagahara et al., 2009). AD პაციენტების ჰიპოკამპსა და ენტორინალურ ქერქში BDNF-ის დონე მნიშვნელოვნად ეცემა (Connor et al., 1997). AD-ის ტრანსგენურ (3xTg) თაგვის მოდელში BDNF-ის მასეკრეტიზირებელი ნერვული ღეროვანი უჯრედებით ზემოქმედება მნიშვნელოვნად ზრდის ნეირონთა სიმკვრივეს ჰიპოკამპში და იწვევს კოგნიტიური ფუნქციების გაუმჯობესებას A $\beta$ -ს და ტაუ პათოლოგიის შეუცვლელად (Blurton-Jones et al., 2009). თუმცა, იმავე ტრანსგენურ თაგვის მოდელში A $\beta$ -ს ჩანართები მნიშვნელოვნად მცირდება გენეტიკურად მოდიფიცირებული, A $\beta$ -ს დამშლელი ენზიმის მასეკრეტირებელი, ნერვული ღეროვანი უჯრედების ჰიპოკამპში ინექციის შედეგად, რაც თავის მხრივ, ზრდის სინაპსების სიმკვრივეს. არაგენმოდიფიცირებული ღეროვანი უჯრედები A $\beta$ -ს ჩანართებზე არ მოქმედებს (Blurton-Jones et al., 2014).

მას შემდეგ, რაც Yamanaka-მ და მისმა კოლეგებმა წარმოადგინეს ინდუცირებული პლურიპოტენტური ღეროვანი უჯრედები (Takahashi and Yamanaka 2006), კვლევის ახალ მიმართულებებს მიეცა განვითარების შესაძლებლობა. შესაძლებელი გახდა დეგენერაციულ დაავადებათა, მათ შორის AD-ის სხვადასხვა სახის უჯრედული მოდელის განვითარება. ამ უჯრედებზე

დაფუძნებული მოდელები საშუალებას იძლევა გაიშიფროს დაბერებასთან დაკავშირებული პათოგენეზი. მიუხედავად იმისა, რომ AD-ის პლურიპოტენტური უჯრედული მოდელები მნიშვნელოვანია AD-ის პათოგენეზის მოლეკულური მექანიზმების გამოსავლენად, აუცილებელია შემდგომი კვლევა AD-ის მოდელირებასა და მკურნალობაში ამ ტიპის უჯრედების გამოყენების გზების განსაზღვრისთვის.

ამრიგად, AD-ის პათოგენეზში მრავალი მნიშვნელოვანი ფაქტორის გამოვლენის მიუხედავად, არ არის გამოვლენილი მკურნალობის ეფექტური სტრატეგია. ზემოთ წარმოდგენილი სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა ნათლად აჩვენებს ცხოველური მოდელების მნიშვნელობას როგორც დაავადების პათოგენეზის კვლევის, ასევე მკურნალობის სტრატეგიის განსაზღვრისათვის.

#### **1.4. AD-ის ცხოველური მოდელები**

AD-ს თანმდევი პათოლოგიური პროცესებისა და წამლების პრეკლინიკური შესწავლისათვის ვალიდური ცხოველური მოდელების შექმნას კრიტიკული მნიშვნელობა აქვს. გასათვალისწინებელია, რომ ცხოველური მოდელის ვალიდურობა მჭიდროდ უკავშირდება ცხოველებში დაავადების ნიშნების გამოვლენას და მოიცავს კოგნიტიური უნარების დაქვეითებასა და ნეირონთა დაღუპვას. ყველაზე მეტად გამოყენებადი AD-ს ცხოველური მოდელები - ტრანსგენური თაგვები - მიიღება AD-სთან დაკავშირებული გენების ერთი, ორი ან სამმაგი მუტაციით, და ამ გზით მიღწეულია მნიშვნელოვანი პროგრესი AD-ს პათოლოგიის შესწავლაში (Gotz et al., 2007). თუმცა, ტრანსგენულ მოდელებს გააჩნიათ გარკვეული შეზღუდვები (Balducci and Forloni, 2011). მაგალითად, ადამიანებში აღწერილი ნეიროპათოლოგია, რომელიც ხასიათდება მასიური ნეიროდეგენერაციით, ცხოველურ მოდელებში იშვიათად ვლინდება, ხოლო, ყველაზე ხშირად გამოყენებადი ტაუ ტრანსგენული ცხოველები ასოცირდება მოტორულ დარღვევებთან, რაც მნიშვნელოვნად ამცირებს ქცევით ტესტებში მათი გამოყენების შესაძლებლობას. გარდა ტრანსგენული მოდელებისა, AD-ს ცხოველური მოდელების შექმნისათვის გამოიყენება ფარმაკოლოგიური მეთოდები, მათ შორის ტვინის ქიმიური დაზიანებებით მიღებული AD-ს

მოდელები, რომლებიც მნიშვნელოვანია განსაზღვრული პათოლოგიური გზების შესასწავლად (Woodruff-Pak, 2008, Dashniani, et al., 2009). სხვადასხვა ფარმაცოლოგიური ან ქიმიური სუბსტანციის ტვინში შეყვანით, ან ტვინის განსაზღვრული უბნის დაზიანებით, შესაძლებელია AD-ს ზოგიერთი მახასიათებლის რეპლიკაცია. ადამიანებში AD საკმაოდ კომპლექსური ხასიათისაა და პათოლოგიური ცვლილებები ვლინდება როგორც ქცევით, ასევე სტრუქტურულ და მოლეკულურ დონეზე და შესაძლოა, AD-ს ცხოველურ მოდელში მხოლოდ მათი ნაწილი გამოვლინდეს. მიუხედავად აღნიშნული შეზღუდვებისა, პროგრესი AD-ს პათოგენეზის შესწავლასა და მკურნალობის გზების განსაზღვრაში მნიშვნელოვნად უკავშირდება ცხოველური მოდელების შექმნას და/ან განვითარებას. AD-ის განვითარების პათოგენეზის მექანიზმების დასადგენად, თანამედროვე ექსპერიმენტულ კვლევებში ყველაზე ფართოდ გამოყენებადი ტრანსგენური თაგვის მოდელებია.

**ტრანსგენური თაგვის მოდელები.** როგორც აღვნიშნეთ, AD-ის ადრეული ფორმა დაკავშირებულია მემკვიდრეობით მიღებული 3 გენის (APP, PSEN1 და PSEN2) აუტოსომატურ დომინანტურ მუტაციასთან. პრესენილები, რომლებიც  $\gamma$ -სეკრეტაზა კომპლექსის კომპონენტებია,  $\beta$ -სეკრეტაზასთან ერთად გენერირებენ A $\beta$ -ს. ამის საწინააღმდეგოდ,  $\alpha$ -სეკრეტაზას აქტიურობა ხელს უშლის A $\beta$ -ს ფორმირებას. უმეტეს შემთხვევაში, AD-ის ადრეული ფორმის განვითარება PSEN1-ის და PSEN2-ის 130-ზე მეტი იდენტიფიცირებული მუტაციით არის განპირობებული. 20-ზე მეტი მუტაციაა აღწერილი APP-ში, რომელთაგან რამდენიმე [V717I 'ლონდონის' მუტაცია (Goate et al., 1991), V717F 'ინდიანას' მუტაცია (Murrell et al., 1991), K670D/M671L 'შვედური ან APPswe' მუტაცია (Mullan et al., 1992) და 'E693G' არქტიკული მუტაცია (Nilsberth et al., 2001)] ექსპრესირებულ იქნა ტრანსგენურ თაგვებში. AD-ის გვიან ფორმასთან დაკავშირებული რამდენიმე გენია განსაზღვრული, მათ შორის APOE. AD-ის ეს ორი ფორმა ჰისტოლოგიური ან კლინიკური ნიშნებით არ განსხვავდება და მათი დიფერენცირება მხოლოდ დაავადების დაწყების ასაკის მიხედვით არის შესაძლებელი. ტაუს მაკოდირებული გენის MAPT-ის მუტაცია AD-ის მქონე პაციენტებში არ არის გამოვლენილი.

ის ფაქტი, რომ AD-ის ადრეული ფორმის პაციენტებში აღმოჩენილია NFTs-სა და A $\beta$ -ს შემადგენელი ცილების მაკოდირებელი გენების მუტაცია, მიანიშნებს დაავადების განვითარებაში ამ ცილების როლზე, რამაც ბიძგი მისცა ტრანსგენური ცხოველური მოდელების გენერირებას (Gotz et al., 2007).

ტაუ ტრანსგენური თავის მოდელში, კვლევების საწყის ეტაპზე, ნეირონებში ექსპრესირდებოდა ადამიანის ველური ტიპის ტაუ იზოფორმა (Gotz et al., 1995) და გამოვლინდა წინამილოიდური ფოლაქების ფორმირება და ტაუს ჰიპერფოსფორილირება. მოგვიანებით, ფრონტოტემპორალური დემენციის მუტანტი P301L ტაუს ექსპრესიის საშუალებით, განხორციელდა აგრეგაცია და NFT-ის ფორმირება (Gotz et al., 2001). თავის ეს მოდელი გახდა ფართოდ გამოყენებადი ინსტრუმენტი დაავადებასთან დაკავშირებული პათოგენური მექანიზმების საკვლევად (Gotz et al., 2007) და შემდეგი მოდელები ამ წარმატების საფუძველზე შეიქმნა.

მოგვიანებით, ტრანსგენური ტექნიკის გამოყენებით, რომელიც ითვალისწინებს გენის ჩასმას სპეციფიკურ ლოკუსში შეიქმნა APP(SL)PS1KI ტრანსგენური თავი, რომელშიც PSEN1-ის მუტაციასთან კომბინირებული იყო ადამიანის APP-ს მუტანტური ფორმა, რამაც 10 თვის ასაკში ჰიპოკამპის CA1 ველის ნეირონების 50%-ის დაკარგვა გამოიწვია. ასეთი კომბინირებული მიდგომა წარმატებული აღმოჩნდა AD-ის მოდელირების საქმეში.

წარმატებული შედეგების მიუხედავად, არსებობს გენმოდიფიცირებული მოდელების კრიტიკის საფუძველები: მაგ. ადრეული ფორმის AD-სთან დაკავშირებული APP ექსპრესიით თავის მოდელები არ ამჟღავნებენ კოგნიტიური ფუნქციის დეფიციტს (Smith and Lippa, 1995), თუმცა, ერთ-ერთ შრომაში აღწერილია, რომ ადამიანის მუტირებული ცილის ჭარბი ექსპრესია თავგებში იწვევს კოგნიტიური ფუნქციის გაუმჯობესებას საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით (Busser et al., 1998); APP-ს ჭარბი ექსპრესიით შესაძლებელია მხოლოდ მემკვიდრეობითი, AD-ს ადრეული ფორმის მოდელირება; AD-ის თავის მოდელში პეპტიდის დეპოზიტები განსხვავდება ადამიანის ტვინში ნანახი დეპოზიტისგან, რაც მნიშვნელოვანია A $\beta$ -ს საწინააღმდეგო წამლების შერჩევითვის (Morgan, 1997); AD-ის



გენმოდიფიცირებული ცხოველურ მოდელებში, გარდა იმისა, რომ ექსპრესირდება ადამიანის APP-ის გენი, ასევე ექსპრესირდება ენდოგენური APP. თუმცა, ამ შემთხვევაში გაურკვეველი რჩება ენდოგენური APP-ის როლი. არსებული მონაცემების მიხედვით, ენდოგენური ცილა მნიშვნელოვანია დასწავლისათვის, თუმცა ეს საკითხი ნაკლებად არის შესწავლილი (Patrick et al., 1999). შესაძლოა, თავებში ენდოგენური A $\beta$ -ს მოშორებამ, ისევე როგორც ადამიანებში, უარყოფითად იმოქმედოს მეხსიერებაზე, რაც თავისთავად იმ პრობლემას ამძაფრებს, რომლის სამკურნალოდ არის ეს მოდელი გამოიხნული; AD-ის ორივე ფორმა პათოგენური განსხვავდება და მრავალ არაგენეტიკურ რისკ-ფაქტორს მოიცავს. მაგ.: მეორე ტიპის დიაბეტი; თავის მოდელები სუსტად წარმოადგენს ადამიანის AD ყველა მახასიათებელს.

*AD-ის სხვა ცხოველური მოდელები.* ჩვეულებრივ, AD ტრანსგენურ ცხოველურ მოდელებში, ნეიროანთება ძირითადად განიხილება, როგორც მეორადი პასუხი A $\beta$ -ს ჭარბ წარმოქმნასა და დეპოზიტების ფორმირებაზე. იგი მოიცავს მიკროგლიის აქტივაციას, კომპლემენტური სისტემის ჩართულობას და ციტოკინების წარმოქმნას (Krstic and Knuesel, 2012; Schwab, 2010). თუმცა, ამ მოდელში ანთებითი პასუხი არის არასრული და ნაკლებად მძიმეა, ვიდრე AD-ის მქონე პაციენტებში.

ნეიროანთებასთან დაკავშირებული პროცესების კვლევებში ყველაზე ფართოდ გამოყენებადი ნეიროანთების მოდელი არის ლიპოპოლისაქარიდებით გამოწვეული ნეიროანთება, რომელიც წარმოადგენს სტანდარტულ პარადიგმას in vivo (Kitazawa et al., 2005) და in vitro (Lehnardt et al., 2003) კვლევებში. ნეიროანთების განსხვავებული პარადიგმა ვითარდება ლიპოპოლისაქარიდების შეყვანის გზებზე, ზემოქმედების ხანგრძლივობაზე და ცხოველის ასაკზე დამოკიდებულებით.

AD-ის მქონე პაციენტებში მეხსიერების და სხვა კოგნიტიური თუ არაკოგნიტიური ფუნქციის დარღვევების თანადროულად აღწერილია ბაზალური წინატვინის ქოლინერგული ნეირონების დეგენერაცია. ამასთან, მრავალ კვლევაშია ნაჩვენები, რომ ჰიპოკამპდამოკიდებული დასწავლა ასოცირებულია ჰიპოკამპში აცეტილქოლინის დონის მატებასთან; შესაბამისად, უჯრედგარეთა

აცეტილქოლინის მატება ჩართულია ჰიპოკამპდამოკიდებული მეხსიერების პროცესებში (Micheau and Marighetto, 2011). შესაბამისად, ჰიპოკამპის ქოლინერგული დეაფერენტაციის მოდელი, რომელიც მედიალური სეპტუმის სხვადასხვა ერგული ნეირონული პოპულაციების ელექტრული თუ იმუნოტოქსინებით სელექტიურ და/ან არსელექტიური დაზიანების მეთოდის გამოყენებით მიიღწევა ეფექტური აღმოჩნდა მეხსიერებისა და ქოლინერგული სისტემის ურთიერთკავშირის გამოსავლენად. მაგალითად, ექსპერიმენტულ კვლევებში ნაჩვენებია, რომ ბაზალური წინატვინისა და მათი ქერქული პროექციების დაზიანებით გამოწვეული ქოლინერგული აქტიურობის დაქვეითება იწვევს დასწავლისა და მეხსიერების დეფიციტს (Schliebs and Arendt, 2011). მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანება იწვევს LTP-ს გაუარესებას და ჰიპოკამპში გლუტამატერგული სინაპსური დენების ცვლილებას (Kanju et al., 2012). ფარმაკოლოგიურ ექსპერიმენტებშიც ნანახია, რომ ქოლინერგული რეცეპტორების აგონისტები და აცეტილქოლინესთერაზა ინჰიბიტორები (AChEIs) ამცირებენ ზოგიერთ კოგნიტიურ დისფუნქციას (Hasselmo and Sarter, 2011), მაშინ როცა, ანტიქოლინერგული წამლები იწვევენ დასწავლისა და მეხსიერების დეფიციტს ადამიანებშიც და ცხოველებშიც (Easton et al., 2012).

ოკადაიკის მჟავა (Okadaic Acid - OA) - პოლიეტერ C38 ცხიმოვანი მჟავა, წარმოადგენს ტოქსინს, რომელიც გამოყოფილია შავი ღრუბელი *Hallethondria okadaii-ისაგან*, რომელიც გავრცელებულია მთელ მსოფლიოში (Reguera et al., 2012). ოკადაიკის მჟავით და მისი წარმოებულებით დაბინძურებული მოლუსკები ხშირად ხდება ადამიანების მოწამვლის მიზეზი. მოლუსკებით დიარეტული მოწამვლა პირველად 1970 წელს იაპონიაში აღწერეს (Yasumoto et al., 1978), თუმცა მოგვიანებით ბევრ სხვა ქვეყანაში დაფიქსირდა.

ჯერ კიდევ 1988 წელს Bialojan-მ და Takai-მ (Bialojan and Takai, 1988) გამოაქვეყნეს, რომ OA ნანომოლარული კონცენტრაციით იწვევს გარკვეული პროტეინ ფოსფატაზების შეკავებას. OA-ს შემაკავებელი მოქმედება გაცილებით ეფექტურია PP2A მიმართ, ვიდრე PP1-ის მიმართ (Takai et al., 1992). OA ასევე არის PP4 და PP5-ის პოტენციური შემაკავებელი. ეს ნაერთი ეფექტური აღმოჩნდა პროტეინ ფოსფატაზების ფუნქციის კვლევის საქმეში (Swingle and Honkanen, 2007).

AD-ის პათოგენეზში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს პროტეინ ფოსფატაზების აქტიურობის ცვლილება. AD პაციენტების ნეირონებში ნეიროფიბრილური გორგლების ფორმირებას წინ უსწრებს წყვილადი ფილამენტების (paired helical filaments) დაგროვება, რომელიც უპირატესად შედგება ჰიპერფოსფორირებული ტაუ პროტეინისგან. ვარაუდობენ, რომ AD-ის განვითარების პროცესში ტაუ პროტეინის ჰიპერფოსფორირება განპირობებული უნდა იყოს კინაზების აქტიურობის მომატებით, ან ფოსფატაზების აქტიურობის დაქვეითებით (Planel et al., 2001; Hernandez et al., 2002). თავის ტვინში მრავალი ფოსფატაზა არსებობს და მათ შორის ერთ-ერთი PP2A ფართოდ არის წარმოდგენილი. OA-ს აქვს პოტენცია მოახდინოს PP2A-ს აქტიურობის შეკავება და ამით გამოიწვიოს ტაუს ჰიპერფოსფორილიზაცია. ნაჩვენებია ზოგიერთი ფოსფატაზის შემცირება და აქტიურობის კლება AD პაციენტების ტვინის პათოლოგიაში ჩართულ უბნებში. OA-ს ინტრაცერებრალური ინექციის შემდეგ Arendt- მა და კოლეგებმა (Arendt et al., 1998) აჩვენეს PP1 და PP2A შეკავება.

OA-ს ტვინის ქსოვილში ან პარაკუჭებში ინექციის AD-ის მოდელის გამოყენებით, Kamat-მა და კოლეგებმა (Kamat et al., 2015) აჩვენეს, რომ ოკადაიკის მჟავა იწვევს ოქსიდატიურ სტრესს, მიტოქონდრიულ დისფუნქციას, უჯრედების აპოპტოზურ კვდომას, ნეიროინფლამაციას და ნეიროტოქსიკურობას. ყოველი ზემოჩამოთვლილი შეცვლილი ფუნქცია AD-ის მსგავსი დაავადებების პათოლოგიური პროცესების განვითარების რისკ-ფაქტორებს წარმოადგენენ. შესაბამისად, ოკადაიკის მჟავა შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას, როგორც ექსპერიმენტული საშუალება ნეიროდეგენერაციის მექანიზმებისა და AD-ს ახალი თერაპიული სამიზნეების გამოსავლენად.

## თავი 2. ექსპერიმენტის მეთოდის (ზოგადი ნაწილი)

### 2.1. მასალა

ექსპერიმენტები ჩატარებულია თეთრი ფერის, 220-300 გრ წონის, 89 ზრდასრულ, მამრ ვირთაგვაზე. ექსპერიმენტების განმავლობაში ცხოველები საკვებსა და წყალს შეუზღუდავად იღებდნენ. ლაბორატორიულ ცხოველებზე ექსპერიმენტები ტარდებოდა ი. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრის მიერ დადგენილი ცხოველთა მოვლისა და ექსპერიმენტებში მონაწილეობის დადგენილი წესების დაცვით.

### 2.2. ნეიროქირურგიული ოპერაციები

ოპერაციისთვის ცხოველთა ანესთეზირება ქლორალ-ჰიდრატის 4%-იანი ხსნარის (0,9 მლ/კგ-ზე) საშუალებით ხორციელდებოდა. OA გახსნილი იყო ხელოვნურ ცერებროსპინალურ სითხეში (artificial cerebrospinal fluid – aCSF) და ინტრაცენტრიკულარულად (intracerebroventricular - ICV) (A: 0,2 მმ ბრემიდან, L: 1,1 მმ და V: 3,6 მმ) 200 ნგ/10 მკლ სტერეოტაქსული მეთოდით შეგვყავდა ბილატერალურად. საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში კი OA-ს ნაცვლად პარაკუჭებში ბილატერალურად შეგვყავდა 10 მკლ aCSF. დორსალურ ჰიპოკამში (A: -4,2 მმ ბრემიდან, L: 2,8 მმ და V: 2,8 მმ) OA შეგვყავდა ასევე ბილატერალურად (100 ნგ/1 მკლ aCSF-ში), საკონტროლო ჯგუფში კი aCSF (1 მკლ). OA და aCSF შეიყვანებოდა 5 წუთის განმავლობაში და საინექციო შპრიცს ვაყოვნებდით დამატებით 5 წუთი, ინექციის ადგილიდან შეყვანილი სითხის დიფუზიის მიზნით. ყველა ინექციისათვის ვიყენებდით ჰამილტონის შპრიცს და მიკროსაინექციო ტუმბოს (CMA 402 Syringe Pump, შვედეთი). ქცევითი ამოცანებით ცხოველთა ტესტირება ოპერაციიდან 10-12 დღის, ცხოველების სრული გამოჯანმრთელების შემდეგ იწყებოდა. ექსპერიმენტების სხვადასხვა სერიაში ქცევითი ამოცანებით ტესტირების პირობები და პროცედურა კონკრეტული ამოცანის შესაბამისად იცვლებოდა. ცალკეულ ექსპერიმენტთან დაკავშირებული მასალა და ქცევითი ექსპერიმენტების მეთოდის აღწერილია შესაბამის ქვეთავებში.

### 2.3. ჰისტოლოგია

ქცევითი ექსპერიმენტების დასრულების შემდეგ საკონტროლო და ექსპერიმენტული ცხოველების პერფუზია ინტრაკარდიალურად, ქლორალჰიდრატის 4% ხსნარით (60 მგ/კგ-ზე), ინტრაპერიტონიალური ნარკოზის ქვეშ ტარდებოდა. პერფუზიის საწყის ეტაპზე, 2 წთ-ის განმავლობაში, NaCl-ის 0,9%-იანი ხსნარი (30 მლ/წთ-ში), შემდეგ კი, 15 წთ-ის განმავლობაში ფიქსატორი - 4%-იანი ფორმალინის ხსნარი (30 მლ/წთ, დამზადებული 0,1 მოლ-ის Na-ის ფოსფატურ ბუფერზე, PH=7,4) შეგვყავდა. პერფუზიის შემდეგ, ტვინის პოსტფიქსირება იგივე ფიქსატორში, 4 სთ-ის განმავლობაში მიმდინარეობდა. ტვინი იჭრებოდა ბლოკებად და გამოყენებამდე ინახებოდა -70°C-ზე. ცხოველის ტვინიდან ანათლების მიღება ხდებოდა გამყინავ მიკროტომზე; კერძოდ, მიიღებოდა 20 მკ-ის სისქის მქონე, სერიული ანათლები. ანათლები 0,1 მოლ-ის Na-ის ფოსფატურ ბუფერში 30 წთ-ით დაყოვნების შემდეგ, პოლილიზინით დამუშავებულ სასაგნე მინებზე ფიქსირდებოდა მიკროსკოპით შემდგომი შესწავლის მიზნით.

ოკადაიკის მჟავას პარკუჭებში ან ჰიპოკამპში მიკროინექციის შემთხვევაში თავის ტვინის შესასწავლი სტრუქტურების ციტოარქიტექტონიკური საზღვრების იდენტიფიკაციისათვის, ასევე ნეირონების დაკარგვის ხარისხის დასადგენად, გამოიყენებოდა ნისლის მეთოდი, რისთვისაც ანათლები კრეზილ-ვიოლეტით, სტანდარტული მეთოდიკის მიხედვით იღებებოდა. იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით ჰიპოკამპის ანათლებზე ვაფასებდით აცეტილქოლინესტერაზა (Acetylcholinesterase - AChE) მგრძნობიარე, ხოლო მედიალური სეპტუმის (Medial Septum - MS) ანათლებზე აცეტილქოლინტრანსფერაზა (Acetylcholintransferase - ChAT და პარვალბუმინ (parvalbumine - PV) მგრძნობიარე გამა-ამინო-ერბო მჟავა ერგული (GABA) უჯრედების რაოდენობას. თვითოეული ჯგუფიდან შემთხვევითი შერჩევით ხდებოდა ნიმუშების აღება იმუნოშელისათვის. კორონალური ანათლები (20 მკ) იჭრებოდა გამყინავ მიკროტომზე და დაფიქსირებული ანათალი იღებებოდა AChE, ასევე ChAT და PV პირველადი ანტისხეულებით და ABC შეღებვის სისტემით. შეღებილი პრეპარატების შესწავლა ხდებოდა ოპტიკური მიკროსკოპით - Leica MM AF. უჯრედების რაოდენობრივი

შეფასება ხდებოდა ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებსა და MS-ში. დასათვლელად გამოიყენებოდა ორ განზომილებიანი დასათვლელი ბადე (250  $\mu\text{m}$  X 250  $\mu\text{m}$ ) და გადიდება შეადგენდა 400-ს. როგორც საექსპერიმენტო, ისე საკონტროლო ჯგუფიდან ხდებოდა მედიალური სეპტუმის და ჰიპოკამპის 6-10 ანათლის შერჩევა. ჯამურად, თვითეულ ცხოველში ანალიზდებოდა 30 მხედველობის ველი. ყველა რეაგენტი მოწოდებულ იქნა Santa Cruz Biotechnology-ის (Inc. USA) მიერ.

#### 2.4. სტატისტიკური ანალიზი.

ქცევით ექსპერიმენტებში მიღებული მონაცემების სტატისტიკური ანალიზისათვის გამოიყენებოდა სტატისტიკური პროგრამა - SigmaStat statistical software. მონაცემთა დამუშავება ხდებოდა ორ- ან ერთფაქტორიანი ANOVA-ს გამოყენებით. საჭიროების შემთხვევაში ტარდებოდა *post hoc* ანალიზი (Tukey's ტესტი). საკონტროლო და ოკადაიკის მიკროინექციის მქონე ჯგუფებიდან მიღებული ჰისტოლოგიური მონაცემების შესადარებლად გამოიყენებოდა Two-sample *t*-ტესტი. ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც საშ  $\pm$  SEM. განსხვავებათა სარწმუნოება ფასდებოდა  $p < 0.05$  დონეზე.

### თავი 3. მიღებული შედეგები

### **3.1. ტვინის პარკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავას მიკროინექციის ეფექტები მეხსიერებასა და ჰიპოკამპის სტრუქტურაზე**

#### **3.1.1. ჰიპოკამპში ნეიროდეგენერაციული პროცესების კვლევა ტვინის პარკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავის მიკროინექციის მქონე და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში**

ცნობილია, რომ AD-ს დროს თავის ტვინის რამდენიმე უბანი ექვემდებარება დეგენერაციულ პროცესებს, რაც იწვევს ნეირონულ დისფუნქციას დაავადების ადრეულ სტადიაში. ჰიპოკამპის ჩართულობა მეხსიერების პროცესებში კარგადაა ცნობილი და ნაჩვენებია, რომ ჰიპოკამპი არის ტვინის უბანი, რომელშიც პირველ რიგში ვითარდება AD-სთვის დამახასიათებელი პათოგენური პროცესები. AD პაციენტებში ნანახია ჰიპოკამპის ნეირონების სარწმუნო კლება, მათი ასაკის საკონტროლო ჯგუფის ადამიანებთან შედარებით (Padurariu et al., 2012). ამასთან ჰიპოკამპში ნეირონების დაკარგვის განაწილება ნორმალური დაბერებისას და AD-ს დროს ნაკლებადაა შესწავლილი.

ზემოაღნიშნულიდან გამომდინარე, ჰისტოლოგიურ კვლევებში ტვინის პარკუჭებსა და ჰიპოკამპში OA-ს მიკროინექციის მქონე და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველების ნისლის მეთოდით შეღებილ ანათლებზე ფასდებოდა პირამიდული ნეირონების რაოდენობა და აგრეთვე, OA-ს მიკროინექციით გამოწვეული მათი დაკარგვის ხარისხი.

##### **3.1.1.1. ჰისტოლოგიური კვლევის შედეგები**

ჰიპოკამპის ტვინის ანათლების ჰისტოლოგიური კვლევა ტარდებოდა ცხოველთა 4 ჯგუფში: 1. OA(ICV) (OA-ს მიკროინექცია პარკუჭებში), 2. Control(ICV) (aCSF მიკროინექცია პარკუჭებში), 3. OA(hipp) (OA-ს მიკროინექცია ჰიპოკამპში). 4. Control(hipp) (aCSF მიკროინექცია ჰიპოკამპში). ნისლის შეღების მეთოდები აღწერილია ზოგადი მეთოდის ქვეთავში. იხ. 2.2.

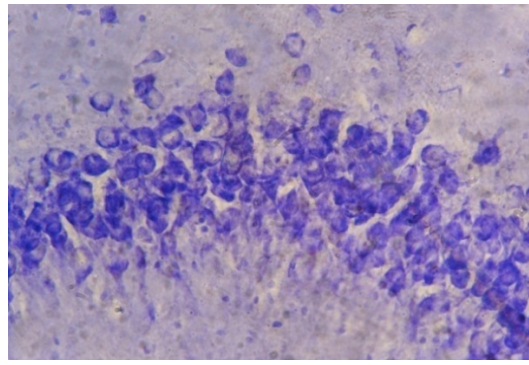
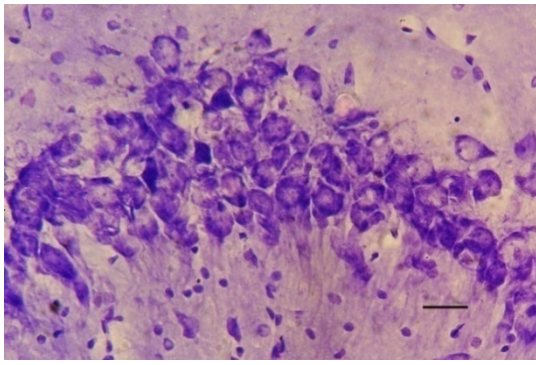
ჰისტოლოგიურ კვლევებში Control(ICV) და Control(hipp) ჯგუფებში მიღებულ შედეგებს შორის სარწმუნო განსხვავების არარსებობის გამო, ეს ორი ჯგუფი გაერთიანებულია ერთ - საკონტროლო ჯგუფში. საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით OA(ICV) ჯგუფის ცხოველების ჰიპოკამპის ანათლების ნისლის

მეთოდით შეღებვამ გამოავლინა პირამიდული უჯრედების სარწმუნო შემცირება CA1 და CA3 ველებში ( $p < 0.001$ ;  $p < 0.01$ , შესაბამისად). ასევე სარწმუნო განსხვავება გამოვლინდა OA(hipp) ჯგუფის CA1 და CA3 ველებში ( $p < 0.001$ ;  $p < 0.01$ , შესაბამისად). გამოვლინდა, რომ პირამიდული უჯრედების რაოდენობა ჰიპოკამპის ორივე ველში OA(ICV) ჯგუფში სარწმუნოდ მეტია OA(Hipp) ჯგუფთან შედარებით (CA1 -  $p < 0.01$ ; CA3 -  $p < 0.05$ ). სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების ტვინის ანათლების ნიმუშები და ჰისტოლოგიური კვლევის შედეგები წარმოდგენილია სურ. 1, 2, და 3-ზე.

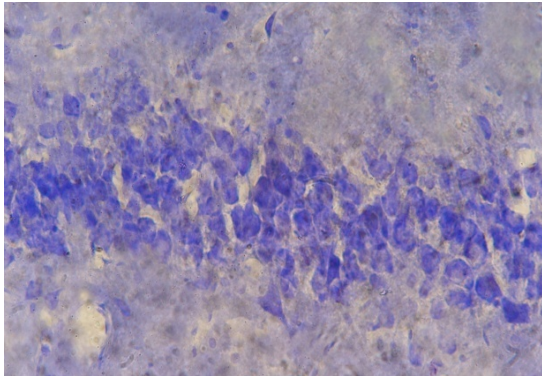
ამრიგად, ჰისტოლოგიურ კვლევებში ტვინის პარკუჭებსა და ჰიპოკამპში OA-ს მიკროინექციის მქონე და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველების ნისლის მეთოდით შეღებილ ანათლებზე პირამიდული ნეირონების რაოდენობის შეფასებამ გამოავლინა:

1. ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია ტვინის პარკუჭებში ან დორსალურ ჰიპოკამპში იწვევს პირამიდული უჯრედების სარწმუნო შემცირებას ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველში.
2. ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია ჰიპოკამპში იწვევს ჰიპოკამპის ნეირონების უფრო ინტენსიურ დაღუპვას ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველში, ამ ტოქსინის ტვინის პარკუჭებში მიკროინექციასთან შედარებით.





OA(hipp)

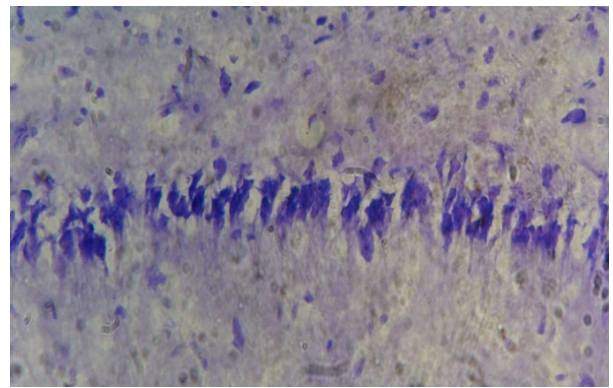
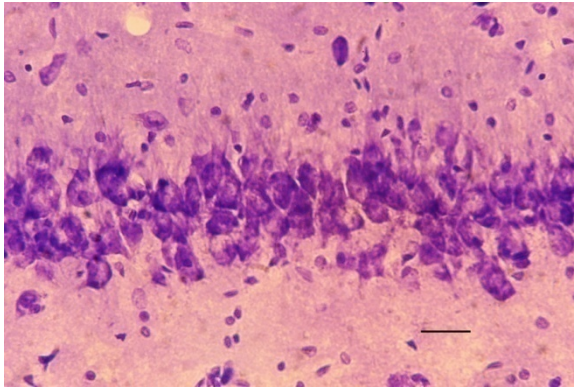


სურ. 1. ნისლის მეთოდით შეღებილი სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების ჰიპოკამპის CA3 ველის ანათლების ნიმუშები, რომელიც აჩვენებს OA(ICV) და OA(hipp) ჯგუფებში ნეირონების რაოდენობის შემცირებას კონტროლთან შედარებით.

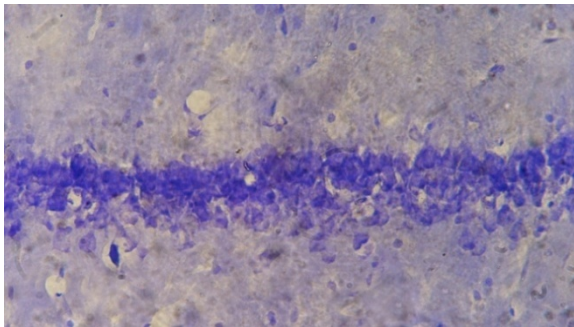
Scale bar, 50  $\mu$ m.

control

OA(ICV)

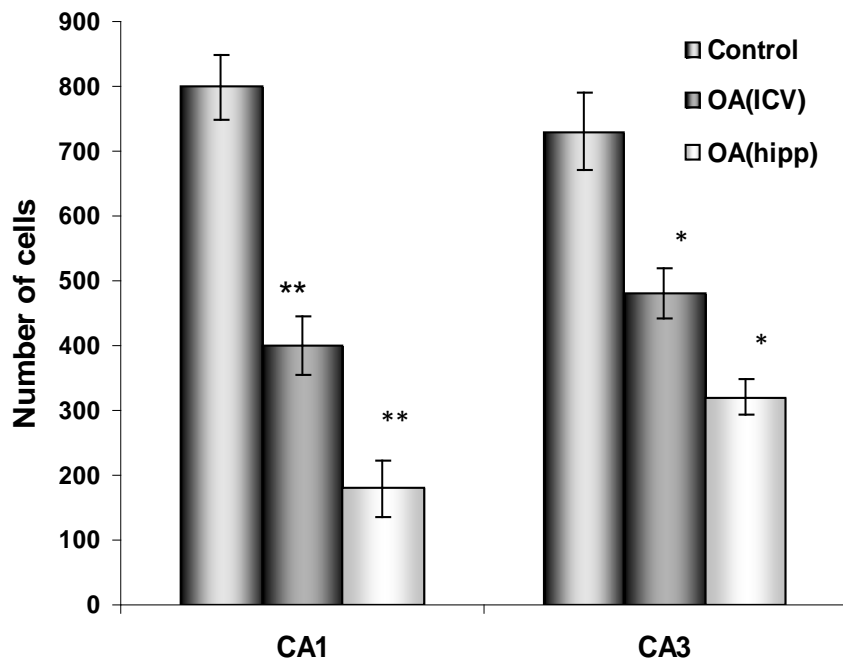


OA(hipp)



სურ. 2. ნისლის მეთოდით შეღებილი სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების ჰიპოკამპის CA1 ველის ანათლების ნიმუშები, რომელიც აჩვენებს OA(ICV) და OA(hipp) ჯგუფებში ნეირონების რაოდენობის შემცირებას კონტროლთან შედარებით.

Scale bar, 50  $\mu$ m.



სურ. 3. ოკადაიკის მუავის მიკროინექციის ეფექტები ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში პირამიდული ნეირონების დაკარგვაზე. ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც საშ ± SEM (N= 7-8 თითოეულ ჯგუფში).

\*\*P ≤ 0.001 vs Control, \*P ≤ 0.01 vs Control.

3.1.2. ტვინის პარაკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მუავას მიკროინექციის ეფექტები ამოცნობის მეხსიერებაზე.

ცნობილია, რომ ჰიპოკამპი ასრულებს მნიშვნელოვან როლს მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებში, თუმცა ამოცნობის მეხსიერებაში მისი მონაწილეობა სადავოა. სხვადასხვა ქცევით ექსპერიმენტებში, რომლებშიც იკვლევდნენ ამოცნობის მეხსიერებას გამოვლინდა ჰიპოკამპის უპირატესი მნიშვნელობა იმ შემთხვევაში, როცა ამოცანა მოიცავდა სივრცით ან დროით კომპონენტს (Balderas et al., 2012; Barbosa et al., 2012; Barker and Warburton, 2011). ჩვენმა ჰისტოლოგიურმა კვლევებმა აჩვენა, რომ OA-ს მიკროინექცია როგორც ტვინის პარაკუჭებში, ასევე ჰიპოკამპში იწვევს ჰიპოკამპში ნეირონების დაღუპვას (იხ. ქვეთავი 3.1.1.). შესაბამისად, ექსპერიმენტების მიზანს წარმოადგენდა ტვინის პარაკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავას მიკროინექციის ეფექტების კვლევა სივრცის და ობიექტების ამოცნობით მეხსიერებაზე.

აღნიშნული პროცესების შესაფასებლად ვიყენებდით არაასოციაციურ ამოცანას, რომელიც არ მოითხოვს ჯილდოთი განმტკიცებას. ამ ამოცანაში ვირთაგვას ვათავსებდით ღია ველის ცენტრში, სადაც წარედგინებოდა ოთხი ობიექტი და ჰაბიტუაციის სამი სესიის შემდეგ, ვაფასებდით რეაქციას ობიექტის სივრცითი (სივრცითი სიახლე) და ობიექტის ფიზიკური მახასიათებლების (ობიექტის სიახლე) ცვლილების მიმართ.

### **3.1.2.1. მეთოდები**

**ცხოველები:** ექსპერიმენტები ჩატარებულია 220-250 გ. წონის დაახლოებით 4 თვის ასაკის 23 მამრი ვირთაგვების 4 ჯგუფზე: OA(ICV) - n = 8; control(ICV) - n = 4; OA(hipp) - N=8; control(hipp) - n = 4.

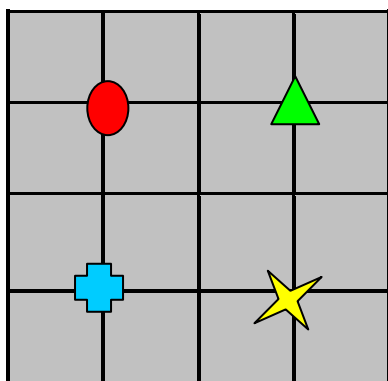
**ნეიროქირურგიული ოპერაცია.** დაწვრილებით აღწერილია ზოგადი მეთოდების თავში. იხ. 2.2.

**ქვევითი საექსპერიმენტო გარემო და აპარატურა.** ქვევით ექსპერიმენტებში გამოყენებული იყო კვადრატული ფორმის, ხის კედლებიანი ღია ველის კამერა (65 x 65 x 75 სმ), რომელიც ნათდებოდა ღია ველის კამერის იატაკიდან ერთი მეტრით დაშორებული 60 ვატიანი ნათურით. კამერის იატაკი თეთრი საღებავით დაყოფილი იყო 16 თანაბარი ზომის კვადრატად (სურ. 4). ღია ველი გარემოსგან იზოლირებული იყო 1.5 მეტრი სიგრძის თეთრი ფერის ქსოვილით. შესაბამისად, გარემო იყო ერთგვაროვანი; ფარდის არსებობა განაპირობებდა საექსპერიმენტო

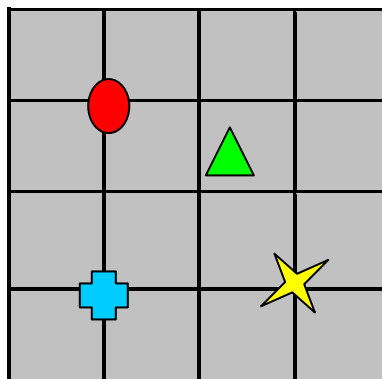
ცხოველის მაქსიმალურ ყურადღებას შიდა მიკროგარემოზე. ერთადერთ ნიშანს წარმოადგენდა ფარდაზე მიმაგრებული ზოლიანი პოსტერი (სიგანე 30 სმ და სიგრძე 60 სმ). ექსპერიმენტის მიმდინარეობის მონიტორინგისათვისა და ცხოველთა ქცევის ვიდეოფორზე ჩაწერისათვის და შემდგომი ანალიზისათვის გამოიყენებოდა ვიდეოთვალთვალისა და ჩაწერის კომპიუტერული სისტემა. ღია ველში ცხოველებს წა რედგინებოდა ერთმანეთისაგან სრულიად განსხვავებული მინისაგან, პლასტიკისაგან ან მეტალისაგან დამზადებული ობიექტი, რომელთა ჩანაცვლება სხვადასხვა სესიაში ხდებოდა სხვა იდენტური ობიექტით. ობიექტთა წონა გამორიცხავდა ცხოველის მიერ მათი გადაადგილების შესაძლებლობას. ექსპერიმენტებში, შესაძლებლობის ფარგლებში, შერჩეული იყო და გამოიყენებოდა ფიგურები, რომელსაც ბიოლოგიური მნიშვნელობა არ ჰქონდა ცხოველისათვის და ადრე არ იყო დაკავშირებული რაიმე განმამტკიცებელ სტიმულთან.

**ქცევითი ექსპერიმენტის დიზაინი.** ცხოველებს ინდივიდუალურად ეძლეოდათ ხუთი სამ წუთიანი სესია, თვითოეულ სესიას შორის იყო 24 საათიანი დაყოვნება. ყოველ სესიაში ცხოველი ფრთხილად თავსდებოდა კამერის ცენტრში. პირველ სესიაში მათ წარედგინებოდათ ოთხი ფერით, ფორმით და ზომით განსხვავებული ობიექტი (ა, ბ, გ, დ). ცხოველებს ეძლეოდათ ჰაბიტუაციისთვის სამი სესია, ხოლო მეოთხე სესიაში ერთ-ერთი ობიექტის (ბ) ადგილმდებარეობა იცვლებოდა, მეხუთე სესიაში კი ერთ-ერთი ნაცნობი ობიექტი (გ) იცვლებოდა ახალი (ე) ობიექტით, რომელიც იგივე ადგილზე წარედგინებოდა. ახალ და ნაცნობ ობიექტებთან, ასევე ახალ და ძველ ადგილას წარდგენილ ობიექტებთან გატარებული დროის რეგისტრაცია ხდებოდა მეოთხე და მეხუთე დღეს სამი წუთის განმავლობაში. ცხოველის ტესტირებისას ყნოსვის ფუნქციის მნიშვნელობის გამოსარიცხად, თვითოეული სესიის შემდგომ ხდებოდა ექსპერიმენტში გამოყენებული ობიექტების ახალი, იდენტური ობიექტებით შეცვლა, ხოლო ღია ველის იატაკი იწმინდებოდა 20%-იანი ეთანოლის წყალხსნარით და მშრალდებოდა ქსოვილით.

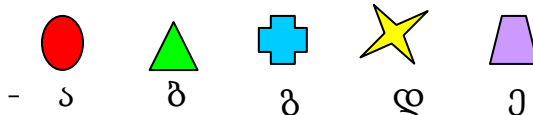
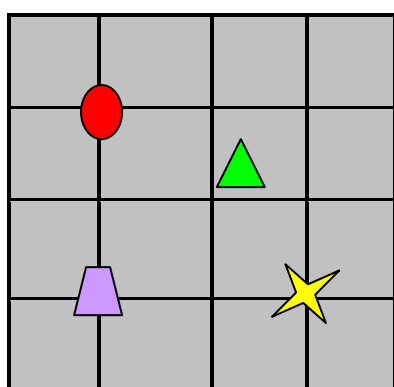
I, II და III სესია



IV სესია



V სესია



სურ. 4. ღია ველის და მასში განლაგებული ობიექტების სქემატური გამოსახულება

*ქვევითი პარამეტრების გაზომვები.* ღია ველში ლოკომოტორული აქტიურობა ფასდებოდა ცხოველის მიერ ღია ველში მოძრაობისას გადაკვეთილი კვადრატების

რაოდენობის დათვლის საშუალებით. პირველ და მესამე სესიას შორის კვადრატების გადაკვეთათა რაოდენობის შემცირება მიიჩნეოდა, როგორც გარემოს მიმართ ჰაბიტუაცია. ჰაბიტუაცია ფასდებოდა პირველ და მესამე სესიაში გადაკვეთათა რაოდენობის შედარებით. ექსპერიმენტებში აღირიცხებოდა ცხოველთა მიერ თითოეულ ობიექტთან გატარებული დრო. ცხოველის მიერ ობიექტთან კონტაქტად ითვლებოდა ცხვირით 2 სმ-ზე ნაკლები მანძილით მიახლოება ან მასთან შეხება. ობიექტების მიმართ ჰაბიტუაცია ფასდებოდა პირველ და მესამე სესიაში ოთხივე ობიექტთან გატარებული დროის ჯამის შედარებით. ვირთაგვის პასუხი სივრცით სიახლეზე (მეოთხე სესიაში) და ობიექტის ფიზიკური მახასიათებლის სიახლეზე (მეხუთე სესიაში) ფასდებოდა, როგორც დისკრიმინაციური ინდექსი (DIs), რომლის გამოყენება მიღებულია კვლევით ქცევაში ინდივიდუალური განსხვავებების შესაფასებლად (Dix, Aggleton, 1999). ადგილის ცვლილების დისკრიმინაციული ინდექსი, გამოითვლება შემდეგი ფორმულით:  $DI_D = t_D / (t_{ND} + t_D)$ , სადაც  $t_D$  არის ადგილნაცვალ ობიექტთან გატარებული დრო,  $t_{ND}$ -ძველ ადგილას წარდგენილ ობიექტებთან გატარებული დროის საშუალო. ობიექტის ფიზიკური მახასიათებლის სიახლის დისკრიმინაციული ინდექსი  $DI_N$  გამოითვლება შემდეგნაირად:  $DI_N = t_N / (t_F + t_N)$ ,  $t_N$  არის ახალი ობიექტთან გატარებული დრო,  $t_F$ - უკვე ნაცნობ ობიექტებთან გატარებული დროის საშუალო (Niewiadomska et al., 2006).

თვითოეული ცხოველის კვადრატების გადაკვეთა, ასევე ობიექტებთან გატარებული დროის დათვლა, ხდებოდა მანუალურად, ვიდეოფირზე აღბეჭდილი ცხოველთა ქცევის ინსპექტირების გზით. მონაცემთა დათვლას აწარმოებდა პირი, რომელიც არ მონაწილეობდა ცხოველთა ტესტირებაში.

**სტატისტიკური ანალიზი.** სტატისტიკური ანალიზისათვის გამოიყენებოდა - SigmaStat statistical software. ღია ველში ლოკომოტორული აქტიურობა და ობიექტების მიმართ კვლევითი ქცევა ფასდებოდა ANOVA-ს (Two-Way ANOVA) გამოყენებით (ფაქტორები: ჯგუფი და სესია). პირველ სამ სესიაში ლოკომოტორულ აქტიურობასა და ობიექტების მიმართ კვლევით ქცევაში ოთხივე ჯგუფში მნიშვნელოვანი განხვავების გამოსავლენად გამოიყენებოდა One-Way ANOVA, ასევე ჰაბიტუაციისა და დისკრიმინაციის ინდექსების ჯგუფებს შორის

განსხვავების გამოსავლენად. საჭიროების შემთხვევაში ტარდებოდა *post hoc* ანალიზი (Tukey's ტესტი). ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც საშ  $\pm$  SEM. განსხვავებათა სარწმუნოება შეფასებულია  $p < 0.05$  დონეზე.

### 3.1.2.2. მიღებული შედეგები.

საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებიდან ერთი ცხოველი ექსპერიმენტების დამთავრებამდე მოკვდა და მისი მონაცემები გამოირიცხა სტატისტიკური დამუშავებიდან. control(ICV) და control(hipp) ჯგუფებში ქცევით ექსპერიმენტებსა და ასევე, ჰისტოლოგიურ კვლევებში მიღებულ მონაცემთა შორის სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა ( $P > 0.05$ ) და შესაბამისად, ამ ორი ჯგუფის ცხოველები გაერთიანდა ერთ ჯგუფში და შემდგომ მოვიხსენიებთ, როგორც საკონტროლო ჯგუფს ( $n = 7$ ).

**ლოკომოტორული აქტიურობა და გარემოს მიმართ ჰაბიტუაცია.** ANOVA-ამ (The Two-Way ANOVA) ლოკომოტორულ აქტიურობაში გამოავლინა ჯგუფის არასარწმუნო ეფექტი ( $F_{2,68}=0,142, P=0.868$ ), თუმცა აჩვენა სესიების მნიშვნელობა ( $F_{2,68}=6,357, P=0.003$ ). ასევე არ გამოვლინდა სარწმუნო ურთიერთკავშირი ჯგუფსა და სესიებს შორის ( $F_{4,68}=0,603, P=0.662$ ). *post hoc* ანალიზმა აჩვენა პირველ და მესამე სესიებს შორის ლოკომოტორული აქტიურობის მაჩვენებლების სარწმუნო განსხვავება საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში ( $P=0.019$ ), თუმცა OA(hipp) და OA(ICV) ჯგუფის ცხოველებში სესიებს შორის ლოკომოტორული აქტიურობის მაჩვენებლების სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა ( $P=0.085, P=0.475$ , შესაბამისად). პირველ და მესამე სესიას შორის კვადრატების გადაკვეთათა რიცხვის შემცირება ფასდებოდა, როგორც გარემოსადმი ჰაბიტუაცია. მე-5 სურათზე წარმოდგენილია სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების სამი სესიის ლოკომოტორული აქტიურობის მაჩვენებლები.

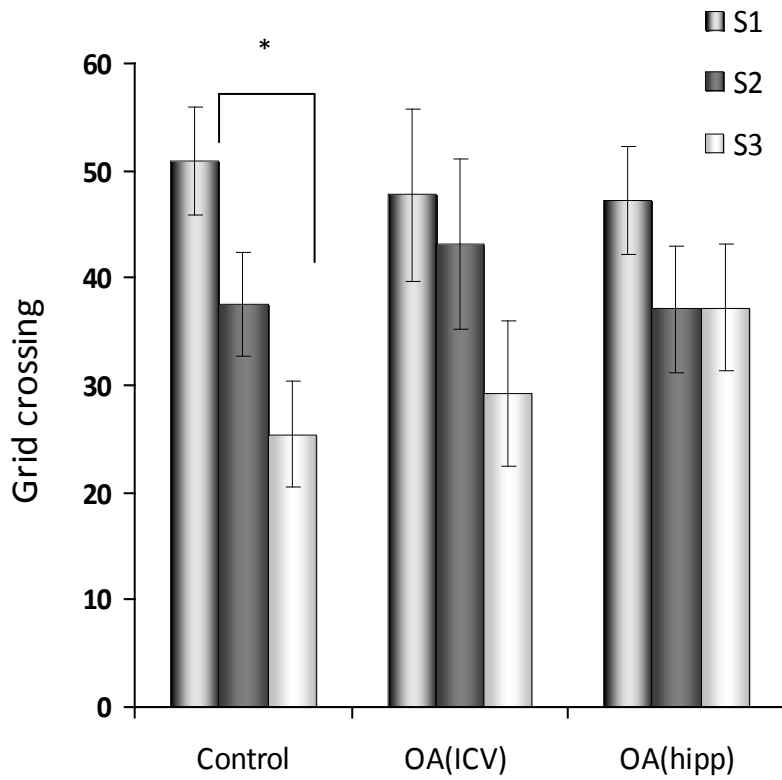
**ობიექტების კვლევა და ობიექტების მიმართ ჰაბიტუაცია.** ANOVA-ამ (The Two-Way ANOVA) ობიექტების კვლევაში გამოავლინა ჯგუფის არასარწმუნო ეფექტი ( $F_{2,68}=0,763, P=0.471$ ), თუმცა აჩვენა სესიების მნიშვნელობა ( $F_{2,68}=5,290, P=0,008$ ). ამასთან, გამოვლინდა სარწმუნო ურთიერთკავშირი ჯგუფსა და სესიებს შორის ( $F_{4,68}=3,706, P=0.009$ ). *post hoc* ანალიზმა აჩვენა პირველ და მესამე სესიებს შორის ობიექტების კვლევის მაჩვენებლების სარწმუნო განსხვავება საკონტროლო



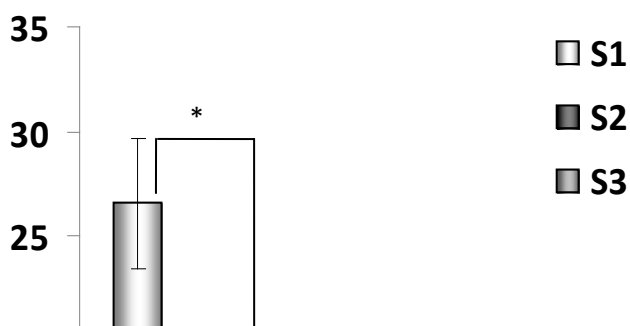
ჯგუფის ( $P=0.019$ ) ცხოველებში, თუმცა OA(hipp) და OA(ICV) ჯგუფის ცხოველებში პირველ და მესამე სესიებს შორის მნიშვნელოვანი განსხვავება არ გამოვლინდა ( $P=0.985$ ,  $P=0.766$ , შესაბამისად). ობიექტების მიმართ ჰაბიტუაცია ფასდებოდა პირველ და მესამე სესიაში ოთხივე ობიექტთან გატარებული დროის შემცირებით. მე-6 სურათზე წარმოდგენილია სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების პირველი სამი სესიის მაჩვენებლები.

მე-7 სურათზე წარმოდგენილია ჰიპოკამპუსა და ტვინის პარაკუჭებში ოკადაიკის მჟავას მიკროინექციის ეფექტები სივრცითი ცვლილების (ა) და ობიექტის ცვლილების (ბ) ქცევით პასუხზე, რომელიც გამოხატულია დისკრიმინაციული ინდექსით. მონაცემთა სტატისტიკური დამუშავებით (One-way ANOVA) გამოვლინდა, რომ ადგილის სიახლის დისკრიმინაციული ინდექსის საშუალო მაჩვენებლები სხვადასხვა ჯგუფში სარწმუნოდ განსხვავდება ( $F_{2,22}=13,243$ ,  $P<0.001$ ). Post hoc ანალიზმა აჩვენა მნიშვნელოვანი განსხვავება საკონტროლო და OA-Hipp ჯგუფებს შორის ( $P<0.001$ ), ხოლო საკონტროლო და OA-ICV ჯგუფებს შორის განსხვავება არასარწმუნოა ( $P>0.711$ ).

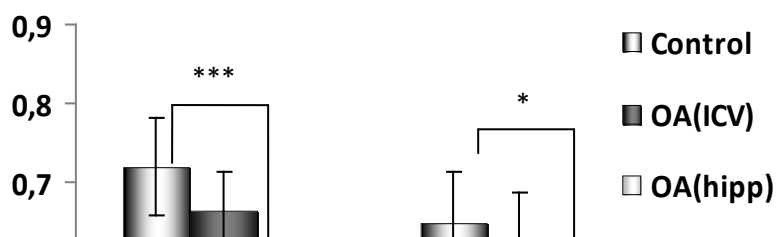
სტატისტიკური ანალიზით (One-way ANOVA) გამოვლინდა, რომ ობიექტის სიახლის დისკრიმინაციული ინდექსის საშუალო მაჩვენებლები სხვადასხვა ჯგუფში სარწმუნოდ განსხვავდება ( $F_{2,22}=4,558$ ,  $P=0.023$ ). Post hoc ანალიზმა აჩვენა მნიშვნელოვანი განსხვავება საკონტროლო და OA(hipp) ჯგუფებს შორის ( $P=0.038$ ), ხოლო საკონტროლო და OA(ICV) ჯგუფებს შორის განსხვავება არასარწმუნოა ( $P=0.976$ ).



სურ.5. ჰიპოკამპსა და ტვინის პარაკუჭებში ოკადაიკის მჟავას მიკროინექციის ეფექტები გარემოს მიმართ ჰაბიტუაციაზე. პირველ, მეორე და მესამე სესიას შორის კვადრატების გადაკვეთათა რიცხვის შემცირება ფასდება როგორც გარემოსადმი ჰაბიტუაცია. ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც საშ ± SEM. \* $P < 0.05$ .



სურ. 6. ჰიპოკამპსა და ტვინის პარაკუჭებში ოკადაიკის მჟავას მიკროინექციის ეფექტები ობიექტების მიმართ ჰაბიტუაციაზე. კვლევის მიზნით ობიექტებთან გატარებული დროის შემცირება პირველ და მესამე სესიებს შორის მიჩნეულია როგორც საზომი, ობიექტების მიმართ ჰაბიტუაციისა. ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც საშ ± SEM. \* $P < 0.05$



სურ. 7. ჰიპოკამპსა და ტვინის პარაკუჭებში ოკადაიკის მჟავას მიკროინექციის ეფექტები სივრცითი ცვლილების და ობიექტის ცვლილების ქცევით პასუხზე, რომელიც გამოხატულია დისკრიმინაციული ინდექსით.

*DID* - ადგილის ცვლილების დისკრიმინაციული ინდექსი

*DIN* - ობიექტის ცვლილების დისკრიმინაციული ინდექსი

ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც საშ ± SEM. \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

ამრიგად, ტვინის პარკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავის მიკროინექციის ეფექტების კვლევამ (Naneishvili, Chighladze et al., 2015) ჰაბიტუაციის პროცესსა და ამოცნობის მეხსიერებაზე ღია ველში გამოავლინა:

1. ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია ტვინის პარკუჭებში ან დორსალურ ჰიპოკამპში იწვევს გარემოსა და ობიექტების მიმართ ჰაბიტუაციის პროცესის გაუარესებას ღია ველში.
2. ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია ტვინის პარკუჭებში არ აუარესებს სივრცითი ან ობიექტების სიახლის დეტექციის უნარს ვირთაგვებში.
3. ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია ჰიპოკამპში არღვევს სივრცით და ობიექტების ამოცნობის მეხსიერებას ვირთაგვებში.
4. ოკადაიკის მჟავის ჰიპოკამპში მიკროინექციის პირობებში გამოვლინდა კორელაცია ჰიპოკამპის ნეირონების დალუპვასა და ამოცნობის მეხსიერების დეფიციტს შორის.

### **3.1.3. ტვინის პარკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავის მიკროინექციის ეფექტები სივრცით მეხსიერებაზე**

ცნობილია, რომ ჰიპოკამპი ასრულებს მთავარ როლს ხანგრძლივ მეხსიერებასა და სივრცით ნავიგაციაში (Manns et al., 2003). ცნობილია მისი გადამწყვეტი მნიშვნელობა მღრღნელებში სივრცითი მეხსიერების პროცესებში (Nadel, 1998). ზოგიერთმა ავტორმა აჩვენა, რომ სივრცითი დასწავლის გაუარესება პირდაპირპროპორციულია დორსალური ჰიპოკამპის დაზიანების მოცულობასთან, მაგრამ არა ვენტრალური ჰიპოკამპის დაზიანებისა (Moser et al., 1995).

კვლევის ამ სერიაში ფასდებოდა ვირთაგვებში OA-ს პარკუჭებსა და ჰიპოკამპში ორმხრივი მიკროინექციის ეფექტები სივრცით მეხსიერებაზე, თავდაცვით მოტივაციაზე დაფუძნებულ სივრცით ამოცანაში, წყლის აუზის უხილავბაქნიან ვერსიაში, რომელიც აფასებს ხანმოკლე და ხანგრძლივ სივრცით მეხსიერებას და დასწავლის პროცესს.

### 3.1.3.1. მეთოდები

**ცხოველები:** ექსპერიმენტები ჩატარებულია 220-250 გ. წონის დაახლოებით 4 თვის ასაკის 26 მამრი ვირთაგვების 4 ჯგუფზე: OA(ICV) - n = 8; control(ICV) - n = 5; OA(hipp) - N = 8; control(hipp) - n = 5.

**ნეიროქირურგიული ოპერაცია.** დაწვრილებით აღწერილია ზოგადი მეთოდების თავში. იხ. 2.2.

**ქცევითი ექსპერიმენტის დიზაინი.** სივრცითი მეხსიერება ფასდებოდა თავდაცვით მოტივაციაზე დაფუძნებული სივრცითი ამოცანით (Morris et al., 1982). ცხოველთა ტესტირება ორიენტირებით მდიდარ გარემოში მორისის წყლის აუზის (დიამეტრი 1.5 მ; სიმაღლე 0.5 მ) პირობებში ტარდებოდა. ექსპერიმენტების დროს აუზი შევსებული იყო გაუმჭვირვალე (თეთრად შეფერილი) წყლით. სურ. 8A-ზე წარმოდგენილია მორისის აუზის სქემატური გამოსახულება. ცხოველს უნდა დაესწავლა აუზის ერთ-ერთ სექტორში განთავსებული ბაქნის (დიამეტრი 10 სმ) ადგილმდებარეობა, რომელიც წყლის ზედაპირიდან 2 სმ-ით იყო ჩამირული, შესაბამისად ცხოველისათვის უხილავი იყო. ყოველ სინჯში ცხოველი შემთხვევითი თანმიმდევრობით, ოთხიდან ერთ-ერთ სასტარტო ადგილზე, სახით კედლისკენ თავსდებოდა. 1 წუთის განმავლობაში მას ბაქნის მოძიების, ხოლო შემდეგ 15 წმ ბაქანზე ყოფნის საშუალება ეძლეოდა. ამოცანის სხვადასხვა სინჯში ბაქნის ადგილმდებარეობა გარემოში არსებული ორიენტირების მიმართ არ იცვლებოდა. ვირთაგვებს ბაქნის მოძიებისთვის ეძლეოდათ 60 წამი. თუ ბაქანს ცხოველი 60 წამის განმავლობაში ვერ პოულობდა, მას ბაქანზე ექსპერიმენტატორი ათავსებდა. სინჯებს შორის ინტერვალი შეადგენდა 2 წუთს. სატესტო სინჯებში ბაქანი ამოღებული იყო აუზიდან. სატესტო სინჯებში ცხოველების გაცურვის სასტარტო წერტილები სქემაზე აღნიშნულია a და b ასოებით.

ამოცანა მოიცავდა ორ ეტაპს: პირველ დღეს ეძლეოდათ 8 სინჯი (ტრენირების ანუ დასწავლის პერიოდი), რომლის მონაცემები გაერთიანებულია 2 ბლოკში: 1 - 4 სინჯი შეადგენს I ბლოკს, ხოლო 5 - 8 სინჯი II ბლოკს. ამ სინჯების დასრულებიდან 30 წთ-ში ეძლეოდა პირველი სატესტო სინჯი, რომელიც აფასებდა ხანმოკლე სივრცით მეხსიერებას, ხოლო მეორე დღეს (24 სთ-ის შემდეგ) - მეორე სატესტო სინჯი, რომელიც აფასებდა ხანგრძლივ სივრცით მეხსიერებას.

წყლის აუზში ცხოველის გაცურვის ტრექტორიის, ასევე სხვა რაოდენობრივი მონაცემების (ბაქნის პოვნის ლატენტური დრო, აუზის ცალკეულ სექტორში გატარებული დრო, გაცურვის მანძილი და სხვა) აღრიცხვისთვის გამოიყენებოდა ჩვენს ლაბორატორიაში შექმნილი ვიდეოთვალთვალისა და მონაცემთა დამუშავების ორიგინალური კომპიუტერული პროგრამა.

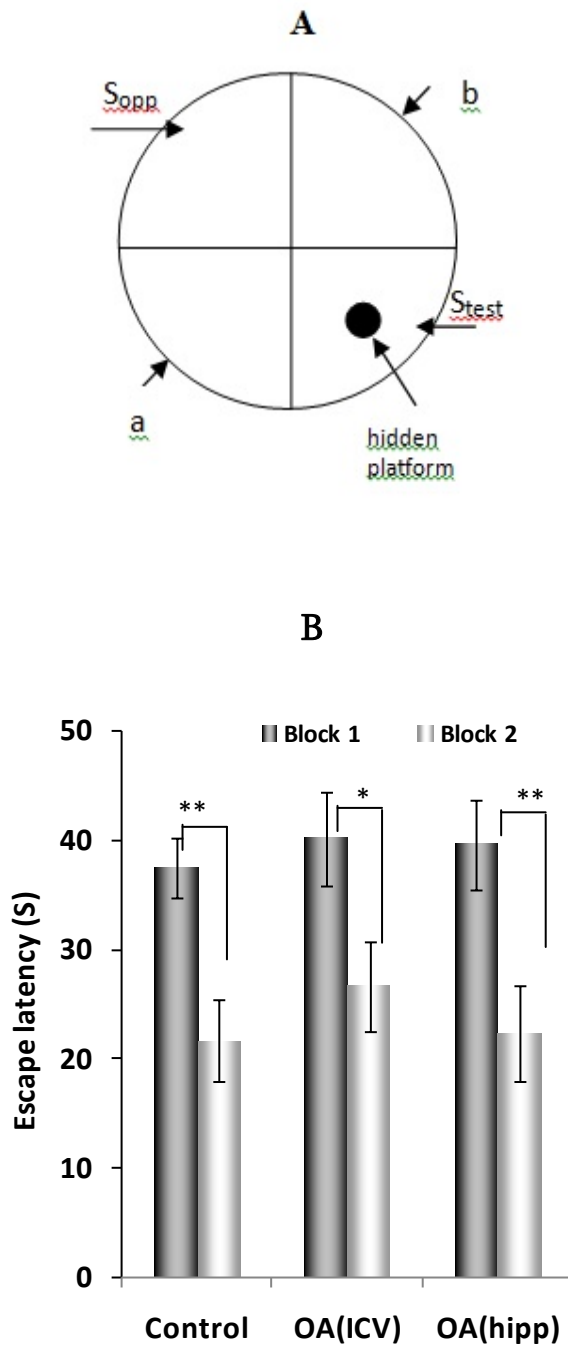
**სტატისტიკური ანალიზი:** ქცევით ექსპერიმენტებში სხვადასხვა ჯგუფებში მიღებულ მონაცემთა შორის განსხვავების სარწმუნობა ფასდებოდა ANOVA-ას გამოყენებით (The Two-Way ANOVA; SigmaStat statistical software). საჭიროების შემთხვევაში ტარდებოდა *post hoc* ანალიზი (Tukey's ტესტი). ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც საშ ± SEM. განსხვავებათა სარწმუნობა შეფასებულია  $p < 0.05$  დონეზე.

### 3.1.3.2. მიღებული შედეგები

control(ICV) და control(Hipp) ჯგუფებში ქცევით ექსპერიმენტებსა და ასევე, ჰისტოლოგიურ კვლევებში მიღებულ მონაცემთა შორის სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა ( $P > 0.05$ ) და შესაბამისად, ამ ორი ჯგუფის ცხოველები გაერთიანდა ერთ ჯგუფში და შემდგომ მოვიხსენიებთ, როგორც საკონტროლო ჯგუფს ( $n = 10$ ).

ბაქნის პოვნის ლატენტურ დროთა სტატისტიკურმა ანალიზმა (Two-Way ANOVA, ფაქტორები: ჯგუფი და ბლოკი) გამოავლინა ჯგუფის არასარწმუნო ეფექტი ( $F_{2,51}=0.515$ ,  $P=0.601$ ), თუმცა აჩვენა ბლოკის სარწმუნო ეფექტი ( $F_{1,51}=24.061$ ,  $P < 0.001$ ). ამასთან, ჯგუფებსა და ბლოკებს შორის სარწმუნო ურთიერთკავშირი არ გამოვლინდა ( $F_{2,51}=0.111$ ,  $P = 0.895$ ). *post-hoc* ანალიზმა აჩვენა პირველ და მეორე ბლოკებს შორის ბაქნის პოვნის ლატენტურ დროებს შორის სარწმუნო განსხვავება საკონტროლო ( $P = 0.003$ ), OA(ICV) ( $P = 0.021$ ) და OA(Hipp) ( $P = 0.004$ ) ჯგუფებში (სურ. 8B).

დასწავლის სესიის დასრულებიდან 30 წუთის შემდეგ, ცხოველებს წარედგინებოდათ სატესტო სინჯი (ამ დროს აუზიდან ბაქანი ამოღებული იყო), რომლითაც ფასდებოდა ხანმოკლე სივრცითი მეხსიერება. სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერება უხილავი ბაქნის ადგილმდებარეობის შესახებ სატესტო სინჯში ფასდებოდა ცხოველის მიერ, იმ სექტორის მიმართ უპირატესობის მინიჭებით, ანუ



სურ. 8. A - სქემაზე წარმოდგენილია სატესტო ( $S_{test}$ ) და ოპოზიტური ( $S_{opp}$ ) სექტორების და უხილავი ბაქნის განლაგებას წყლის აუზში. a და b - სასტარტო წერტილები სატესტო სინჯებში. B - ბაქნის პოვნის ლატენტურ დროთა საშუალო მაჩვენებლები ტრენირების პირველ ოთხ (block 1) და მომდევნო ოთხ სინჯში (block 2).  
 ● - უხილავი ბაქნის ადგილმდებარეობა აუზში.

\*\* $P < 0.001$ , \* $P < 0.05$ . (control:  $n = 10$ ; OA(ICV):  $n = 8$ ; OA(hipp):  $n = 8$ .) \*\* $P < 0.001$ , \* $P < 0.05$ .

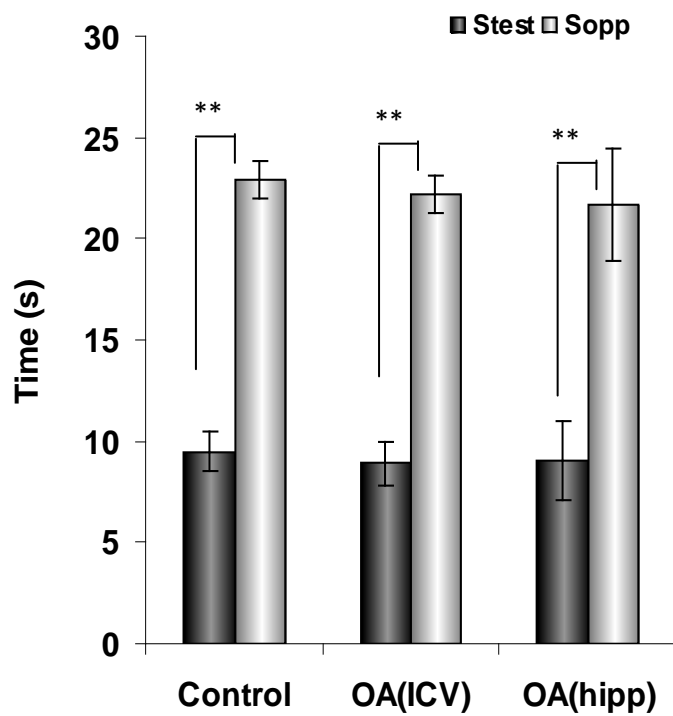


მეტ დროს ატარებს სექტორში, რომელშიც უხილავი ბაქანი მდებარეობდა ( $S_{test}$ ) საპირისპირო სექტორთან შედარებით ( $S_{opp}$ ).

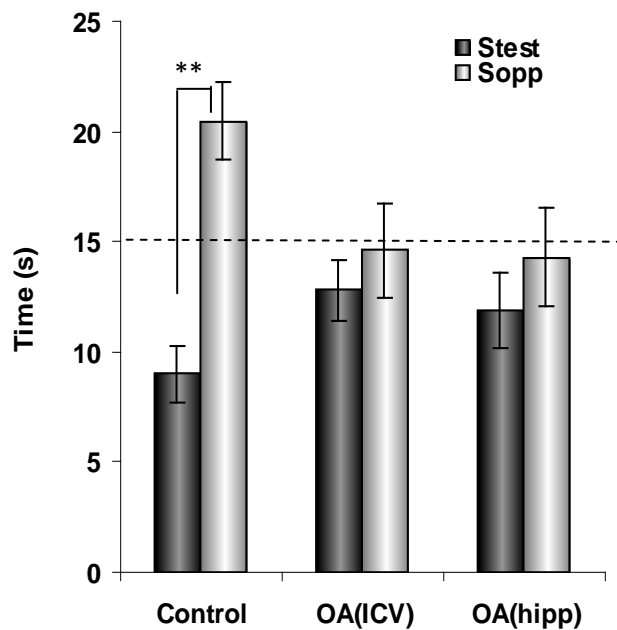
სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების მიერ სატესტო და ოპოზიტურ სექტორში გატარებულ დროთა მონაცემების ორფაქტორიანი სქემით (Two-Way ANOVA, ფაქტორები: ჯგუფი და სექტორი) სტატისკური დამუშავებით გამოვლინდა ჯგუფის არასარწმუნო ეფექტი ( $F_{2,51}=0.180$ ,  $P = 0.836$ ), თუმცა აჩვენა სექტორის მნიშვნელობა ( $F_{1,51}=109.449$ ,  $P < 0.001$ ), ასევე არ გამოვლინდა სარწმუნო ურთიერთკავშირი ჯგუფსა და სექტორს შორის ( $F_{2,51}=0.0379$ ,  $P = 0.963$ ). Post-hoc ანალიზმა გამოავლინა, რომ ყველა ჯგუფის ცხოველები სარწმუნოდ მეტ დროს ატარებენ სატესტო სექტორში ოპოზიტურთან შედარებით [საკონტროლო -  $P < 0.001$ ; OA(ICV) -  $P < 0.001$  და OA(hipp) -  $P < 0.001$ ; სურ. 9].

პირველი დღის რვა სინჯის დასრულებიდან 24 საათის შემდეგ სატესტო სინჯში, უბაქნო პირობებში, ვაფასებდით ხანგრძლივ სივრცით მეხსიერებას. სატესტო სინჯში სივრცითი ხანგრძლივი მეხსიერება უხილავი ბაქნის ადგილმდებარეობის შესახებ ფასდებოდა ცხოველის მიერ, იმ სექტორის მიმართ უპირატესობის მინიჭებით (ანუ მეტ დროს ატარებს სექტორში), რომელშიც უხილავი ბაქანი მდებარეობდა ( $S_{test}$ ), საპირისპირო სექტორთან შედარებით ( $S_{opp}$ ).

სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების მიერ სატესტო და ოპოზიტურ სექტორში გატარებულ დროთა მონაცემების ორფაქტორიანი სქემით (Two-Way ANOVA, ფაქტორები: ჯგუფი და სექტორი) სტატისკური დამუშავებით გამოვლინდა ჯგუფის არასარწმუნო ეფექტი ( $F_{2,51}=0.441$ ,  $P = 0.646$ ), თუმცა აჩვენა სექტორის მნიშვნელობა ( $F_{1,51}=13.235$ ,  $P < 0.001$ ), ამასთან გამოვლინდა სარწმუნო ურთიერთკავშირი ჯგუფსა და სექტორს შორის ( $F_{2,51}=5.099$ ,  $P = 0.01$ ). post-hoc ანალიზმა აჩვენა სატესტო და ოპოზიტურ სექტორში გატარებულ დროთა არასარწმუნო განსხვავება OA(ICV) ( $P = 0.485$ ) და OA(hipp) ( $P = 0.358$ ) ჯგუფებში და სარწმუნო განსხვავება საკონტროლო ჯგუფში ( $P < 0.001$ ; სურ. 10).



სურ. 9. ჰისტოგრამაზე წარმოდგენილია პირველი დღის ტესტირების შედეგები სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში. ხანმოკლე სივრცითი მეხსიერება შეფასებულია ცხოველის მიერ სატესტო სექტორში ( $S_{test}$ ) გატარებული დროის შედარებით საპირისპირო სექტორში ( $S_{opp}$ ) გატარებულ დროსთან.  $**P < 0.001$ .



სურ. 10. ჰისტოგრამაზე წარმოდგენილია მეორე დღის ტესტირების შედეგები სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში. ხანგრძლივი სივრცითი მეხსიერება შეფასებულია ცხოველის მიერ სატესტო სექტორში ( $S_{test}$ ) გატარებული დროის შედარებით საპირისპირო სექტორში ( $S_{opp}$ ) გატარებულ დროსთან.

წყვეტილი ხაზით აღნიშნულია დასწავლის გარეშე აუზის ცალკეულ სექტორში გატარებული დროის ალბათობა (15 წმ).  $**P < 0.001$ .

ბაქნის ადგილმდებარეობის დასწავლის გარეშე აუზის ცალკეულ სექტორში გატერებული დროის ალბათობა შეადგენს 15 წმ-ს, რაც სურ. 10-ზე მონიშნულია წყვეტილი ხაზით. ტრენირებიდან 24 საათის შემდეგ სატესტო სინჯის შესრულებისას საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებმა 15 წმ-ზე სარწმუნოდ მეტი დრო გაატარეს სექტორში, რომელშიც დასწავლის პროცესში უხილავი ბაქანი მდებარეობდა ( $20.483 \pm 1.838$ ,  $t = -2.983$ ,  $P = 0.015$ ), ხოლო OA(ICV) და OA(Hipp) ჯგუფის ცხოველებში განსხვავება არასარწმუნოა OA(ICV) -  $14.640 \pm 2.068$ ,  $t = 0.174$ ,  $P = 0.867$ ; OA(Hipp) -  $14.348 \pm 2.178$ ,  $t = 0.299$ ,  $P = 0.773$ ).

ამრიგად, ტვინის პარაკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავის მიკროინექციის პირობებში მორისის წყლი აუზის უხილავბაქნიან ვერსიაში სივრცითი ხანმოკლე და ხანგრძლივი მეხსიერების კვლევამ (Chighladze et al., 2016) გამოავლინა:

1. ტვინის პარაკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია არ იწვევს დასწავლის პროცესის გაუარესებას მორისის წყლის აუზის უხილავბაქნიან ვერსიაში.
2. ტვინის პარაკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია არ იწვევს ხანმოკლე სივრცითი მეხსიერების გაუარესებას მორისის წყლის აუზის უხილავბაქნიან ვერსიაში.
3. ტვინის პარაკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია აუარესებს სივრცით ხანგრძლივ მეხსიერებას მორისის წყლის აუზის უხილავბაქნიან ვერსიაში, რაც ფასდებოდა სატესტო სინჯებში ტრენირებიდან 24 სთ-ის შემდეგ.
4. ოკადაიკის მჟავის ტვინის პარაკუჭებსა და ჰიპოკამპში მიკროინექციის პირობებში გამოვლინდა კორელაცია ჰიპოკამპის ნეირონების დაღუპვასა და სივრცითი ხანგრძლივი მეხსიერების გაუარესებას შორის.

### 3.2. მემანტინის ნეიროპროტექტორული ეფექტები ოკადაიკის მჟავით გამოწვეულ მეხსიერების დარღვევასა და ჰიპოკამპში სტრუქტურულ და მოლეკულურ ცვლილებებზე

მრავალმხრივი ექსპერიმენტებით დადასტურებულია გლუტამატერგული ტრანსმისიის მნიშვნელობა მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებისათვის. ამასთან, ნეიროდეგენერაციულ დარღვევებთან ასოცირებულ ნეირონების ექსციტოტოქსიკურ კვდომას, ამაგზნებელი ნეიროტრანსმიტერების მომატებულ აქტიურობას უკავშირებენ. ცნობილია, რომ NMDA გლუტამატერგულ რეცეპტორებზე ანტაგონისტებით ზემოქმედება იწვევს ნეირონული პლასტიკურობის გაუარესებას (Kandel et al., 2000), მაშინ როცა, მათი მაღალი აქტიურობა იწვევს უჯრედების კვდომას, რაც განპირობებულია  $Ca^{2+}$ -ის იონების დონის მატებით. არსებული მონაცემების თანახმად, NMDA რეცეპტორების ანტაგონისტებს (მათ შორის მემანტინს) აქვთ  $Ca^{2+}$ -ის იონოტოქსიკურობით გამოწვეული ნეიროდეგენერაციული პროცესების მიმართ ნეიროპროტექტორული როლის შესრულების პოტენცია.

ჩვენს ექსპერიმენტებში ჰისტოლოგიურ კვლევებში გამოვლინდა, რომ ოკადაიკის მჟავას მიკროინექცია ტვინის პარაკუჭებში ან დორსალურ ჰიპოკამპში იწვევს პირამიდული უჯრედების სარწმუნო შემცირებას ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველში. შესაბამისად, მიზანშეწონილად მივიჩნიეთ გლუტამატის ანტაგონისტების ნეიროპროტექტორული თვისებების ექსპერიმენტული გამოკვლევა.

წარმოდგენილ კვლევაში OA-ს ინტრავენტრიკულური შეყვანა ვირთაგვებში, გამოყენებულ იქნა, როგორც მეხსიერების გაუარესებისა და ტვინში ნეიროდეგენერაციის შესწავლის ცხოველური მოდელი. ამასთან, შეისწავლებოდა მემანტინის ქრონიკული შეყვანით OA-თი გამოწვეული მეხსიერების სხვადასხვა ფორმის დარღვევის გაუმჯობესებისა და ნეიროდეგენერაციის პრევენციის პოტენციური შესაძლებლობა.

ამასთან, უნდა აღინიშნოს, რომ ჩვენს მიერ შერჩეული მემანტინის დოზები განისაზღვრა ლიტერატურაში არსებული მონაცემების საფუძველზე. გამოქვეყნებულ შრომებში აღწერილია, რომ მემანტინის თერაპიული დოზით

(ჩვეულებრივ, 20-30 მგ/დღეში) ქრონიკული მკურნალობისას რამოდენიმე კვირის განმავლობაში, მემანტინის დონე პლაზმაში აღწევს 0,4-1 მმოლ/ლ-ში (Periclou, et al., 2006). ვირთაგვებში კონცენტრაციის ამ დონის მიღწევა შესაძლებელია 2,5-5 მგ/კგ დოზით მწვავე ინტრაპერიტონიალური შეყვანისას (Wenk et al., 1996). შესაბამისად, მემანტინის 5მგ/კგ დოზით მწვავე ინტრაპერიტონიალური დოზა, შეიძლება მიჩნეულ იქნას ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტებში გამოყენებული თერაპიული დოზის შესაბამის დოზად, რომელიც კონცენტრაციის პიკს აღწევს ინექციიდან 30 წუთში.

### **3.2.1. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები ოკადაიკის მჟავით გამოწვეულ ნეიროტრანსმიტერების აქტიურობის ცვლილებაზე ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში და ჰიპოკამპში ნეირონების დაღუპვაზე**

ჩვენს ექსპერიმენტებში ჰისტოლოგიურმა კვლევებმა (ქვეთავი 3.1.1.1) გამოავლინა ტვინის პარაკუქებსა და ჰიპოკამპში OA-ს მიკროინექციის მქონე და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველების ნისლის მეთოდით შეღებილ ანათლებზე პირამიდული ნეირონების სარწმუნო შემცირება. აქვე, გასათვალისწინებელია, რომ მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებში ჰიპოკამპის მონაწილეობას მნიშვნელოვანწილად მისი ქერქული და ქერქქვემა შესავლები განსაზღვრავს. ქოლინერგული ბირთვი, რომლის დეგენერაცია აღწერილია ალცჰეიმერის დაავადების დროს (Lehericy et al., 1993), არის მედიალური სეპტუმი (Medial Septum – MS). ვარაუდობენ, რომ MS-ის ქოლინერგული ნეირონების დეგენერაცია იმ კოგნიტიურ დეფექტებთან არის დაკავშირებული, რომელიც AD პაციენტებში აღინიშნება. ამასთან, აღსანიშნავია, რომ ჩვენს მიერ ჩატარებულია კვლევა (Dashniani et al., 2015), რომელშიც შეისწავლებოდა MS-ის ნეირონების სხვადასხვა მეთოდით დაზიანების (ელექტროლიზური, ნეიროტოქსინით, იმუნოტოქსინით) ეფექტები მეხსიერებაზე საფუძველს გვაძლევს, რომ ჰიპოკამპთან ერთად, MS იმ ფუნქციური სისტემის შემადგენლობაში განვიხილოთ, რომელიც სივრცითი მეხსიერების კოგნიტიური ფორმების რეალიზაციაში მონაწილეობს.

ზემოაღნიშნულიდან გამომდინარე, ჰისტოლოგიურ და იმუნოჰისტოქიმიურ კვლევებში ტვინის პარაკუჭებში OA-ს მიკროინექციის მქონე და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებსა და MS-ში ვაფასებდით, ერთი მხრივ, OA-ს მიკროინექციით გამოწვეულ ნეირონების დაკარგვის ხარისხს (ნისლის მეთოდით შეღებილ ანათლებზე), ხოლო მეორე მხრივ, ჰიპოკამპის ანათლებზე ვაფასებდით აცეტილქოლინესტერაზა (Acetylcholinesterase - AChE) მგრძობიარე, ხოლო MS-ის ანათლებზე აცეტილქოლინტრანსფერაზა (Acetylcholintransferase - ChAT და პარვალბუმინ (parvalbumine - PV) მგრძობიარე GABA-ერგული უჯრედების რაოდენობას. ცხოველთა ცალკე ჯგუფში შეისწავლებოდა ჰიპოკამპსა და MS-ში OA-თი გამოწვეული ნეიროდეგენერაციული პროცესების განვითარების პრევენციის შესაძლებლობა მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედებით.

### **3.2.1.1. მეთოდები.**

**ცხოველები:** ჰიპოკამპსა და MS-ში ოკადაიკით გამოწვეულ სტრუქტურულ ცვლილებებზე მემანტინის შესაძლო ნეიროპროტექტორული თვისებები ფასდებოდა ცხოველების 4 ჯგუფში: Contr(S) - თავის ტვინის პარაკუჭებში aCSF და ინტრაპერიტონიალურად ფიზიოლოგიური ხსნარის ინექცია; Contr(M) - პარაკუჭებში aCSF, ხოლო ინტრაპერიტონიალურად მემანტინის ინექცია; OA(S) - პარაკუჭებში OA-ს, ინტრაპერიტონიალურად ფიზიოლოგიური ხსნარის ინექცია; OA(M) - პარაკუჭებში OA-ს და ინტრაპერიტონიალურად მემანტინის ინექცია.

**ნეიროქირურგიული ოპერაცია.** დაწვრილებით აღწერილია ზოგადი მეთოდების თავში. იხ. 2.2.

**მემანტინის შეყვანის დიზაინი:** მემანტინი (5 mg/kg, i.p; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) ან ფიზიოლოგიური ხსნარი ყოველდღიურად ინტრაპერიტონიალურად შეიყვანებოდა OA-ს მიკროინექციის პროცედურის შემდეგ 13 დღის განმავლობაში. ინტრაპერიტონიალური შეყვანის მეთოდი არჩეულ იქნა ყველა ცხოველის მიერ მემანტინის თანაბარი დოზით მიღების უზრუნველსაყოფად, რაც შესაძლოა განვითარდეს ნივთიერებების პერორალურად მიღების შემთხვევაში.

**ჰისტოლოგია და იმუნოჰისტოქიმია:** ტვინის ანათლების ჰისტოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის დიზაინი და მეთოდები დაწვრილებით აღწერილია ზოგადი მეთოდის ქვეთავში. იხ. 2.3.

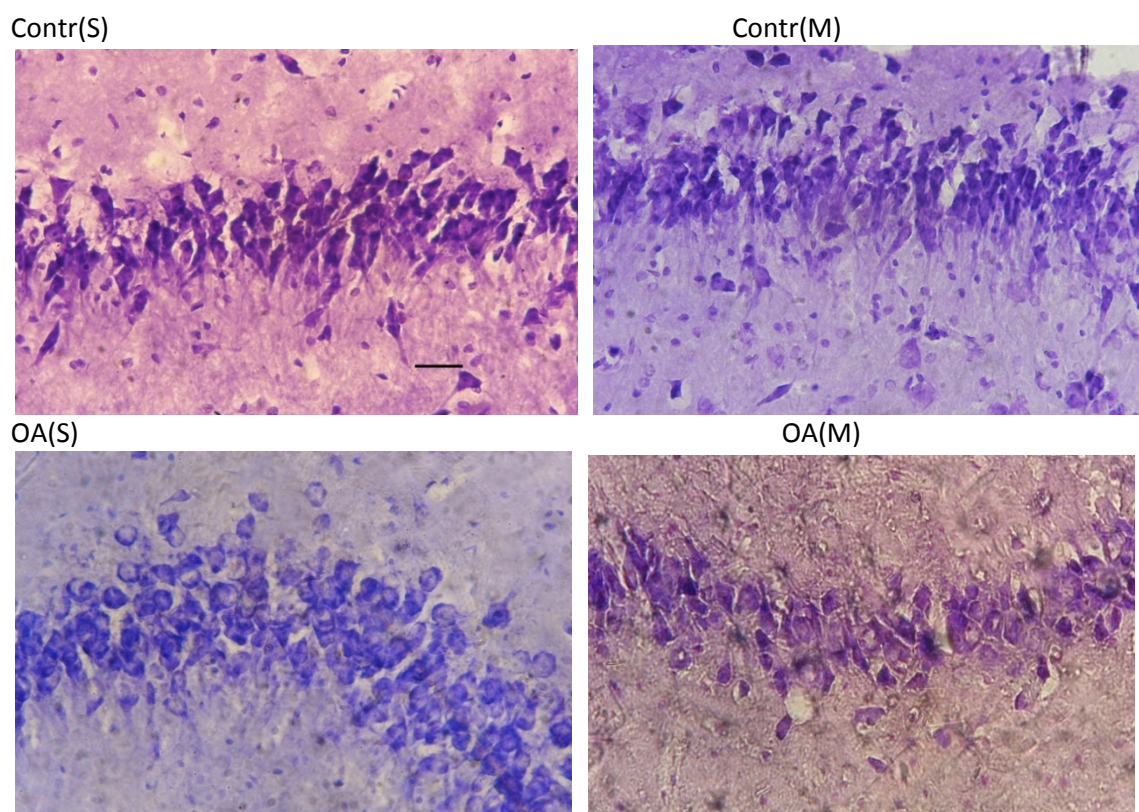
### 3.2.1.2. მიღებული შედეგები

ჰიპოკამპის ანათლების ნისლის შეღებვის მეთოდით გამოვლინდა პირამიდული უჯრედების სარწმუნო შემცირება CA1 და CA3 ველებში OA(S) ( $p<0.001$ ;  $p<0.01$ , შესაბამისად) Contr(S) ჯგუფთან შედარებით. ასევე, გამოვლინდა, რომ პირამიდული უჯრედების რაოდენობა ჰიპოკამპის ორივე ველში OA(M) ჯგუფში სარწმუნოდ მეტია OA(S) ჯგუფთან შედარებით (ორივე შემთხვევაში  $p<0.01$ ). სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების ჰიპოკამპის ანათლების ნიმუშები წარმოდგენილია სურ. 11 და 12-ზე.

იმუნოჰისტოქიმიური კვლევით გამოვლინდა AChE-მგძნობიარე ნეირონების რაოდენობის სარწმუნო შემცირება ჰიპოკამპში OA(S) ჯგუფში Contr(S) (CA1 -  $P<0.01$ ; CA3 -  $P<0.01$ ) და OA(M) (CA1 -  $P<0.05$ ; CA3 -  $P<0.05$ ) ჯგუფთან შედარებით (სურ. 13).

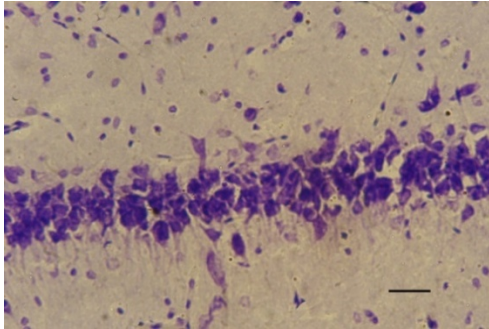
იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით MS-ის ანათლებზე ChAT და PV მგძნობიარე GABA-ერგული უჯრედების რაოდენობის (სურ. 14, 15, 16) სტატისტიკურმა ანალიზმა OA(S) ჯგუფში გამოავლინა ChAT და PV მგძნობიარე GABA-ერგული უჯრედების სარწმუნო შემცირება Contr(S) ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით (ChAT-ისთვის  $P<0.01$ ; PV-სთვის  $P<0.01$ ); OA(M) ჯგუფში, ChAT და PV მგძნობიარე GABA-ერგული უჯრედების სარწმუნო მომატება გამოვლინდა OA(S) ჯგუფთან შედარებით (ChAT-ისთვის  $P<0.01$ ; PV-სთვის  $P<0.05$ ).



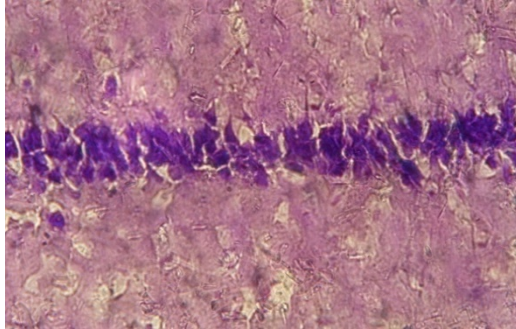


**სურ. 12.** ნისლის მეთოდით შეღებილი ჰიპოკამპის CA3 ველის ანათლების ნიმუშები. Scale bar, 50  $\mu$ m.

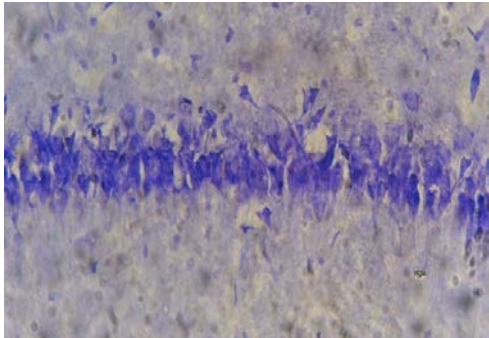
CA1 Cont(S)



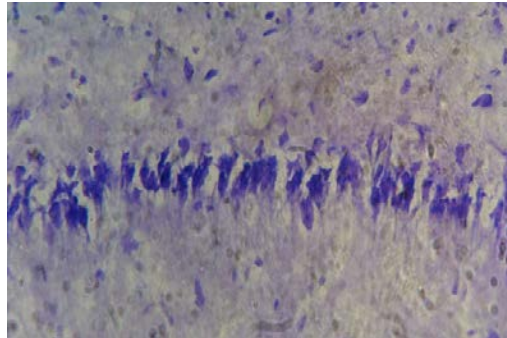
Contr(M)



OA(S)

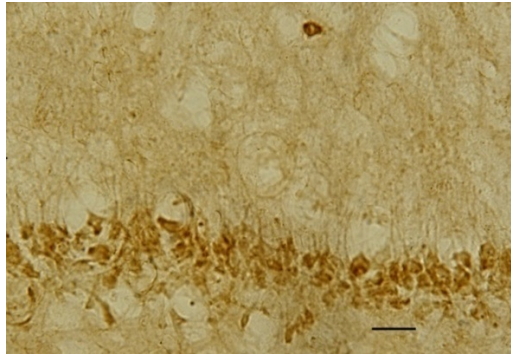


OA(M)

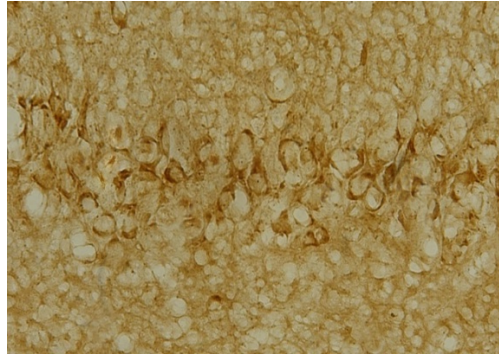


**სურ. 13.** ნისლის მეთოდით შეღებილი ჰიპოკამპის CA1 ველის ანათლების ნიმუშები. Scale bar, 50  $\mu$ m.

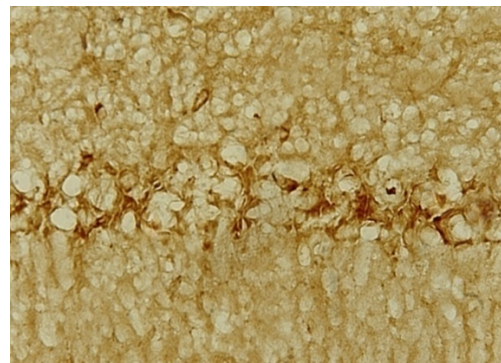
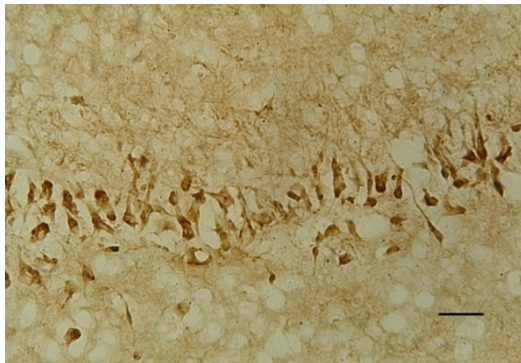
Contr  
CA1



OA(ICV)

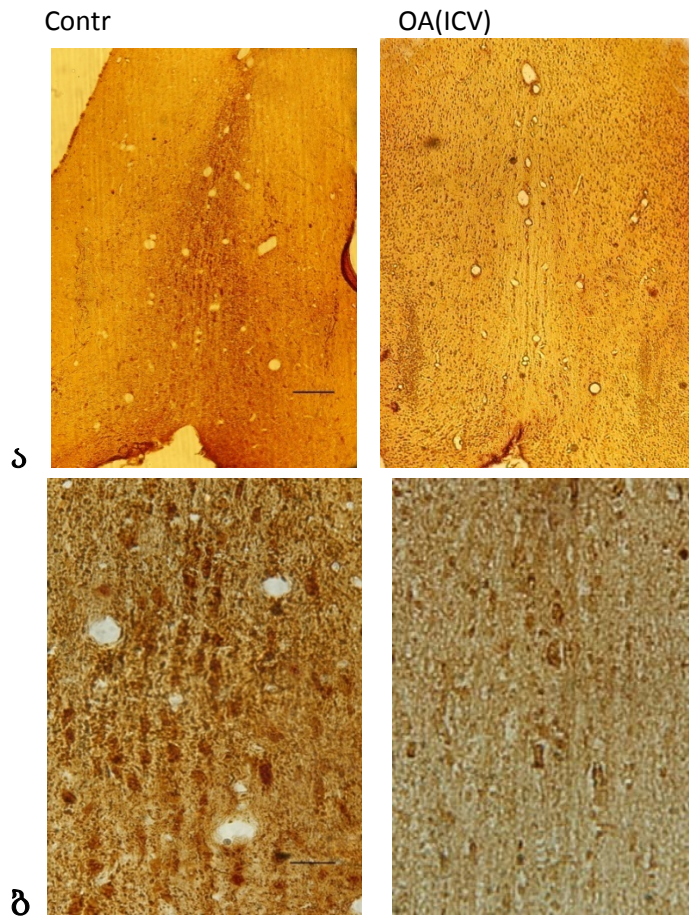


CA3

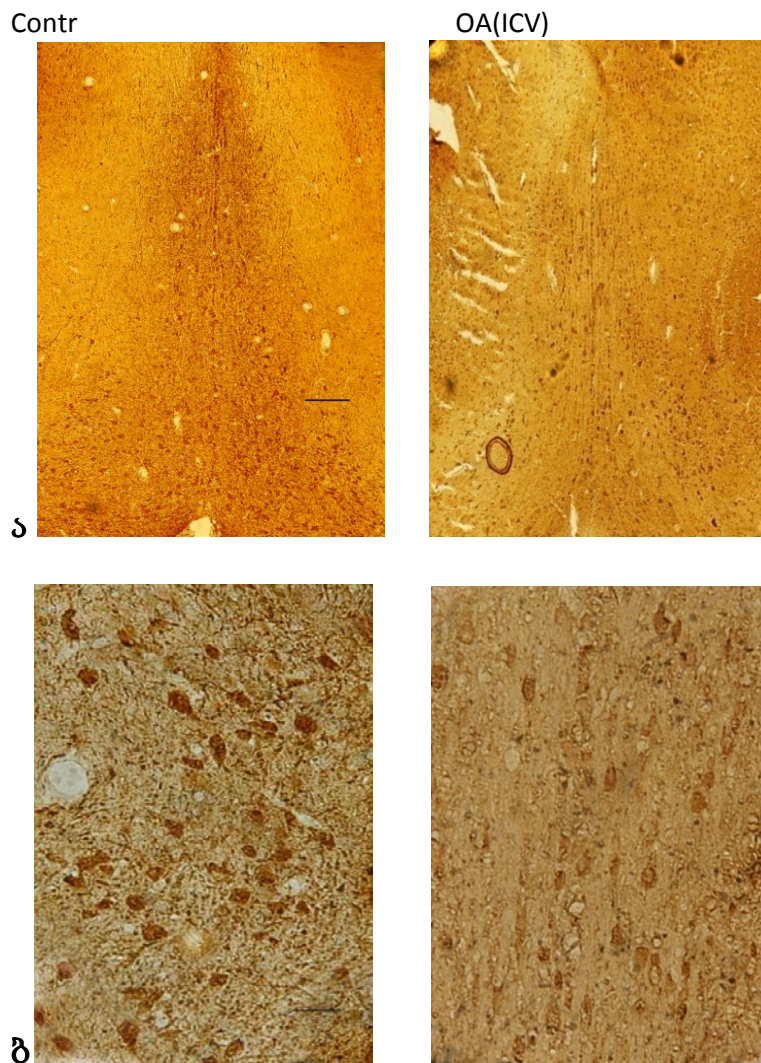


სურ.14. იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით შეღებილი AChE-მგრძობიარე ნეირონები სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველში.

Scale bar, 50  $\mu$ m.



სურ.15. იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით შეღებილი Chat-მგრძობიარე ნეირონები სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების MS-ში.  
Scale bar, ა-ზე 250  $\mu\text{m}$ , ბ-ზე 40  $\mu\text{m}$ .



სურ.16. იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით შეღებილი პარვალბუმინ მგრძნობიარე GABA-ერგული ნეირონები სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების MS-ში.

Scale bar, ა-ზე 250  $\mu\text{m}$ , ბ-ზე 40  $\mu\text{m}$ .

ამრიგად, ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში ნეიროტრანსმიტერების აქტიურობის კვლევამ მემანტინის ქრონიკულად ინტრაპერიტონიალური შეყვანის პირობებში, ტვინის პარაკუჭებში ოკადაიკის მჟავის მიკროინექციის მქონე და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში გამოავლინა:

1. ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია ტვინის პარაკუჭებში იწვევს ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველში პირამიდული უჯრედების და ასევე, AChE-მგრძობიარე ნეირონების სარწმუნო შემცირებას .
2. ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია ტვინის პარაკუჭებში იწვევს MS-ში ChAT და PV მგრძობიარე GABA-ერგული უჯრედების სარწმუნო შემცირებას.
3. მემანტინით ქრონიკული ზემოქმედება სარწმუნოდ ამცირებს ჰიპოკამპსა და MS-ში OA-ს მიკროინექციით გამოწვეულ ნეიროპათოლოგიურ ცვლილებებს.

### **3.2.2. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები ოკადაიკის მჟავით გამოწვეულ სივრცით ხანმოკლე მეხსიერების დეფიციტზე**

ცხოველურ მოდელებში კოგნიტიურ ფუნქციებზე მემანტინის ეფექტები შესწავლილია ხანგრძლივი მეხსიერების და ნაკლებად, ხანმოკლე მეხსიერების პარადიგმაში. ექსპერიმენტების ამ სერიაში შეისწავლებოდა ვირთაგვებში OA-ს ინტრავენტრიკულური შეყვანის ეფექტები სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებაზე და მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები ოკადაიკის მჟავით გამოწვეულ სივრცით ხანმოკლე მეხსიერების დეფიციტზე. ხანმოკლე სივრცითი მეხსიერება ფასდებოდა სპონტანური მორიგეობის ამოცანაში.

#### **3.2.2.1 მეთოდები**

**ცხოველები.** ექსპერიმენტები ჩატარებულია 220-250 გ. წონის დაახლოებით 4 თვის ასაკის 34 მამრ ვირთაგვაზე, რომლებიც დაყოფილი იყვნენ 4 ჯგუფად: Contr(S) (n=8), Contr(M) (n=8), OA(S) (n=8) და OA(M) (n=10). მემანტინი ან ფიზიოლოგიური ხსნარი ყოველდღიურად შეიყვანებოდა OA-ს მიკროინექციის პროცედურის შემდეგ, 13 დღის განმავლობაში.

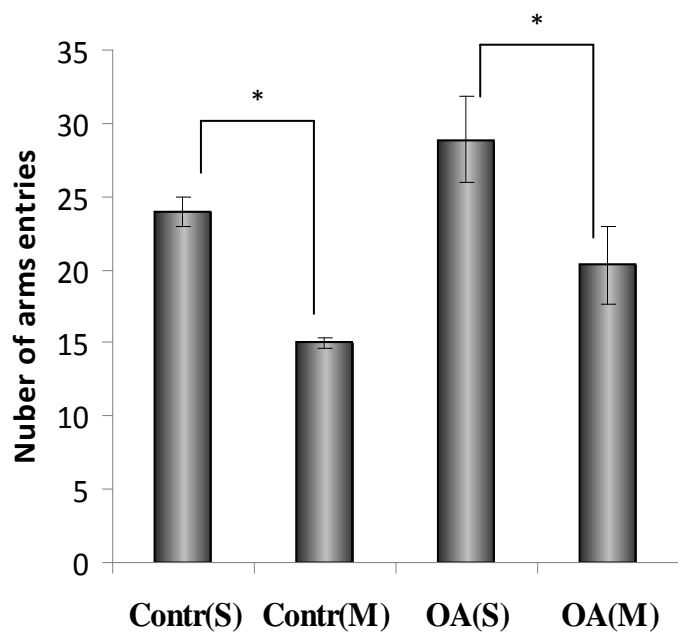
**ნეიროქირურგიული ოპერაცია.** დაწვრილებით აღწერილია ზოგადი მეთოდების თავში. იხ. 2.2.

**სპონტანური მორიგეობა:** ცხოველთა ტრენირება მინდინარეობდა 4-მკლავიან ჯვრისმაგვარ ლაბირინთში, რომლის იატაკი და კედლები დამზადებული იყო ყავისფერი პლექსიგლასისაგან. ლაბირინთის მკლავები (12.5 სმ სიგანე, 46 სმ სიგრძე, 7 სმ სიმაღლე) ცენტრალური მოედნიდან რადიალურად იყო განლაგებული. ლაბირინთი მოთავსებული იყო საექსპერიმენტო ოთახის იატაკიდან 0.7 მეტრის სიმაღლეზე. ყოველი ცხოველი თავსდებოდა ლაბირინთის ცენტრში და ეძლეოდა თავისუფლად გადაადგილების საშუალება 15 წუთის განმავლობაში. აღირიცხებოდა მკლავებში შესვლათა რაოდენობა და თანმიმდევრობა მორიგეობის დონის განსაზღვრისათვის (McIntyre et al., 2002). მკლავებში შესვლათა სიხშირე აღირიცხებოდა ვიდეო კამერით. მორიგეობად ითვლებოდა, თუ ხუთი სინჯიდან ცხოველი ოთხ განსხვავებულ მკლავში შევიდოდა. ამ პროცედურის გამოყენებით მორიგეობის პროცენტული მაჩვენებლების დათვლა ხდებოდა შემდეგი გამოთვლებით: (რეალური მორიგეობის შეფარდება შესაძლო მორიგეობასთან, გამრავლებული 100-ზე). შესაძლო მორიგეობა ექვივალენტურია მკლავში შესვლათა რაოდენობას გამოკლებული ოთხი.

**სტატისტიკური ანალიზი:** ქცევით ექსპერიმენტებში სხვადასხვა ჯგუფებში მიღებულ მონაცემთა შორის განსხვავების სარწმუნოება ფასდებოდა ANOVA-ას გამოყენებით (The One-way-Way ANOVA; SigmaStat statistical software). საჭიროების შემთხვევაში ტარდებოდა *post hoc* ანალიზი (Tukey's ტესტი). ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც საშ ± SEM. განსხვავებათა სარწმუნოება შეფასებულია  $p < 0.05$  დონეზე.

### 3.2.2.2. მიღებული შედეგები

სხვადასხვა ჯგუფებში მკლავებში შესვლის რაოდენობრივი მაჩვენებლები მოცემულია სურ. 17-ზე. ამ მონაცემთა სტატისტიკური დამუშავებით (One-way-Way ANOVA) გამოვლინდა ჯგუფის სარწმუნო ეფექტი ( $F_{3,33}=7.108$ ,  $P<0,001$ ). Post hoc (Tukey Test) ანალიზით სარწმუნო განსხვავება გამოვლინდა Contr(S) და Contr(M) ჯგუფის ცხოველებს შორის ( $P = 0,035$ ), ასევე, OA(S) და OA(M) ჯგუფებს შორის ( $P = 0,034$ ). სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა Contr(S) და OA(S) ან OA(M) ჯგუფებს შორის ( $P = 0.415$ ;  $p = 0,6$ , შესაბამისად).



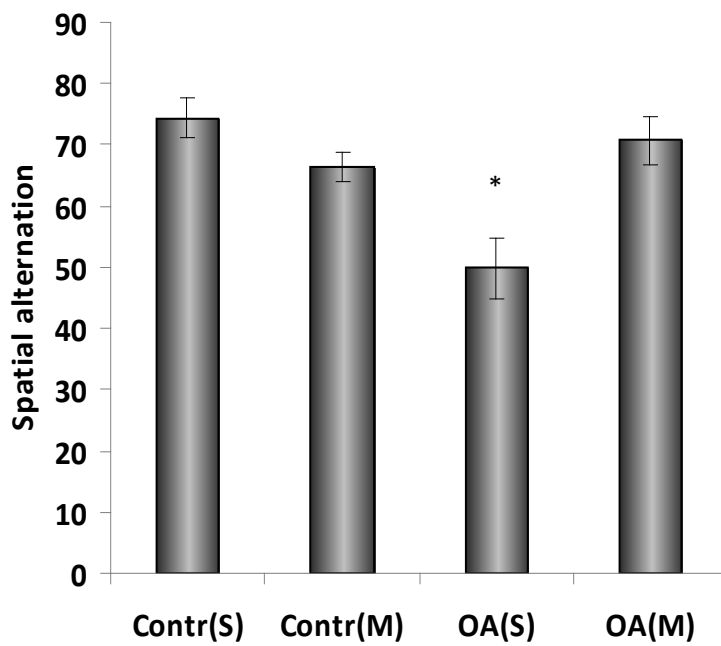
სურ.17: სპონტანური მორიგეობის ტესტის ქცევითი მონაცემები (საშ ± SEM) Contr(S), Contr(M), OA(S) და OA(M) ჯგუფის ცხოველებში. ორდინატაზე : მკლავებში შესვლათა რაოდენობა \* $P < 0.05$



სხვადასხვა ჯგუფებში სპონტანური მორიგეობის პროცენტული მაჩვენებლები მოცემულია სურ. 18-ზე. ამ მონაცემთა სტატისტიკური დამუშავებით (One-way-Way ANOVA) გამოვლინდა ჯგუფის სარწმუნო ეფექტი ( $F_{3,33}=8,057$ ,  $P<0,001$ ). Post hoc (Tukey Test) ანალიზმა აჩვენა სარწმუნო განსხვავება Contr(S) და OA(S) ჯგუფებს შორის ( $P < 0,001$ ), მაგრამ არ გამოვლინდა სარწმუნო განსხვავება Contr(S) და Contr(M) ჯგუფებს შორის ( $P = 0,467$ ) და Contr(S) და OA(M) ჯგუფებს შორის ( $P = 0,891$ .) მემანტინის ზემოქმედებით გამოვლინდა სპონტანური მორიგეობის მაჩვენებლის გაუმჯობესება; განსხვავებაა OA(S) და OA(M) ჯგუფებს შორის სარწმუნოა ( $P = 0,002$ ).

ამრიგად, სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებაზე ოკადაიკის მჟავას ვირთაგვის ტვინის პარაკუჭებში მიკროინექციის ეფექტების კვლევამ (Dashniani, Chighladze et al., 2016) მემანტინის ქრონიკული შეყვანის პირობებში გამოავლინა:

1. ოკადაიკის მჟავას ტვინის პარაკუჭებში მიკროინექცია იწვევს სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერების გაუარესებას, რომელიც ფასდებოდა ჯვრისმაგვარ ლაბირინთში სპონტანური მორიგეობის ტესტში.
2. მემანტინით ქრონიკული ზემოქმედება აუმჯობესებს OA-ს მიკროინექციით გამოწვეულ სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერების დეფიციტს.



სურ.18. სპონტანური მორიგეობის ტესტის ქცევითი მონაცემები (საშ ± SEM) Contr(S), Contr(M), OA(S) და OA(M) ჯგუფის ცხოველებში.

ორდინატაზე : სპონტანური მორიგეობა (%)

\*  $P < 0.01$  vs Contr(S) და OA(M) ჯგუფებში.

### 3.2.3. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები ოკადაიკის მჟავით გამოწვეულ სივრცითი ხანგრძლივი მეხსიერების დეფიციტზე

სივრცითი მეხსიერების შესაფასებლად გამოყენებული ამოცანების შესრულება შესაძლებელია, როგორც მეხსიერების დეკლარატიული ასევე არადეკლარატიული ფორმების გამოყენებით. ამასთან ცნობილია, რომ მეხსიერების ამ ფორმების რეალიზაციას ტვინის განსხვავებული სისტემები განაპირობებს. შესაბამისად, ამოცანის შესრულების დეფიციტი ყოველთვის არ იძლევა პათოლოგიის ლოკალიზაციის იდენტიფიკაციის საშუალებას. ამოცანებში, რომელთა შესრულება დამოკიდებულია დისკრეტული სიგნალის ან ადგილის დასწავლასთან თავის ტვინის განსხვავებული სისტემები მონაწილეობს (Ragozzino et al., 2001; Packard and Knowlton, 2002). მაგალითად, ჰიპოკამპის ან ფიმბრია-ფორნიქსის გადაჭრა აუარესებს მორისის აუზში ადგილის დასწავლას, რომლის დროსაც აუზში უხილავი ბაქნის ადგილის განსაზღვრისათვის გამოიყენება ინფორმაცია აუზის გარეთ არსებული სიგნალების კონფიგურაციის შესახებ, ხოლო არ აუარესებს სიგნალის დასწავლას, რომლის დროსაც უსიამოვნო გარემოდან განრიდებისთვის გამოიყენება ხილული ბაქანი. ჩვენს ექსპერიმენტებში გამოყენებული მორისის წყლის აუზში ტესტირების პირობები უზრუნველყოფს დასწავლის პროცესში ამოცანის შესრულების სტრატეგიის თავისუფალ არჩევანს, ხოლო ექსპერიმენტში მონაწილე ცხოველების მიერ არჩეული სტრატეგიის გამოვლენა სატესტო სინჯებშია შესაძლებელი. აქვე უნდა აღვნიშნოთ, რომ ჩვენს კვლევაში (ქვეთავი 3.2.1) გამოვლინდა, რომ ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია ტვინის პარაკუჭებში იწვევს როგორც ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველში პირამიდული უჯრედების და AChE-მგრძობიარე ნეირონების, ასევე MS-ში ChAT და PV მგრძობიარე GABA-ერგული უჯრედების სარწმუნო შემცირებას. ამასთან, მემანტინით ქრონიკული ზემოქმედება სარწმუნოდ ამცირებს ჰიპოკამპსა და MS-ში OA-ს მიკროინექციით გამოწვეულ ნეიროპათოლოგიურ ცვლილებებს.

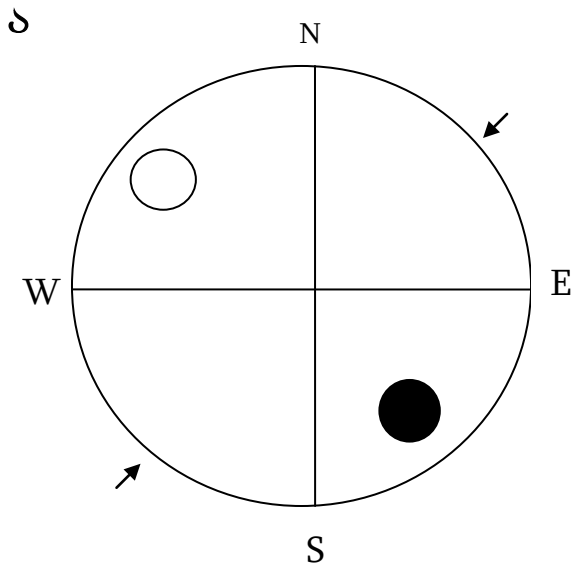
ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, ექსპერიმენტების ამ სერიაში შეისწავლებოდა ვირთავებში OA-ს ინტრავენტრიკულური ინექციის ეფექტები მორისის წყლის აუზის ამოცანის ხილულბაქნიან ვერსიაში დასწავლის სტრატეგიის არჩევაზე მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების პირობებში.

### 3.2.3.1. მეთოდები

**ცხოველები.** ექსპერიმენტები ჩატარებულია 220-250 გ. წონის დაახლოებით 4 თვის ასაკის 34 მამრ ვირთაგვაზე, რომლებიც დაყოფილი იყვნენ 4 ჯგუფად: Contr(S) - n=8, Contr(M) - n=8; OA(S) - n=8 და OA(M) - n=10. მემანტინი ან ფიზიოლოგიური ხსნარი ყოველდღიურად შეიყვანებოდა OA-ს მიკროინექციის პროცედურის შემდეგ 13 დღის განმავლობაში.

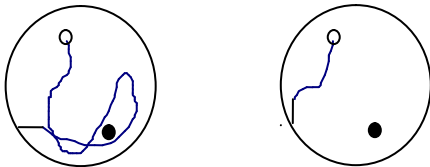
**ნეიროქირურგიული ოპერაცია.** დაწვრილებით აღწერილია ზოგადი მეთოდების თავში. იხ. 2.2.

**მორისის წყლის აუზის ხილულბაქნიანი ვერსია.** ცხოველთა ტესტირება ორიენტირებით მდიდარ გარემოში მორისის წყლის აუზის პირობებში ტარდებოდა. ექსპერიმენტების დროს აუზი შევსებული იყო გაუმჟვირვალე (თეთრად შეფერილი) წყლით. ცხოველს უნდა დაესწავლა აუზის ერთ-ერთ სექტორში განთავსებული ბაქნის ადგილმდებარეობა. ამოცანის დასწავლის პროცედურა გრძელდებოდა 9 დღე. დღიური სესია მოიცავდა 4 სინჯს. ყოველ სინჯში ცხოველი შემთხვევითი თანმიმდევრობით, ოთხიდან ერთ-ერთ სასტარტო ადგილზე, სახით კედლისკენ თავსდებოდა. 1 წუთის განმავლობაში მას ბაქნის მოძიების, ხოლო შემდეგ 15 წმ ბაქანზე ყოფნის საშუალება ეძლეოდა. ამოცანის სხვადასხვა სინჯში ბაქნის ადგილმდებარეობა გარემოში არსებული ორიენტირების მიმართ არ იცვლებოდა. პირველი ორი დღე ტესტირება ხილული (წყლის ზედაპირიდან 2 სმ-ით ამოწეული), ხოლო მესამე დღეს უხილავი (წყლის ზედაპირიდან 2 სმ-ით ჩაძირული) ბაქნის პირობებში ტარდებოდა. ეს 3-დღიანი ციკლი მეორდებოდა მე-4-6 და მე-7-9 დღეს. მეათე დღეს ცხოველს ორი სატესტო სინჯი წარედგინებოდა. ტრენირების დღეებისაგან განსხვავებით, სატესტო სინჯებში ხილული ბაქანი განთავსებული იყო ბაქნის ძველი ადგილმდებარეობის მიმართ მოპირდაპირე სექტორში, ხოლო სტარტი, ბაქნის ძველი და ახალი ადგილმდებარეობის მიმართ თანაბარი მანძილით დაშორებული, ორი სხვადასხვა ადგილიდან ხორციელდებოდა. სატესტო სინჯებში განხორციელებული პასუხები, ცურვის ტრაექტორიის საფუძველზე, კლასიფიცირდებოდა როგორც ადგილის დასწავლის სტრატეგია, ან ერთეულ მხედველობით სიგნალზე ორიენტაციის სტრატეგია. სურ. 19-ზე წარმოდგენელია მორისის აუზის სქემატური



ბ

ადგილის დასწავლა სიგნალით ორიენტაცია



სურ.19. მორისის აუზში სივრცითი ამოცანის ხილულბაქნიანი ვერსიით ტესტირების პრობები (ა) და გაცურვების ტრაექტორია ამოცანის სხვადასხვა სტრატეგიით შესრულებისას (ბ).

N,S,W,E - სასტარტო ადგილი

- - ბაქნის ადგილმდებარეობა დასწავლის პროცესში
- - ბაქნის ადგილმდებარეობა სატესტო სინჯების დროს
- ↗ - სტარტის ადგილი სატესტო სინჯებში

გამოსახულება და სხვადასხვა სტრატეგიით განხორციელებულ გაცურვათა ტრაექტორიები. წყლის აუზში აღირიცხებოდა გადაადგილების ტრაექტორია, ასევე, სხვა რაოდენობრივი მონაცემები (აუზის ცალკეულ ზონაში გატარებული დრო, ბაქნის პოვნის ლატენტობა, ცურვის სიჩქარე, გაცურვის მანძილი და სხვა).

**სტატისტიკური ანალიზი:** ქცევით ექსპერიმენტებში სხვადასხვა ჯგუფებში მიღებულ მონაცემთა შორის განსხვავების სარწმუნობა ფასდებოდა ANOVA-ას გამოყენებით (The two-Way ANOVA; SigmaStat statistical software). საჭიროების შემთხვევაში ტარდებოდა *post hoc* ანალიზი (Tukey's ტესტი). სატესტო სინჯში განხორციელებული პასუხების მიხედვით ჯგუფებს შორის განსხვავება სტიუდენტის სარწმუნობის კოეფიციენტის ( $t_a$ ) გამოთვლის საფუძველზე ხდებოდა. ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც საშ ± SEM. განსხვავებათა სარწმუნობა შეფასებულია  $p < 0.05$  დონეზე.

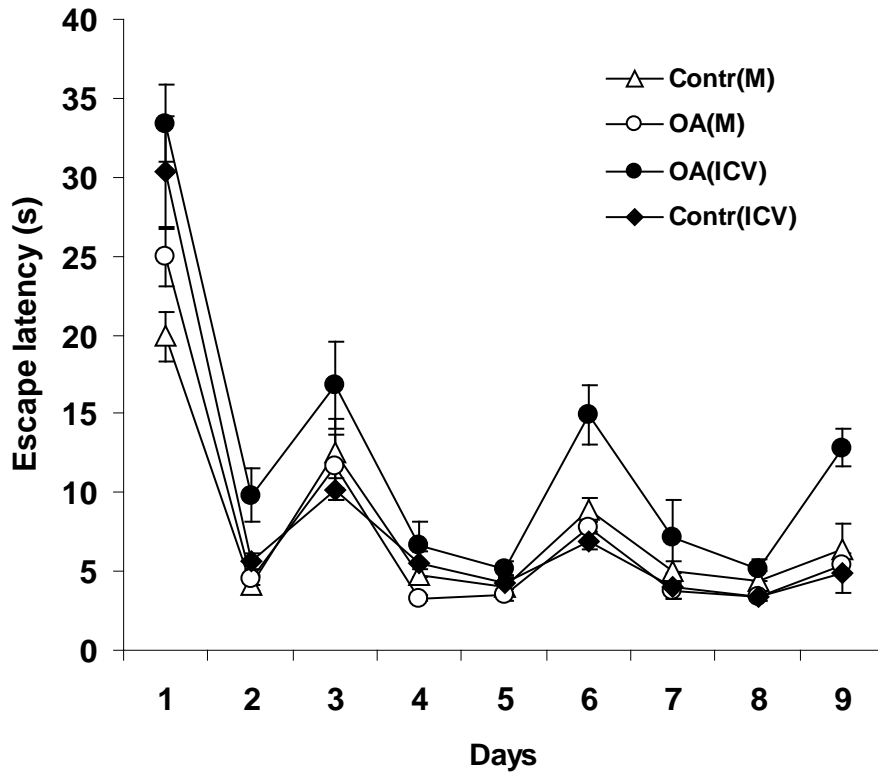
### 3.2.3.2. მიღებული შედეგები

ამოცანის დასწავლის პროცესში საკონტროლო და ექსპერიმენტული ჯგუფის ცხოველების ბაქნის პოვნის ლატენტურ დროთა დინამიკა მოცემულია სურ. 20-ზე. Contr(S), Contr(M) და OA(M) ჯგუფის ცხოველები OA(S) ცხოველებზე ადრე სწავლობენ უსიამოვნო გარემოდან განრიდებას და ბაქანზე ასვლას. ბაქნის პოვნის ლატენტური დროის 6 წმ-იან ზღვარს ამ ჯგუფის ცხოველები უკვე მეორე დღეს აღწევენ. OA(S) ჯგუფის ცხოველებში დასწავლის პროცესი პირველი 4 დღე შენელებულია, თუმცა, ბაქნის პოვნის 5 წმ-იან ზღვარს ამ ჯგუფის ცხოველები ტესტირების მე-5 დღეს აღწევენ. ამრიგად, მიღებული შედეგების თანახმად, OA(S) ჯგუფის ცხოველებში დასწავლის პროცესი საწყის ეტაპზე გაუარესებულია, თუმცა, OA(S) ჯგუფის ცხოველებში ლატენტური დროის ცვლილებები შესაძლებელია განპირობებული იყოს დაზიანების შედეგად პერცეპტუალური, მოტივაციური ან მოტორული უნარების ცვლილებით. ამოცანის დასწავლის მე-6 და მე-9 დღეს, როცა ტესტირება უხილავი ბაქნის პირობებში ტარდებოდა, ბაქნის პოვნის ლატენტური დრო OA(S) ჯგუფის ცხოველებში სარწმუნოდ აღემატება სხვა ჯგუფის ცხოველების იგივე მაჩვენებლებს: მონაცემთა სტატისტიკური ანალიზით [two way ANOVA (ფაქტორები: ჯგუფი და ტესტირების პირობები

(ხილული/უხილავი ბაქანი)] გამოვლინდა ჯგუფის ( $F_{3,305} = 6,943$ ;  $P < 0.001$ ) და ტესტირების პირობების ( $F_{1,305} = 6,834$ ;  $P = 0.009$ ) სარწმუნო ეფექტი. ამ ფაქტორებს შორის სარწმუნო ურთიერთკავშირი არ გამოვლინდა ( $F_{3,305} = 1,031$ ;  $P = 0.379$ ). Post Hock (Tukey Test) ანალიზით ხილულბაქნიან ვერსიაში სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა OA(S) და Contr(S) ( $P = 0,508$ ) და ასევე, Contr(S) და Contr(M) ( $P = 0,710$ ) ჯგუფებს შორის.

განსხვავებული შედეგები გამოვლინდა უხილავი ბაქნის პირობებში. Post Hock (Tukey Test) ანალიზმა აჩვენა, რომ ბაქნის პოვნის ლატენტური დრო სარწმუნოდ განსხვავდება OA(S) და Contr(S) ჯგუფებს შორის ( $P = 0,014$ ), აგრეთვე OA(S) და OA(M) ჯგუფებს შორის ( $P = 0,007$ ), ხოლო არასარწმუნო განსხვავება გამოვლინდა Contr(S) და OA(M) ჯგუფებს შორის ( $P = 0,998$ ). მიღებული შედეგები აჩვენებს, რომ ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია იწვევს ადგილის დასწავლის სტრატეგიის გამოყენების დეფიციტს, ხოლო მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედებით შესაძლებელია ამ დეფიციტის პრევენცია.

სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველთა უმრავლესობა პირველ სატესტო სინჯს ადგილის დასწავლის სტრატეგიით, ანუ კოგნიტიური რუკის საფუძველზე ახორციელებდნენ. ჯგუფებს შორის I სატესტო სინჯში მიღებულ შედეგებს შორის განსხვავება სარწმუნო არ არის ( $P > 0,05$ ), თუმცა, Contr(S) და OA(S) ჯგუფის ცხოველების მიერ ორივე სატესტო სინჯში განხორციელებული პასუხების შედარების საფუძველზე სარწმუნო განსხვავება გამოვლინდა ( $t_d = 1,96$ ;  $P < 0,05$ ; ნიშანთა გამოვლენის სიხშირეთა შორის განსხვავების სტიუდენტის სარწმუნობის კოეფიციენტი). ორივე სატესტო სინჯში განხორციელებული პასუხების შედარების საფუძველზე OA(S) და OA(M) ჯგუფის ცხოველებს შორის სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა ( $t_d = 1,14$ ;  $P > 0,1$ ). Contr(S) ჯგუფის ცხოველებისაგან განსხვავებით, OA(S) ჯგუფის ცხოველები პირველ სატესტო სინჯში წარუმატებელი სტრატეგიის (ადგილის დასწავლა) გამოყენების შემდეგ, ადვილად გადადიან სხვა სტრატეგიის (სიგნალზე ორიენტაცია) გამოყენებაზე (სურ. 21). სხვა ჯგუფის ცხოველები კი, მეორე სინჯშიც ტრენირების დროს დასწავლილ სტრატეგიას (ადგილის დასწავლა) იყენებენ, რაც მიანიშნებს, რომ ამოცანის შესრულებისას კოგნიტიურ რუკაზე



სურ. 20. ამოცანის დასწავლის პროცესში სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების ბაქნის პოვნის ლატენტურ დროთა დინამიკა  
 ორდინატაზე - ბაქნის პოვნის ლატენტური დრო წმ-ში  
 აბსცისაზე - ტესტირების დღეები ხილული (1, 2, 4, 5, 7, 8) და უხილავი (3, 6, 9) ბაქნის პირობებში



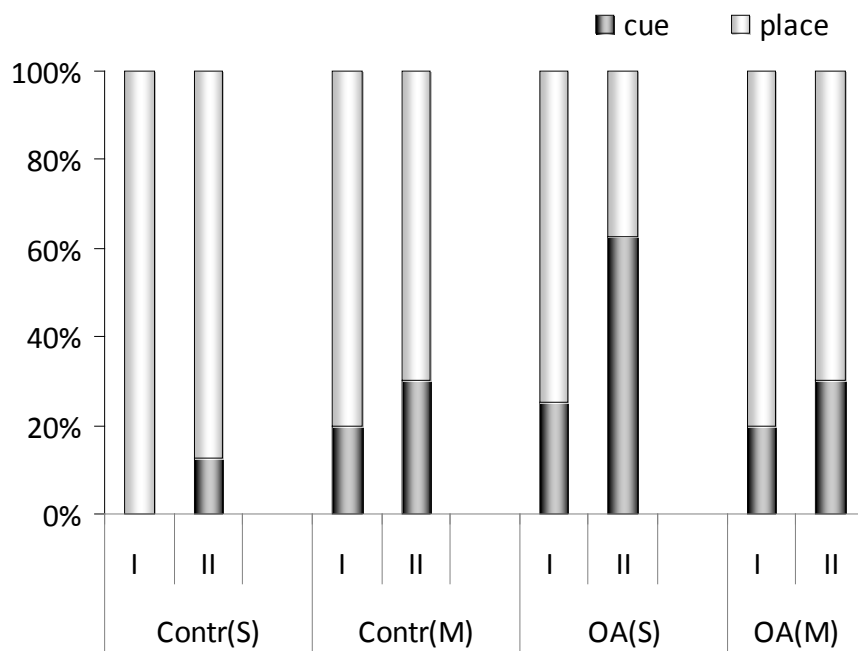
დამოკიდებულება ამ ჯგუფებში უფრო მყარია, მათ შორის OA(M) ჯგუფის ცხოველებში. პირველ და მეორე სატესტო სინჯებში გამოყენებული სტრატეგიები მოცემულია I ცხრილში.

ცხრილი I. სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების მიერ პირველ და მეორე სინჯში გამოყენებული სტრატეგიები

		cue	place
Contr(S)	I	0	8
	II	1	7
Contr(M)	I	2	8
	II	3	7
OA(S)	I	2	6
	II	5	3
OA(M)	I	2	8
	II	3	7

ამრიგად, ვირთაგვებში მემანტინის ქრონიკული შეყვანის პირობებში OA-ს პარკუჭებში შეყვანის ეფექტების კვლევამ დასწავლის სტრატეგიის არჩევაზე მორისის წყლის აუზის ამოცანის ხილულბაქნიან ვერსიაში გამოავლინა:

1. ამოცანის დასწავლის პროცესში, ხილულბაქნიან ვერსიაში ბაქნის პოვნის ლატენტურ დროში სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა OA(S) და Contr(S) და ასევე, Contr(S) და Contr(M) ჯგუფებს შორის.
2. უხილავი ბაქნის პირობებში ბაქნის პოვნის ლატენტური დრო სარწმუნოდ განსხვავდება OA(S) და Contr(S) ჯგუფებს აგრეთვე OA(S) და OA(M) ჯგუფებს შორის, ხოლო არასარწმუნო განსხვავება გამოვლინდა Contr(S) და OA(M) ჯგუფებს შორის რაც აჩვენებს, რომ ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია იწვევს ადგილის დასწავლის სტრატეგიის გამოყენების დეფიციტს, ხოლო მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედებით შესაძლებელია ამ დეფიციტის პრევენცია.



სურ. 21. სატესტო სინჯებში (I, II) სივრცითი ამოცანის დასწავლის სტრატეგიები სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში.

*ორდინატაზე: ადგილის ან სიგნალის დასწავლის სტრატეგიათა ფარდობითი რაოდენობა %-ში. თითოეულ სვეტში წარმოდგენილია ჯგუფის გასაშუალებული მონაცემები.*

## მიღებული შედეგების საერთო განხილვა

AD-ის პათოგენეზის გამოვლენისა და ასევე, სამკურნალო საშუალებების გამოსაცდელად, შექმნილია სხვადასხვა ცხოველური მოდელი, მათ შორის თავის ტვინის პარაკუჭებში, ჰიპოკამპსა, თუ სხვა სტრუქტურებში OA-ს მიკროინექციით ინდუცირებული მოდელი. ვარაუდობენ, რომ AD-ის განვითარების პროცესში ტაუ პროტეინის ჰიპერფოსფორილირება განპირობებული უნდა იყოს კინაზების აქტიურობის მომატებით ან ფოსფატაზების აქტიურობის დაქვეითებით (Planel et al., 2001; Hernandez et al., 2002). AD პაციენტების თავის ტვინში აღწერილია PP-ის ექსპრესიისა და აქტიურობის მნიშვნელოვანი შემცირება. გამოვლენილია, რომ თავის ტვინში PP2A არის ერთ-ერთი მთავარი ტაუ ფოსფატაზა (Liu et al., 2005) და ვარაუდობენ, რომ ტაუს ჰიპერფოსფორილირების პროცესში PP2A ცენტრალურ როლს ასრულებს (Planel et al., 2001). ტაუს ჰიპერფოსფორილირება *in vitro* პირობებში შესაძლებელია PP1/2A ინჰიბიტორით - ოკადაიკის მჟავით (OA) (Arendt et al., 1998; Planel et al., 2001). OA-ს ტვინში მიკროინექციის შედეგად, მეხსიერების გაუარესებასთან ერთად, აღწერილია მრავალი პათოლოგია, რომელიც AD-სთვის არის დამახასიათებელი, მათ შორის, ფოსფორილირებული ტაუს სპირალური ძაფების და  $\beta$ -ამილოიდის შემცველი ფოლაქების მსგავსი სტრუქტურები, რაც ამ მოდელს რელევანტურს ხდის AD-ის განვითარების სხვადასხვა ასპექტების საკვლევად და ასევე, სამკურნალო საშუალებების გამოსაცდელად (Kamat et al., 2010).

წარმოდგენილი ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა, ჰიპოკამპსა და თავის ტვინის პარაკუჭებში OA-ის მიკროინექციის ეფექტების კვლევა მეხსიერების სხვადასხვა ფორმასა და დასწავლის პროცესებზე, ჰიპოკამპის ნეიროტრანსმიტერულ აქტიურობასა და სტრუქტურულ ცვლილებებთან კორელაციაში, ასევე ანტიდემენციური წამლით – მემანტინით ამ ცვლილებათა პრევენციის შესაძლებლობის შეფასება.

ექსპერიმენტულ კვლევებში OA-ით ინდუცირებული პათოლოგიური პროცესების შესაფასებლად განსხვავებული დოზები და მეთოდები გამოიყენება, მათ შორის, OA-ს უშუალოდ ტვინის ქსოვილის გარკვეულ უბნებში ან ტვინის პარაკუჭებში მიკროინექცია, ასევე ერთჯერადი ან მრავალჯერადი ინექცია. ხოლო

მეხსიერების პროცესების შეფასებისთვის სხვადასხვა ლაბორატორიაში განსხვავებული ამოცანები გამოიყენება. ეს გარემოება მნიშვნელოვნად ართულებს სხვადასხვა ლაბორატორიაში მიღებული შედეგების ურთიერთდაკავშირებას და OA-ს ტოქსიკური ეფექტების ანალიზს.

ამიტომ, ჩვენი კვლევის მიზანს ასევე წარმოადგენდა, მეხსიერების სხვადასხვა ფორმის და დასწავლის პროცესების, ასევე ჰიპოკამპის სტრუქტურული ცვლილებების შეფასება OA-ს, როგორც ჰიპოკამპში, ასევე ტვინის პარაკუჭებში ინექციის პირობებში. ცნობილია, რომ მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებისთვის ჰიპოკამპი არის კრიტიკული მნიშვნელობის სტრუქტურა და ასევე ცნობილია, რომ იგი ერთ-ერთი ის სტრუქტურაა, რომელიც AD-ის ადრეულ სტადიაზე ექვემდებარება დაზიანებას. აღსანიშნავია, რომ ექსპერიმენტულ კვლევებში OA-ს ინექციით ინდუცირებულ AD-ის მოდელებში ამ დაავადებასთან ასოცირებული პათოლოგიური პროცესების მარკერების ცვლილებები მრავალმხრივ არის შესწავლილი, თუმცა ჰიპოკამპის სხვადასხვა ველში ნეირონების დაკარგვის მაჩვენებლები, ან ნეიროტრანსმიტერული აქტიურობის ცვლილებები OA-ს ჰიპოკამპში ან პარაკუჭებში ინექციის პირობებში, არ არის შესწავლილი.

ჩვენს ექსპერიმენტებში, ნისლის მეთოდით შეღებილი ტვინის ანათლების ანალიზისა და მონაცემთა სტატისტიკური დამუშავებით გამოვლინდა, რომ OA-ის მიკროინექცია ტვინის პარაკუჭებში ან დორსალურ ჰიპოკამპში იწვევს პირამიდული უჯრედების სარწმუნო შემცირებას ჰიპოკამპში. ამასთან, ტვინის პარაკუჭებში ამ ტოქსინის მიკროინექციასთან შედარებით, OA-ის ინექცია ჰიპოკამპში იწვევს ჰიპოკამპის ნეირონების უფრო ინტენსიურ დაღუპვას. აღსანიშნავია აგრეთვე, რომ ორივე მოდელში ნეირონების დაკარგვის მაჩვენებლები უფრო მაღალია ჰიპოკამპის CA1 ველში, ვიდრე CA3 ველში. საინტერესოა, რომ კლინიკურ კვლევებში, გარდაცვლილი AD პაციენტების ტვინის ანათლების შესწავლით, ჰიპოკამპის სხვადასხვა ველში ნეირონების დაკარგვის მაღალი მაჩვენებლები გამოვლინდა იმავე ასაკის ხანდაზმულ ინდივიდებთან შედარებით და ამ შემთხვევაშიც, ნეირონების დაკარგვის უფრო მაღალი მაჩვენებლები CA1 ველში გამოვლინდა (Padurariu et al., 2012).

მიიჩნევენ, რომ AD პაციენტებში ნეიროდეგენერაციული პროცესების ერთ-ერთი მთავარი განმსაზღვრელი ფაქტორი ექსციტოტოქსიკური პროცესებია, რაც NMDA რეცეპტორების აქტივაციით და უჯრედშიგა  $Ca^{2+}$  ცვლილებებით არის განპირობებული. სხვადასხვა პათოლოგიური მდგომარეობის დროს NMDA რეცეპტორების გააქტივებას განაპირობებს უჯრედგარე სივრცეში გლუტამატის ჭარბი რაოდენობა. ამის შედეგად, ნეირონის მემბრანა ქრონიკული დეპოლარიზაციის მდგომარეობაშია და NMDA იონური არხი თავისუფალია  $Mg^{2+}$ -ის იონებისგან; გლუტამატის მოლეკულებთან დაკავშირების შედეგად გახსნილი იონური არხი დიდი რაოდენობის  $Ca^{2+}$ -ის იონებს გაატარებს. თუ ასეთი მდგომარეობა დიდხანს გრძელდება,  $Ca^{2+}$ -ის იონების ჭარბი რაოდენობა ნეირონის დაზიანებას გამოიწვევს. ვარაუდობენ, რომ AD-ს დროს ჰიპოკამპის პირამიდულ ნეირონებშიც ქრონიკული დეპოლარიზაციის მსგავსი პროცესები ვითარდება. თუმცა, რა პროცესები განაპირობებენ უჯრედგარე სივრცეში გლუტამატის დონის მომატებას და პირამიდული ნეირონების ქრონიკულ დეპოლარიზაციას, არ არის გამოვლენილი.

გლუტამატის დონის მომატება შეიძლება განპირობებული იყოს მრავალი ფაქტორით, მათ შორის გლუტამატის მიტაცების დისფუნქციით, გლუტამატის ტრანსპორტერის EAAT2 აქტიურობის შემცირებით, ასტროციტების დისფუნქციით, ასევე გლუტამინ სინთეზას აქტიურობის დაქვეითებით. გლუტამინ სინთეზას ექსპრესიის შემცირება ზრდის ნეირონების ექსციტოტოქსიკურობას (Zou et al., 2010). ტვინში გლუტამატის მეტაბოლიზმის საკვანძო ელემენტს ასტროციტები წარმოადგენენ. უჯრედგარეთა სივრცეში ასტროციტები მთავარი მოთამაშეები არიან გლუტამატის მიტაცებაში. ისინი არიან პასუხისმგებლები სინაპსური ნაპრალიდან გლუტამატის გამოტანაზე, რაც უჯრედგარეთა გლუტამატს ტოქსიკურზე დაბალ დონეზე ინარჩუნებს. ასტროციტებში გლუტამინ სინთეზაზით გლუტამატი გარდაიქმნება გლუტამინად. შემდეგ გლუტამინი გამოიყოფა და მიიტაცება ნეირონით და მოტოქონდრიის გლუტამინაზით გარდაიქმნება გლუტამატად.

შესაძლებელია OA-ის ინექციით გამოწვეული ჰიპოკამპის ნეირონების დაღუპვა განპირობებულია გლუტამატერგული ტრანსმისიის ცვლილებებით.

საინტერესოა, რომ ერთ-ერთ შრომაში, ტვინში OA-ს ინექციის შემდეგ, აღწერილია გლუტამატის დონის მნიშვნელოვანი მატება ცერებროსპინალურ სითხეში. მართალია, ჩვენს ექსპერიმენტებში ჰიპოკამპში გლუტამატის დონის ცვლილებები არ შეგვისწავლია, თუმცა ლიტერატურაში არსებული მონაცემების საფუძველზე, რომლებშიც OA-ით ინდუცირებული პათოლოგიის სხვა მარკერებია გამოვლენილი, შესაძლებელია ჰიპოკამპში ნეირონების დაღუპვის მიზეზებზე მსჯელობა.

კვლევებით გამოვლენილია, რომ გლუტამატის ტრასპორტერებს შორის გლიური გლუტამატის ტრასპორტერი (EAAT2 - glial glutamate transporter - EAAT2/GLT) რაოდენობრივად დომინანტია და მთავარ როლს ასრულებს სინაპსის გლუტამატისგან გაწმენდაში. ვარაუდობენ, რომ EAAT2-ის დისფუნქცია ჩართულია ნეიროდეგენერაციულ დაავადებათა, მათ შორის, AD-ის განვითარებაში (Kim et al., 2010; Colton et al., 2010). საინტერესოა, რომ OA-ს ჰიპოკამპში ინექციის შემდეგ, Costa-მ და კოლეგებმა (Costa et al., 2012) გამოავლინეს EAAT2/GLT-1-ის მნიშვნელოვანი შემცირება. ამ ავტორებმა OA-ს ჰიპოკამპში ინექციის შემდეგ, ასევე აღწერეს ჰიპოკამპში გლუტამინ სინთეტაზას აქტიურობის მნიშვნელოვანი შემცირება. ამრიგად, ტვინის ქსოვილში OA-ს ინექციით განპირობებული ტოქსიკური ეფექტები რომელიც EAAT2-ის დისფუნქციით და გლუტამინ სინთეტაზას აქტიურობის შემცირებით ვლინდება, შესაძლოა გლუტამატის დონის მომატებას და შემდგომი ნეიროდეგენერაციული პროცესების განვითარების მიზეზი იყოს. შესაძლოა, ჩვენს ექსპერიმენტებშიც, OA-ს ინექციის შედეგად ჰიპოკამპში ნეირონების შემცირება ამ ფაქტორების ცვლილებით იყოს განპირობებული. მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ გლუტამინ სინთეტაზას აქტიურობის მნიშვნელოვანი შემცირება აღწერილია AD პაციენტების ქერქის ჰომოგენატში (Smith et al., 1991) და ამ შემცირების მასშტაბი კორელირებს სენილური ფოლაქების რაოდენობასთან (Le Prince, 1995). AD პაციენტებში, აღწერილია გლუტამატ ტრასპორტერის აქტიურობის მნიშვნელოვანი შემცირება, რომელიც, ასევე ასოცირდება მომატებულ ექსციტოტოქსიკურობასთან და ნეიროდეგენერაციასთან (Masliah et al., 1996).

მიუხედავად იმისა, რომ AD-ის გამწვები მექანიზმები არ არის ცნობილი, სხვადასხვა შრომაში მითითებულია ოქსიდატიურ სტრესთან დაკავშირებული პათოლოგიური ცვლილებები AD პაციენტების ტვინსა და ასევე, AD-ის ცხოველურ და უჯრედულ მოდელებში (Kopke et al., 1993). ოქსიდატიური სტრესისთვის დამახასიათებელი პათოლოგიური ცვლილებები - ჟანგბადის აქტიური ფორმების წარმოქმნა, ცილების კარბონილირება, ცხიმების ზეჟანგვა, კასპაზა 3-ის აქტიურობის ზრდა და მიტოქონდრიის დისფუნქცია, აღწერილია OA-ით ინდუცირებულ AD-ის მოდელებში (Johnson and Stoothoff, 2004), რაც თავის მხრივ, ასევე, შესაძლოა იყოს ჩვენს ექსპერიმენტებში ნეირონების დაღუპვის მიზეზი.

როგორც აღვნიშნეთ, AD არის ნეიროდეგენერაციული დაავადება, რომელიც ხასიათდება კოგნიტიური ფუნქციების, მათ შორის მეხსიერების პროგრესირებადი დაქვეითებით (Ferri et al., 2005). შესაბამისად, ჩვენს ექსპერიმენტებში მეხსიერების სხვადასხვა ფორმას და დასწავლის პროცესს ვაფასებდით OA-ს, როგორც ჰიპოკამპში, ასევე პარაკუჭებში მიკროინექციის პირობებში. სივრცისა და ობიექტთა ამოცნობის მეხსიერებას, ასევე ჰაბიტუაციის პროცესს ვაფასებდით ღია ველში - ტესტით, რომელიც ახალი ობიექტის (ან მისი ახალი ადგილმდებარეობის) მიმართ სპონტანურად აღმოცენებული კვლევითი ქცევის გამოვლენაზეა დაფუძნებული. ეს ტესტი ემყარება არაასოციაციურ დასწავლას და არ მოითხოვს განმტკიცებას. რადგან ამოცნობის ამოცანაში ტესტირება არ არის დაკავშირებული დაჯილდოებასთან ან განრიდების გამომწვევ სტიმულთან, დასწავლა მიმდინარეობს ნაკლები სტრესის პირობებში (Ennaceur and Delacour, 1988). მონაცემები, ამოცნობის მეხსიერებაში ჰიპოკამპის როლის შესახებ, ურთიერთსაპირისპიროა: ზოგიერთ კვლევაში ჰიპოკამპის დაზიანების პირობებში გამოვლენილია ამოცნობის მეხსიერების დეფიციტი (Paban et al., 2005), ხოლო ზოგში უარყოფილია (Winters et al., 2004). სხვადასხვა ქცევით ექსპერიმენტში, რომლებშიც იკვლევდნენ ამოცნობის მეხსიერებას, გამოვლინდა ჰიპოკამპის კრიტიკული მნიშვნელობა უპირატესად იმ შემთხვევაში, როცა ამოცანა მოიცავდა სივრცით ან დროით კომპონენტს (Balderas et al., 2012, Barbosa et al., 2012).

ჩვენს ექსპერიმენტებში, ცხოველთა ღია ველში ტესტირებისას გამოვლინდა, რომ OA-ის ინექცია, როგორც ტვინის პარაკუჭებში, ასევე დორსალურ ჰიპოკამპში

იწვევს გარემოსა და ობიექტების მიმართ ჰაბიტუაციის პროცესის გაუარესებას. ამოცნობის მეხსიერების დეფიციტი მხოლოდ OA-ის ჰიპოკამპში ინექციის პირობებში გამოვლინდა. ჩვენს ექსპერიმენტებში OA-ის პარაკუჭებში ინექცია ამოცნობის მეხსიერების გაუარესებას არ იწვევს.

აღსანიშნავია და რამდენადმე მოულოდნელია ის ფაქტი, რომ OA-ის პარაკუჭებში ინექცია ჰაბიტუაციის პროცესის გაუარესების მიუხედავად, ამოცნობის მეხსიერების დეფიციტს არ იწვევს: ამ ჯგუფის ცხოველები ტესტირების მეოთხე და მეხუთე სესიაში ღია ველში წარდგენილი ობიექტებიდან უფრო მეტ დროს ატარებენ ადგილნაცვალ და ახალ ობიექტთან. შეიძლება გვევარაუდა, რომ ახალი ობიექტის მიმართ კვლევითი ქცევის მომატება, განპირობებულია არა მეხსიერების პროცესებით (ნაცნობ ობიექტთა შორის ახალი ობიექტის ამოცნობით), არამედ ახალი ობიექტი თავისთავად არის უფრო მიმზიდველი ცხოველისთვის, რაც განაპირობებს ამ ობიექტის მიმართ კვლევითი ქცევის უფრო მაღალ მაჩვენებელს. ის ფაქტი, რომ საპილოტე ექსპერიმენტებში წინასწარ ხდებოდა ცხოველისთვის თანაბარი მნიშვნელობის მქონე ობიექტების შერჩევა, ამ ვარაუდს გამორიცხავს. მიუხედავად იმისა, რომ საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით, OA-ის პარაკუჭებში ინექციის პირობებში ჰაბიტუაციის პროცესი გაუარესებულია, ტესტირების პირველი სამი დღის განმავლობაში გარემოსა და ობიექტების მიმართ კვლევითი ქცევის შემცირება ამ ჯგუფის ცხოველებში მაინც ვლინდება. ეს ფაქტი მიანიშნებს მთლიანი გარემოს, ასევე ცალკეული ობიექტებისა და ობიექტების ურთიერთგანლაგების შესახებ ინფორმაციის შენახვისა და მათი რეპრეზენტაციის უნარზე, რაც თავის მხრივ, განაპირობებს ტესტირების მომდევნო სესიებში ახალი ობიექტის ან ობიექტის ადგილმდებარეობის ცვლილების დეტექციის უნარს.

როგორც აღვნიშნეთ, ჩვენს ექსპერიმენტებში ამოცნობის მეხსიერების დეფიციტი ვლინდება მხოლოდ OA-ს ჰიპოკამპში შეყვანის პირობებში. ჰისტოლოგიურ კვლევაში მიღებული შედეგების გათვალისწინებით, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ OA-ს ჰიპოკამპში შეყვანის პირობებში ამოცნობის მეხსიერების დეფიციტი ჰიპოკამპის უფრო ძლიერ და მოცულობით დაზიანებას უკავშირდება. ამ მოსაზრებას ეხმიანება ასევე სხვა ავტორების მიერ ამოცნობის მეხსიერების



შეფასების მონაცემები ჰიპოკამპის სხვადასხვა მოცულობის დაზიანების პირობებში. Broadbent-მა და კოლეგებმა (Broadbent et al., 2004) აჩვენეს, რომ ამოცნობის მეხსიერება ირღვევა იმ შემთხვევაში, თუ ჰიპოკამპის დაზიანება მოიცავს მისი საერთო ფართობის დაახლოებით 75%-ს, ხოლო მცირე დაზიანებისას ამოცნობის მეხსიერება შენარჩუნებულია. უნდა ვივარაუდოთ, რომ ჩვენს ექსპერიმენტებშიც, ამოცნობის მეხსიერების დეფიციტი OA-ს ჰიპოკამპში და პარაკუჭებში ინექციის პირობებში, ჰიპოკამპის ნერვული უჯრედების რაოდენობრივ ცვლილებებთან კორელირებს.

სივრცითი მეხსიერება მღრღნელებში, მაიმუნებსა და ადამიანებში ჰიპოკამპის ძირითად ფუნქციად მიიჩნევა. დღეისათვის მიჩნეულია, რომ სივრცითი მეხსიერების მექანიზმები მღრღნელებსა და ადამიანებში ერთმანეთის მსგავსია, რაც შესაძლებელია ეფექტურად იქნას გამოყენებული ადამიანის კოგნიტიური ფუნქციების დარღვევათა ცხოველებზე მოდელირებისათვის. ამოცნობის მეხსიერებასთან შედარებით, სივრცითი მეხსიერების პროცესებში ჰიპოკამპის მონაწილეობა დადასტურებულია კლინიკური და ექსპერიმენტული კვლევებით და მეცნიერთა შორის არ წარმოადგენს სადისკუსიო თემას. დორსალური ჰიპოკამპის მცირე დაზიანებაც კი, იწვევს სივრცითი მეხსიერების დეფიციტს, რის გამოც, AD-ის ცხოველურ მოდელებში მეხსიერების დარღვევების შესაფასებლად, ყველაზე ფართოდ გამოყენებადი სწორედ ის ამოცანებია, რომლებიც სივრცით მეხსიერებას აფასებს.

OA-ის ინექციის შედეგად ჰიპოკამპში განვითარებული სტრუქტურული ცვლილებების გათვალისწინებით, ექსპერიმენტების ერთ-ერთ სერიაში შეისწავლებოდა ვირთაგვების ტვინის პარაკუჭებსა და ჰიპოკამპში ოკადაიკის მჟავის (OA) ორმხრივი მიკროინექციის ეფექტები სივრცით მეხსიერებაზე წყლის აუზის პარადიგმაში, რომელიც უხილავი ბაქნის პირობებში ტარდებოდა. ჩვენს მიერ გამოყენებული ქცევითი ტესტი დეკლარატიული სივრცითი მეხსიერების ხანგრძლივი და ხანმოკლე ფორმების, ასევე დასწავლის პროცესის შეფასების საშუალებას იძლევა. ამ ექსპერიმენტებში გამოვლინდა, რომ ტვინის პარაკუჭებსა და ჰიპოკამპში OA-ს ინექცია არ იწვევს დასწავლის პროცესის გაუარესებას, რომელიც ერთ დღიურ სესიაში, პირველ და მეორე ბლოკებში (თითოეულში 4

სინჯი) მიღებული შედეგების შედარების საფუძველზე ფასდებოდა. ამ ექსპერიმენტებში არ გამოვლინდა ასევე, სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერების გაუარესება, რომელიც ფასდებოდა სატესტო სინჯში, დასწავლის სესიის დასრულებიდან 30 წთ–ში. თუმცა, იგივე ცხოველებში სივრცითი ხანგრძლივი მეხსიერების მნიშვნელოვანი დეფიციტი გამოვლინდა სატესტო სინჯებში, რომელიც ტრენირებიდან 24 სთ–ის შემდეგ ტარდებოდა. ის ფაქტი, რომ აღნიშნულ პარადიგმაში ტვინის პარაკუჭებსა და ჰიპოკამპში OA–ს ინექცია არ იწვევს სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერების და დასწავლის პროცესის გაუარესებას, მიანიშნებს, რომ OA–ს ზემოქმედებით განვითარებული სივრცითი ხანგრძლივი მეხსიერების დეფიციტი კონსოლიდაციის ან რეპრეზენტაციის პროცესების გაუარესებით არის განპირობებული, რაც შესაძლოა ჰიპოკამპში განვითარებულ ნეიროპათოლოგიურ ცვლილებებს უკავშირდება.

მეხსიერების პროცესებში პროტეინ კინაზებისა (Samuels et al., 2008) და პროტეინ ფოსფატაზების (მათ შორის PP1 და PP2A) მონაწილეობა აღწერილია სხვადასხვა ავტორის მიერ (Holahan and Routtenberg, 2008). ამასთან, ნაჩვენებია პარაკუჭებში OA–ის ინექციის შედეგად ჰიპოკამპსა და ქერქში PP2A–ს მნიშვნელოვანი შემცირება (Kamat et al., 2013). ზოგიერთი ავტორი მიიჩნევს, რომ OA–ს ტოქსიკური ეფექტები უპირატესად ფოსფატაზებზე მისი შემაკავებელი გავლენით არის განპირობებული (Kamat et al., 2015). თუმცა, ჩვენს ექსპერიმენტებში, რომელიც OA–ის ინექციიდან 13 დღის შემდეგ ტარდებოდა, ნაკლებსავარაუდოა, რომ მისი კოგნიტიურ ფუნქციებზე ზემოქმედების ეფექტები, პროტეინ ფოსფატაზებზე შემაკავებელი ეფექტებით იყოს განპირობებული. სავარაუდოდ, ჩვენს ექსპერიმენტებში OA–ით ინდუცირებული სივრცითი მეხსიერების დეფიციტი ჰიპოკამპში განვითარებულ ნეიროდეგენერაციულ პროცესებს უკავშირდება.

გარდა ამისა, უნდა აღინიშნოს, რომ ალცჰეიმერის დაავადების დროს ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი ცვლილება თავის ტვინის ქერქსა და ჰიპოკამპში ქოლინ აცეტილტრანსფერაზას (ChAT) აქტიურობის დაქვეითებაა (Mullan, 2000). ქოლინერგული ნეირონების სელექტიური შემცირება აღინიშნება ქოლინერგულ პროექციებში, რომლებიც გამჭვირვალე ძგიდის, ბროკას დიაგონალური ღარის

მახლობლად, ღრმად მდებარე ბირთვებიდან იწყება და ჰიპოკამპისაკენ მიემართება და იმ ქოლინერგულ პროექციებში, რომლებიც მეინერტის ბაზალური ბირთვის მახლობლად იწყება და ნეოკორტექსისა და თავის ტვინის ქერქისაკენ მნიშვნელოვან ქოლინერგულ შესავალს აგზავნის (Katzman, 1989).

მრავალ კვლევაშია ნაჩვენები, რომ ჰიპოკამპდამოკიდებული დასწავლა ასოცირებულია ჰიპოკამპში აცეტილქოლინის დონის მატებასთან. შესაბამისად, უჯრედგარეთა აცეტილქოლინის მატება ჩართულია ჰიპოკამპდამოკიდებული მეხსიერების პროცესებში (Micheau and Marighetto, 2011). ნაჩვენებია, რომ ბაზალური წინატვინისა და მათი ქერქული პროექციების დაზიანებით გამოწვეული ქოლინერგული აქტიურობის დაქვეითება იწვევს დასწავლისა და მეხსიერების დეფიციტს (Schliebs and Arendt, 2011). ფარმაკოლოგიურ ექსპერიმენტებშიც ნანახია, რომ ქოლინერგული რეცეპტორების აგონისტები და აცეტილქოლინესთერაზა ინჰიბიტორები (AChEIs) ამცირებენ ზოგიერთ კოგნიტიურ დისფუნქციას (Hasselmo and Sarter, 2011), მაშინ როცა, ანტიქოლინერგული წამლები იწვევენ დასწავლისა და მეხსიერების დეფიციტს ადამიანებშიც და ცხოველებშიც (Easton et al, 2012). ქოლინერგული რეცეპტორების ანტაგონისტები, როგორცაა სკოპოლამინი, დასწავლისა და მეხსიერების ცხოველურ მოდელებში აუარესებს ახალი მეხსიერების კოდირებას, ხოლო ადამიანებში იწვევს კოგნიტიურ დეფიციტს (Micheau and Marighetto, 2011).

მეხსიერების პროცესებში ქოლინერგული ტრანსმისიის მნიშვნელობის გათვალისწინებით, ექსპერიმენტების ერთ სერიაში, ჰიპოკამპში ქოლინერგული ტრანსმისიის მარკერები შევისწავლეთ OA–ს პარკუჭებში ინექციის პირობებში და საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში. იმუნოჰისტოქიმიური კვლევებით გამოვლინდა, რომ OA–ს პარკუჭებში შეყვანა იწვევს AChE-მგრძობიარე ნეირონების რაოდენობის სარწმუნო შემცირებას ჰიპოკამპში, რაც ქოლინერგული აქტიურობის შემცირების მაჩვენებელია. შესაძლოა ვივარაუდოთ, რომ ჰიპოკამპის ქოლინერგული აქტიურობის შემცირება ჰიპოკამპის შიგა ნერვულ ქსელებში განვითარებულ პათოლოგიურ ცვლილებებს უკავშირდება. თუმცა, როგორც აღვნიშნეთ, ჰიპოკამპის ძირითადი ქოლინერგული შესავალი სათავეს იღებს მედიალურ სეპტუმში და ჰიპოკამპის ქოლინერგული დეფიციტი შესაძლოა ამ

სტრუქტურაში განვითარებულ ცვლილებებს უკავშირდება. შესაბამისად, მნიშვნელოვანი გახდა OA-ს პარკუჭებში შეყვანის პირობებში ნეიროდეგენერაციული პროცესების შეფასება მედიალურ სექტუმში. აღსანიშნავია, რომ სექტოპიპოკამპური პროექციები გარდა ქოლინერგულისა მოიცავს ასევე, სხვა ერგულ პროექციებს, რომელთა შორის ყველაზე ფართოდ წარმოდგენილია გამა-ამინო-ერბო მჟავა (gamma-Aminobutyric acid - GABA) ერგული პროექციები. ამიტომ, ჩვენს მიერ ჩატარებული იმუნოჰისტოქიმიური კვლევები მოიცავდა მედიალურ სექტუმში არა მარტო ქოლინერგული, არამედ GABA-ერგული ნეირონების დაზიანების ხარისხის შეფასებას. ამ ექსპერიმენტებში მიღებული შედეგებით გამოვლინდა, რომ OA-ს პარკუჭებში შეყვანა იწვევს, მედიალურ სექტუმში, როგორც ქოლინერგული, ასევე GABA-ერგული ნეირონების მნიშვნელოვან შემცირებას საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით. მიღებული მონაცემები საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ მეხსიერების დეფიციტი, რომელიც OA-ს პარკუჭებში ინექციის პირობებში ვლინდება, ჰიპოკამპში მიმდინარე ნეიროდეგენერაციულ ცვლილებებთან ერთად, გარკვეულწილად განპირობებულია ჰიპოკამპის ქოლინერგული დეაფერენტაციით. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ექსპერიმენტებში, სადაც იყენებენ სექტოპიპოკამპური პროექციების სხვადასხვა ერგული კომპონენტების სელექტიურ დაზიანებას, მეხსიერების დეფიციტი ნაკლებად არის გამოხატული, არასელექტიურ დაზიანებასთან შედარებით. მედიალური სექტუმის ელექტროლიზური დაზიანების ან იმუნოტოქსინებით ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების თანადროული დაზიანების პირობებში მეხსიერების დეფიციტი გაცილებით მნიშვნელოვანია (Naneishvili et al., 2016). ამ ფაქტების საფუძველზე ვარაუდობენ, რომ ჰიპოკამპდამოკიდებული მეხსიერების პროცესებში სექტოპიპოკამპური პროექციების არამარტო ქოლინერგული, არამედ GABA-ერგული პროექციებიც მნიშვნელოვან ფუნქციას ასრულებენ. ამ ფაქტების და ჩვენს ექსპერიმენტებში მიღებული შედეგების საფუძველზე, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ OA-ს პარკუჭებში ინექციით გამოწვეული მეხსიერების დეფიციტის განვითარებას, სექტოპიპოკამპურ ქოლინერგულ პროექციებთან ერთად, GABA-ერგული პროექციების დაზიანებაც განაპირობებს. ანატომიურად,

სეპტოჰიპოკამპურ GABA-ერგულ პროექციებს საშუალება აქვთ მნიშვნელოვანი გავლენა ჰქონდეთ ჰიპოკამპის პირამიდულ ნეირონებზე. მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული ნეირონებისგან განსხვავებით, რომლებიც ჰიპოკამპის სხვადასხვა ტიპის ნეირონებს (პირამიდული უჯრედები, დაკბილული ხვეულის მარცვლოვანი უჯრედები, შემაკავებელი ინტენეირონები) უკავშირდებიან (Frotscher and Leranth, 1985), GABA-ერგული ნეირონები ჰიპოკამპში სელექტიურად მხოლოდ GABA ინტენეირონებზე პროეცირდებიან (Freund and Antal, 1988). ასეთი სელექტიური კავშირების გამო, მედიალური სეპტუმის GABA-ერგულ ნეირონებს თეორიულად შეუძლიათ ჰიპოკამპის პირამიდული ნეირონების ძლიერი განშეკავება. მართლაც, ჰიპოკამპის ანათლებზე ელექტროფიზიოლოგიურ კვლევაში აღწერილია, რომ სეპტოჰიპოკამპური GABA-ერგული პროექციების აქტივაცია პირამიდული უჯრედების განშეკავებას იწვევს (Toth et al., 1997) და ხელს უწყობს ჰიპოკამპში ხანგრძლივი პოტენციაციის განვითარებას. ხანგრძლივი პოტენციაცია უპირატესად ვითარდება, როდესაც პირამიდული უჯრედები მაქსიმალურად აქტიურდება (Pavlidis et al., 1988).

ამრიგად, ჩვენს ექსპერიმენტებში OA-ს ტვინში ინექციის ტოქსიკური ეფექტები მეხსიერების პროცესების გაუარესებასთან ერთად, ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში განვითარებულ ნეიროდეგენერაციულ პროცესებთან ასოცირდება. როგორც აღვნიშნეთ, ნეიროდეგენერაციული პროცესების ერთ-ერთი მთავარი განმსაზღვრელი ფაქტორი ექსციტოტოქსიკური პროცესებია, რომელშიც გლუტამატერგული NMDA რეცეპტორების აქტივაცია მნიშვნელოვან როლს ასრულებს. არსებული მონაცემების თანახმად, NMDA რეცეპტორების ანტაგონისტებს აქვთ  $Ca^{2+}$ -ის იონოტოქსიკურობით გამოწვეული ნეიროდეგენერაციული პროცესების მიმართ ნეიროპროტექტორული როლის შესრულების პოტენცია. კლინიკურმა გამოკვლევებმა დაადასტურა AD-ის სიმპტომატური მკურნალობისთვის NMDA რეცეპტორის ანტაგონისტის 1-ამინო-3,5-დიმეთილადამანტანის (მემანტინი) ეფექტურობა და მეხსიერების მნიშვნელოვანი გაუმჯობესება მისი ქოლინესთერაზას ინჰიბიტორთან ერთად გამოყენებისას (Reisberg et al., 2006).

ყოველივე ზემოაღნიშნულიდან გამომდინარე, მიზანშეწონილად მივიჩნით, მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედებით OA-ით გამოწვეული მეხსიერების სხვადასხვა ფორმის დარღვევის და ნეიროდეგენერაციის პრევენციის პოტენციური შესაძლებლობის შესწავლა. ჩვენს მიერ შერჩეული მემანტინის დოზა (5მგ/კგ) განისაზღვრა საპილოტე ექსპერიმენტებსა და ლიტერატურაში არსებული მონაცემების საფუძველზე, სადაც აღნიშნული დოზა განიხილება ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტებში გამოყენებული თერაპიული დოზის შესაბამისად. ჩვენს ექსპერიმენტებში OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ინექციის პირობებში მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები ნეიროდეგენერაციულ პროცესებზე ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში, ხოლო მეხსიერების პროცესებზე, ორ სხვადასხვა ქცევით პარადიგმაში ფასდებოდა.

როგორც აღვნიშნეთ, ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია ტვინის პარაკუჭებში იწვევს ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველში პირამიდული უჯრედების და ასევე, AChE-მგრძობიარე ნეირონების, ხოლო მედიალურ სეპტუმში ChAT და PV მგრძობიარე უჯრედების სარწმუნო შემცირებას. მემანტინით ქრონიკული ზემოქმედება სარწმუნოდ ამცირებს OA-ს მიკროინექციით გამოწვეულ ნეიროპათოლოგიურ ცვლილებებს ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში. ჩვენი და სხვა ავტორების მონაცემების საფუძველზე, OA-ს პარაკუჭებში ინექციის შედეგად ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში განვითარებული ნეიროპათოლოგიური პროცესების ერთ-ერთ განმსაზღვრელ ფაქტორად ექსციტოტოქსიკური პროცესები და NMDA რეცეპტორების აქტივაცია ვივარაუდეთ. ის ფაქტი, რომ NMDA რეცეპტორების ანტაგონისტით - მემანტინით, შესაძლებელია ამ პათოლოგიური ცვლილებების პრევენცია, ადასტურებს OA-ს ტოქსიკურ ეფექტებში ექსციტოტოქსიკური პროცესების ჩართულობას.

ქცევითი ექსპერიმენტების ერთ სერიაში, OA-ს პარაკუჭებში ინექციის ეფექტები სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებაზე (რომელიც ფასდებოდა სპონტანური მორიგეობის ამოცანით) შეისწავლებოდა მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების პირობებში, ან მემანტინით ზემოქმედების გარეშე. ამ ექსპერიმენტებით გამოვლინდა, რომ OA-ს პარაკუჭებში ინექცია აუარესებს ხანმოკლე მეხსიერებას, ხოლო მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედებით შესაძლებელია ამ დეფიციტის

პრევენცია. მემანტინის ზემოქმედებით მეხსიერების დეფიციტის პრევენციული ეფექტი სავარაუდოდ, ექსციტოტოქსიკურ პროცესებზე მემანტინის შემაკავებელი გავლენით უნდა იყოს განპირობებული.

აღსანიშნავია, რომ ჩვენს ექსპერმენტებში OA-ს პარკუჭებში ინექციის ეფექტებს სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებაზე ვაფასებდით ორ სხვადასხვა ქცევით პარადიგმაში: მორისის აუზის პირობებში და სპონტანური მორიგეობის ამოცანაში. საინტერესოა, რომ OA-ს ეფექტები სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებაზე სხვადასხვა ამოცანით ტესტირების პირობებში განსხვავებულია: სპონტანური მორიგეობის ამოცანაში მიღებული შედეგებისგან განსხვავებით, მორისის აუზის პირობებში ტესტირებისას, სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერების დეფიციტი არ გამოვლინდა. ჩვენი ვარაუდით, შედეგების განსხვავების მიზეზი შესაძლებელია იყოს ის გარემოება, რომ ამ ორი ამოცანით ორი განსხვავებული ფუნქციის შეფასება ხდება: ხანმოკლე მეხსიერება, რომელიც ფასდება მორისის აუზის პირობებში არის ხანგრძლივი მეხსიერების ფორმირების წინაპირობა, რომლის საფუძველზე და კონსოლიდაციის პროცესის შედეგად, უნდა მოხდეს ხანგრძლივი მეხსიერების ფორმირება, ანუ უხილავი ბაქნის ადგილმდებარეობის დასწავლა, რაც განაპირობებს შემდგომ სინჯებში ცხოველის პირდაპირ გაცურვებს ბაქნისკენ; სპონტანური მორიგეობის ამოცანაში სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერება დროის მხოლოდ იმ მცირე ინტერვალშია აქტუალური, ვიდრე ცხოველი არ განახორციელებს შემდგომ მკლავში შესვლას და არ საჭიროებს ხანგრძლივ მეხსიერებაში შენახვას. ხანმოკლე მეხსიერების ამ ფორმას მუშა მეხსიერების სახელითაც მოიხსენიებენ. ამოცანები, რომელთა წარმატებით შესრულება მუშა მეხსიერების გამოყენებას ითვალისწინებს, ყურადღების მექანიზმების მეტ ჩართულობას მოითხოვს. თუ გავითვალისწინებთ ქოლინერგული სისტემის მნიშვნელობას ყურადღების მექანიზმებში, შესაძლოა ვივარაუდოთ, რომ OA-ს ზემოქმედებით განვითარებული დეფიციტი სპონტანური მორიგეობის ამოცანით ტესტირებისას, ბაზალური წინატვინის ქოლინერგული ნეირონების დაკარგვას და ყურადღების მექანიზმების გაუარესებას უნდა უკავშირდებოდეს. გარდა ამისა, სპონტანური მორიგეობის ამოცანა დაფუძნებულია სპონტანურად აღმოცენებულ

კვლევით ქცევაზე, ხოლო მორისის აუზის ამოცანა თავდაცვით მოტივაციაზე, რაც ასევე შეიძლება განაპირობებდეს მიღებული შედეგების განსხვავებას.

OA-ს პარკუჭებში ინექციის ეფექტები მემანტინის ქრონიკული შეყვანის პირობებში ხანმოკლე მეხსიერების გარდა, შეისწავლებოდა დასწავლის სტრატეგიის არჩევაზე მორისის წყლის აუზის ამოცანის ხილულბაქნიან ვერსიაში. ექსპერიმენტების ამ სერიაში გამოყენებული მორისის წყლის აუზში ტესტირების პირობები (განსხვავებით მორისის აუზის უხილავბაქნიანი ვერსიისა, რომლის შედეგები უკვე განვიხილეთ) უზრუნველყოფს დასწავლის პროცესში ამოცანის შესრულების სტრატეგიის (ადგილის დასწავლა ან ერთეულ სიგნალზე ორიენტაცია) თავისუფალ არჩევანს, ხოლო ექსპერიმენტში მონაწილე ცხოველების მიერ არჩეული სტრატეგიის გამოვლენა სატესტო სინჯებშია შესაძლებელი. უნდა აღინიშნოს, რომ ამოცანებში, რომელთა შესრულება დამოკიდებულია ადგილის დასწავლასთან ან დისკრეტული სიგნალისა და ქცევითი პასუხის ასოციაციის ფორმირებასთან თავის ტვინის განსხვავებული სისტემები მონაწილეობს (Ragozzino et al., 2001; Packard and Knowlton, 2002). მაგალითად, ჰიპოკამპის დაზიანება აუარესებს მორისის აუზში ადგილის დასწავლას, რომლის დროსაც აუზში უხილავი ბაქნის ადგილის განსაზღვრისათვის გამოიყენება ინფორმაცია აუზის გარეთ არსებული სიგნალების კონფიგურაციის შესახებ, ხოლო არ აუარესებს სიგნალის დასწავლას, რომლის დროსაც, უსიამოვნო გარემოდან განრიდებისთვის გამოიყენება ერთეული სიგნალი, მაგალითად, ხილული ბაქანი.

ექსპერიმენტების ამ სერიაში, დასწავლის პროცესი ფასდებოდა ტესტირების მომდევნო დღეებში ბაქნის პოვნის ლეტენტური დროის შემცირებით. მიღებული შედეგების თანახმად, OA-ს პარკუჭებში ინექციის შედეგად, ცხოველებში დასწავლის პროცესი საწყის ეტაპზე გაუარესებულია, თუმცა ტესტირების მომდევნო დღეებში, ბაქნის პოვნის ლატენტური დრო ხილული ბაქნის პირობებში, ამ ჯგუფის ცხოველებში საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებისაგან არ განსხვავდება. ეს ფაქტი მიანიშნებს, რომ პერცეპტუალური, მოტივაციური ან მოტორული უნარები ოკადაიკის მჟავით ზემოქმედებით არ იცვლება. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ზემოაღნიშნული უნარები არ იცვლება საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში მემანტინის ზემოქმედებით.



ჩვენს ექსპერიმენტებში გამოვლინდა, რომ OA-ს ინექცია იწვევს ადგილის დასწავლის სტრატეგიის გამოყენების დეფიციტს, ხოლო მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედებით შესაძლებელია ამ დეფიციტის პრევენცია. მეხსიერების დეფიციტის პრევენცია კორელაციაშია მემანტინის ზემოქმედებით ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში OA-ს მიკროინექციით გამოწვეული ნეიროპათოლოგიური ცვლილებების პრევენციასთან. ეს ფაქტი, ერთი მხრივ, მიანიშნებს OA-ით ინდუცირებული მეხსიერების დარღვევებში ჰიპოკამპში განვითარებული ნეიროპათოლოგიური პროცესების მონაწილეობას, ხოლო მეორე მხრივ, ამ პროცესებში ექსციტოტოქსიკური პროცესების ჩართულობას.

აღსანიშნავია, რომ OA-ს პარკუჭებში ინექცია არ იწვევს სიგნალზე ორიენტაციის სტრატეგიის დეფიციტს, რაც მიანიშნებს, რომ OA-ს ტოქსიკური ეფექტების მიმართ ჰიპოკამპი უფრო სენსიტიურია, ვიდრე ტვინის ის უბნები, რომლებიც პასუხისმგებლები არიან ამ სტრატეგიით ამოცანის განხორციელებაზე.

ამრიგად, ოკადაიკის მჟავის მიკროინექცია ტვინის პარკუჭებში, სივრცითი მეხსიერების დეფიციტის თანადროულად, იწვევს ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში პირამიდული უჯრედების და ასევე, AChE-მგრძობიარე ნეირონების, ხოლო მედიალურ სეპტუმში ChAT და PV მგრძობიარე GABA-ერგული უჯრედების სარწმუნო შემცირებას. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედებით შესაძლებელია OA-ს მიკროინექციით გამოწვეული მეხსიერების დარღვევათა და ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში ნეიროპათოლოგიური ცვლილებების პრევენცია.

## დასკვნები

1. OA-ს ტვინის პარკუჭებში ან ჰიპოკამპში ბილათერალური მიკროინექცია ამცირებს პირამიდული ნეირონების რაოდენობას ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში; CA1 ველში აღნიშნული შემცირება უფრო მნიშვნელოვანია;

2. OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ბილატერალური მიკროინექციის პირობებში ჰიპოკამპის ნეირონთა რაოდენობრივი შემცირება ნაკლებია, ვიდრე OA-ს ჰიპოკამპში მიკროინექციისას;
3. OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ბილატერალური მიკროინექცია იწვევს ჰიპოკამპის სხვადასხვა ველში AChE-მგრძობიარე ნეირონების, ხოლო მედიალურ სექტუმში ChAT და GABA-ერგული პარვალბუმინმგრძობიარე ნეირონების სარწმუნო შემცირებას;
4. OA-ს ჰიპოკამპში ბილატერალური მიკროინექცია იწვევს ამოცნობის მეხსიერების დარღვევას; OA-ს ტვინის პარაკუჭებში მიკროინექცია არ მოქმედებს ამოცნობის მეხსიერებაზე;
5. გამოვლინდა კორელაცია OA-ს ინექციით განპირობებულ ამოცნობის მეხსიერების დარღვევასა და ჰიპოკამპის ნეირონების დაკარგვის ინტენსივობას შორის; OA-ით გამოწვეული ამოცნობის მეხსიერების დეფიციტი, ნაწილობრივ მაინც, შესაძლოა უკავშირდებოდეს ნეიროტოქსინის გავლენით ჰიპოკამპის ნეირონების დაკარგვას;
6. OA-ს მიკროინექცია (პარაკუჭებში ან ჰიპოკამპში) არ აუარესებს დასწავლის პროცესს და ხანმოკლე სივრცით მეხსიერებას, თუმცა იწვევს ხანგრძლივი სივრცითი მეხსიერების დეფიციტს წყლის აუზის ამოცანაში.
7. OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ბილატერალური მიკროინექციის მქონე ვირთაგვები წარმატებით ასრულებენ წყლის აუზის ამოცანას ხილულბაქნიან ვერსიაში, თუმცა ვერ სწავლობენ ბაქნის ადგილმდებარეობას სივრცეში, რაც მიანიშნებს ჰიპოკამპდამოკიდებული სივრცითი მეხსიერების დარღვევასა და OA-ს სელექტიურ ნეიროტოქსიკურობაზე;
8. ჰიპოკამპდამოკიდებული სივრცითი მეხსიერების დარღვევა OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ბილატერალური მიკროინექციის პირობებში შესაძლოა უკავშირდებოდეს სექტოჰიპოკამპური ქოლინერგული და GABAერგული პროექციების დაზიანებას; მეხსიერების დარღვევის მექანიზმად სექტოჰიპოკამპური დისფუნქცია შეიძლება განვიხილოთ;

9. OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ბილატერალური მიკროინექცია იწვევს სივრცითი მორიგეობის დარღვევას; ეს დარღვევა შესაძლოა მოიცავდეს როგორც ხანმოკლე მეხსიერებას, ასევე არამნემონურ პროცესებს, როგორცაა ყურადღება და შესაძლოა გამოწვეული იყოს ჰიპოკამპში ქოლინერგული დისფუნქციით;
10. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედება სარწმუნოდ აუმჯობესებს OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ბილატერალური მიკროინექციით გამოწვეული სივრცითი მეხსიერების დეფიციტს და ჰიპოკამპსა და მედიალურ სეპტუმში განვითარებულ ნეიროპათოლოგიურ ცვლილებებს;
11. მემანტინის პრევენციული ეფექტი აჩვენებს OA-ით გამოწვეულ ტოქსიკურობაში NMDA რეცეპტორების ჩართულობას.

ამრიგად, OA-ს ტვინის პარაკუჭებში ან ჰიპოკამპში ბილატერალური მიკროინექცია იწვევს სივრცითი მეხსიერების დეფიციტს და ჰიპოკამპის ნეირონების დაკარგვას, ამ მოდელში პირველად არის ნაჩვენები მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული და GABAერგული ნეირონების რაოდენობის შემცირება. ასეთი ცვლილებები აღწერილია ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტებში და შესაბამისად, ადასტურებს ამ მოდელის ეფექტურობას თერაპიული საშუალებების ახალი სტრატეგიების განსაზღვრისათვის. მიღებული შედეგები მნიშვნელოვანია მეხსიერებასთან დაკავშირებული სხვადასხვა რეგულატორული მექანიზმების უკეთ შეცნობაში.

## ლიტერატურის სია

1. Aisen P.S., Davis K.L., Berg J.D., Schafer K., Campbell K., Thomas R. G., Weiner M. F., Farlow M. R., Sano M., Grundman M., Thal L. J. , A randomized controlled trial of prednisone in Alzheimer's disease. Alzheimer's Disease Cooperative Study. *Neurology*, 2000, 54, 588–593.
2. Ahlenius H., Visan V., Kokaia M., Lindvall O., Kokaia Z., Neural stem and progenitor cells retain their potential for proliferation and differentiation into functional neurons despite lower number in aged brain. *J. Neurosci.*, 2009, 29, 4408–4419.
3. Alonso A.C., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Alzheimer's disease hyperphosphorylated tau sequesters normal tau into tangles of filaments and disassembles microtubules. *Nat Med.*, 1996, 2(7):783-7.
4. Alvarez-Buylla A., Garcia-Verdugo J.M., Tramontin A.D., A unified hypothesis on the lineage of neural stem cells. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2001, 2, 287–293.
5. Ankarcrona M., Mangialasche F., Winblad B., Rethinking Alzheimer's disease therapy: are mitochondria the key? *J Alzheimers Dis.*, 2010, 20 Suppl 2:S579–90.
6. Aoki C., Lee J., Nedelescu H., Ahmed T., Ho A. and Shen J., “Increased levels of NMDA receptor NR2A subunits at preand postsynaptic sites of the hippocampal CA1: an earlyresponse to conditional double knockout of presenilin 1 and 2,” *Journal of Comparative Neurology*, 2009, vol. 517, no. 4, pp. 512–523.
7. Arendt T., Holzer M., Fruth R., Bruckner M.K., Gartner U., Phosphorylation of tau, abeta-formation, and apoptosis after in vivo inhibition of PP-1 and PP-2A. *Neurobiol Aging.*, 1998 , 19(1):3-13.
8. Arendt T., Holzer M., Bruckner M.K., Janke C., Gartner U., The use of okadaic acid *in vivo* and the induction of molecular changes typical for Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 1998, 85,1337–1340.
9. Avila J., Lucas J.J., Perez M., Hernandez F., Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiol Rev.*, 2004, 84(2):361-84.
10. Balderas I., Morin J.P., Rodriguez-Ortiz C.J., Bermudez-Rattoni F., Muscarinic receptors activity in the perirhinal cortex and hippocampus has differential

- involvement in the formation of recognition memory. *Neurobiol Learn Mem.*, 2012, 97: 418-24.
11. Balducci C., Forloni G., *Neuromolecular Med.* APP transgenic mice: their use and limitations., 2011, 13(2):117-37.
  12. Barbosa F.F., de Olivera Pontes I.M., Ribeiro A.M., SILVA R.H., Differential roles of the dorsal hippocampal regions in the acquisition of spatial and temporal aspects of episodic-like memory. *Behav Brain Res.*, 2012, 232: 269-277.
  13. Barker G. R. I. & Warburton E. C., When is the hippocampus involved in recognition memory?. *The Journal of Neuroscience*, 2011, 31(29), 10721 - 10731.
  14. Bartus R.T., Dean R.L., Beer B. et al. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*. 1982, 217:408–14.
  15. Beffert U., Stolt P.C., Herz J., Functions of lipoprotein receptors in neurons. *J. Lipid Res.*, 2004, 45, 403–409.
  16. Bertram L., Tanzi R.E., The genetics of Alzheimer's disease. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, 2012, 107, 79–100.
  17. Bialojan C., Takai A., Inhibitory effect of a marine-sponge toxin, okadaic acid, on protein phosphatases. Specificity and kinetics. *Biochem. J.*, 1988, 256, 283–290.
  18. Bliss T. V. and Lomo T., Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path, *Journal of Physiology*, 1973, vol. 232, no. 2, pp. 331–356.
  19. Bliss T. V., Collingridge G. L., and Morris R. G., Introduction. Long-term potentiation and structure of the issue, *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 2003, vol. 358, no.1432, pp. 607–611.
  20. Block M.L., Zecca L., Hong J.S., Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nat Rev Neurosci.*, 2007, 8(1):57–69.
  21. Blurton-Jones M., Kitazawa M., Martinez-Coria H., Castello N.A., Muller F.J., Loring J.F., Yamasaki T.R., Poon W.W., Green K.N., LaFerla F.M., Neural stem cell improve cognition via BDNF in a transgenic model of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 2009, 106, 13594–13599.

22. Blurton-Jones M., Spencer B., Michael S., Castello N.A., Agazaryan A.A., Davis J.L., Muller F.J., Loring J.F., Masliah E., LaFerla F.M., Neural stem cells genetically-modified to express neprilysin reduce pathology in Alzheimer transgenic models. *Stem Cell Res. Ther.*, 2014, 5, 46.
23. Boutajangout A., Ingadottir J., Davies P., Sigurdsson E.M., Passive immunization targeting pathological phospho-Tau protein in a mouse model reduces functional decline and clears Tau aggregates from the brain. *J. Neurochem.*, 2011, 118, 658–667.
24. Bowen D.M., Smith C.B., White P., Davison A.N., Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies *Brain*, 1976, 99, pp. 459–496.
25. Brito-Moreira J., Paula-Lima A.C., Bomfim T.R., Oliveira F.B., Sepulveda F.J., De Mello F.G., Aguayo L.G., Panizzutti R., Ferreira S.T., Abeta oligomers induce glutamate release from hippocampal neurons. *Curr Alzheimer Res*, 2011, 8:552-62.
26. Broadbent N.J., Squire L.R., Clark R.E., Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci.*, 2004, 101:14515–14520.
27. Bryan K.J., Lee H., Perry G., Smith M.A., Casadesus G Transgenic Mouse Models of Alzheimer's Disease: Behavioral Testing and Considerations. In: Buccafusco JJ (ed) *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*, 2nd edn. CRC Press, Boca Raton (FL) 2009.
28. Busser J., Geldmacher D.S., Herrup K., Ectopic cell cycle proteins predict the sites of neuronal cell death in Alzheimer's disease brain. *J Neurosci.*, 1998, 18(8):2801–7.
29. Butterfield D.A., di Domenico F., Barone E., Elevated risk of type 2 diabetes for development of Alzheimer disease: A key role for oxidative stress in brain. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014, 1842, 1693–1706.
30. Butterfield D.A., Pocernich C.B., The glutamatergic system and Alzheimer's disease: Therapeutic implications. *CNS Drugs*, 2003, 17, 641–652.
31. Cacquevel M., Aeschbach L., Houacine J., Fraering P.C., Alzheimer's disease-linked mutations in presenilin-1 result in a drastic loss of activity in purified  $\gamma$ -secretase complexes. *PLoS ONE*, 2012, 7, e35133.

32. Caldeira C., Oliveira A.F., Cunha C., Vaz A.R., Falcao A.S., Fernandes A. et al. Microglia change from a reactive to an age-like phenotype with the time in culture. *Front Cell Neurosci.*, 2014, 8:152.
33. Caldero J., Brunet N., Ciutat D., Hereu M., Esquerda JE. Development of microglia in the chick embryo spinal cord: Implications in the regulation of motoneuron survival and death. *J Neurosci Res.*, 2009, 87: 2447–2466.
34. Cameron B., Landreth G.E., Inflammation microglia and Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis.*, 2010, 37: 503–509.
35. Cameron H.A., McKay R.D., Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.*, 2001, 435, 406–417.
36. Carrasco M.M., Aguera L., Gil P., Morinigo A., Leon T., Safety and effectiveness of donepezil on behavioral symptoms in patients with Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2011; 25:333-40.
37. Carrillo M.C., Brashear H.R., Logovinsky V., Ryan J.M., Feldman H.H., Siemers E.R., Abushakra S., Hartley D.M., Petersen R.C., Khachaturian A.S. et al. Can we prevent Alzheimer's disease? Secondary "prevention" trials in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.*, 2013, 9, 123–131.
38. Castellani R.J., Perry G., Pathogenesis and disease-modifying therapy in Alzheimer's disease: the flat line of progress. *Arch Med Res.*, 2012, 43(8):694–8.
39. Castellani R.J., Perry G., The complexities of the pathology—pathogenesis relationship in Alzheimer disease. *Biochem. Pharmacol.*, 2014, 88, 671–676.
40. Cedazo-Minguez A., Apolipoprotein E. and Alzheimer's disease: Molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *J. Cell. Mol. Med.*, 2007, 11, 1227–1238.
41. Chai X., Wu S., Murray T.K., Kinley R., Cella C.V., Sims H., Buckner N., Hanmer J., Davies P., O'Neill M.J. et al. Passive immunization with anti-Tau antibodies in two transgenic models: Reduction of Tau pathology and delay of disease progression. *J. Biol. Chem.*, 2011, 286, 34457–34467.
42. Chen L., Yamada K., Nabeshima T. and Sokabe M., " $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor as a target to rescue deficit in hippocampal LTP induction in  $\beta$ -amyloid infused rats," *Neuropharmacology*, 2006, vol. 50, no. 2, pp. 254–268.

43. Chetelat G., La Joie R., Villain N., Perrotin A., de La Sayette V., Eustache F., Vandenberghe R., Amyloid imaging in cognitively normal individuals, at-risk populations and preclinical Alzheimer's disease. *Neurol Clin.*, 2013, 2:356–365.
44. Chetelat, Alzheimer disease: A $\beta$ -independent processes-rethinking preclinical AD Article : *Nature reviews neurology*, 2013, 9(3):123-4.
45. Chighladze M., Dashniani M., Beselia G., Kruashvili L., Naneishvili T. „Spatial Memory Impairment and Hippocampal Cell Loss Induced by Okadaic Acid“ *Georg. Med. News.*, 2016, no 1 (250) 83-87;
46. Cole G.M., Frautschy S.A., The role of insulin and neurotrophic factor signaling in brain aging and Alzheimer's disease. *Exp. Gerontol.*, 2007, 42, 10–21.
47. Colton C.A., Wilcock D.M., Assessing activation states in microglia. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2010, 9: 174–191.
48. Colton C.K., Kong Q., Lai L., Zhu M.X., Seyb K.I., Cuny G.D. et al. Identification of translational activators of glial glutamate transporter EAAT2 through cell-based high-throughput screening: an approach to prevent excitotoxicity. *J Biomol Screen*, 2010, 15:653–62.
49. Connor B., Young D., Yan Q., Faull R.L., Synek B., Dragunow M., Brain-derived neurotrophic factor is reduced in Alzheimer's disease. *Mol. Brain Res.*, 1997, 49, 71–81.
50. Costa A.P., Tramontina A.C., Biasibetti R., Batassini C., Lopes M.W., Wartchow K.M., Bernardi C., Tortorelli L.S., Leal R.B., Goncalves C.-A., Neuroglial alterations in rats submitted to the okadaic acid-induced model of dementia. *Behav. Brain Res.*, 2012, 226, 420–427.
51. Coyle J.T., Price D.L., DeLong M.R., Alzheimer's disease: a disorder of central cholinergic innervation. *Science*, 1983, 219, 1184–1190.
52. Darnaudery M., Pallares M., Piazza P.V., Le Moal M., Mayo W., The neurosteroid pregnenolone sulfate infused into the medial septum nucleus increases hippocampal acetylcholine and spatial memory in rats. *Brain Res.*, 2002, 951(2):237-42 .



53. Dashniani M., Beselia G., Maglakelidze G., Burjanadze M., Chkhvishvili N., Effects of the selective lesions of cholinergic septohippocampal neurons on different forms of memory and learning process. *Georgian Medical News*, 2009, 166: 81-85.
54. Dashniani M.G., Burjanadze M.A., Naneishvili T.L., Chkhikvishvili N.C., Beselia G.V., Kruashvili L.B., Pochkhidze N.O., Chighladze M.R. Exploratory behavior and recognition memory in medial septal electrolytic, neuro- and immunotoxic lesioned rats. *Physiol. Res.*, 2015, 64: 755-767.
55. Dashniani M., Chighladze M., Burjanadze M., Beselia G., Kruashvili L., “Memantine Attenuates The Okadaic Acid Induced Short-Term Spatial memory Impairment And Hippocampal Cell Loss in Rats” (in print).
56. Davis D.G., Schmitt F.A., Wekstein D.R., Markesbery W.R., Alzheimer neuropathologic alterations in aged cognitively normal subjects. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1999, 58:376–388.
57. De Felice F.G., Lourenco M.V., Ferreira S.T., How does brain insulin resistance develop in Alzheimer’s disease? *Alzheimers Dement.*, 2014, 10, S26–S32.
58. Derecki N.C., Katzmarski N., Kipnis J., Meyer-Luehmann M., Microglia as a critical player in both developmental and late-life CNS pathogenesis. *Acta Neuropathol.*, 2014, 128, 333–345.
59. Dewil M., Van Den Bosch L., Robberecht W., Microglia in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Belg.*, 2007, 107:63–70.
60. Dineley K.T., Westerman M., Bui D., Bell K., Ashe K.H. and Sweatt J.D., “ $\beta$ -amyloid activates the mitogen-activated protein kinase cascade via hippocampal  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptors: in vitro and in vivo mechanisms related to Alzheimer’s disease,” *The Journal of Neuroscience*, 2001, vol. 21, no. 12, pp. 4125–4133.
61. Doody R.S., Thomas R.G., Farlow M., Iwatsubo T., Vellas B., Joffe S., Kieburtz K., Raman R., Sun X., Aisen P.S. et al. Alzheimer’s Disease Cooperative Study Steering Committee, Solanezumab Study Group. Phase 3 trials of solanezumab for mild-to-moderate Alzheimer’s disease. *N. Engl. J. Med.*, 2014, 370, 311–321.

62. Dou J.T., Chen M., Dufour F., Alkon D.L., Zhao W.Q., Insulin receptor signaling in long-term memory consolidation following spatial learning. *Learn. Mem.*, 2005, 12, 646–655.
63. Drachman D.A., Leavitt J., Human memory and the cholinergic system. A relationship to aging? *Arch Neurol.*, 1974, 30(2):113–121.
64. Easton A., Douchamps V., Eacott M., Lever C., A specific role for septohippocampal acetylcholine in memory? *Neuropsychologia*, 2012, 50:3156-68.
65. Engelborghs S., Vloeberghs E., Le Bastard N., Van Buggenhout M., Marien P., Somers N., Nagels G., Pickut B.A., De Deyn P.P., The dopaminergic neurotransmitter system is associated with aggression and agitation in frontotemporal dementia. *Neurochem Int.*, 2008, 52:1052-60.
66. Ennancuer A., Delacour J., A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav Brain Res.*, 1988, 31: 47–59.
67. Farlow M., Veloso F., Moline M., Yardley J., Brand-Schieber E., Bibbiani F., Zou H., Hsu T., Satlin A., Safety and tolerability of donepezil 23 mg in moderate to severe Alzheimer’s disease. *BMC Neurol*, 2011, 11:57.
68. Fernandez A.M., Torres-Aleman I., The many faces of insulin-like peptide signalling in the brain. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2012, 13, 225–239.
69. Ferri C.P., Prince M., Brayne C., Brodaty H., Fratiglioni L., Ganguli M. et al. Global prevalence of dementia: A delphi consensus study. *Lancet.*, 2005, 366(9503):2112-7.
70. Ferron S.R., Marques-Torrejon M.A., Mira H., Flores I., Taylor K., Blasco M.A., Farinas I., Telomere shortening in neural stem cells disrupts neuronal differentiation and neurogenesis. *J. Neurosci.*, 2009, 29, 14394–14407.
71. Forostyak S., Homola A., Turnovcova K., Svitil P., Jendelova P., Sykova E., Intrathecal delivery of mesenchymal stromal cells protects the structure of altered perineuronal nets in SOD1 rats and amends the course of ALS. *Stem Cells*, 2014, 32, 3163–3172.
72. Foster J.K., Verdile G., Bates K.A., Martins R.N., Immunization in Alzheimer’s disease: Naive hope or realistic clinical potential? *Mol. Psychiatry*, 2009, 14, 239–251.

73. Francis P.T., Palmer A.M., Sims N.R., Bowen D.M., Davison A.N., Esiri M.M., Neary D., Snowden J.S., Wilcock G.K., Neurochemical studies of early-onset Alzheimer's disease. Possible influence on treatment. *N Engl J Med.*, 1985, 313:7–11.
74. Freund TF and Antal M. GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature*, 1988, 336:170-173.
75. Frohman E.M., Racke M.K., Raine C.S., Multiple sclerosis - the plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med.*, 2006, 354(9):942–55.
76. Frotscher M. and Leranth C., Cholinergic innervation of the rat hippocampus as revealed by choline acetyltransferase immunocytochemistry: a combined light and electron microscopic study. *J Comp Neurol*, 1985, 239:237-246.
77. Gauthier S., Wirth Y., Mobius H.J., Effects of memantine on behavioural symptoms in Alzheimer's disease patients: an analysis of the Neuropsychiatric Inventory (NPI) data of two randomised, controlled studies. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2005, 20:459-64.
78. Gella A., Durany N., Oxidative stress in Alzheimer disease. *Cell Adh. Migr.*, 2009, 3, 88–93.
79. Goate A., Chartier-Harlin M.C., Mullan M., Brown J., Crawford F., Fidani L. et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial alzheimer's disease. *Nature.*, 1991, 349(6311):704-6.
80. Goedert M., Oskar Fischer and the study of dementia. *Brain*, 2009, 132, 1102–1111.
81. Gong C.X, Liu F., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Post-translational modifications of tau protein in alzheimer's disease. *J Neural Transm*, 2005, 112(6):813-38.
82. Gong Y., Chang L., Viola K. L. et al., "Alzheimer's diseaseaffected brain: presence of oligomeric Abeta ligands (ADDLs) suggests a molecular basis for reversible memory loss," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the UnitedStates of America*, 2003, vol. 100, no. 18, pp. 10417–10422.
83. Gotz, J. et al, A decade of tau transgenic animalmodels and beyond *Brain Pathol*, 2007, 17, 91–103 .
84. Gotz J. *et al* Somatodendritic localization andhyperphosphorylation of tau protein in transgenic mice expressing the longest human brain tau isoform.*Embo J.*, 1995, 14, 1304–1313.

85. Gotz J., Chen F., van Dorpe J. & Nitsch R. M., Formation of neurofibrillary tangles in P301L tau transgenic mice induced by A $\beta$  42 fibrils. *Science*, 2001, **293**,1491–1495.
86. Gouras G.K., Almeida C.G., Takahashi R.H., Intraneuronal A $\beta$  accumulation and origin of plaques in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging.*, 2005, 26, 1235–1244.
87. Goure W.F., Krafft G.A.m, Jerecic J., Hefti F., Targeting the proper amyloid-neuronal toxins: A pathforward for Alzheimer's disease immunotherapeutics. *Alzheimers Res. Ther.*, 2014, 6, 42.
88. Graeber M.B., Kosel S., Grasbon-Frodl E., Moller H.J., Mehraein P., Histopathology and APOE genotype of the first Alzheimer disease patient, Auguste D. *Neurogenetics*, 1998, 1, 223–228.
89. Guerreiro R., Wojtas A., Bras J., Carrsquillo M., Rogaeva E., Majounie, E., Cruchaga C., Sassi C., Kauwe J.S., Younkin S. et al. TREM2 variants in Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.*, 2013, 368, 117–127.
90. Guilliams M., Bruhns P., Saeys Y., Hammad H., Lambrecht B.N., The function of Fc receptors in dendritic cells and macrophages. *Nat. Rev. Immunol.*, 2014, 14, 94–108.
91. Hardy J.A., Higgins G.A., Alzheimer's disease: The amyloid cascade hypothesis. *Science*, 1992, 256(5054):184-5.
92. Harting M.T., Jimenez F., Cox C.S., The pulmonary first-pass effect, xenotransplantation and translation to clinical trials—a commentary. *Brain*, 2008, 131:e100.
93. Hasselmo M.E., Sarter M., Modes and models of forebrain cholinergic neuromodulation of cognition. *Neuropsychopharmacology*, 2011, 36:52-73.
94. Hebb D., *The Organization of Behavior* New York Publisher: Wiley & Sons, 1949.
95. Hernandez F., Avila J., Tauopathies. *Cell Mol Life Sci.*, 2007, 64(17):2219-33.
96. Hernandez F., Borrell J., Guaza C., Avila J., Lucas J.J., Spatial learning deficit in transgenic mice that conditionally over-express GSK-3 $\beta$  in the brain but do not form tau filaments. *J Neurochem.*, 2002, 83(6):1529-33.
97. Holahan M., Routtenberg A., The protein kinase C phosphorylation site on GAP-43 differentially regulates information storage. *Hippocampus*, 2008, 18:1099-1102.

98. Hollingworth P., Harold D., Sims R., Gerrish A., Lambert J.C. Carrasquillo M.M., Abraham R., Hamshere M.L., Pahwa J.S., Moskvina V. et al. Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1,CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease. *Nat. Genet.*, 2011, 43, 429–435.
99. Holmes C., Boche D., Wilkinson D., Yadegarfar G., Hopkins V., Bayer A., Jones R.W. Bullock R., Love S., Neal J.W. et al. Long-term effects of A<sub>β</sub>42 immunisation in Alzheimer's disease: Follow-up of a randomised, placebo-controlled phase I trial. *Lancet*, 2008, 372, 216–223.
100. Howard R., McShane R., Lindesay J. et al. Donepezil and memantine for moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med.*, 2012, 366:893-903.
101. Hsia A. Y., Masliah E., Mcconlogue L. et al., "Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, vol. 96, no. 6, pp. 3228–3233.
102. Hsiao K., Chapman P., Nilsen S., Eckman C., Harigaya Y., Younkin S. et al. Correlative memory deficits, abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science*, 1996, 274(5284):99-102.
103. Huang H.C., Jiang Z.F., Accumulated amyloid-beta peptide and hyperphosphorylated tau protein: Relationship and links in alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.*, 2009, 16(1):15-27.
104. Ihara Y., Nukina N., Miura R., Ogawara M., Phosphorylated tau protein is integrated into paired helical filaments in alzheimer's disease. *J Biochem*, 1986, 99(6):1807-10.55
105. Jacob C.P., Koutsilieri E., Bartl J., Neuen-Jacob E., Arzberger T., Zander N., Ravid R., Roggendorf W., Riederer P., Grunblatt E., Alterations in expression of glutamatergic transporters and receptors in sporadic Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2007, 11:97-116.
106. Jarrett J.T., Berger E.P., Lansbury P.T., Jr. The C-terminus of the beta protein is critical in amyloidogenesis. *Ann N Y Acad Sci.*, 1993, 695:144-8.
107. Johnson G.V., Stoothoff W.H., Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction. *J Cell Sci.*, 2004, 117(Pt 24):5721-9.

108. Johnson V.E., Stewart J.E., Begbie F.D., Trojanowski J.Q., Smith D.H., Stewart W., Inflammation and white matter degeneration persist for years after a single traumatic brain injury. *Brain*, 2013, 136(Pt 1):28–42.
109. Kamat P.K., Nath C., Okadaic acid: a tool to study regulatory mechanisms for neurodegeneration and regeneration in Alzheimer's disease. *Neural Regen Res*, 2015, 10(3):365-367.
110. Kamat P.K., Rai S., Swarnkar S., Shukla R., Ali S., Najmi A.K., Nath C., Okadaic acid-induced Tau phosphorylation in rat brain: role of NMDA receptor. *Neuroscience*, 2013, 238:97-113.
111. Kamat P.K., Tota S., Saxena G., Shukla R., Nath C., Okadaic acid (ICV) induced memory impairment in rats: a suitable experimental model to test anti-dementia activity. *Brain Res.*, 2010, 1309:66–74.
112. Kan I., Barhum Y., Melamed E., Offen D., Mesenchymal stem cells stimulate endogenous neurogenesis in the subventricular zone of adult mice. *Stem Cell Rev.*, 2011, 7, 404–412.
113. Kandel E.R., Schwartz J.H., Jessell T.M., *Principles of Neuroscience*, New York 2000.
114. Kanju P.M., Parameshwaran K., Sims-Robinson C., Uthayathas S., Josephson E.M., Rajakumar N., Dhanasekaran M., Suppiramaniam V., Selective cholinergic depletion in medial septum leads to impaired long term potentiation and glutamatergic synaptic currents in the hippocampus. *PLoS One*, 2012, 7:e31073.
115. Kassem M., Abdallah B.M., Human bone-marrow-derived mesenchymal stem cells: Biological characteristics and potential role in therapy of degenerative diseases. *Cell Tissue Res.*, 2008, 331, 157–163.
116. Katzman R., The dementias: Alzheimer disease. In: Rowland LL, ed. *Merritt's Textbook of Neurology*. 8th ed. Philadelphia, Pa: Lea & Febiger; 1989,637–644.
117. Ke Y., Dramiga J., Schütz U., Kril J.J., Ittner L.M., Schröder H., Götz J., Tau-mediated nuclear depletion and cytoplasmic accumulation of SFPQ in Alzheimer's and Pick's disease., *PloS one*, 2012, vol. 7, no. 4, pp. e35678.
118. Kelly B. L. and Ferreira A., “Beta-amyloid disrupted synaptic vesicle endocytosis in cultured hippocampal neurons,” *Neuroscience*, 2007, vol. 147, no. 1, pp. 60–70.

119. Killick R., Scales G., Leroy K., Causevic M., Hooper C., Irvine E.E., Choudhury A.I., Drinkwater L., Kerr F., Al-Qassab H. et al. Deletion of *Irs2* reduces amyloid deposition and rescues behavioural deficits in APP transgenic mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009, 386, 257–262.
120. Kim J. H., Anwyl R., Suh Y. H., Djamgoz M. B. and M. J., Rowan “Use-dependent effects of amyloidogenic fragments of  $\beta$ -amyloid precursor protein on synaptic plasticity in rat hippocampus in vivo,” *The Journal of Neuroscience*, 2001, vol. 21, no. 4, pp. 1327–1333.
121. Kim K., Lee S.G., Kegelman T.P., Su Z.Z., Das S.K., Dash R. et al. Role of excitatory amino acid transporter-2 (EAAT2) and glutamate in neurodegeneration: opportunities for developing novel therapeutics. *J Cell Physiol.*, 2010, 226:2484–93.
122. Kim S., Chang K.A., Kim J.A., Park H.G., Ra J.C., Kim H.S., Suh Y.H., The preventive and therapeutic effects of intravenous human adipose-derived stem cells in Alzheimer’s disease mice. *PLoS ONE*, 2012, 7, e45757.
123. Kitazawa M., Oddo S., Yamasaki T.R., Green K.N., LaFerla F.M., Lipopolysaccharide induced inflammation exacerbates tau pathology by a cyclin-dependent kinase5-mediated pathway in a transgenic model of Alzheimer’s disease. *J Neurosci.*, 2005, 25(39):8843–53.
124. Kopke E., Tung Y.C., Shaikh S., Alonso A.C., Iqbal K., Grundke-Iqbal I., Microtubule associated protein tau. abnormal phosphorylation of a non-paired helical filament pool in Alzheimer disease. *J Biol Chem.*, 1993, 268(32):24374-84.
125. Kovalchuk Y., Eilers J., Lisman J., and Konnerth A., “NMDA receptor-mediated subthreshold  $Ca^{2+}$  signals in spines of hippocampal neurons,” *The Journal of Neuroscience*, 2000, vol. 20, no. 5, pp. 1791–1799.
126. Krstic D., Knuesel I., Deciphering the mechanism underlying late-onset Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.*, 2013, 9(1):25–34.
127. Krstic D., Madhusudan A., Doehner J., Vogel P., Notter T., Imhof C. et al. Systemic immune challenges trigger and drive Alzheimer-like neuropathology in mice. *J Neuroinflammation*, 2012, 9:151.

128. Kuusisto J., Koivisto K., Mykkanen L., Helkala E.L., Vanhanen M., Hanninen T. et al. Association between features of the insulin resistance syndrome and Alzheimer's disease independently of apolipoprotein E4 phenotype: cross sectional population based study. *BMJ.*, 1997, 315(7115):1045–9.
129. Lace G., Savva G.M., Forster G., de Silva R., Brayne C., Matthews F.E. et al. Hippocampal tau pathology is related to neuroanatomical connections: An ageing population-based study. *Brain.*, 2009.
130. Lacor P. N., Buniel M. C., Chang L. et al., "Synaptic targeting by Alzheimer's-related amyloid  $\beta$  oligomers," *The Journal of Neuroscience*, 2004, vol. 24, no. 45, pp. 10191–10200.
131. Lambert J.C., Ibrahim-Verbaas C.A., Harold D., Naj A.C., Sims R., Bellenguez C., Jun G., Destefano A.L., Bis J.C., Beecham G.W. et al. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat. Genet.*, 2013, 45, 1452–1458.
132. Lanari A., Amenta F., Silvestrelli G., Tomassoni D., Parnetti L., Neurotransmitter deficits in behavioural and psychological symptoms of Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev.*, 2006, 127:158-65.
133. Landreth G.E., Reed-Geaghan E.G., Toll-like receptors in Alzheimer's disease. *Curr Top Microbiol Immunol.*, 2009, 336:137–153.
134. Lau A., Tymianski M., Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. *Pflugers Arch*, 2010, 460:525-42.
135. Le Prince G., Delaere P., Fages C., Lefrancois T., Touret M., Salanon M. et al. Glutamine synthetase (GS) expression is reduced in senile dementia of the Alzheimer type. *Neurochem Res.*, 1995, 20:859–62.
136. Lee C.Y., Landreth G.E., The role of microglia in amyloid clearance from the AD brain. *J Neural Transm.*, 2010, 117:949–960.
137. Lee H.J., Lee J.K., Lee H., Carter J.E., Chang J.W., Oh W., Yang Y.S., Suh J.G., Lee B.H., Jin H.K. et al. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells improve neuropathology and cognitive impairment in an Alzheimer's disease mouse



- model through modulation of neuroinflammation. *Neurobiol. Aging.*, 2012, 33, 588–602.
138. Lee S.W., Clemenson G.D., Gage F.H., New neurons in an aged brain. *Behav. Brain Res.*, 2012, 227, 497–507.
139. Lehericy S., Hirsch E.C., Cervera-Pierot P., Hersh L.B., Bakchine S., Piette F., Duyckaerts C., Hauw J.J., Javoy-Agid F. and Agid Y., Heterogeneity and selectivity of the degeneration of cholinergic neurons in the basal forebrain of patients with Alzheimer's disease. *J Comp Neurol.*, 1993, 330:15-31.
140. Lehnardt S., Massillon L., Follett P., Jensen F.E., Ratan R., Rosenberg P.A. et al. Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a toll-like receptor 4-dependent pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 2003, 100(14):8514–9.
141. Leveille F., El Gaamouch F., Gouix E., Lecocq M., Lobner D., Nicole O., Buisson A., Neuronal viability is controlled by a functional relation between synaptic and extrasynaptic NMDA receptors. *FASEB J.*, 2008, 22:4258-71.
142. Li M. and Ikehara S., “Bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for organ repair,” *Stem Cells International*, 2013, vol., Article ID 132642, 8 pages.
143. Li S., Jin M., Koeglsperger T., Shepardson N.E., Shankar G.M., Selkoe D.J., Soluble Abeta oligomers inhibit long-term potentiation through a mechanism involving excessive activation of extrasynaptic NR2B-containing NMDA receptors. *J Neurosci*, 2011, 31:6627-38.
144. Li W., Phagocyte dysfunction, tissue aging and degeneration. *Ageing Res Rev.*, 2013, 12(4):1005–12.
145. Lisman J., “A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1989, vol. 86, no. 23, pp. 9574–9578.
146. Liu F., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Gong C.X., Contributions of protein phosphatases PP1, PP2A, PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation. *Eur J Neurosci.*, 2005, 22(8):1942-50.
147. Lott I.T., Head E., Alzheimer disease and down syndrome: Factors in pathogenesis. *Neurobiol Aging.*, 2005, 26(3):383-9.

148. Lynch M.A., "Long-term potentiation and memory," *Physiological Reviews*, 2004, vol. 84, no. 1, pp. 87–136.
149. Mahley R.W., Nathan B.P., Pitas R.E., Apolipoprotein E, Structure, function, and possible roles in Alzheimer's disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1996, 777, 139–145.
150. Mandrekar-Colucci S., Landreth G.E., Microglia and inflammation in Alzheimer's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2010, 156–167.
151. Manns J.R., Hopkins R.O., Reed J.M., Kitchener E.G., Squire L.R., Recognition memory and the human hippocampus. *Neuron.*, 2003, 37(1):171-80.
152. Martinez-Morales P.L., Revilla A., Ocana I., Gonzalez C., Sainz P., McGuire D., Liste I., Progress in stem cell therapy for major human neurological disorders. *Stem Cell Rev.*, 2013, 9, 685–699.
153. Masliah E., Alford M., de Teresa R., Mallory M., Hansen L., Deficient glutamate transport is associated with neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.*, 1996, 40, 759–766.
154. Maurer K., Volk S., Gerbaldo H., Augaste D and Alzheimer's disease. *Lancet*, 1997, 349, 1546–1549.
155. Mazzini L., Vercelli A., Ferrero I., Boido M., Cantello R., Fagioli F., Transplantation of mesenchymal stem cells in ALS. *Prog. Brain Res.*, 2012, 201, 333–359.
156. McIntyre C.K., Pal S.N., Marriott L.K. and Gold, P.E, Competition between memory systems: Acetylcholine release in the hippocampus correlates negatively with good performance on an amygdala-dependent task. *J. Neurosci.*, 2002, 22:1171 –1176.
157. McKhann G., Drachman D., Folstein M. et al., Clinical diagnosis of Alzheimer's disease *Neurology*, 1984, 34:939.
158. Mesulam M. & Van Hoesen G.W., Acetylcholinesterase-rich projections from the basal forebrain of the rhesus monkey to neocortex *Brain Res.*, 1976, 109: 152-157.
159. Micheau J., Marighetto A., Acetylcholine and memory: a long, complex and chaotic but still living relationship. *Behav Brain Res*, 2011;221:424-9.
160. Minger S.L., Esiri M.M., McDonald B., Keene J., Carter J., Hope T., Francis P.T., Cholinergic deficits contribute to behavioral disturbance in patients with dementia. *Neurology*, 2000, 55:1460-7.

161. Miranda C.J., Braun L., Jiang Y., Hester M.E., Zhang L., Riolo M., Wang H., Rao M., Altura R.A., Kaspar B.K., Aging brain microenvironment decreases hippocampal neurogenesis through Wnt-mediated survivin signaling. *Aging Cell*, 2012, 11, 542–552.
162. Mohs R.C., The clinical syndrome of Alzheimer's disease: aspects particularly relevant to clinical trials. *Genes Brain Behav*, 2005, 4:129-33.
163. Monje M.L., Toda H., Palmer T.D., Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. *Science*, 2003, 302, 1760–1765.
164. Morgan D., Diamond D.M., Gottschall P.E., Ugen K.E., Dickey C., Hardy J. et al. A beta peptide vaccination prevents memory loss in an animal model of alzheimer's disease. *Nature*, 2000, 28;408(6815):982-5.
165. Morgan D.O., Cyclin-dependent kinases: engines, clocks, and microprocessors. *Annu Rev Cell Dev Biol.*, 1997, 13:261–91.
166. Morley J.E., Farr S.A., The role of amyloid- $\beta$  in the regulation of memory. *Biochem. Pharmacol.*, 2014, 88,479–485.
167. Morris J.C., Roe C.M., Grant E.A., Head D., Storandt M., Goate A.M., Fagan A.M., Holtzman D.M., Mintun M.A., Pittsburgh compound B imaging and prediction of progression from cognitive normality to symptomatic Alzheimer disease. *Arch Neurol.*, 2009, 66:1469–1475.
168. Morris R.G., Long-term potentiation and memory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.*, 2003, 358:643-7.
169. Morris R.G., Garrud P., Rawlins J.N., O'Keefe J., Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 1982, 297:681–683.
170. Moser M.B., Moser E.I., Forrest E., Andersen P., Morris R.G., Spatial learning with a minilab in the dorsal hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 1995, 92(21):9697-701.
171. Moskowitz M.A., Lo E.H., Iadecola C., Comprehensive review describing mechanisms of ischemic injury to the neurovascular unit. *The science of stroke: mechanisms in search of treatments. Neuron.*, 2010, 67:181–198.

172. Mulkey R.M. and Malenka R. C., "Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus," *Neuron*, 1992, vol. 9, no. 5, pp. 967–975.
173. Mullan Dr M.,  $\beta$ -Amyloid vasoactivity and proinflammation in microglia can be blocked by cGMP-elevating agents. Paris D, Town T, Parker T, Humphrey J, *Annals of New York Academy of Science*, 2000, 903:446-50.
174. Mullan M. *et al.* A pathogenic mutation for probable Alzheimer's disease in the APP gene at the N-terminus of  $\beta$ -amyloid. *Nature Genet.*, 1992, 345–347.
175. Muller U.C., Zheng H., Physiological functions of APP family proteins. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 2012, 2.
176. Murrell J., Farlow M., Ghetti B. & Benson M. D., A mutation in the amyloid precursor protein associated with hereditary Alzheimer's disease. *Science*, 1991, 254, 97–99.
177. Muzio L., Martino G., Furlan R., Multifaceted aspects of inflammation in multiple sclerosis: The role of microglia. *J Neuroimmunol*, 2007, 191: 39–44.
178. Myers A., Holmans P., Marshall H., Kwon J., Meyer D., Ramic D. et al. Susceptibility locus for alzheimer's disease on chromosome 10. *Science*, 2000, 290(5500):2304- 5.
179. Nadel L. and Moscovitch, Hippocampal contributions to cortical plasticity. *Neuropharmacology*, 1998, 431–439
180. Nagahara A.H., Merrill D.A., Coppola G., Tsukada S., Schroeder B.E., Shaked G.M., Wang L., Blesch A., Kim A., Conner J.M. et al. Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. *Nat. Med.*, 2009, 15, 331–337.
181. Nagy Z., Esiri M.M., Jobst K.A., Morris J.H., King E.M., McDonald B. et al. Relative roles of plaques and tangles in the dementia of alzheimer's disease: Correlations using three sets of neuropathological criteria. *Dementia*, 1995, 6(1):21-31.
182. Naj A.C., Jun G., Beecham G.W., Wang L.S., Vardarajan B.N., Buross J., Gallins P.J., Buxbaum J.D., Jarvik G.P., Crane P.K. et al. Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease. *Nat. Genet.*, 2011, 43, 436–441.

183. Naneishvili T., Rusadze Kh., Dashniani M., Burjanadze M., Chkhikvishvili N., Beselia G., Kruashvili L., Pochkhidze N., Chronic Memantine Treatment Prevents Short-Term Memory Impairment Caused by Conjoint Immunolesions of GABAergic and Cholinergic Medial Septal Neurons in Rats, *Bull. Geor. Akad. Sci.*, 2016, in press.
184. Naneishvili T., Chighladze M., Dashniani M., Burjanadze M., Chkhikvishvili N., Beselia G., Kruashvili L., Pochkhidze N., „Recognition Memory Impairment and Neuronal Degeneration Induced by Intracerebroventricular or Intrahippocampal Administration of Okadaic Acid“, *Bulletin of the Georgian national Academy of Science*, 2015, vol.9, no.3, (155-161).
185. Niewiadomska G., Baksalerska-Pazera M., Gasiorowska A., Mietelska: Nerve Growth Factor Differentially Affects Spatial and Recognition Memory in Aged Rats. *Neurochem Res.*, 2006, DOI 10.1007/s11064-006-9209-5.
186. Nilsberth C. et al. The ‘Arctic’ APP mutation (E693G) causes Alzheimer’s disease by enhanced A $\beta$  protofibril formation. *Nature Neurosci.*, 2001, 4, 887–893.
187. O’Brien C., Augustine D. and Alzheimer’s disease. *Science*, 1996, 273, 28.
188. O’Shea S.D., Smith I.M., McCabe O.M., Cronin M.M., Walsh D.M., O’Connor W.T., Intracerebroventricular administration of amyloid  $\beta$ -protein oligomers selectively increases dorsal hippocampal dialysate glutamate levels in the awake rat. *Sensors*, 2008, 8:7428-37.
189. Okun E., Mattson M.P., Arumugam T.V., Involvement of Fc receptors in disorders of the central nervous system. *Neuromol. Med.*, 2010, 12, 164–178.
190. Oresic M., Hyotylainen T., Herukka S.K., Sysi-Aho M., Mattila I., Seppanan-Laakso T. et al. Metabolome in progression to Alzheimer’s disease. *Translational Psychiatry*, 2011, 1, e57.
191. Paban V., Jaffard M., Chambon C., Malafosse M., Alescio-Lautier B., Time course of behavioral changes following basal forebrain cholinergic damage in rats: environmental enrichment as a therapeutic intervention. *Neuroscience*, 2005, 132, 13–32.
192. Packard M. & Knowlton, B., Learning and Memory Functions of the Basal Ganglia. *Annual Review of Neuroscience*, 2002, 25, 563-593.

193. Padurariu M., Ciobica A., Mavroudis I., Fotiou D., Baloyannis S., Hippocampal neuronal loss in the CA1 and CA3 areas of Alzheimer's disease patients. *Psychiatr Danub.*, 2012, 24(2):152-8.
194. Palop J. J. and Mucke L., "Amyloid- $\beta$ -induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks," *Nature Neuroscience*, 2010, vol. 13, no. 7, pp. 812–818.
195. Papouin T, Oliet S.H., Organization, control and function of extrasynaptic NMDA receptors. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.*, 2014, 369:20130601.
196. Park H.J., Shin J.Y., Lee B.R., Kim H.O., Lee P.H., Mesenchymal stem cells augment neurogenesis in the subventricular zone and enhance differentiation of neural precursor cells into dopaminergic neurons in the substantia nigra of a parkinsonian model. *Cell Transpl.*, 2012, 21, 1629–1640.
197. Patel L., Grossberg G.T., Combination therapy for Alzheimer's disease. *Drugs Aging*, 2011, 28:539-46.
198. Patrick G.N., Zukerberg L., Nikolic M., de la Monte S., Dikkes P., Tsai L.H., Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. *Nature*, 1999, 402(6762):615–22.
199. Pavlides C., Greenstein Y.J., Grudman M., Winson J., Long-term potentiation in the dentate gyrus is induced preferentially on the positive phase of theta-rhythm. *Brain Res.*, 1988, 439: 383-387.
200. Periclou A., Ventura D., Rao N., Abramowitz W., Pharmacokinetic study of memantine in healthy and renally impaired subjects. *Clin Pharmacol Ther.*, 2006, 79:134–143.
201. Petersen R.C., Smith G.E., Waring S.C., Ivnik R.J., Tangalos E.G., Kokmen E., Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol.*, 1999, 56(3):303-8.
202. Planel E., Yasutake K., Fujita S.C., Ishiguro K., Inhibition of protein phosphatase 2A overrides tau protein kinase I/glycogen synthase kinase 3 beta and cyclin-dependent kinase 5 inhibition and results in tau hyperphosphorylation in the hippocampus of starved mouse. *J Biol Chem.*, 2001, 276(36):34298-306.

203. Pocernich C.B., Butterfield D.A., Elevation of glutathione as a therapeutic strategy in Alzheimer disease. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2012, 1822, 625–630.
204. Price J.L., McKeel D.W., Jr Buckles V.D. et al. Neuropathology of nondemented aging: Presumptive evidence for preclinical Alzheimer disease. *Neurobiol Aging.*, 2009, 30:1026–1036.
205. Querfurth H.W., LaFerla F.M., Alzheimer's disease. *N Engl J Med.*, 2010, 362:329-44.
206. Ragazzino K.E., Leutgeb S., Mizumori S.J., Dorsal striatal head direction and hippocampal place representations during spatial navigation. *Exp Brain Res.*, 2001, 139: 372–376.
207. Rainer M., Wuschitz A., Jagsch C., Erb C., Chirikdjian J.J., Mucke H.A., Memantine in moderate to severe Alzheimer's disease: an observational post- marketing study. *J Neural Transm*, 2011, 118:1255-9.
208. Reguera B., VeloSuarez L., Raine R., Park M.G., Harmful dinophysis species: a review. *Harmful Algae*, 2012, 14, 87–106.
209. Reisberg B., Doody R., Stöffler A., Schmitt F., Ferris S., Möbius H., A 24-Week Open-Label Extension Study of Memantine in Moderate to Severe Alzheimer Disease *Arch Neurol.*, 2006, 63:49-54.
210. Rodriguez J.J., Olabarria M., Chvatal A., Verkhratsky A., Astroglia in dementia and Alzheimer's disease. *Cell Death Differ*, 2009, 16: 378–385.
211. Rogers J., Mastroeni D., Leonard B., Joyce J., Grover A., Neuroinflammation in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: Are microglia pathogenic in either disorder? *Int Rev Neurobiol*, 2007, 82: 235–246.
212. Rosenmann H., Grigoriadis N., Karussis D., Boimel M., Touloumi O., Ovadia H., Abramsky O., Tauopathy-like abnormalities and neurologic deficits in mice immunized with neuronal Tau protein. *Arch. Neurol.*, 2006, 63, 1459–1467.
213. Rusakov D.A., Harrison E., Stewart M.G., Synapses in hippocampus occupy only 1-2% of cell membranes and are spaced less than half-micron apart: a quantitative ultrastructural analysis with discussion of physiological implications. *Neuropharmacology*, 1998, 37:513-21.

- 214.Saharan S., Mandal P.K., The emerging role of glutathione in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.*, 2014, 40, 519–529.
- 215.Samuels I.S., Karlo J.C., Faruzzi A.N. et al. Deletion of ERK2 mitogen-activated protein kinase identifies its key roles in cortical neurogenesis and cognitive function. *J Neurosci.*, 2008, 28:6983-6995.
- 216.Santacruz K., Lewis J., Spires T., Paulson J., Kotilinek L., Ingelsson M. et al. Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. *Science.*, 2005, 309(5733):476-81.
- 217.Saura C. A., Choi S. Y., Beglopoulos V. et al., "Loss of presenilin function causes impairments of memory and synaptic plasticity followed by age-dependent neurodegeneration," *Neuron*, 2004, vol. 42, no. 1, pp. 23–36.
- 218.Schliebs R., Arendt T., The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behav Brain Res.*, 2011, 221:555-63.
- 219.Schroder M., Kaufman R.J., The mammalian unfolded protein response. *Annu. Rev. Biochem.*, 2005, 74,739–789.
- 220.Schubert M., Brazil D.P., Burks D.J., Kushner J.A., Ye J., Flint C.L., Farhang-Fallah J., Dikkes P., Warot X.M., Rio C. et al. Insulin receptor substrate-2 deficiency impairs brain growth and promotes Tau phosphorylation. *J. Neurosci.*, 2003, 23, 7084–7092.
- 221.Schulingkamp R.J., Pagano T.C., Hung D., Raffa R.B., Insulin receptors and insulin action in the brain:Review and clinical implications. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2000, 24, 855–872.
- 222.Schulz J.B., Rainer M., Klunemann H.H., Kurz A., Wolf S., Sternberg K., Tennigkeit F., Sustained effects of once-daily memantine treatment on cognition and functional communication skills in patients with moderate to severe Alzheimer's disease: results of a 16-week open-label trial. *J Alzheimers Dis.*, 2011, 25:463-75.
- 223.Schwab C., Klegeris A., McGeer P.L., Inflammation in transgenic mouse models of neurodegenerative disorders. *Biochim Biophys Acta.*, 2010, 1802(10):889–902.
- 224.Seguella P., Wadiche J., Dineley-Miller K., Dani J. A. and Patrick J.W., "Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain  $\alpha 7$ : a nicotinic cation



- channel highly permeable to calcium,” *The Journal of Neuroscience*, 1993, vol. 13, no. 2, pp. 596–604.
- 225.Selkoe D.J., Lezi E., Lu J., Swerdlow R.H., Role of mitochondrial homeostasis and dynamics in Alzheimer’s disease. *Neurobiol. Dis.*, 2013, 51, 3–12.
- 226.Selkoe D.J., Alzheimer’s disease: Genes, proteins, and therapy. *Physiol. Rev.*, 2001, 81, 741–766.
- 227.Sesti G., Federici M., Hribal M.L., Lauro D., Sbraccia P., Lauro R., Defects of the insulin receptor substrate(IRS) system in human metabolic disorders. *FASEB J.*, 2001, 15, 2099–2111.
- 228.Siemers E.R., Sundell K.L., Carlson C., Case M., Sethuraman G., Liu-Seifert H., Dowsett S.A., Pontecorvo M.J., Dean R.A., Demattos R., Phase 3 solanezumab trials: Secondary outcomes in mild Alzheimer’s disease patients. *Alzheimers Dement.* 2015.
- 229.Small S.A., Duff K., Linking A and Tau in late-onset Alzheimer’s disease: A dual pathway hypothesis. *Neuron*, 2008, 60, 534–542.
- 230.Smith C.D., Carney J.M., Starke-Reed P.E., Oliver C.N., Stadtman E.R., Floyd R.A. et al. Excess brain protein oxidation and enzyme dysfunction in normal aging and in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88:10540–3.
- 231.Smith T.W., Lippa C.F., Ki-67 immunoreactivity in Alzheimer’s disease and other neurodegenerative disorders. *J Neuropathol Exp Neurol.*, 1995, 54(3):297–303.
- 232.Snitz B.E., Weissfeld L.A., Lopez O.L. et al. Cognitive trajectories associated with beta-amyloid deposition in the oldest-old without dementia. *Neurology*, 2013, 80:1378–1384.
- 233.Snyder E.M., Nong Y., Almeida C.G. et al., Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid- $\beta$ , *Nature Neuroscience*, 2005, vol. 8, no. 8, pp. 1051–1058.
- 234.Sofroniew M.V., Vinters H.V., Astrocytes: Biology and pathology. *Acta Neuropathol*, 2010, 119: 7–35.
- 235.Streit W.J., Braak H., Xue Q.S., Bechmann I., Dystrophic (senescent) rather than activated microglial cells are associated with tau pathology and likely precede neurodegeneration in Alzheimer’s disease. *Acta Neuropathol.*, 2009, 118(4):475–85.

236. Streit W.J., Xue Q.S., Human CNS immune senescence and neurodegeneration. *Curr Opin Immunol.*, 2014, 29:93–6.
237. Streit W.J., Xue Q.S., Life and death of microglia. *J Neuroimmune Pharmacol.*, 2009, 4: 371–379.
238. Sugaya K., Possible use of autologous stem cell therapies for Alzheimer's disease. *Curr. Alzheimer Res.*, 2005, 2, 367–376.
239. Summers W.K., Majovski L.V., Marsh G.M. et al. Oral tetrahydroaminoacridine in long-term treatment of senile dementia, Alzheimer type. *N Engl J Med.*, 1986, 315:1241–5.
240. Swingle M., Ni L., Honkanen R.E., Small-molecule inhibitors of Ser/Thr protein phosphatases. In *Methods in Molecular Biology, Volume 365: Protein Phosphatase Protocols*; Moorhead, G., Ed.; Springer: New York, NY, USA, 2007, pp. 23–38.
241. Szekely C., Thorne J., Zandi P. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for the prevention of Alzheimer's disease: a systematic review. *Neuroepidemiology*, 2004, 159–169.
242. Takahashi K., Yamanaka S., Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126, 663–676.
243. Takai A., Murata M., Torigoe K., Isobe M., Mieskes G., Yasumoto T., Inhibitory effect of okadaic acid derivatives on protein phosphatases. A study on structure-affinity relationship. *Biochem. J.*, 1992, 284, 539–544.
244. Tanzi R.E., Gusella J.F., Watkins P.C., Bruns G.A., St George-Hyslop P., Van Keuren M.L. et al. Amyloid beta protein gene: CDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the alzheimer locus. *Science.*, 1987, 235(4791):880–4.
245. Tariot P., Aisen P. S., Cummings J. et al., The ADCS valproate neuroprotection trial: primary efficacy and safety results, *Alzheimer's & Dementia*, 2009, vol. 5, no. 4, supplement 1, pp. P84–P85.
246. Taylor R.C., Dillin A., Aging as an event of proteostasis collapse. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2011, 3.

247. Tfilin M., Sudai E., Merenlender A., Gispan I., Yadid G., Turgeman G., Mesenchymal stem cells increase hippocampal neurogenesis and counteract depressive-like behavior. *Mol. Psychiatry*, 2010, 15, 1164–1175.
248. Toth K., Freund T.F., Miles R. Disinhibition of rat hippocampal pyramidal cells by GABAergic afferents from the septum. *J. Physiol.* 1997, 500:463–474.
249. Uchida T., Ishiguro K., Ohnuma J., Takamatsu M., Yonekura S., Imahori K., Precursor of cdk5 activator, the 23 kDa subunit of tau protein kinase II: Its sequence and developmental change in brain. *FEBS Lett.*, 1994, 355(1):35–40.
250. Urdzikova L.M., Ruzicka J., LaBagnara M., Karova K., Kubinova S., Jirakova K., Murali R., Sykova E., Jhanwar-Uniyal M., Jendelova P., Human mesenchymal stem cells modulate inflammatory cytokines after spinal cord injury in rat. *Int. J. Mol. Sci.*, 2014, 15, 11275–11293.
251. Vlad S.C., Miller D.R., Kowall N.W., Felson D.T., Protective effects of NSAIDs on the development of Alzheimer disease. *Neurology*, 2008, 70:1672–1677.
252. Wake H., Moorhouse A.J., Jinno S., Kohsaka S., Nabekura J., Resting microglia directly monitor the functional state of synapses in vivo and determine the fate of ischemic terminals. *J Neurosci.*, 2009, 29: 3974–3980.
253. Walsh D. M. and Selkoe D. J., Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease, *Neuron*, 2004, vol.44, no. 1, pp. 181–193.
254. Walsh D. M., Klyubin I., Fadeeva J. V. et al., Naturally secreted oligomers of amyloid  $\beta$  protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo, *Nature*, 2002, vol. 416, no. 6880, pp. 535–539.
255. Wang H. Y., Lee D. H., D'Andrea M. R., Peterson P. A., Shank R. P. and A. Reitz B.,  $\beta$ -amyloid1-42 binds to  $\alpha7$  nicotinic acetylcholine receptor with high affinity. Implications for Alzheimer's disease pathology, *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, vol. 275, no. 8, pp. 5626–5632.
256. Weingarten M.D., Lockwood A.H., Hwo S.Y., Kirschner M.W., A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 1975, 72(5):1858–62.
257. Wenk G.L., Danysz W., Roice D.D., The effects of mitochondrial failure upon cholinergic toxicity in the nucleus basalis. *Neuroreport.*, 1996, 7:1453–1456.

258. Winters B.D., Forwood S.E., Cowell R.A., Saksida L.M., Bussey T.J. Double dissociation between the effects of peri-postrhinal cortex and hippocampal lesions on tests of object recognition and spatial memory: heterogeneity of function within the temporal lobe. *J Neurosci.*, 2004, **24**:5901–5908.
259. White M.F., Insulin signaling in health and disease. *Science*, 2003, 302, 1710–1711.
260. Whitlock J. R., Heynen A. J., Shuler M. G. and Bear M. F., Learning induces long-term potentiation in the hippocampus, *Science*, 2006, vol. 313, no. 5790, pp. 1093–1097.
261. Wisniewski T.; Goni F., Immunotherapy for Alzheimer’s disease. *Biochem. Pharmacol.*, 2014, 88, 499–507.
262. Woodruff-Pak D.S., Animal models of Alzheimer's disease: therapeutic implications. *J Alzheimers Dis.*, 2008, (4):507-21.
263. Wu J., Anwyl R. and Rowan M. J.,  $\beta$ -amyloid selectively augments NMDA receptor-mediated synaptic transmission in rat hippocampus, *Neuroreport*, 1995, vol. 6, no. 17, pp. 2409–2413.
264. Yao P.J., Zhu M., Pyun E.I. et al., Defects in expression of genes related to synaptic vesicle trafficking in frontal cortex of Alzheimer’s disease, *Neurobiology of Disease*, 2003, vol. 12, no. 2, pp. 97–109.
265. Yasumoto T., Oshima Y., Yamaguchi M., Occurrence of a new type of shellfish poisoning in the Tohoku district. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 1978, 44, 1249–1255.
266. Yin Y.I., Bassit B., Zhu L., Yang X., Wang C., Li Y.M.,  $\gamma$ -secretase substrate concentration modulates the A $\beta$ 42/A $\beta$ 40 ratio: Implications for Alzheimer disease. *J Biol Chem.*, 2007, 282(32):23639-44.
267. Yun H.M., Kim H.S., Park K.R., Shin J.M., Kang A.R., Lee K., Song S., Kim Y.B., Han S.B., Chung H.M. et al. Placenta-derived mesenchymal stem cells improve memory dysfunction in an A $\beta$ 1-42-induced mouse model of Alzheimer’s disease. *Cell Death Dis.*, 2013, 4, e958.
268. Zhao D., Watson J.B., and Xie C.W., Amyloid  $\beta$  prevents activation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and AMPA receptor

- phosphorylation during hippocampal long-term potentiation, *Journal of Neurophysiology*, 2004, vol. 92, no. 5, pp. 2853–2858.
269. Zhao C., Deng W., Gage F.H., Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell*, 2008, 132, 645–660.
270. Zigman W.B., Devenny D.A., Krinsky-McHale S.J., Jenkins E.C., Urv T.K., Wegiel J., Schupf N., Silverman W Alzheimer's Disease in Adults with Down Syndrome. *Int Rev Res Mental Retardation*, 2008, 36:103–145.
271. Ziv Y., Ron N., Butovsky O., Landa G., Greenberg N., Cohen H., Kipnis J., Schwartz M., Immune cells contribute to the maintenance of neurogenesis and spatial learning abilities in adulthood. *Nat. Neurosci.*, 2006, 9, 268–275.
272. Zlokovic B.V., (2008) Blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders *Neuron* 57, 178-201.
273. Zlokovic B.V., Griffin J.H., Cytoprotective protein C pathways and implications for stroke and neurological disorders. *Trends Neurosci.*, 2011, 34:198–209.
274. Zlokovic B.V., Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 2011, 3, 723-738.
275. Zou J., Wang Y.X., Dou F.F., Lu H.Z., Ma Z.W., Lu P.H., Xu X.M., Glutamine synthetase down-regulation reduces astrocyte protection against glutamate excitotoxicity to neurons. *Neurochem. Int.*, 2010, 56, 577–584.