



საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის
სახელობის ქართული უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

**ინფორმატიკის, მათემატიკისა და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა სკოლა
(ფაკულტეტი)**

საგანმანათლებლო პროგრამა– მეხსიერების ნერვული მექანიზმები

მაია დემურიშვილი

**პრეფრონტალური ქერქის ფუნქციის მოდულაცია ბაზალური
წინატვინის ქოლინერგული სისტემებით**

სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი ნაშრომის

სადისერტაციო მაცნე

05 მეცნიერება/საბუნებისმეტყველო მეცნიერებანი

0504 ბიოლოგია/სიცოცხლის შემსწავლელი მეცნიერებანი

თბილისი

2016

სადისერტაციო ნაშრომი შესრულებულია ივანე ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრში და საქართველოს საპარტიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტის ინფორმატიკის, მათემატიკისა და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა სკოლის (ფაკულტეტი) მეხსიერების ნერვული მექანიზმების მიმართულეზაზე.

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: **მაია ბურჯანაძე**

ბიოლოგიის მეცნიერებათა აკადემიური დოქტორი

ოფიციალური ოპონენტები: **1. ნარგიზ ნაჭყებია,**

ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი

2. თამარ დომიანიძე,

ბიოლოგიის მეცნიერებათა აკადემიური დოქტორი

დისერტაციის დაცვა შედგება 2017____ წლის „_1____“ __თებერვალს__14 _ საათზე, საქართველოს საპარტიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტის ინფორმატიკის, მათემატიკისა და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა სკოლის (ფაკულტეტის) სადისერტაციო კომისიის სხდომაზე.

მისამართი: 0162, თბილისი, ილია ჭავჭავაძის №53, _ილია ვეკუას სახ._ აუდიტორია.

დისერტაციის გაცნობა შეიძლება საქართველოს საპარტიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტის სამეცნიერო ბიბლიოთეკაში

სადისერტაციო მაცნე დაიგზავნა 2016 _____ წლის „_30____“ _____ დეკემბერი_____

სადისერტაციო საბჭოს მდივანი,

თეიმურაზ კვიციანი

ტექნიკურ მეცნიერებათა აკად. დოქტორი

ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

თემის აქტუალობა

მოდულატორული სისტემების ურთიერთკავშირი და პარალელური ორგანიზაცია ნათლად მიუთითებს, რომ ყოველი ნეიროტრანსმიტერი ახდენს სხვა ნეიროტრანსმიტერების აქტიურობის მოდულაციას და ასევე, მათგან განიცდის მოდულატორულ გავლენებს. რადგან ნეირომოდულატორები პარალელურად და ერთმანეთთან ურთიერთკავშირში მოქმედებენ, აღმავალი ნეიროტრანსმიტერული სისტემების ფუნდამენტური როლის განსაზღვრისათვის განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება კვლევებს, რომლებშიც ამ სისტემათა კო-მოდულაცია და ურთიერთქმედება შეისწავლება.

როგორ ახდენს ბაზალური წინატვინის (BF) ქოლინერგული და GABA-ერგული პროექციები პრეფრონტალური ქერქის (PFC) ნეიროტრანსმიტერული აქტიურობისა და მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესების მოდულაციას, ჯერჯერობით სრულად შესწავლილი არ არის. ასევე ნაკლებად არის შესწავლილი PFC-ის ქოლინერგული და GABA-ერგული დეაფერანტაციის ეფექტები ახალი ქერქის ამ უბანში სხვა ნეიროტრანსმიტერების აქტიურობაზე. შესაბამისად, წარმოდგენილ კვლევაში შეისწავლებოდა BF-ის ქოლინერგული და GABA-ერგული პროექციებით მეხსიერების ფუნქციისა და ასევე, PFC-სა და ჰიპოკამპში ნეიროტრანსმიტერთა აქტიურობის მოდულაციის პროცესები კორტიკოპეტალური ნეირონების იმუნოტოქსინებით სელექტიურად დაზიანების მეთოდების გამოყენებით.

კვლევის ძირითადი მიზანი და ამოცანები

წარმოდგენილი სადისერტაციო ნაშრომი მოიცავს BF-ის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანების ეფექტების კვლევას ქცევით ექსპერიმენტებში მეხსიერების სხვადასხვა ფორმაზე, ხოლო იმუნოტოქსიკური ექსპერიმენტებში აღნიშნული საპროექციო ნეირონების როლის კვლევას PFC-ში ნეიროტრანსმიტერთა აქტიურობის მოდულაციაში.

ამოცანები:

- მედიალური სეპტუმისა (MS) და ბაზალური მსხვილუჯრედოვანი ბირთვის (NBM) ქოლინერგულ და GABA-ერგულ ნეირონებზე ნეირო- და იმუნოტოქსინების მიკროინექციის დამაზიანებელი ეფექტების ჰისტო- და იმუნოჰისტოლოგიური კვლევა;
- იმუნოტოქსინებით MS-ისა და NBM-ის ნეირონების დაზიანების პირობებში ჰიპოკამპსა და PFC-ში ქოლინერგული, GABA-ერგული და გლუტამატერგული აქტიურობის მოდულაციის იმუნოჰისტოლოგიური კვლევა;
- BF-ის ნეირონების ნეიროტოქსინით ექსციტოტოქსიკური დაზიანებით გამოწვეული სივრცითი მეხსიერების დარღვევების კვლევა;
- BF-ის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების იმუნოტოქსინებით სელექტიურად დაზიანების ეფექტების კვლევა სივრცითი მეხსიერების დეკლარატიულ და არადეკლარატიულ ფორმებზე;
- NBM-ისა და MS-ის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების იმუნოტოქსინებით სელექტიურად დაზიანების ეფექტების კვლევა ადგილისა და პასუხის დასწავლაზე ჯვრისმაგვარ ლაბირინთში;
- MS-ისა და NBM-ის დაზიანების მქონე, ინტაქტურ და ცრუოპერირებულ ვირთაგვებში მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესების კანონზომიერებათა კვლევა ქცევით ამოცანებში ტრენირებამდე მათზე ნეიროტრანსმიტერის აგონისტ/ანტაგონისტით ზემოქმედების პირობებში.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე და პრაქტიკული მნიშვნელობა

PFC-სა და ჰიპოკამპში ნეიროტრანსმიტერთა აქტიურობის კვლევა BF-ის საპროექციო ნეირონების დაზიანებით გამოწვეული მეხსიერების მოდულაციის კვლევის თანადროულად, მნიშვნელოვანია იმ მექანიზმების განსაზღვრისათვის, რომლითაც აცეტილქოლინისა და GABA-ს გამოთავისუფლება ნეოკორტექსში განაპირობებს კოგნიტიური ფუნქციის მოდულაციას. მულტიდისციპლინურ ლაბორატორიულ ექსპერიმენტებში მიღებული მონაცემების ანალიზი ადასტურებს ჩატარებული კვლევის მნიშვნელობას მეხსიერების დარღვევების სამკურნალოდ ახალი სტრატეგიების განსაზღვრისათვის; ჩვენს კვლევებში მიღებული შედეგების თანახმად, BF-ის PFC-სა და ჰიპოკამპში პროცირებადი პარვალუმინ-მგრძობიარე GABA-ერგული ნეირონები, ქოლინერგულ ნეირონებთან ერთად, შეგვიძლია განვიხილოთ ერთ-ერთ ახალ სამიზნედ სხვადასხვა ნეიროფსიქიატრიული დაავადების მქონე პაციენტებში, რომელთაც აღენიშნებათ კოგნიტიური ფუნქციის დარღვევა. წარმოდგენილ კვლევაში მიღებული შედეგები აგრეთვე მნიშვნელოვანია მეხსიერების ფუნდამენტური ნეირობიოლოგიის შეცნობისათვის.

პუბლიკაციები: სადისერტაციო კვლევის მასალებზე გამოქვეყნებულია 3 ნაშრომი (იხ. გვ. 12). ნაშრომში მოყვანილი ძირითადი შედეგები მოხსენებულ იქნა 5 სამეცნიერო კონფერენციაზე და სასწავლო პროგრამით გათვალისწინებულ 3 კოლოკვიუმზე.

ნაშრომის სტრუქტურა. სადისერტაციო ნაშრომის სტრუქტურა შესაბამისობაშია კვლევაში დასმულ ამოცანებსა და მიზნებთან და შედეგა შემდეგი ძირითადი ნაწილებისგან:

- შესავალი - ნაშრომის ზოგადი დახასიათება, მიღებული შედეგების აქტუალობა, სამეცნიერო და პრაქტიკული მნიშვნელობა.
- ნაშრომის ძირითადი შინაარსის სამი თავი - ლიტერატურის მიმოხილვა, ექსპერიმენტის მეთოდოლოგია, მიღებული შედეგები.
- მიღებული შედეგების საერთო განხილვა.
- დასკვნები.
- ლიტერატურის სია.

სადისერტაციო ნაშრომის სრული მოცულობა შეადგენს 162 გვერდს, და მოიცავს 26 სურათს, 4 ცხრილს და 227 დასახელების ციტირებული ლიტერატურის სიას.

ნაშრომის ძირითადი შინაარსი

თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა

აღნიშნულ თავში განხილულია შემდეგი საკითხები: პრობლემის ზოგადი დახასიათება, ბაზალური წინატვინის ქოლინერგული სისტემა, ბაზალური წინატვინის ანატომია, ბაზალური წინატვინის ACh და ნეოკორტექსის ფუნქციის მოდულაცია, ბაზალური წინატვინის ACh და ჰიპოკამპის ფუნქციის მოდულაცია, ბაზალური წინატვინის GABA-ერგული ნეირონები, პრეფრონტალური ქერქის ფუნქცია.

თავი 2. ექსპერიმენტის მეთოდოლოგია

აღწერილია ექსპერიმენტებში გამოყენებული ცხოველების მოვლის პროტოკოლი. ნეიროქირურგიული ოპერაციები, ტვინის სხვადასხვა უბნის ნეირო- და იმუნოტოქსინებით დაზიანების მეთოდები, ტვინის სხვადასხვა სტრუქტურის ანათლებზე ნეიროტრანსმიტერული სისტემების მოდულაციის შეფასებისათვის გამოყენებული ჰისტოქიმიური და იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდები, მეხსიერების სხვადასხვა ფორმის შეფასების მიზნით გამოყენებული ქცევითი ტესტები და ტესტირების პირობები, სხვადასხვა ტრანსმიტერული სისტემის აგონისტ/ანტაგონისტების ტვინში მიკროინექციის დიზაინი, ასევე მონაცემთა სტატისტიკური დამუშავების მეთოდები.

თავი 3. მიღებული შედეგები

3.1. MS-ისა და NBM-ის ქოლინერგულ და GABA-ერგულ ნეირონებზე ნეირო- და იმუნოტოქსინების მიკროინექციის დამაზიანებელი ეფექტების ჰისტო- და იმუნოჰისტოლოგიური კვლევა

მეთოდები: MS-ისა და NBM-ის ნეიროტოქსინით (იბოტენის მჟავა; 10 მკგ/მკლ, 0.25 მკლ/5 წთ), 192 IgG saporin-ით (1 mg/mL) ან GAT1-SAP-ით (325 ng/μl) დაზიანება ხორციელდებოდა შემდეგი კოორდინატებით: MS-ში ინექცია ტარდებოდა გვერდიდან 15 გრადუსიანი დახრის კუთხით, შემდეგი კოორდინატებით: AP- 0.4; M L -1.7; DV - 6.4 (0.5 μl; 0.05 μl/min), ხოლო NBM-ში ბილატერალურად შემდეგი კოორდინატებით: AP -(-1.3); ML - 2.5; DV - 7.7. ნეიროტოქსინით დაზიანების შემთხვევაში თავის ტვინის შესასწავლი სტრუქტურების ციტოარქიტექტონიკური საზღვრების იდენტიფიკაციისათვის, გამოიყენებოდა ნისლის მეთოდი, რისთვისაც ანათლები კრეზილ-ვიოლეტით, სტანდარტული მეთოდიკის მიხედვით იღებებოდა, ხოლო იმუნოჰისტოქიმიური კვლევისათვის გამოიყენებოდა სპეციფიკური ანტისხეულებით შეღებილი MS-ისა და NBM-ის ანათლები.

მიღებული შედეგები: ნისლის მეთოდით შეღებილი ანათლების კვლევამ აჩვენა, რომ ნეიროტოქსინის ზემოქმედებით NBM-ისა და MS-ის ნეირონების უმრავლესობა ზიანდება, ხოლო ცრუდაზიანების პირობებში ეს სტრუქტურები ინტაქტური არიან: ამ მაჩვენებლით საკონტროლო ჯგუფსა და NBM-ის ან MS-ის დაზიანების მქონე ჯგუფებს შორის განსხვავება სარწმუნოა (MS - P = 0.015; NBM - P = 0.025).

იმუნოჰისტოქიმიურმა კვლევამ აჩვენა, რომ MS-ში 192 IgG saporin-ის მიკროინექცია სარწმუნოდ ამცირებს ქოლინერგული ChAT-მგრძნობიარე ნეირონების შეღების ინტენსივობას კონტროლთან შედარებით (P < 0.001), მაშინ როცა MS-ის GABA-ერგული PV-მგრძნობიარე ნეირონების შემცირება კონტროლთან შედარებით არასარწმუნოა (P > 0.05). MS-ში GAT1-SAP-ის მიკროინექცია იწვევს MS-ის GABA-ერგული PV-მგრძნობიარე ნეირონების სარწმუნო შემცირებას (P < 0.001), ხოლო ქოლინერგული ChAT-მგრძნობიარე ნეირონების რაოდენობა კონტროლთან შედარებით მცირდება მხოლოდ 26%-ით (P < 0.05).

იმუნოჰისტოლოგიურმა კვლევამ გამოავლინა, რომ NBM-ში 192 IgG-saporin-ის მიკროინექცია იწვევს ამ სტრუქტურის ქოლინერგული ნეირონების თითქმის სრულ დაღუპვას. რაოდენობრივმა ანალიზმა აჩვენა, რომ 192 IgG-saporin-ი აზიანებს NBM-ისა და განუსაზღვრელი ზონის (substantia inominata) ქოლინერგული ნეირონების 92%-ზე მეტს (P < 0.001). 192 IgG-saporin-ით დაზიანების პირობებში, რაც სპეციფიკურად აზიანებს ქოლინერგულ ნეირონებს, NBM-ის PV-მგრძნობიარე შეღებილ ანათლებზე არ გამოვლინდა GABA-ერგული ნეირონების რამდენადმე მნიშვნელოვანი შემცირება. GABA-ერგული ნეირონების დაკარგვა ამ რეგიონში მხოლოდ 4%-ია. NBM-ში GAT1-SAP-ის მიკროინექცია იწვევს PV-დადებითი ნეირონების დაკარგვას მკრთალ ბირთვში (globus pallidus), უპირატესად მედიალურ და ვენტრალურ ნაწილში - ბაზალური ბირთვის რეგიონის და substantia inominata-ს ჩათვლით. GAT1-SAP-ით გამოწვეული PV-დადებითი ნეირონების დაღუპვა მნიშვნელოვანია და სტატისტიკურად სარწმუნო (P < 0.001). ამრიგად, GAT1-SAP-ის NBM-ში ინექცია იწვევს GABA-ერგული ნეირონების ინტენსიურ დაკარგვას. NBM-ში GAT1-SAP-ის ინექციის პირობებში ChAT-მგრძნობიარე ნეირონების რაოდენობრივმა შეფასებამ იგივე ცხოველებში, რომლებშიც ფასდებოდა PV-მგრძნობიარე ნეირონების რაოდენობა, გამოავლინა ამ ტიპის ნეირონების უმნიშვნელო შემცირება: ქოლინერგული ნეირონების შემცირება მხოლოდ 8%-ს შეადგენს.

ამრიგად, 192-IgG saporin და GAT1-SAP წარმოადგენენ MS-ისა და NBM-ის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების (შესაბამისად) დაზიანების მიმართ მაღალსელექტიურ იმუნოტოქსინებს.

3.2. იმუნოტოქსინებით MS-ისა და NBM-ის ნეირონების დაზიანების პირობებში ჰიპოკამპსა და პრეფრონტალურ ქერქში ქოლინერგული, GABA-ერგული და გლუტამატერგული აქტიურობის მოდულაციის იმუნოჰისტოლოგიური კვლევა

მეთოდები: იმუნოჰისტოქიმიურ კვლევებში გამოიყენებოდა სპეციფიკური იმუნოხეულებით შეღებილი ჰიპოკამპისა და პრეფრონტალური ქერქის ანათლები. იმუნოჰისტოქიმიურ კვლევებში MS-ისა და NBM-ის იმუნოტოქსინებით (192 IgG-saporin და GAT1-SAP) დაზიანების მქონე ცხოველებში ფასდებოდა ჰიპოკამპისა და პრეფრონტალურ ქერქში ქოლინერგული სისტემის აქტიურობა შესაბამისი ანტისხეულებით [AChE (H-134); Rabbit polyclonal antibody] AChE-მგრძობიარე ნეირონების შეღებვის ინტენსივობის შეფასებით. GABA-ერგული ტრანსმისის ცვლილებაზე ვმსჯელობდით სპეციფიკური ანტისხეულით [GABA_A R α 1-6 (H-300); Rabbit polyclonal antibody] GABA_A რეცეპტორის შეღებვის ინტენსივობის ცვლილების შეფასების საფუძველზე. გლუტამატერგული ტრანსმისის ცვლილებაზე ვმსჯელობდით სპეციფიკური ანტისხეულით [GluR-1 (E-6); Mouse monoclonal antibody] გლუტამატერგული რეცეპტორების შეღებვის ინტენსივობის ცვლილების შეფასების საფუძველზე. მათი დეტექცია კი მეორადი კურდღლის სპეციფიკური ანტისხეულებით (Rabbit specific secondary antibody/HRP) და ABC შეღებვის სისტემით ხორციელდებოდა.

მიღებული შედეგები: იმუნოჰისტოქიმიურ კვლევებში მიღებულმა შედეგებმა გამოავლინა: MS-ში 192 IgG-saporin-ის ინექცია იწვევს AChE-მგრძობიარე ნეირონების სარწმუნო შემცირებას ჰიპოკამპში საკონტროლო ჯგუფის (CA1 – $P < 0.01$, CA3 – $P < 0.01$) და MS-ში GAT1-SAP-ის ინექციის მქონე ცხოველებთან შედარებით (CA1 – $P < 0.01$, CA3 – $P < 0.01$). NBM-ში 192 IgG-saporin-ის ინექცია არ იწვევს AChE-დადებითად შეღებილი ნეირონების რაოდენობის სარწმუნო შემცირებას ჰიპოკამპში (CA1 – $P = 0.36$; CA3 – $P = 0.21$); 192 IgG-saporin-ის NBM-ში ინექცია იწვევს AChE-მგრძობიარე ნეირონების სარწმუნო შემცირებას PFC-ში ($P = 0.048$), ხოლო MS-ში ამ იმუნოტოქსინის ინექცია ასეთ ეფექტს არ იწვევს ($P > 0.05$); MS-სა და NBM-ში GAT1-SAP-ის ინექციას, ორივე შემთხვევაში AChE-მგრძობიარე ნეირონების შემცირება PFC-ში არასარწმუნოა ($P > 0.05$); იმუნოშეღებილი GABA_A რეცეპტორების რაოდენობა MS-ის და NBM-ის ქოლინერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანების მქონე ცხოველების ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში არ იცვლება ($P > 0.05$); MS-ის და NBM-ის GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანების მქონე ცხოველების ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში იმუნოშეღებილი GABA_A რეცეპტორების რაოდენობა სარწმუნოდ იცვლება [Control/MS(GAT1-SAP): CA1 – $P < 0.001$, CA3 – $P < 0.01$; Control/NBM(GAT1-SAP): CA1 – $P < 0.05$, CA3 – $P < 0.05$). NBM-ში 192 IgG-saporin-ის მიკროინექცია არ ცვლის PFC-ში იმუნოშეღებილი GABA_A რეცეპტორების რაოდენობას ($P > 0.05$), ხოლო NBM-ში GAT1-SAP-ის მიკროინექციის შემთხვევაში PFC-ში იმუნოშეღებილი GABA_A რეცეპტორების რაოდენობის შემცირება სარწმუნოა ($P < 0.01$); NBM-ში როგორც GAT1-SAP-ის მიკროინექციის შემთხვევაში, ასევე 192 IgG-saporin-ის მიკროინექციისას, პრეფრონტალურ ქერქში გლუტამატერგული ტრანსმისის სარწმუნოდ მცირდება ($P < 0.01$).

ამრიგად, MS-ში 192 IgG-saporin-ის ინექცია იწვევს ჰიპოკამპში ქოლინერგული ტრანსმისის მოდულაციას - ჰიპოკამპში AChE-მგრძობიარე ნეირონების რაოდენობის სარწმუნო შემცირებას; NBM-ში 192 IgG-saporin-ის ინექცია იწვევს პრეფრონტალურ ქერქში ქოლინერგული ტრანსმისის მოდულაციას - პრეფრონტალურ ქერქში AChE-მგრძობიარე ნეირონების რაოდენობის სარწმუნო შემცირებას; MS-სა და NBM-ში GAT1-SAP-ის ინექცია, არ იწვევს AChE-მგრძობიარე ნეირონების შემცირებას ჰიპოკამპისა და პრეფრონტალურ ქერქში; MS-ის და NBM-ის GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანება იწვევს ჰიპოკამპში GABA-ერგული ტრანსმისის მოდულაციას - ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში იმუნოშეღებილი GABA_A რეცეპტორების რაოდენობის სარწმუნო შემცირებას; NBM-ში 192 IgG-saporin-ის ინექცია არ იწვევს პრეფრონტალურ ქერქში GABA-ერგული ტრანსმისის მოდულაციას; NBM-ში GAT1-SAP-ის მიკროინექცია იწვევს პრეფრონტალურ ქერქში GABA-ერგული ტრანსმისის მოდულაციას - პრეფრონტალურ ქერქში იმუნოშეღებილი GABA_A რეცეპტორების რაოდენობის სარწმუნო შემცირებას; NBM-ში როგორც GAT1-SAP-ის, ასევე 192 IgG-saporin-ის მიკროინექცია სარწმუნოდ ამცირებს გლუტამატერგულ ტრანსმისის პრეფრონტალურ ქერქში.

3.3. ბაზალური წინატვინის ნეირონების ნეიროტოქსინით ექსციტოტოქსიკური დაზიანებით გამოწვეული სივრცითი მეხსიერების დარღვევები

ექსპერიმენტების ძირითად მიზანს წარმოადგენდა NBM-სა და MS-ში ნეიროტოქსინის - იბოტენის მჟავას [ibotenic acid (IBO)] მიკროინექციით გამოწვეული BF-ის ნეირონების დაზიანების ეფექტების კვლევა სივრცით მესიერებაზე წყლის აუზის ხილულბაქნიან ვერსიაში, რომელიც სივრცითი მესიერების ფუნქციის სხვადასხვა სტრატეგიის გამოყენებით რეალიზაციის შესაძლებლობის გამოვლენას უზრუნველყოფს. ქცევით ექსპერიმენტები ჩატარებულია 36 ვირთაგვაზე. ვირთაგვები განაწილებულნი იყვნენ შემდეგ ჯგუფებში: იბოტენის მჟავას მიკროინექცია MS-ში ($n = 12$), იბოტენის მჟავას მიკროინექცია NBM-ში ($n = 12$), ცრუდაზიანების მქონე ჯგუფი ($n = 12$).

მიღებული შედეგები: როგორც NBM-ისა და MS-ის დაზიანების მქონე, ასევე საკონტროლო ჯგუფის ცხოველები სწრაფად სწავლობდნენ ხილული ბაქნის მოძიებას და 6-7 წმ-იან დონეს მეორე დღეს აღწევდნენ. სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში 9 დღიან დასწავლის სესიაში ბაქნის პოვნის ლატენტურ დროთა სტატისტიკურმა დამუშავებამ (two way ANOVA; ფაქტორები: ჯგუფი და სატესტო სიტუაცია - ხილული/უხილავი ბაქანი) გამოავლინა ჯგუფის ($F(2, 323) = 4.418$; $P = 0.013$) და სატესტო სიტუაციის ($F(1, 323) = 21.879$; $P < 0.001$) სარწმუნო ეფექტი და ასევე, მათ შორის სტატისტიკურად სარწმუნო ურთიერთკავშირი ($F(2,323) = 5.372$; $P = 0.005$). Post Hock ანალიზმა (Tukey Test) აჩვენა არასარწმუნო განსხვავება ჯგუფებს შორის ხილული ბაქნის პირობებში ($P > 0.05$) და სარწმუნო განსხვავება საკონტროლო და NBM-ის დაზიანების მქონე ($P < 0.001$) და ასევე, საკონტროლო და MS-ის დაზიანების მქონე ($P < 0.05$) ცხოველებს შორის უხილავი ბაქნის პირობებში ტესტირებისას. სატესტო სინჯებში პასუხების (გაცურვის ტრაექტორია) მიხედვით ვირთაგვები კლასიფიცირდებოდნენ როგორც სიგნალზე (cue) ორიენტაციის ან ადგილის (place) დამსწავლელები. NBM-ის დაზიანების მქონე ცხოველებისაგან განსხვავებით, საკონტროლო ჯგუფისა და MS-ის დაზიანების მქონე ვირთაგვების უმრავლესობა პირველ სატესტო სინჯში იყენებდნენ ადგილის დასწავლის სტრატეგიას. საკონტროლო და MS-ის დაზიანების მქონე ვირთაგვებს შორის ამოცანის შესრულების სტრატეგიებს შორის განსხვავება არასარწმუნოა ($t_a = 1.09$, $P > 0.1$). ადგილის დასწავლის სტრატეგიის მატება NBM-ის დაზიანების მქონე ცხოველებში, საკონტროლო და MS-ის დაზიანების მქონე ცხოველებთან შედარებით, სარწმუნოა ($t_a = 2.8$, $P < 0.01$; $t_a = 2.16$, $P < 0.05$, შესაბამისად). მეორე სატესტო სინჯში NBM-ისა და MS-ის დაზიანების მქონე ცხოველების უმრავლესობა სიგნალზე ორიენტაციის სტრატეგიას იყენებდნენ. სტრატეგიის გამოყენების მიხედვით, დაზიანების მქონე ჯგუფებს შორის განსხვავება არასარწმუნოა ($t_a = 1.2$, $P > 0.1$). საკონტროლო ჯგუფის უმრავლესობა ადგილის დასწავლის სტრატეგიას იყენებს. გამოყენებული სტრატეგიების მიხედვით საკონტროლო და დაზიანების მქონე ჯგუფებს შორის განსხვავება სარწმუნოა (კონტროლი/MS: $t_a = 2.5$, $P < 0.02$; კონტროლი/NBM: $t_a = 2.16$, $P < 0.05$). ცხოველთა ყველა ჯგუფში ორივე სატესტო სინჯში მიღებული მონაცემები აჩვენებს, რომ ცრუოპერირებული (საკონტროლო) ვირთაგვები 24 სინჯიდან 20 სატესტო სინჯში იყენებდნენ ადგილის დასწავლის სტრატეგიას, მაშინ როცა, MS-ის დაზიანების მქონე ცხოველები ამ სტრატეგიას იყენებდნენ 11 სინჯში და NBM-ის დაზიანების მქონე ვირთაგვები კი მხოლოდ 6 სინჯში. ადგილის დასწავლის სტრატეგიის გამოყენების შემცირება MS-ისა და NBM-ის დაზიანების მქონე ცხოველებში, საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით, სარწმუნოა (contr/MS: $t_a = 2.5$, $P < 0.02$; contr/NBM: $t_a = 2.16$, $P < 0.05$). საინტერესოა, რომ მიუხედავად იმისა, რომ ყველა ჯგუფის ცხოველების უმრავლესობა, პირველ სატესტო სინჯში სიგნალზე ორიენტაციის სტრატეგიას იყენებს, ოთხი ვირთაგვა, რომლებიც პირველ სატესტო სინჯს სიგნალზე ორიენტაციის სტრატეგიით ასრულებდნენ, მეორე სატესტო სინჯში იყენებდნენ ადგილის დასწავლის სტრატეგიას. ეს მონაცემები აჩვენებს, რომ პირველ სინჯს გავლენა აქვს მეორე სატესტო სინჯის შესრულებაზე და ზოგიერთი ვირთაგვასათვის მეორე სატესტო სინჯის შესრულებისას ხელმისაწვდომია ინფორმაცია ბაქნის ძველი ადგილმდებარეობის შესახებ.

ვირთაგვებს ვაკუთნებდით „ადგილზე მოპასუხეთა“ (place responder) ჯგუფს, თუ ორივე სატესტო სინჯში ისინი მიცურავდნენ ბაქნის ძველ მდებარეობასთან 10 სმ-ის ფარგლებში და „სიგნალზე მოპასუხეთა“ (cue responder) ჯგუფს, თუ ორივე სატესტო სინჯში მიცურავდნენ ხილული ბაქნისაკენ. ვირთაგვებს მივაკუთნებდით „სიგნალზე/ადგილზე“ (cue/place responder)

მოპასუხეთა ჯგუფს, თუ ისინი ორ სატესტო სინჯში სხვადასხვა სტრატეგიას იყენებდნენ. ამ კრიტერიუმის გამოყენებით საკონტროლო ჯგუფის ცხოველები (75%) მიეკუთვნებიან ადგილის დამსწავლეებს და MS-ის დაზიანების მქონე ცხოველების უმრავლესობა (75%) სიგნალზე/ადგილზე მოპასუხებს. NBM-ის დაზიანების მქონე ცხოველები წარმოადგენენ სიგნალზე/ადგილზე (50%) ან სიგნალზე მოპასუხეებს (50%). ცრუპერირებულ ცხოველებთან შედარებით MS-ისა და NBM-ის დაზიანების მქონე ცხოველებში ადგილის დასწავლის სტრატეგიის გამოყენების შემცირება სარწმუნოა ($P < 0.05$).

ამრიგად, MS-ისა და NBM-ის არაქოლინერგული, უპირატესად GABA-ერგული, ჰიპოკამპსა და პრეფრონტალურ ქერქში პროცირებადი ნეირონები, ყურადღების მექანიზმებში ჩართულობის პარალელურად, მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ კოგნიტიური ინფორმაციის დამუშავებაში - ამ ნეირონების ნეიროტოქსინით ექსციტოტოქსიკური დაზიანების პირობებში გამოვლენილია სივრცითი დეკლარატიული (ჰიპოკამპდამოკიდებული) მეხსიერების დეფიციტი.

3.4. ბაზალური მსხვილუჯრედოვანი ბირთვის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების იმუნოტოქსინებით სელექტიურად დაზიანების ეფექტები სივრცითი მეხსიერების დეკლარატიულ და არადეკლარატიულ ფორმებზე

ექსპერიმენტების ამ სერიაში ძირითად მიზანს წარმოადგენდა NBM-ში იმუნოტოქსინების მიკროინექციით გამოწვეული ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანების ეფექტების კვლევა სივრცით მეხსიერებაზე წყლის აუზის ხილულბაქნიან ვერსიაში. ქცევით ექსპერიმენტში სულ გამოყენებული იყო 36 ცხოველი: NBM-ის GAT1-SAP-ით დაზიანების მქონე (NBM-GAT1-SAP; $n = 12$); NBM-ის 192-IgG saporin-ით დაზიანების მქონე (NBM-SAP; $n = 12$); NBM-ში mouse saporin-ის ინექციით (Control; $n = 12$).

მიღებული შედეგები: ქცევით ექსპერიმენტებში გამოვლინდა, რომ როგორც საკონტროლო, ისე NBM-ის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების იმუნოტოქსინებით დაზიანების მქონე ცხოველები, ხილული ბაქნის პირობებში ტესტირებისას სწრაფად სწავლობენ უსიამოვნო გარემოდან განრიდებას და ბაქნის პოვნის ლატენტური დროის 6-7 წამიან ზღვარს მე-2 დღისთვის აღწევენ. სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში 9 დღიან დასწავლის სესიაში ბაქნის პოვნის ლატენტურ დროთა სტატისტიკურმა დამუშავებამ (two way ANOVA; ფაქტორები: ჯგუფი და სატესტო სიტუაცია - ხილული/უხილავი ბაქანი) გამოავლინა ჯგუფის ($F(2,323) = 5.129$; $P = 0.006$) და სატესტო სიტუაციის ($F(1,323) = 20.936$; $P < 0.001$) სარწმუნო ეფექტი და ასევე, მათ შორის სტატისტიკურად სარწმუნო ურთიერთკავშირი ($F(2,323) = 5.058$; $P = 0.007$). Post Hoc ანალიზმა (Tukey Test) აჩვენა არასარწმუნო განსხვავება ჯგუფებს შორის ხილული ბაქნის პირობებში ($P > 0.05$) და სარწმუნო განსხვავება საკონტროლო და NBM-ის SAP-ით დაზიანების მქონე ($P < 0.002$) და ასევე, საკონტროლო და NBM-ის GAT1-SAP-ით დაზიანების მქონე ($P < 0.003$) ცხოველებს შორის უხილავი ბაქნის პირობებში ტესტირებისას. NBM-ის SAP-ით და GAT1-SAP-ით დაზიანების მქონე ცხოველებს შორის უხილავი ბაქნის პირობებში ტესტირებისას სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა ($P = 0.988$). პირველ სატესტო სინჯში ყველა საკონტროლო ცხოველი იყენებდა ადგილის დასწავლის სტრატეგიას, NBM-ის დაზიანების მქონე ცხოველებისგან განსხვავებით. საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით, სარწმუნოდ იყო გაზრდილი ერთეულ მხედველობით სიგნალზე ორიენტაციით განხორციელებული პასუხები NBM-ის როგორც ქოლინერგული ($t_a = 2.6$; $P < 0.01$), ასევე GABA-ერგული ($t_a = 2.8$; $P < 0.01$) ნეირონების დაზიანების მქონე ცხოველებში. მეორე სატესტო სინჯში NBM-ის დაზიანების მქონე ცხოველების უმრავლესობა იყენებს ერთეულ მხედველობით სიგნალზე ორიენტაციის სტრატეგიას. სტრატეგიის გამოყენების მიხედვით, დაზიანების მქონე ჯგუფებს შორის განსხვავება არასარწმუნოა ($t_a = 1.3$, $P > 0.1$). საკონტროლო ჯგუფის უმრავლესობა ადგილის დასწავლის სტრატეგიას იყენებს. გამოყენებული სტრატეგიების მიხედვით საკონტროლო და დაზიანების მქონე ჯგუფებს შორის განსხვავება სარწმუნოა (კონტროლი/NBM-GAT1-SAP: $t_a = 2.5$, $P < 0.02$; კონტროლი/NBM-SAP: $t_a = 2.7$, $P < 0.05$). საკონტროლო ჯგუფის ცხოველები უპირატესად მიეკუთვნებიან ადგილის დამსწავლეებს, ხოლო NBM-ის დაზიანების მქონე ცხოველების უმრავლესობა სიგნალზე ან სიგნალზე/ადგილზე მოპასუხეებს. საკონტროლო ცხოველებთან

შედარებით NBM-ის დაზიანების მქონე ორივე ჯგუფის ცხოველებში ადგილის დასწავლის სტრატეგიის გამოყენების შემცირება სარწმუნოა ($P < 0.05$).

ამრიგად, NBM-ის ქოლინერგული ან GABA-ერგული ნეირონების იმუნოტოქსინებით სელექტიურად დაზიანება იწვევს პრეფრონტალური ქერქის ფუნქციის მოდულაციას და სივრცითი დეკლარატიული მეხსიერების დეფიციტს.

3.5. NBM-ისა და MS-ის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების იმუნოტოქსინებით სელექტიურად დაზიანების ეფექტები ადგილისა და პასუხის დასწავლაზე ჯვრისმაგვარ ლაბირინთში

წარმოდგენილ კვლევაში ვაფასებდით იმუნოტოქსინ 192 IgG-საპორინით და GAT1-SAP-ით NBM-ისა და MS-ის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანების ეფექტებს ადგილის ან პასუხის დასწავლაზე დამოკიდებული ამოცანის შესრულებაზე ჯვრისმაგვარ ლაბირინთში. ამ ქვევით პარადიგმაში, სადაც საკვები წარმოდგენს ჯილდოს, ცხოველს ლაბირინთში მისი ადგილმდებარეობის დასწავლა შეუძლია მხოლოდ ადგილის (სივრცითი კოორდინატების საფუძველზე) ან პასუხის (განსაზღვრულ მხარეს მობრუნება) დასწავლის სტრატეგიით. ქვევით ექსპერიმენტში მონაწილე ვირთაგვები განაწილებულნი იყვნენ შემდეგ ჯგუფებში: NBM-ის 192 IgG-საპორინით დაზიანების ($n = 16$), NBM-ის GAT1-SAP დაზიანების ($n = 16$), MS-ის 192 IgG-საპორინით დაზიანების ($n = 16$) და MS-ის GAT1-SAP დაზიანების ($n = 16$) მქონე ჯგუფები.

მიღებული შედეგები: გამოვლინდა, რომ ცხოველები პასუხის დასწავლის ამოცანის შესრულებას სწავლობენ უფრო სწრაფად, ვიდრე ადგილის დასწავლის ამოცანას. one way ANOVA-მ აჩვენა ჯგუფის სარწმუნო ეფექტი ($F(1,47) = 16.397, P < 0.001$). სხვადასხვა ამოცანით ტრენირების დროს კრიტერიუმამდე დასწავლისათვის საჭირო სინჯების რაოდენობის მიხედვით one way ANOVA-მ აჩვენა სარწმუნო განსხვავება ჯგუფებს შორის: ადგილის დასწავლის ვერსიაში ($F(2,23) = 54.41, P < 0.001$) და პასუხის დასწავლის ვერსიაში ($F(2,23) = 65.05, P < 0.001$). GAT1-SAP-ით დაზიანების მქონე ცხოველები ჯვრისმაგვარი ლაბირინთის პასუხის დასწავლის ვერსიაში დასწავლის კრიტერიუმს (9/10 სწორი პასუხი) აღწევდნენ დაახლოებით 34.6 ± 1.19 (საშ±SEM) სინჯში, ხოლო ადგილის დასწავლის ამოცანაში 52.6 ± 2.4 სინჯში (საშ±SEM; t -test, $P < 0.001$). 192 IgG-საპორინით დაზიანების მქონე ცხოველები ლაბირინთის პასუხის დასწავლის ვერსიაში დასწავლის კრიტერიუმს (9/10 სწორი პასუხი) აღწევდნენ დაახლოებით 43.88 ± 1.19 (საშ±SEM) სინჯში, ხოლო ადგილის დასწავლის ამოცანაში 61.5 ± 2.08 (საშ±SEM) სინჯში (t -test, $P < 0.001$).

გამოვლინდა, რომ MS-ის დაზიანების მქონე ცხოველებიც, მსგავსად NBM-ის დაზიანების მქონე ცხოველებისა, პასუხის დასწავლის ამოცანის შესრულებას სწავლობენ უფრო სწრაფად, ვიდრე ადგილის დასწავლის ამოცანას. one way ANOVA-მ აჩვენა ჯგუფის სარწმუნო ეფექტი ($F(1,47) = 71.564, P < 0.001$). სხვადასხვა ამოცანით ტრენირების დროს კრიტერიუმამდე დასწავლისათვის საჭირო სინჯების რაოდენობის მიხედვით one way ANOVA-მ აჩვენა სარწმუნო განსხვავება ჯგუფებს შორის ადგილის დასწავლის ვერსიაში ($F(2,23) = 90.272, P < 0.001$) და არასარწმუნო განსხვავება პასუხის დასწავლის ვერსიაში ($F(2,23) = 2.993, P = 0.073$). GAT1-SAP-ით დაზიანების მქონე ცხოველები ჯვრისმაგვარი ლაბირინთის პასუხის დასწავლის ვერსიაში დასწავლის კრიტერიუმს (9/10 სწორი პასუხი) აღწევდნენ 23.37 ± 2.6 (საშ±SEM) სინჯში, ხოლო ადგილის დასწავლის ამოცანაში 58.5 ± 5.4 სინჯში (საშ±SEM; t -test, $P < 0.001$). 192 IgG-საპორინით დაზიანების მქონე ცხოველები ლაბირინთის პასუხის დასწავლის ვერსიაში დასწავლის კრიტერიუმს (9/10 სწორი პასუხი) აღწევდნენ 18.25 ± 1.77 (საშ±SEM) სინჯში, ხოლო ადგილის დასწავლის ამოცანაში 65.37 ± 3.54 (საშ±SEM) სინჯში (t -test, $P < 0.001$). საინტერესოა, რომ MS-ის 192 IgG-საპორინით დაზიანების მქონე ცხოველები ლაბირინთის პასუხის დასწავლის ვერსიაში დასწავლის კრიტერიუმს აღწევდნენ უფრო სწრაფად, ვიდრე საკონტროლო ჯგუფის ცხოველები (t -test, $P < 0.05$).

ამრიგად, MS-ისა და NBM-ის ქოლინერგული და ასევე, GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანება აუარესებს ჰიპოკამპდამოკიდებული ადგილის დასწავლის ამოცანის შესრულებას. NBM-ის როგორც ქოლინერგული, ასევე GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურად

დაზიანება აუარესებს ამოცანის შესრულებას სტრიატუმზე დამოკიდებული პასუხის დასწავლის ვერსიაში, ხოლო MS-ის დაზიანება არ მოქმედებს ამოცანის ამ ვერსიის შესრულებაზე. ჩვენი მონაცემები მიუთითებს, რომ NBM-ის ქერქული პროექციები ახდენენ დასწავლასთან დაკავშირებული პლასტიკური პროცესების მოდულაციას.

3.6. MS-ისა და NBM-ის დაზიანების მქონე, ინტაქტურ და ცრუოპერირებულ ვირთაგვებში მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესების კანონზომიერებანი ქცევით ამოცანებში ტრენირებამდე მათზე ნეიროტრანსმიტერის აგონისტ/ანტაგონისტით ზემოქმედების პირობებში

ექსპერიმენტების ერთ სერიაში შევისწავლიდით GABA_A რეცეპტორის აგონისტის - მუსციმოლის მიკროინექციის (0.15 მკგ/მკლ, 1 წთ-ში) ეფექტებს, როგორც ნეირომოდულატორული ბირთვის დონეზე - MS-ში, ასევე, მის საპროექციო ტერმინალურ მექანიზმებზე - Hipp-ში, ჰიპოკამპდამოკიდებული ადგილის დასწავლის ამოცანის შესრულებაზე და აგრეთვე, შესაძლებელია თუ არა MS-ში მუსციმოლის მიკროინექციით გამოწვეული მეხსიერების დეფიციტის კორექცია AChE-ს ინჰიბიტორის - ფიზოსტიგმინის (10 მკგ/მკლ, 1 წთ-ში) Hipp-ში მიკროინექციით. ექსპერიმენტების მეორე სერიაში კი შევისწავლებოდა NBM-ის GABA-ერგული ნეირონების იმუნოტოქსინით GAT1-SAP-ით დაზიანების მქონე ცხოველებში PFC-ში მუსციმოლის ან ფოსფატბუფერული ხსნარის მიკროინექციის ეფექტები ჯვრისმაგვარ ლაბირინთში ადგილის დასწავლის ამოცანის შესრულებაზე. ექსპერიმენტების პირველი სერია ჩატარებულია ცხოველების 7 ჯგუფზე: MS(sham), MS(mus), Hipp(mus), MS(sham)+Hipp(sham), MS(mus)+Hipp(sham), MS(sham)+Hipp(phys), MS(mus)+Hipp(phys); ყველა ჯგუფისთვის n=8.

ექსპერიმენტები მეორე სერია ჩატარებულია ცხოველთა 5 ჯგუფზე: NBM(sham), NBM(GAT), NBM(GAT) + PFC(mus,0.25), NBM(GAT) + PFC(mus,0.1), NBM(GAT) + PFC(sham). ყველა ჯგუფისთვის n=8.

მიღებული შედეგები: MS(sham), MS(mus) და Hipp(mus) ჯგუფებში მიღებული მონაცემების სტატისტიკურმა შეფასებამ (One Way ANOVA) გამოავლინა ჯგუფის სარწმუნო ეფექტი [F(2,23 = 65.2; P < 0.001)]. Post hoc (Tukey Test) ანალიზმა აჩვენა, რომ ცრუოპერირებულ [MS(sham)] ცხოველებთან შედარებით მუსციმოლის მიკროინექცია MS-ში ან Hipp-ში სარწმუნოდ აუარესებს (ორივე შემთხვევაში P < 0.001) ადგილის დასწავლის პროცესს. ადგილის დასწავლის კრიტერიუმს ცრუოპერირებული ცხოველები 35±4 სინჯში აღწევენ, MS-ში მუსციმოლის მიკროინექციის პირობებში 53±5 სინჯში, Hipp-ში მუსციმოლის მიკროინექციის პირობებში კი 60±5 სინჯში.

MS(sham) + Hipp(sham), MS(mus) + Hipp(sham), MS(sham) + Hipp(phys), MS(mus) + Hipp(phys) ჯგუფებში მიღებული მონაცემების სტატისტიკურმა შეფასებამ (One Way ANOVA) გამოავლინა ჯგუფის სარწმუნო ეფექტი [F(3,31 = 72.941; P < 0.001)]. Post hoc (Tukey Test) ანალიზმა აჩვენა, რომ MS-ში მუსციმოლის მიკროინექციის შემდეგ Hipp-ში ფიზოსტიგმინის მიკროინექციის პირობებში, ცხოველები სარწმუნოდ ადრე აღწევდნენ (P < 0.001) ამოცანის შესრულების კრიტერიუმს, იმ ცხოველებთან შედარებით, რომელთა ჰიპოკამპში ფიზოსტიგმინის ნაცვლად შეგვყავდა ფოსფატბუფერული ხსნარი.

NBM(sham), NBM(GAT), NBM(GAT) + PFC(mus,0.25), NBM(GAT)+PFC(mus,0.1), NBM(GAT)+PFC(sham) ჯგუფებში მიღებული მონაცემების სტატისტიკურმა შეფასებამ (One Way ANOVA) გამოავლინა ჯგუფის სარწმუნო ეფექტი [F(4,39 = 98.731; P < 0.001)]. Post hoc (Tukey Test) ანალიზმა NBM-ის GAT1-SAP-ით დაზიანების მქონე ცხოველებში აჩვენა ჯვრისმაგვარ ლაბირინთში ადგილის დასწავლის მნიშვნელოვანი გაუარესება საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით (P < 0.001): დასწავლის კრიტერიუმამდე სინჯების რაოდენობა NBM(GAT) ჯგუფში = 63±4, ხოლო NBM(sham) ჯგუფში = 34±3. ამასთან, NBM-ის GAT1-SAP-ით დაზიანების მქონე ცხოველები PFC-ში მუსციმოლის 0.25 მკგ/მკლ მიკროინექციის შემდეგ სარწმუნოდ (P < 0.01) ადრე აღწევდნენ ამოცანის შესრულების კრიტერიუმს (42±3), ვიდრე მუსციმოლის 0.1 მკგ/მკლ მიკროინექციისას (55±5; P < 0.03) და ასევე, NBM-ის GAT1-SAP-ით დაზიანების მქონე ცხოველების PFC-ში ფოსფატბუფერული ხსნარის მიკროინექციისას (61±5; P < 0.001).

ამრიგად, GABA_A რეცეპტორის აგონისტის - მუსციმოლის მიკროინექცია როგორც ნეირომოდულატორული ბირთვის დონეზე - MS-ში, ასევე, მის საპროექციო ტერმინალურ მექანიზმებზე – Hipp-ში აუარესებს ადგილის დასწავლის ამოცანის შესრულებას; MS-ში მუსციმოლის მიკროინექციით გამოწვეული მეხსიერების დეფიციტის კორექცია შესაძლებელია AChE-ს ინჰიბიტორის – ფიზოსტიგმინის Hipp-ში მიკროინექციით; NBM-ის GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანების მქონე ცხოველებში PFC-ში მუსციმოლის იმ დოზით მიკროინექცია, რომელიც ღია ველში ტესტირებისას სარწმუნოდ ცვლის ცხოველთა აქტიურობის მაჩვენებლებს, სარწმუნოდ აუმჯობესებს ჯვრისმაგვარ ლაბირინთში ადგილის დასწავლის პროცესს; PFC-ს შიგა ნეირონულ წრეებში განვითარებული მოდულაციური პროცესები მნიშვნელოვანია როგორც კოგნიტიური, ასევე ყურადღების ფუნქციისათვის.

დასკვნები:

1. MS-ის ქოლინერგული საპროექციო ნეირონები მონაწილეობენ ჰიპოკამპში ქოლინერგული ტრანსმისიის მოდულაციაში: MS-ის ქოლინერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანება სარწმუნოდ ამცირებს AChE-მგრძობიარე ნეირონების რაოდენობას ჰიპოკამპში.
2. MS-ის GABA-ერგული საპროექციო ნეირონები მონაწილეობენ ჰიპოკამპში GABA-ერგული ტრანსმისიის მოდულაციაში: MS-ის GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანება სარწმუნოდ ამცირებს GABA_A რეცეპტორების იმუნოშედებვის ინტენსივობას ჰიპოკამპში.
3. NBM-ის ქოლინერგული საპროექციო ნეირონები მონაწილეობენ PFC-ის ქოლინერგული ტრანსმისიის მოდულაციაში: NBM-ის ქოლინერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანება სარწმუნოდ ამცირებს AChE-მგრძობიარე ნეირონების რაოდენობას PFC-ში.
4. NBM-ის GABA-ერგული საპროექციო ნეირონები მონაწილეობენ PFC-ის და ჰიპოკამპის GABA-ერგული ტრანსმისიის მოდულაციაში: NBM-ის GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანება სარწმუნოდ ამცირებს GABA_A რეცეპტორების იმუნოშედებვის ინტენსივობას PFC-სა და ჰიპოკამპში.
5. NBM-ის GABA-ერგული საპროექციო ნეირონები მონაწილეობენ გლუტამატერგული ტრანსმისიის მოდულაციაში PFC-ში: NBM-ის GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანება სარწმუნოდ ამცირებს GluR-1 რეცეპტორების იმუნოშედებვის ინტენსივობას PFC-ში.
6. NBM-ისა და MS-ის საპროექციო ნეირონების დაზიანება იწვევს მათი სამიზნე უბნების - PFC-სა და ჰიპოკამპის, შესაბამისად, ფუნქციის მოდულაციას და ჰიპოკამპდამოკიდებული სივრცითი დეკლარატიული მეხსიერების დეფიციტს.
7. NBM-ის საპროექციო ნეირონების დაზიანება იწვევს PFC-ის ფუნქციის მოდულაციას და როგორც ჰიპოკამპდამოკიდებული სივრცითი მეხსიერების, ასევე სტრიატუმდამოკიდებული პასუხის დასწავლის დეფიციტს.
8. MS-ის ქოლინერგული ჰიპოკამპის საპროექციო ნეირონების სელექტიურად დაზიანება აადვილებს სტრიატუმდამოკიდებულ პასუხის დასწავლას.
9. MS-ისა და ჰიპოკამპის ურთიერთკავშირი მნიშვნელოვანია სივრცითი მეხსიერებისათვის და ეს სისტემა ჩართულია დეკლარატიული მეხსიერების კოგნიტიურ ფორმებში.
10. სეპტოჰიპოკამპურ და ბაზალოკორტიკალურ სისტემებს შორის სახეზეა ფუნქციური დისოციაცია - ბაზალური წინატვინის სეპტოჰიპოკამპური კომპონენტი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სივრცით მეხსიერებაში, ხოლო ბაზალოკორტიკალური კომპონენტი - სივრცით დასწავლასა და ყურადღების მექანიზმებში.
11. NBM-PFC-ს ნერვული წრე მნიშვნელოვანია ფუნდამენტური კოგნიტიური პროცესებისათვის, როგორცაა ჰიპოკამპდამოკიდებული სივრცითი მეხსიერება და ყურადღება.

ამრიგად, ჩვენს ექსპერიმენტებში მიღებული შედეგები ქმნის ახალ შესაძლებლობებს მეხსიერების ფუნქციის განმსაზღვრელი ქოლინერგული და GABA-ერგული პროექციების კომპლექსური ურთიერთქმედების მნიშვნელობის განსაზღვრისათვის. ჩატარებული კვლევა მნიშვნელოვანია

მეხსიერების დარღვევების სამკურნალოდ ახალი სტრატეგიების განსაზღვრისათვის და ასევე, მეხსიერების ფუნდამენტური ნეირობიოლოგიის შეცნობისათვის.

სტატიები:

- Naneishvili T., **Demurishvili M.**, Burjanadze M., Dashniani M., Chkhikvishvili N., Beselia G., Kruashvili L., Pochkhidze N.. Spatial memory impairments following immunotoxic lesion of GABAergic neurons of the Nucleus Basalis Magnocellularis. Bulletin of the Georgian National Academy of Science, 2017, 11(1).
- Kruashvili L., **Demurishvili M.**, Burjanadze M., Beselia G. Effects of selective cholinergic and GABAergic lesions of the Nucleus Basalis Magnocellularis on place or response learning in plus-shaped maze. Georgian Medical News, 2016 Georgian Medical News, 2016, 10 (259), 77-83.
- Dashniani M., Burjanadze M., **Demurishvili M.**, Chkhikvishvili N., Beselia G., Kruashvili L., Pochkhidze N., Naneishvili T., Kh. Rusadze. Spatial memory impairments following excitotoxic lesions of the basal forebrain noncholinergic neuronal ensembles. Nova science publishers, New York, USA, (13-29), 2015.

თეზისები:

- Kruashvili, M. Burjanadze, **M. Demurishvili**, S. Mataradze. Spatial memory impairments following immunotoxic lesion of GABAergic neurons of the forebrain. International Conference on Life Science & Biological Engineering. Kyoto, Japan, 22-24 November, 2016.
- L. Kruashvili, M. Burjanadze, **M. Demurishvili**, K. Rusadze. Spatial memory impairments following excitotoxic lesions of the basal forebrain noncholinergic neuronal ensembles. 29th ECNP Congress, Vienna, Austria, 17-20 September, 2016
- S. Mataradze, T. Naneishvili, **M. Demurishvili**, Kh. Rusadze, M. Burjanadze, T. Kherkheulidze. Study of selective and conjoint immunolesions of septohippocampal projections on spatial memory function. 7th International Regional ISBS Neuroscience and Biological Psychiatry Conference „Stress and Behavior”, Miami Beach, FL, USA, 22-24 June, 2016.
- S. Mataradze, T. Naneishvili, **M. Demurishvili**, M. Chigladze, Kh. Rusadze. Study of selective immunolesions of medial septal cholinergic and GABA-ergic neurons on hippocampal dependent memory and learning process. 9th FENS forum of neuroscience, Milan, Italy, 5-9 July, 2014.
- მ. ჭილაძე, ლ. ყრუაშვილი, **მ. დემურიშვილი**, ნ. ჩხიკვიშვილი, თ. ნანეიშვილი. დასწავლის სტრატეგიის განსაზღვრა მედიალური სეპტუმის დაზიანების მქონე ვირთაგვებში მორისის წყლის აუზის პირობებში. XII სამეცნიერო კონფერენცია - „ფიზიოლოგიისა და ბიომედიცინის აქტუალური პრობლემები”. ქუთაისი, საქართველო, 25-27 სექტემბერი, 2014.
- 2015-2016 - საგანმანათლებლო პროგრამით გათვალისწინებული 3 კოლოქვიუმი.

St. Andrew the First-Called Georgian University of the Patriarchate of Georgia

On the Manuscript Rights

School (Department) of Informatics, Mathematics and Natural Sciences

Educational Program - Neuronal mechanisms of memory

Maia Demurishvili

**Modulation of Prefrontal Cortex Function by Basal Forebrain
Cholinergic Systems**

Abstract

of thesis on academic degree of Doctor of Biology/Life Sciences

05 Sciences/Natural Sciences
Branch – 0504 Biology/Life Sciences

Tbilisi

2016

This scientific paper has been performed in the Ivane Beritashvili Center of Experimental Biomedicine and School (Department) of Informatics, Mathematics and Natural Sciences of the St. Andrew the First-

called Scientific University at the Georgian Patriarchate. On doctoral Program: Neuronal mechanisms of memory

Scientific Supervisor:

Maia Burjanadze
Acad. Doctor of Biological Sciences

Official Opponents: 1. Nargiz Nachkebia,
Doctor of Biological Sciences,
Full Professor

2. Tamar Domianidze,
Acad. Doctor of Biological Sciences

Defense of the thesis will be held on “_1_” __February__ of 2017_ at 14 o'clock at the St. Andrew the First-called Scientific University at the Georgian Patriarchate School (Department) of Informatics, Mathematics and Natural Sciences at the School's (Department's) Dissertation committee meeting.

Address: 0162, Tbilisi #53a Ilia Chavchavadze Ave., 104 Ilia Vekua called auditory.

Dissertation text is available at the St. Andrew the First-called Scientific University's Library at the Georgian Patriarchate.

The abstract of the thesis is sent on 2016____ “_30_” __December__.

The Secretary of the
Acad Doctor of Technical Sciences,

Teimuraz Kiviladze

Short Description of the Work

The Subject Actuality

It is clear from the interconnectedness and parallel organization of the modulator systems that each of neurotransmitters modulates, and is modulated by, each of the others. As neuromodulators act in parallel and in collaboration with one another, research addressing co-modulation and interactions between modulator systems, as opposed to the isolated investigation of individual neuromodulator systems, is critical for the development of hypotheses that describe the fundamental roles of the ascending neuromodulatory systems.

Analyzing bulk of scientific literature devoted to the issue, it became clear that the question of how cholinergic and GABAergic BF projections modulate neurotransmitters activity in PFC and memory and learning process, is far from resolved. Few studies have examined the PFC cholinergic and GABAergic deafferentation effect on other neurotransmitters levels in PFC. Therefore we investigated the modulation of memory function by the cholinergic and GABAergic cells of the BF using the methods of selective lesions these corticopetal neurons using immunotoxins.

Principal Goals and Tasks of the Reserch

The present work was designed to investigate the effects of selective lesions of basal forebrain cholinergic and GABA-ergic neurons on memory function and how this corticopetal system modulates neurotransmitters activity in prefrontal cortex. In behavioral and immunohistochemical experiments we evaluated different forms of memory and modulation of neurotransmitters (cholinergic, GABAergic and glutamatergic) activity in PFC and hippocampus in control (sham operated) and BF cholinergic or GABAergic immunotoxic lesioned rats.

The objectives:

- Study of effects of microinjections of neuro- and immunotoxins on cholinergic and GABAergic neurons in MS and NBM.
- Study of cholinergic, GABAergic and glutamatergic activity in hippocampus and prefrontal cortex after immunotoxic damage of MS and NBM neurons.
- Study of effects of excitotoxic lesions of the basal forebrain noncholinergic neuronal ensembles on spatial memory.
- Study of effects of immunotoxic lesion of GABAergic and cholinergic neurons of the NBM on spatial memory.
- Study of effects of selective cholinergic and GABAergic lesions of the MS and NBM on hippocampus dependent place learning or striatum dependent response learning.
- Study of effects of pretraining treatment with neurotransmitters agonists/antagonist on memory and learning process in MS or NBM lesioned, sham-operated and intact rats.

Scientific Novelty of the Work and Practical Importance of the Work

Investigation of hippocampal and PFC neurotransmitters activity with association of memory loss after BF lesions may have implications for understanding of the mechanisms by which acetylcholine or GABA release in the neocortex influences cognitive functions and behaviors and may also lead to new strategies for memory improvement - our results identify BF GABA neurons as a possible new therapeutic target to treat disorders involving abnormal cognitive function. We hope that these results provide further insights for a better understanding of the fundamental neurobiology of memory.

Publication. Materials of thesis published 3 papers (see. P. 21), also main results of this work were presented at 5 scientific conference and three colloquiums.

Structure and Extent of the Work. The thesis consists of:

- An introduction - the subject actuality, principal goals and tasks of the reserch, scientific novelty of the work and practical importance of the work
- 3 chapters - review of literature, research methods, results.
- Discussion
- Conclusions

- A list of references

The thesis contains 162 pages, including 26 figures, 4 tables and references from 227 names.

1. Review of literature

Includes: anatomy and function of basal forebrain, anatomy and function of prefrontal cortex and hippocampus, review of cholinergic and GABAergic systems.

2. Methods

For behavioral studies: visible platform version of Morris water maze, plus-shaped maze.

For assessment of neurotransmitters activity: histo- and immunohistochemical methods.

3. Results

3.1. Histochemical and immunohistochemical evaluation of effects of microinjections of neuro- and immunotoxins on cholinergic and GABAergic neurons in MS and NBM

Methods: Rats received bilateral infusions of ibotenic acid (IBO) (0.2 µl per side, 0,05 µl/min) and immunotoxins 192 IgG-saporin (1 mg/mL) or GAT1-SAP (325 ng/µl) into the NBM (AP -(-1,3); ML - 2,5; DV - 7,7) and infusions into the MS (AP - 0,7; ML - 0; DV - 6,2 and 7.8 mm) at two positions (0,2 and 0,3 µl; 0,05 µl/min). The location of the IBO lesions was determined in control and experimental rat brain by microscopic examination of serial coronal sections (30 µm) stained with cresyl violet. The immunotoxic lesions of NBM were verified by observing decreased Acetylcholintransferase (ChAT) and parvalbumine (PV) staining of the NBM.

Results: Based on Nissl staining neurotoxic lesion destroyed most of the MS and NBM neurons and sham lesion left these structures intact (Fig. 1.): there was significant difference among control and neurotoxic MS or NBM lesioned groups (MS - $P = 0.015$; NBM - $P = 0.025$).

A histological evaluation indicated that 192 IgG-saporin lesions eliminated nearly all cholinergic neurons within the NBM and substantia innominata. A quantitative analysis indicated that 192 IgGsaporin lesions damaged NBM cholinergic neurons by an average of more than 92% ($P < 0.001$). Parvalbumin-stained sections taken through the NBM indicated that 192 IgG-saporin lesions specifically depleted cholinergic neurons but did not result in noticeable damage to the GABAergic cells within this region. The reduction of GABAergic neurons represented a loss of only 4%. Infusions of GAT1-SAP into the NBM resulted in loss of PV-positive neurons in the globus pallidus, mostly in the medial and ventral aspects including the nucleus basalis regions and the substantia innominata. The GAT1 SAP-induced loss of PV-positive cells was large and statistically significant ($P < 0.001$). Thus, GAT1-SAP when infused into the NBM extensively damaged GABAergic NBM neurons. Counts of ChAT-ir neurons made in the same rats used to assess PV-ir neurons demonstrated a mild reduction following GAT1-SAP. The reduction of cholinergic neurons represented a loss of only 8%.

Thus, 192-IgG saporin and GAT1-SAP are the high selective immunotoxins for damage of GABAergic and cholinergic neurons of MS and NBM.

3.2. Immunohistochemical evaluation of modulation of cholinergic, GABAergic and glutamatergic activity in hippocampus and prefrontal cortex after immunotoxic damage of MS and NBM neurons

Methods: In immunohistochemical study were used specific antibodies: for immunostaining of AChE-sensitive neurons - [AChE (H-134); Rabbit polyclonal antibody]; for immunostaining of GABA_A receptors - [GABA_A R α 1-6 (H-300); Rabbit polyclonal antibody]; for immunostaining of glutamatergic receptors [GluR-1 (E-6); Mouse monoclonal antibody]. For its detection we used secondary antibodies (Rabbit specific secondary antibody/HRP) and ABC staining system.

Results: Immunohistochemical evaluation revealed that: injection of 192 IgG-saporin into the MS causes significant reduction of AChE-sensitive neurons in the hippocampus vs. control group (CA1 – $P < 0.01$, CA3 – $P < 0.01$) and vs. rats group with GAT1-SAP injection into MS (CA1 – $P < 0.01$, CA3 – $P < 0.01$); injection of 192 IgG-saporin into the NBM do not cause significant reduction of AChE-sensitive neurons in the hippocampus (CA1 – $P = 0.36$; CA3 – $P = 0.21$); injection of 192 IgG-saporin into the NBM 192 IgG-saporin causes significant reduction of AChE-sensitive neurons in the PFC ($P = 0.048$), and no significant reduction in MS ($P > 0.05$); injection of GAT1-SAP into MS and NBM reduction of AChE-sensitive neurons in the PFC not significant ($P > 0.05$); number of immunostained GABA_A receptors in hippocampal CA1 and CA3 fields do not changes in rats with selective damage MS and NBM cholinergic neurons ($P > 0.05$); number of immunostained GABA_A receptors in hippocampal CA1 and CA3 fields significantly reduced in rats with selective damage GABAergic neurons [Control/MS(GAT1-SAP): CA1 – $P < 0.001$, CA3 – $P < 0.01$; Control/NBM(GAT1-SAP): CA1 – $P < 0.05$, CA3 – $P < 0.05$]; injection of 192 IgG-saporin into the NBM do not cause significant reduction of number of immunostained GABA_A receptors in the PFC ($P > 0.05$), but injection of GAT1-SAP into the NBM reduction of number of immunostained GABA_A receptors in the PFC is significant ($P < 0.01$); injection of 192 IgG-saporin or GAT1-SAP into the NBM causes significant reduction of glutamatergic transmission in PFC ($P < 0.01$).

Thus, microinjection of 192-IgG saporin into MS modulates cholinergic transmission in the hippocampus - significantly reduces number of AChE-sensitive neurons; microinjection of 192-IgG saporin into the NBM modulates cholinergic transmission in the prefrontal cortex - significantly reduces number of AChE-sensitive neurons; microinjection of GAT1-SAP into MS and NBM do not reduce number of AChE-sensitive neurons in the hippocampus and prefrontal cortex; selective lesion of GABAergic neurons of MS and NBM modulates GABAergic transmission - significantly reduces number of GABA_A receptors immunostaining in the hippocampus; microinjection of 192-IgG saporin into the NBM do not modulates GABAergic transmission in prefrontal cortex; microinjection of GAT1-SAP into NBM modulates GABAergic transmission in prefrontal cortex - significantly reduces number of GABA_A receptors immunostaining in the prefrontal cortex; GABAergic and cholinergic projection neurons of NBM modulate glutamatergic transmission in PFC.

3.3. Spatial memory impairments following excitotoxic lesions of the basal forebrain noncholinergic neuronal ensembles.

The central aim of the present study was to investigate the modulation of spatial memory function by the noncholinergic cells of the MS and NBM using the neurotoxin ibotenic acid (IBO). The effects of IBO lesions of these nuclei were compared in the water maze task taxing different strategy of spatial memory function. The animals were randomly assigned to MS ($n = 12$) and NBM ($n = 12$) IBO lesioned and MS ($n = 6$) and NBM ($n = 6$) sham-lesioned groups.

Results: The MS and NBM lesioned rats as control rats rapidly learned to escape to the visible platform and reached the 6-7 s asymptote on day 2. For training trials, a two way ANOVA [group X testing condition (visible/unvisible platform)] indicated statistically significant effect of group ($F(2, 323) = 4.418$; $P = 0.013$) and testing condition ($F(1, 323) = 21.879$; $P < 0,001$) and there is a statistically significant interaction between group and testing condition ($F(2, 323) = 5.372$; $P = 0.005$). The effect of different group depends on what testing condition is present. There is a statistically significant interaction between group and testing condition ($P = 0.005$). Post Hoc analysis (Tukey Test) showed no significant difference between groups ($P > 0.05$) in visible platform trials and significant difference between NBM and control ($P < 0.001$), also between MS and control ($P = 0.044$) groups in hidden platform trials. The rats' responses on the competition test were classified as either cue or place, based on the swim path for those trials. On the first competition trial, a greater number of control and MS lesioned rats used a place strategy compared with NBM lesioned rats. There was no difference in strategy between control and MS lesioned groups ($t_d = 1.09$, $P > 0.1$). The increased cue-bias in NBM lesioned rats compared with control and MS lesioned rats was significant ($t_d = 2.8$, $P < 0.01$; $t_d = 2.16$, $P < 0.05$, respectively). On the second

trial, the majority of MS and NBM lesioned rats used a cue strategy. There was no difference in strategy between lesioned groups ($t_d = 1.2$, $P > 0.1$). The majority of the control animals used a place strategy. There was significant difference in strategy between control and lesioned groups (contr/MS: $t_d = 2.5$, $P < 0.02$; contr/NBM: $t_d = 2.16$, $P < 0.05$). An overview of the data from both competition trials for each group show that the sham-operated rats in 24 trials out of 20 competition test trial used place strategy, while MS-lesioned ones used this strategy in 11 trials and NBM lesioned in 6 trials only. Decreased place-bias in MS and NBM lesioned rats compared to the sham-operated rats was significant (contr/MS: $t_d = 2.5$, $P < 0.02$; contr/NBM: $t_d = 2.16$, $P < 0.05$). Interestingly, although more rats from all groups used a cue strategy on the second trial, four rats that had used a cue strategy on the first trial of the competition test exhibited a place strategy. These data indicate although the first trial may have influenced overall performance on the second competition trial, information regarding the old platform location was still being accessed by a subset of rats on the second trial. The information obtained from a discrete trial such as the competition test, is limited; therefore, we also analyzed the rats' performance by combining data across the two competition trials. Rats were designated as 'place responder', if they swam within 10 cm of the previous platform location on two competition trial or as 'cue responders', if they swam toward visible platform location across both trials of the competition test. Rats were designated as 'cue/place responder', if they exhibited different strategy in two competition trials. Using these criteria, majority (75%) of the control rats were classified as 'place responders' and majority (75%) of the MS-lesioned rats were classified as 'cue/place responder'. The NBM-lesioned rats were classified as 'cue/place responder' (50%) or as 'cue responder' (50%). Decreased place-bias in MS and NBM lesioned rats compared to the sham-operated rats was significant ($P < 0.05$).

Thus, the present results demonstrate that MS and NBM noncholinergic neurons are essential for the choice or expression of a place response, even in situations in which an alternative (i.e. cue) strategy could be used to solve the task successfully and suggest a role of BF noncholinergic neurons in processing information about the spatial environment.

3.4. Spatial memory impairments following immunotoxic lesion of GABAergic and cholinergic neurons of the Nucleus Basalis Magnocellularis.

The central aim of the present study was to investigate the modulation of spatial memory function by the cholinergic and GABAergic cells of the NBM using immunotoxins 192-IgG saporin and GAT1-SAP. In current study rats were trained in a visible platform version of the Morris water maze in which either a place or cue strategy could be used to escape successfully. Groups: NBM-GAT1-SAP ($n = 12$), NBM-SAP ($n = 12$), Control ($n = 12$).

Results: The NBM lesioned rats as control rats rapidly learned to escape to the visible platform and reached the 6-7 s asymptote on day 2. For training trials, a two way ANOVA [group x testing condition (visible/invisible platform)] indicated statistically significant effect of group ($F(2,323) = 5.129$; $P = 0.006$) and testing condition ($F(1,323) = 20.936$; $P < 0.001$) and there is a statistically significant interaction between group and testing condition ($F(2,323) = 5.058$; $P = 0.007$). The effect of different group depends on what testing condition is present. Post Hoc analysis (Tukey Test) showed no significant difference between groups ($P > 0.05$) in visible platform trials and significant difference between NBM(SAP) and control ($P < 0.002$) groups and between NBM(GAT) and control ($P < 0.003$) groups in hidden platform trials. Post Hoc analysis showed no significant difference between NBM(SAP) and NBM(GAT) ($P = 0.988$) groups.

The rats' responses on the competition test were classified as either cue or place, based on the swim path for those trials. On the first competition trial, a greater number of control rats used a place strategy compared with NBM lesioned rats. The increased cue-bias in NBM lesioned rats compared with control rats was significant [NBM(SAP)/control: $t_d = 2.6$; $P < 0.01$; NBM(GAT)/control: $t_d = 2.8$; $P < 0.01$]. On the second trial, the majority of NBM lesioned rats used a cue strategy and the control animals used a place strategy. There was significant difference in strategy between control and lesioned group

[NBM(SAP)/control: $t_d = 2.7$, $P < 0.05$; NBM(GAT)/control: $t_d = 2.5$, $P < 0.02$]. Decreased place-bias in NBM lesioned rats compared to the sham-operated rats was significant ($P < 0.05$).

We also analyzed the rats' performance by combining data across the two competition trials: control rats are 'place responders', but NBM lesioned rats are 'cue responders' or 'cue/place responders'. Decreased place-bias in NBM lesioned rats compared to the control rats was significant ($P < 0.05$).

Thus, these findings suggest that damage of NBM GABAergic as well as cholinergic neurons modulate function of the PFC and impair spatial declarative memory.

3.5. Effects of selective cholinergic and GABAergic lesions of the MS and NBM on place or response learning in plus-shaped maze.

In the present study we evaluated effects of selective cholinergic or GABAergic lesions of MS and NBM using immunotoxins 192 IgG-saporin and GAT1-SAP on place and response learning in plus-shaped maze. In present behavioral paradigm rats learned food-rewarded mazes that were efficiently learned using either place or turning strategies. The animals were randomly assigned to sham-lesioned (control group; $n = 16$), NBM 192 IgG-saporin lesioned ($n = 16$), NBM GAT1-SAP lesioned ($n = 16$) MS 192 IgG-saporin lesioned ($n = 16$) and MS GAT1-SAP lesioned ($n = 16$) groups.

Results: The NBM lesioned groups of rats trained in each task showed significant learning during the 90 trials. However, rats learned the response version of the maze significantly more quickly than they learned the place version. The one way ANOVA showed significant effect of group ($F(1,47) = 16.397$, $P < 0.001$). The one way ANOVA showed significant difference between groups in number of trials to criterion during place ($F(2,23) = 54.41$, $P < 0.001$) and response ($F(2,23) = 65.05$, $P < 0.001$) training. The GAT1-SAP injected rats reached the criterion of 9/10 correct in means (+SEM) of 34.6 ± 1.19 trials in the response version and 52.6 ± 2.4 trials in the place version of the maze (t -test, $P < 0.001$). The 192 IgG-saporin injected rats reached the criterion of 9/10 correct in means (+SEM) of 43.88 ± 1.19 trials in the response version and 61.5 ± 2.08 trials in the place version of the maze (t -test, $P < 0.001$).

The MS lesioned groups of rats learned the response version of the maze significantly more quickly than they learned the place version. The one way ANOVA showed significant effect of group ($F(1,47) = 71.564$, $P < 0.001$). The one way ANOVA showed significant difference between groups in number of trials to criterion during place ($F(2,23) = 90.272$, $P < 0.001$) and no significant difference between groups in number of trials to criterion in response training ($F(2,23) = 2.993$, $P = 0.073$). The GAT1-SAP injected rats reached the criterion of 9/10 correct in means (+SEM) of 23.37 ± 2.6 trials in the response version and 58.5 ± 5.4 trials in the place version of the maze (t -test, $P < 0.001$). The 192 IgG-saporin injected rats reached the criterion of 9/10 correct in means (+SEM) of 18.25 ± 1.77 trials in the response version and 65.37 ± 3.54 trials in the place version of the maze (t -test, $P < 0.001$). Interesting to note, that the into the MS 192 IgG-saporin injected rats learned the response version of the maze significantly more quickly than control rats (t -test, $P < 0.05$).

Thus, selective lesions of cholinergic or GABAergic neurons in the NBM or MS impair place learning. Selective lesions of cholinergic or GABAergic neurons in the NBM impair both place and response learning. We suggested that lesions of NBM projections to the cortex modulate learning-mediated plasticity and impair both place and response learning.

3.6. Study of effects of pretraining treatment with neurotransmitters agonists/antagonist on memory and learning process in MS or NBM lesioned, shamoperated and intact rats

In the present study (I series) we evaluated effects of microinjection of GABA_A receptors agonist – muscimol (0.15 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ in 1min) in MS and Hippocampus on place learning in plus-shaped maze. We also evaluated possible memory enhancing effect of injection of physostigmine (phys) – AChE inhibitor (10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ in 1 min) into the hippocampus. In GAT1-SAP NBM lesioned rats (II series) we evaluated effects of

microinjection of muscimol (0.25 µg/µl or 0.1 µg/µl) into the PFC on place learning in plus-shaped maze. MS experimental groups: MS(sham), MS(mus), Hipp(mus), MS(sham) + Hipp(sham), MS(mus) + Hipp(sham), MS(sham) + Hipp(phys), MS(mus) + Hipp(phys). NBM experimental groups: NBM(sham), NBM(GAT), NBM(GAT) + PFC(mus,0.25), NBM(GAT)+PFC(mus,0.1), NBM(GAT)+PFC(sham).

Results: In MS(sham), MS(mus) and Hipp(mus) groups the one way ANOVA showed significant effect of group [$F(2,23) = 65.2$; $P < 0.001$]. Post hoc (Tukey Test) analysis showed that injection of muscimol into MS or Hippocampus impairs place learning ($P < 0.001$, vs. control rats). The sham lesioned rats reached the criterion of 9/10 correct in means (+SEM) of 35 ± 4 trials in the place version, into the MS muscimol injected rats in means (+SEM) of 53 ± 5 trials and into the Hipp muscimol injected rats in means (+SEM) of 60 ± 5 trials.

In MS(sham) + Hipp(sham), MS(mus) + Hipp(sham), MS(sham) + Hipp(phys) and MS(mus) + Hipp(phys) the one way ANOVA showed significant effect of group [$F(3,31) = 72.941$; $P < 0.001$]. Post hoc (Tukey Test) analysis showed that injection of the physostigmine into the hippocampus after injection of muscimol into the MS improves place learning compared with PBS injected rats. In NBM(sham), NBM(GAT), NBM(GAT) + PFC(mus,0.25), NBM(GAT)+PFC(mus,0.1) and NBM(GAT)+PFC(sham) groups the one way ANOVA showed significant effect of group [$F(4,39) = 98.731$; $P < 0.001$]. Post hoc (Tukey Test) analysis showed that injection of GAT1-SAP into the NBM significantly impairs place learning in compare control group ($P < 0.001$): rats of NBM(GAT) group reached the criterion in means (+SEM) of 34 ± 3 trials. In rats with selective damage GABAergic NBM neurons injection of muscimol at dose 0.25 µg/µl reached the criterion more quickly (42 ± 3 , $P < 0.01$), than at dose 0.1 µg/µl (55 ± 5 ; $P < 0.03$) or after injections of PBS into the PFC (61 ± 5 ; $P < 0.001$).

Thus, injection of GABA_A receptor agonist – muscimol in the MS or in hippocampus impairs place learning; injection of AChE inhibitor – physostigmine into the hippocampus corrects this deficit; in NBM lesioned rats injection of muscimol in the PFC at dose, that causes changes in animals explorative behaviour, improves place learning; NBM is important for both - attentional and cognitive functions.

Conclusions:

1. Cholinergic projection neurons of MS modulate cholinergic transmission in hippocampus: selective damage of cholinergic MS neurons significantly reduces number of AChE-sensitive neurons in the hippocampus.
2. GABAergic projection neurons of MS modulate GABAergic transmission in hippocampus: selective damage of GABAergic MS neurons significantly reduces GABA_A receptors immunostaining in hippocampus.
3. Cholinergic projection neurons of NBM modulate cholinergic transmission in PFC: selective damage of cholinergic NBM neurons significantly reduces number of AChE-sensitive neurons in PFC.
4. GABAergic projection neurons of NBM modulate GABAergic transmission in PFC and hippocampus: selective damage of GABAergic NBM neurons significantly reduces GABA_A receptors immunostaining in PFC and hippocampus.
5. GABAergic and cholinergic projection neurons of NBM modulate glutamatergic transmission in PFC: selective damage of GABAergic or cholinergic NBM neurons significantly reduces GluR-1 receptors immunostaining in PFC.
6. Damage of NBM and MS projection neurons modulates function of target sites – PFC and hippocampus, respectively, and causes deficit in hippocampus dependent spatial declarative memory.
7. Damage of NBM projection neurons modulates function of PFC and causes deficit in both - hippocampus dependent spatial learning and striatum dependent response learning.
8. Selective damage of cholinergic MS projection neurons to hippocampus facilitates striatum dependent response learning.
9. MS – hippocampal interaction is substantial for spatial memory and this system plays important role in cognitive types of declarative memory.
10. There is a functional dissociation between septohippocampal and basolcortical cholinergic systems in aspects of cognitive function - a septohippocampal component of BF plays an important role in spatial memory and a basolcortical component of BF in place learning and attention.

11. NBM - PFC circuit plays an important role in fundamental cognitive processes, such as hippocampus dependent spatial memory and attention.

In conclusion, the current findings prompt new approaches to the understanding of the complex interactions between cholinergic and GABAergic systems underlying memory function. Our evaluation of hippocampal and PFC neurotransmitters activity with association of memory loss after BF lesions may lead to new strategies for memory improvement. These results also provide further insights for a better understanding of the fundamental neurobiology of memory.

The list of papers published by the author on the theme of dissertation:

Articles:

- Temur Naneishvili, **Maia Demurishvili**, Maia Burjanadze, Manana Dashniani, Nino Chkhikvishvili, Gela Beselia, Lali Kruashvili, Nino Pochkhidze. Spatial memory impairments following immunotoxic lesion of GABAergic neurons of the Nucleus Basalis Magnocellularis. Bulletin of the Georgian National Academy of Science, 2017, 11(1).
- Kruashvili L., **Demurishvili M.**, Burjanadze M., Beselia G. Effects of selective cholinergic and GABAergic lesions of the Nucleus Basalis Magnocellularis on place or response learning in plus-shaped maze. Georgian Medical News, 2016 Georgian Medical News, 2016, 10 (259), 77-83.
- Manana Dashniani, Maia Burjanadze, **Maia Demurishvili**, Nino Chkhikvishvili, Gela Beselia, Lali Kruashvili, Nino Pochkhidze, Temur Naneishvili, Khatuna Rusadze. Spatial memory impairments following excitotoxic lesions of the basal forebrain noncholinergic neuronal ensembles. Nova science publishers, New York, USA, (13-29), 2015.

Abstracts:

- L. Kruashvili, M. Burjanadze, **M. Demurishvili**, S. Mataradze. Spatial memory impairments following immunotoxic lesion of GABAergic neurons of the forebrain. International Conference on Life Science & Biological Engineering. Kyoto, Japan, 22-24 November, 2016.
- L. Kruashvili, M. Burjanadze, **M. Demurishvili**, K. Rusadze. Spatial memory impairments following excitotoxic lesions of the basal forebrain noncholinergic neuronal ensembles. 29th ECNP Congress, Vienna, Austria, 17-20 September, 2016.
- S. Mataradze, T. Naneishvili, **M. Demurishvili**, Kh. Rusadze, M. Burjanadze, T. Kherkheulidze. Study of selective and conjoint immunolesions of septohippocampal projections on spatial memory function. 7th International Regional ISBS Neuroscience and Biological Psychiatry Conference „Stress and Behavior”, Miami Beach, FL, USA, 22-24 June, 2016.
- S. Mataradze, T. Naneishvili, **M. Demurishvili**, M. Chigladze, Kh. Rusadze. Study of selective immunolesions of medial septal cholinergic and GABA-ergic neurons on hippocampal dependent memory and learning process. 9th FENS forum of neuroscience, Milan, Italy, 5-9 July, 2014.
- M. Chigladze, L. Kruashvili, **M. Demurishvili**, N. Chkhikvishvili, T. Naneishvili. Learning strategy selection in the water maze in medial septal lesioned rats. „Actual Problems of Physiology and Biomedicine”, XII National scientific conference. Kutaisi, Georgia, 25-27 September, 2014.
- 2015-2016 – 3 Colloquiums.