



აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

ხათუნა რუსაძე

**მეხსიერებისა და ჰიპოკამპის ქოლინერგული
ტრანსმისიის
მოდულაცია სეპტოჰიპოკამპური პროექციებით**

ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი
დისერტაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:
თემურ ნანეიშვილი
ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,
აკადემიკოსი,
საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული
აკადემიის ვიცე-პრეზიდენტი

თანახელმძღვანელი:
რენიკო საკანდელიძე
ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,
აკაკი წერეთლის სახელმწიფო
უნივერსიტეტის პროფესორი

ქუთაისი
2016

სარჩევი

შესავალი	4
ძირითადი შინაარსი	10
თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა	10
1.1. სეპტოჰიპოკამპური სისტემის ანატომიური ორგანიზაცია	10
1.2. ქოლინერგული სისტემა	15
1.3. ჰიპოკამპის ქოლინერგული აქტიურობის როლი მეხსიერების პროცესებში	22
1.4. ალცჰეიმერის დაავადება - პათოგენები და მოდელები	28
თავი 2. ექსპერიმენტის მეთოდოლოგია (ზოგადი ნაწილი)	36
2.1. მასალა	36
2.2. ნეიროქირურგიული ოპერაციები	36
2.3. ჰისტოლოგია	37
2.4. ელექტროფორეზი და იმუნობლოტინგი (Western blotting)	38
2.5. სტატისტიკური ანალიზი.	39
თავი 3. მიღებული შედეგები	40
3.1. სეპტოჰიპოკამპური პროექციების სელექტიური და არასელექტიური დაზიანების ეფექტები ჰიპოკამპის ქოლინერგულ აქტიურობასა და მეხსიერებაზე	40
3.1.1. სეპტოჰიპოკამპური პროექციების სელექტიური და არასელექტიური დაზიანების ეფექტები ჰიპოკამპის ქოლინერგული რეცეპტორების ექსპრესიაზე	40
3.1.1.1. მეთოდები	41
3.1.1.2. მიღებული შედეგები	41
3.1.2. მედიალური სეპტუმის ელექტროლიზური და იმუნოტოქსინებით დაზიანების ეფექტები სივრცით ხანგრძლივ მეხსიერებაზე	51

3.1.2.1. მეთოდები	51
3.1.2.2. მიღებული შედეგები	54
3.1.3. მედიალური სეპტუმის ელექტროლიზური და იმუნოტოქსინებით დაზიანების ეფექტები სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებაზე	58
3.1.3.1 მეთოდები	58
3.1.3.2. მიღებული შედეგები	59
3.2. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები მეხსიერების სხვადასხვა ფორმაზე მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული და GABA-ერგული პროექციების თანადროული დაზიანების პირობებში	62
3.2.1. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები ხანგრძლივ სივრცით მეხსიერებაზე მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული და GABA-ერგული პროექციების თანადროული დაზიანების პირობებში	63
3.2.1.1. მეთოდები	63
3.2.1.2. შედეგები	63
3.2.2. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები ხანმოკლე სივრცით მეხსიერებაზე მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული და GABA-ერგული პროექციების თანადროული დაზიანების პირობებში	68
3.2.2.1. მეთოდები	68
3.2.2.2. მიღებული შედეგები	68
მიღებული შედეგების განხილვა	72
დასკვნები და ძირითადი მეცნიერული მიღწევები	86
გამოყენებული ლიტერატურა	88

შესავალი

პრობლემის აქტუალობა

ჰიპოკამპი და მედიალური სეპტუმი (medial septum-MS) ერთმანეთს უკავშირდება ფიზრია-ფორნიქსის სისტემაში გამავალი ბოჭკოებით და ფუნქციურ სისტემას ქმნიან, რომელსაც ერთიანობაში მოიხსენიებენ როგორც სეპტოჰიპოკამპურ სისტემას. ცნობილია, რომ სეპტოჰიპოკამპური პროექციები მოიცავს ქოლინერგულ და GABA-ერგულ კომპონენტებს. ახალი ელექტროფიზიოლოგიური და ანატომიური შრომებით გამოვლენილია MS-ის გლუტამატერგული ნეირონები, რომლებიც ჰიპოკამპზე პროეცირდება. დეკლარატიული მეხსიერების პროცესებში ჰიპოკამპის მნიშვნელობის გათვალისწინებით და MS-დან მძლავრი შესავალის არსებობის გამო, ვარაუდობენ, რომ სეპტოჰიპოკამპური პროექციები ჰიპოკამპის ნერვულ ქსელებში მიმდინარე პროცესების მოდულაციის გზით მნიშვნელოვან როლს ასრულებს მეხსიერების პროცესებში. SH პროექციების მეხსიერების პროცესებში მონაწილეობა მრავალრიცხოვანი ექსპერიმენტული მონაცემებით დასტურდება.

ტრადიციულად, ბაზალური წინატვინის ფუნქციების დიდ ნაწილს მის ქოლინერგულ ნეირონებს უკავშირებენ. თუმცა არსებობს კვლევები რომლებშიც ნაჩვენებია, რომ ქოლინერგული ბირთვების დაზიანებისას ქცევითი დეფიციტი არ უკავშირდება მხოლოდ ქოლინერგული ნეირონების დაზიანებას. 192-IgG საპორინით MS-ის ქოლინერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანებით აღწერილია, როგორც მეხსიერების დარღვევა, ასევე ამ ფუნქციის შენარჩუნება. MS-ის არაქოლინერგული ნეირონების უმრავლესობა GABA-ერგულია. რაც შეეხება მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებში GABA-ერგული სეპტოჰიპოკამპური პროექციების მნიშვნელობას, ეს საკითხი არ არის სათანადოდ შესწავლილი. თუმცა, ახალი იმუნოტოქსინი GAT1-SAP, რომელიც GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურ დაზიანებას იწვევს, აღნიშნული საკითხის კვლევის ახალ პერსპექტივას ქმნის.

MS-ის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების დაზიანებამ შესაძლებელია გამოიწვიოს ჰიპოკამპში ნეიროტრანსმიტერების და მათი რეცეპტორების აქტიურობის ცვლილებები. სეპტოჰიპოკამპური ქოლინერგული და GABA-ერგული პროექციების მამოდულირებელი როლის კვლევა ჰიპოკამპის კომპლექსურ სინაპსურ მექანიზმებსა და ნერვულ წრეებში, რომლის სრულყოფილი

შეცნობისათვის საჭიროა დეტალური და მულტიდისციპლინური კვლევა, შესაძლოა წარმოადგენდეს საკვანძო საკითხს მეხსიერების პროცესების ფუნდამენტური მექანიზმების და მეხსიერების დარღვევებში სეპტოჰიპოკამპური პროექციების მნიშვნელობის გარკვევისათვის.

ჰიპოკამპის შიგა წრეებში აცეტილქოლინის გამოთავისუფლება იწვევს როგორც მუსკარინული (mAChRs), ასევე ნიკოტინური (nAChRs) ქოლინერგული რეცეპტორების აქტივაციას, რაც განაპირობებს უჯრედის აგზნებადობასა და სინაპსური ტრანსმისიის მოდულაციას. რეცეპტორთა ეს ორი ტიპი განსხვავებულად არის წარმოდგენილი ჰიპოკამპში და სხვადასხვა ფუნქციებში არის ჩართული. ქოლინერგულ რეცეპტორთა ქვეტიპების ფართო სპექტრი, მათი ლოკალიზაცია პრე- და პოსტსინაპსურ უბნებში როგორც ამაგზნებელ, ასევე შემაკავებელ ნეირონებზე, საშუალებას აძლევს სეპტოჰიპოკამპურ საპროექციო ნეირონებს მოახდინონ ჰიპოკამპის აქტიურობის მოდულაცია უჯრედულ, სინაპსურ და ნეირონული ქსელების დონეზე. სეპტოჰიპოკამპური პროექციების მნიშვნელობა ჰიპოკამპის ქოლინერგული ტრანსმისიის მოდულაციაში არ არის სათანადოდ შესწავლილი, ხოლო არსებული მონაცემები ხშირ შემთხვევაში ურთიერთსაწინააღმდეგოა.

წარმოდგენილი ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა სეპტოჰიპოკამპური ქოლინერგული და GABA-ერგული პროექციების მნიშვნელობის კვლევა მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებში. სეპტოჰიპოკამპური პროექციების ჩართულობა მეხსიერების მოდულაციაში, შეისწავლებოდა მეხსიერების სხვადასხვა ფორმასა და ჰიპოკამპში ქოლინერგული რეცეპტორების ექსპრესიაზე MS-ის ელექტროლიზური, ასევე ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების იმუნოტოქსინით სელექტიურად დაზიანების ეფექტების შედარების საფუძველზე. მულტიდისციპლინური კვლევა ქცევით და მოლეკულურ დონეზე ქმნის წინაპირობას ჰიპოკამპში ქერქვეშა შესავლის ფუნქციის შესახებ ახალი ინფორმაციის მიღებისათვის, გვაძლევს შესაძლებლობას გამოვლინდეს კაუზალური კავშირები სეპტოჰიპოკამპურ სისტემას, ჰიპოკამპის შიგა ნერვული ქსელების ფუნქციასა და მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებს შორის.

კვლევის მიზნები და ამოცანები

მეხსიერების სხვადასხვა ფორმისა და დასწავლის პროცესის მიმდინარეობის, ასევე, იმუნოქიმიური მეთოდით ქოლინერგული ($\alpha 7$ nACh, M_1 mACh) რეცეპტორების ექსპრესიის შესწავლა MS-ის ელექტროლიზური დაზიანების და იმუნოტოქსინებით (192-IgG საპორინი, GAT1-SAP) ქოლინერგული ან/და GABA-ერგული ნეირონების სელექტიურად დაზიანების მქონე ვირთაგვებში. ანტიდემენციური პრეპარატის – მემანტინით ზემოქმედების ეფექტების შეფასება MS-ის დაზიანების მქონე ცხოველებში.

ამოცანები:

- მეხსიერების სხვადასხვა ფორმის და დასწავლის პროცესის შესწავლა MS-ის დაზიანების (ელექტროლიზური, ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების იმუნოტოქსინით) მქონე და ცრუოპერირებულ ვირთაგვებში.
- ქოლინერგული ($\alpha 7$ nACh და M_1) რეცეპტორების ექსპრესიის იმუნოციტოქიმიური განსაზღვრა MS-ის დაზიანების (ელექტროლიზური, ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების იმუნოტოქსინით) მქონე და ცრუოპერირებულ ვირთაგვებში.
- მეხსიერების სხვადასხვა ფორმის და დასწავლის პროცესის შესწავლა MS-ის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების იმუნოტოქსინებით თანადროული დაზიანების მქონე და ცრუოპერირებულ ვირთაგვებში.
- მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესების შესწავლა MS-ის დაზიანების მქონე ცხოველებში ქცევით ამოცანებში ტრენირებამდე ანტიდემენციური პრეპარატით – მემანტინით ზემოქმედების პირობებში.

ნაშრომის სამეცნიერო სიახლე

პირველად არის გამოვლენილი, რომ მედიალური სეპტუმის არასელექტიური ან იმუნოტოქსინით GABA-ერგული ნეირონების დაზიანება, ქოლინერგული ნეირონების დაზიანებისაგან განსხვავებით, იწვევს ჰიპოკამპში $\alpha 7$ nACh რეცეპტორების ექსპრესიის შემცირებას.

გამოვლენილია სეპტოჰიპოკამპური პროექციების ქოლინერგულ და GABA-ერგული შემადგენელს შორის ფუნქციათა დისოციაცია სივრცითი მეხსიერების პროცესებში და ამ პროცესებში მედიალური სეპტუმის GABA-ერგული ნეირონების ჩართულობა.

გამოვლენილია კორელაცია მედიალური სეპტუმის დაზიანებით გამოწვეულ მეხსიერების დაღვევასა და ჰიპოკამპში α -7 nACh რეცეპტორების ექსპრესიის ცვლილებებს შორის.

გამოვლენილია, რომ მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული ან GABA-ერგული ნეირონების თანადროული დაზიანება, ამ პროექციების სელექტიური დაზიანებისაგან განსხვავებით, იწვევს სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერების დეფიციტს.

გამოვლენილია, რომ მემანტინის თერაპიული დოზის რელევანტური დოზით ქრონიკული ზემოქმედება იწვევს სივრცითი მეხსიერების დეფიციტის პრევენციას მედიალური სეპტუმის დაზიანებისას.

პრაქტიკული მნიშვნელობა

მულტიდისციპლინური კვლევა ქცევით და მოლეკულურ დონეზე ქმნის წინაპირობას ჰიპოკამპში ქერქვეშა შესავლის ფუნქციის შესახებ ახალი ინფორმაციის მიღებისათვის და გვაძლევს შესაძლებლობას გამოვლინდეს კაუზალური კავშირები სეპტოჰიპოკამპურ სისტემას, ჰიპოკამპის შიგა ნერვული ქსელების ფუნქციასა და მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებს შორის. მეხსიერებაზე სეპტოჰიპოკამპური სისტემის მამოძლიარებელი მექანიზმების შეცნობა, ასევე მეხსიერების იმ ასპექტების განსაზღვრა, რომლისთვისაც მნიშვნელოვანია ეს სისტემა ხელს შეუწყობს მეხსიერების ფუნდამენტური ნეირობიოლოგიური მექანიზმების შეცნობას და ნეიროდეგენერაციული დაავადების მქონე პაციენტებში მეხსიერების გაუმჯობესებისათვის ახალი სტრატეგიების განსაზღვრას.

დისერტაციის მოკლე შინაარსი:

დისერტაცია მოიცავს საკვლევ პრობლემის შესახებ არსებული ლიტერატურის მიმოხილვას, ექსპერიმენტებში გამოყენებული მეთოდების აღწერას, მიღებულ შედეგებს, მათ განხილვას და დასკვნებს, რომელთა ჩამოყალიბება შესაძლებელი გახდა ჩატარებული კვლევის შედეგად .

ნაშრომის აპრობაცია

ნაშრომში მოყვანილი ძირითადი შედეგები მოხსენებულ იქნა სხვადასხვა საერთაშორისო სამეცნიერო ფორუმზე და სასწავლო პროგრამით გათვალისწინებულ კოლოქვიუმებზე.

სამეცნიერო ფორუმებზე მონაწილეობა:

- XII National Scientific Conference of Georgia "Actual Problems of Physiology and Biomedicine" Spatial short-term memory and modulation of NMDA receptor subunit expression in medial septal immunolesioned rats. Kutaisi, Georgia 2014
- 9th Fens Forum of Neuroscience "Study of selective immunolesions of medial septal cholinergic and GABA-ergic neurons on hippocampal dependent memory and learning process" Milan, Italy 2014
- საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემია, ახალგაზრდა მეცნიერთა კონფერენცია „სეპტოჰიპოკამპური პროექციებით სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერების და ჰიპოკამპში NMDA რეცეპტორების ექსპრესიის მოდულაცია“ თბილისი, საქართველო 2015
- ბიოლოგიისა და მედიცინის აქტუალური საკითხები „მედიალური სეპტუმის ნეირონების სელექტიური და არასელექტიური დაზიანების ეფექტები დასწავლის სტრატეგიის არჩევაზე მორისის წყლის ავზის პირობებში“ თელავი, საქართველო 2015
- საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემია, ახალგაზრდა მეცნიერთა კონფერენცია „მედიალური სეპტუმის ელექტროლიზური და იმუნოტოქსინებით დაზიანების ეფექტები სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებაზე ვირთაგვებში“ ბაკურიანი, საქართველო 2016
- 29th ECNP Congress of Applied and Translational Neuroscience. Spatial memory impairments following excitotoxic lesions of the basal forebrain noncholinergic neuronal ensembles. Vienna, Austria 2016
- 29th ECNP Congress of Applied and Translational Neuroscience. Chronic memantine treatment prevents short-term memory impairment caused by conjoint immunolesions of GABAergic and cholinergic medial septal neurons in rats. Vienna, Austria 2016

პუბლიკაციები

დისერტაციაში მიღებული ძირითადი შედეგები გამოქვეყნებულია 3 სამეცნიერო ნაშრომში.

- Dashniani M., Kruashvili L ., Rusadze Kh., Mataradze S., Beselia G. Effects of immunotoxic and electrolytic lesions of medial septal area on spatial short-term memory in rats. Georg. Med. News. N2 (239) Georgia, 2015;
- Burjanadze M., Mataradze S., Rusadze Kh., Chckikvishvili N., Dashniani M. Selective lesion of GABA-ergic neurons in the medial septum by GAT1-saporin impairs spatial learning in a water-maze. Georg. Med. News. N3 (240) Georgia, 2015;
- 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” Bulletin of Georgian national academy of science. vol.10, no.2, 2016;

დისერტაციის სრული მოცულობა შეადგენს 105 გვერდს, და მოიცავს 17 სურათს, 2 ცხრილს და 188 დასახელების ციტირებული ლიტერატურის სიას.

ნაშრომის ძირითადი შინაარსი

თავი I. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. სექტოპიპოკამპური სისტემის ანატომიური ორგანიზაცია

ნეირომოდულაცია წარმოადგენს რთული ნერვული სისტემების იმ მახასიათებელს, რომელიც სავარაუდოდ, მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ქცევის ორგანიზებაში, აძლევს რა საშუალებას განსაზღვრულ ნეირონულ ქსელს ისე შეიცვალოს, რომ შესაძლებელი გახადოს გარეშე გამლიზიანებლებზე სწრაფი ადაპტაცია (Katz, 2011; Marder, 2012).

ნეირომოდულაცია მიიღწევა ცენტრალური მოდულატორების ორგანიზებული მოქმედებით; აცეტილქოლინი, სეროტონინი, დოფამინი, ნორეპინეფრინი და აგრეთვე, სხვა მრავალი ნეიროპეპტიდი გამოთავისუფლდებიან სპეციფიკურ სტიმულთა საპასუხოდ და ინფორმაციის ცენტრალურ დამუშავებაზე ხანგრძლივი და ხშირად, დიფუზური ეფექტები აქვთ.

მიიჩნევენ, რომ სექტოპიპოკამპური ქოლინერგული პროექციები მედიალური სექტუმიდან ჰიპოკამპისკენ, კოგნიტიურ ფუნქციებში მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ სწორედ ჰიპოკამპის შიგა წრეების მახასიათებლების მოდულაციით. თუმცა, აცეტილქოლინის ჰიპოკამპში გამოთავისუფლების ზუსტი სივრცითი და დროითი პროფილი ჯერ-ჯერობით დაუდგენელია, რაც ჰიპოკამპდამოკიდებულ ქცევებში აცეტილქოლინის როლის განსაზღვრაში სირთულეებს ქმნის.

ნეირომოდულატორული სისტემების როლი უპირატესად, მათი პროექციების ანატომიით არის განსაზღვრული. სექტოპიპოკამპური პროექციები წარმოადგენენ ძირითად ქოლინერგულ ინერვაციას ჰიპოკამპისთვის (Dutar et al., 1995); მისი აფერენტული და ეფერენტული პროექციები ანატომიურად განსაზღვრულია და მათი უჯრედული სამიზნეებიც ასევე დეტალურად არის დახასიათებული. ვირთაგვებში სექტოპიპოკამპური სისტემა მოიცავს ჰიპოკამპურ ფორმაციას, სექტალურ მიდამოს, მათ ურთიერთდამაკავშირებელ ბოჭკოებს და ასევე, აფერენტულ და ეფერენტულ ბოჭკოებს, რომლებიც მათ აკავშირებს ტვინის სხვა

უბნებთან. სეპტუმი და ჰიპოკამპი ძირითადად, ერთმანეთს ფიმბრიისა და დორსალური ფორნიქსის კონით უკავშირდებიან.

ჰიპოკამპი. ტერმინი ჰიპოკამპური ფორმაცია გულისხმობს ექვს სუბრეგიონს: დაკბილული ხვეული, საკუთრივ ჰიპოკამპი, სუბიკულუმი, პრესუბიკულუმი, პარასუბიკულუმი და ენტორინალური ქერქი (Amaral and Witter, 1995). ხშირად, სიტყვა ჰიპოკამპის ქვეშ იგულისხმება სტრუქტურა, რომელიც მოიცავს საკუთრივ ჰიპოკამპს და დაკბილულ ხვეულს. ჰიპოკამპი C-ს მსგავსი ფორმის სტრუქტურაა, რომელსაც აქვს დამახასიათებელი შრეობრივი შენება: ადამიანებში განასხვავებენ ჰიპოკამპის ოთხ ველს: CA1, CA2, CA3 და CA4. აღნიშვნა CA - უკავშირდება ლათინურ - cornu ammonis, რაც ქართულად ნიშნავს „ამონის რქას“.

ინტრაჰიპოკამპური კავშირები ქმნიან ტრისინაპსურ რკალს, რომელიც შედგება დაკბილული ხვეულის, CA3 და CA1-ის უჯრედებისა და მათი დამაკავშირებელი ბოჭკოებისაგან (Amaral and Witter, 1995). რკალის პირველი სინაპსური კავშირი იქმნება ენტორინალურ ქერქსა და დაკბილულ ხვეულს შორის. ენტორინალური ქერქის სუპერფიციალური შრის უჯრედები (უპირატესად II შრე) თავის აქსონებს აგზავნიან დაკბილული ხვეულის მოლეკულურ შრეში და ქმნიან ჰიპოკამპის ძირითად გლუტამატერგულ შესავალს. ამ გზას უწოდებენ პერფორანტულ გზას. ამ აქსონების კოლატერალები ასევე, უკავშირდებიან CA3 ველის პირამიდულ ნეირონებს. მეორე სინაპსური კავშირი ფორმირდება დაკბილულ ხვეულსა და CA3 ველს შორის. დაკბილული ხვეულის მარცვლოვანი უჯრედების აქსონები აინერვირებენ CA3 ველის პირამიდული უჯრედების დენდრიტებს. ამ ინერვაციას ემახიან ხავსისებრ ბოჭკოებს (mossy fibers). ისევე, როგორც პერფორანტული გზა, ხავსისებრი ბოჭკოებიც კავშირებს სხვა უჯრედების პოპულაციებთან ქმნიან, მაგალითად, დაკბილული ხვეულის ხავსიან უჯრედებთან. ტრისინაპსური რკალის მესამე და ბოლო ეტაპს წარმოადგენს CA3 ველის პირამიდული უჯრედების აქსონების დაკავშირება CA1 ველის პირამიდულ უჯრედებთან *stratum radiatum*-ის და *stratum oriens*-ის შრეებში. ამ აქსონებს უწოდებენ შაფერის კოლატერალებს, რომლებიც თავის მხრივ, ქმნიან კავშირებს სხვა უჯრედულ პოპულაციებთან: ლატერალური სეპტუმის და მამილარული სხეულის უჯრედებთან. ეს აქსონები გაივლიან ფიმბრია/ფორნიქსის შემადგენლობაში. ამრიგად, აქ ტრისინაპსური რკალი

იკვრება, მაგრამ ინფორმაცია რომელიც მუშავდება რკალის ძირითად უჯრედებსა და ინტერნეირონებში, უკან პროეცირდება ენტორინალურ ქერქზე CA1 ველის უჯრედების აქსონებით - პირდაპირი გზით ან სუბიკულუმის გავლით. თუ კი უჯრედები, რომლებიც უკავშირდებიან ჰიპოკამპს ლოკალიზებულნი არიან ენტორინალური ქერქის სუპერფიციალურ შრეში, ჰიპოკამპიდან გამომავალი აქსონები პროეცირდებიან ენტორინალური ქერქის ღრმა შრეებში (Amaral and Witter, 1995). მიუხედავად იმისა, რომ ტრისინაპსური რკალი ჰიპოკამპის ძირითადი ქსელია, იგი მთლიანი შიგა წრეების მხოლოდ ნაწილია. მრავალი სხვა ქსელიც განსაზღვრავს ჰიპოკამპის ფუნქციას: მაგალითად, კავშირები ენტორინალური ქერქიდან CA1-სა და სუბიკულუმში, კავშირები ჰიპოკამპში კომისურების გავლით და ქერქქვეშა კავშირები ფიმბრია/ფორნიქსის გავლით - უმთავრესად სეპტუმიდან. სხვა კავშირები, რომლებიც გაივლიან ფიმბრია/ფორნიქსის გავლით არის: ნორადრენერგული პროექციები locus coeruleus-იდან, სეროტონინერგული პროექციები რაფეს ბირთვიდან, ჰისტამინერგული სუპრალამინარული ბირთვიდან და დოფამინერგული - ვენტრალური სახურავის მიდამოსა და შავი სუბსტანციიდან (Dutar et al., 1995); ეს პროექციები განაპირობებენ იშვიათ გააქტივებას, მაგრამ ჰიპოკამპის პირამიდული ნეირონების მასიურ შეკავებას. შესაბამისად, მხოლოდ მათი სინქრონული აქტიურობა იძლევა პირამიდული ნეირონების განმუხტვების საშუალებას (Freund and Gulyas, 1997).

სეპტუმი. მედიალური სეპტუმი, როგორც ტვინის ცალკე სრტუქტურა, ჯერ კიდევ II საუკუნეში აღწერა ბერძენმა ნეიროანატომმა გალენმა. იგი იყო განსაზღვრული, როგორც ლატერალური პარაკუჭების წინა რქებს შორის მოთავსებული უბანი (სეპტუმი — ლათინურად ნიშნავს ძგიდეს). მედიალური სეპტუმის ანატომიის დეტალური აღწერა 1901 წელს მოგვაწოდა კახალმა. იგი პირველი იყო, რომელმაც მედიალური სეპტუმი ბაზალურ განგლიებს მიაკუთვნა, მანამდე გავრცელებული მოსაზრების საპირისპიროდ, რომელიც მედიალურ სეპტუმს ქერქის ნაწილად განიხილავდა. თუმცა, ეს საკითხი დღესაც არ არის დაზუსტებული. ასევე, არ არის თანხმობა მედიალური სეპტუმის ზუსტ საზღვრებთან დაკავშირებით. თუმცა საყოველთაოდ არის აღიარებული, რომ მედიალური სეპტუმი „ძველ

(დიენცეფალონი) და ახალ (ტელენცეფალონი) ტვინს” შორის დამაკავშირებელ სტრუქტურას.

ჩვეულებრივ, მედიალურ სეპტუმს სამ ნაწილად ყოფენ: მედიალური/ბროკას დიაგონალური კონა, ლატერალური და უკანა ნაწილი. მედიალური/ბროკას დიაგონალური კონის შემადგენლობაში შედის მედიალური ბირთვი და ბროკას დიაგონალური კონის ბირთვი. მედიალურ ბირთვს და ბროკას დიაგონალური კონის ბირთვს ხშირად განიხილავენ, როგორც ცალ-ცალკე ბირთვებს, თუმცა ანატომიურად გამოკვეთილი საზღვარი მათ შორის არ არსებობს. სეპტუმის მედიალური ბირთვი შუამდებარე ტვინიდან წინა ტვინის სტრუქტურებისაკენ აღმავალ ინფორმაციას ატარებს, ხოლო ლატერალური სეპტუმი - დაღმავალ ინფორმაციას წინა ტვინიდან შუამდებარე ტვინისაკენ (Jakab and Leranthe, 1995).

მედიალურ სეპტუმსა და ჰიპოკამპს შორის კავშირი რეციპროკულია. მედიალური სეპტუმიდან ჰიპოკამპისაკენ ორი ტიპის აღმავალი კავშირი არსებობს: ქოლინერგული და GABA-ერგული. ჰიპოკამპის ქოლინერგული ინერვაციის 90% მედიალური სეპტუმიდან იწყება. ქოლინერგული შესავალი მოდულატორულ გავლენას ახდენს ჰიპოკამპის ძირითად უჯრედებსა და GABA-ერგულ ინტერნეირონებზე (Frotscher and Leranthe, 1985). GABA-ერგული პროექციები ბოლოვდება ჰიპოკამპის GABA-ერგულ ინტერნეირონებზე და პირამიდული უჯრედების მასიურ დისინჰიბიციას უზრუნველყოფს (Freund and Antal, 1988). GABA-ერგული (GABA-GABA-ზე) შესავალი, ისევე როგორც ქოლინერგული, მთლიანად ჰიპოკამპური ფორმაციის სინქრონულ აქტიურობას უზრუნველყოფს (Chrobak, 2000).

მედიალურ სეპტუმის და ჰიპოკამპის დამაკავშირებელი ბოჭკოები გაივლის თაღისა და ფოჩის სისტემაში, დორსალურ ფოჩში და სუპრაკალოზურ ზოლში (supracallosal striae). აღწერილია, ასევე, მეოთხე ვენტრალური გზა ნუმისებრი კომპლექსის გავლით (Milner and, Amaral, 1984). ეს კონები სხვა პროექციებსაც შეიცავენ, მაგალითად, ნორადრენერგულ და სეროტონინერგულ პროექციებს, რომლებიც მიემართებიან ტვინის ღეროდან ჰიპოკამპში.

სეპტოჰიპოკამპური პროექციების დახასიათება. სამიზნე უჯრედებთან სეპტოჰიპოკამპური ნეირონების სპეციფიკური ურთიერთობის ხარისხს მათი ნეიროტრანსმიტერული შემცველობა განსაზღვრავს. იმუნოჰისტოქიმიურად

განსაზღვრულია, რომ სეპტოჰიპოკამპური პროექციები არის ქოლინერგული, GABA-ერგული და გლუტამატერგული (Gritti et al., 2006; Lecourtier et al., 2011). ამასთან, ნაჩვენებია გლუტამატის თანადროული სინთეზი ქოლინერგულ და GABA-ერგულ ნეირონებში (Manns et al., 2001; Gritti et al., 2006). GABA-ერგული და ქოლინერგული ნეირონები თანაარსებობენ ბაზალური წინატვინის ფარგლებში. კვლევებში, რომლებიც ჩატარებულია სხვადასხვა სახეობის ცხოველებზე და იყენებდნენ GABA-ერგული ნეირონების განსხვავებულ მარკერებს ნაჩვენებია, რომ ბაზალური წინატვინის GABA-ერგული ნეირონებისა და ქოლინერგული ნეირონების თანაფარდობა შეადგენს, დაახლოებით 2/1. ამ შრომების უმრავლესობა ადარებდა ChAT-პოზიტიური (choline acetyltransferase – ChAT) ნეირონების რაოდენობას PV-პოზიტიურ (the calcium-binding protein parvalbumin – PV) ნეირონების რაოდენობასთან. მიიჩნევა, რომ PV-პოზიტიური ნეირონები წარმოადგენენ ბაზალური წინატვინის GABA-ერგულ ნეირონებს (Kiss et al., 1990). მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული დაბოლოებები პროეცირდებიან ჰიპოკამპის ნებისმიერ რეგიონში (Amaral and Kurz, 1985), უკავშირდებიან CA1 და CA3 ველის *stratum oriens*-ს, სადაც სინაპსური კავშირები იქმნება პირამიდულ ნეირონების დენდრიტებზე (Wainer et al., 1984), ისევე როგორც, GABA- და სომატოსტატინ-შემცველი ნეირონების სხეულებსა და დენდრიტებზე (Cobb and Davies, 2005) და დაკბილული ხვეულის მარცვლოვან უჯრედებზე (Nyakas et al., 1987). მედიალური სეპტუმის GABA-ერგული ბოჭკოები, სამიზნე უჯრედების ტიპის მიმართ მაღალი ხარისხის სპეციფიკურობით, უკავშირდებიან ვაზოაქტიურ ნაწლავის პოლიპეპტიდ იმუნორეაქტიულ (vasoactive intestinal polypeptide – VIP) ინტერნეირონებს CA1-ის *strata pyramidale*-სა და *lacunosum-moleculare*-ში (Papp et al., 1999) და კალრეტინინ და ნეიროპეპტიდ Y-იმუნორეაქტიულ GABA-ერგულ ინტერნეირონებს CA1-ის *stratum radiatum*-სა და CA3-ის *stratum lucidum*-ში (Takacs et al., 2008). ასევე ნანახია, რომ შემაკავებელი შესავალი უკავშირდება ქოლცისტოკინინ-, სომატოსტატინ- და პარვალბუმინ შემცველ ნეირონებს *stratum oriens*-ში (Takacs et al., 2008). ნაჩვენებია, რომ მედიალური სეპტუმის გლუტამატერგული ნეირონები, რომლებიც პროეცირდებიან ჰიპოკამპზე, წარმოადგენენ ფუნქციურ გამააქტივებელ შესავალს CA3 ველის პირამიდული ნეირონებისათვის (Huh et al., 2010).

ჰიპოკამპო სექტალური და შიგა სექტალური კავშირები. სექტოჰიპოკამპური გზების საპირისპირო მიმართულებით, პირამიდული და არაპირამიდული უჯრედები CA1 ველიდან ტოპოგრაფიულად პროეცირდებიან ლატერალური სექტუმის როსტრალურ და ვენტრალურ ნაწილში, ხოლო CA3-ის უჯრედები პროეცირდებიან ლატერალური სექტუმის კაუდალურ ნაწილში და MS-DBB-ში (medial septum-diagonal band of Broca - MS-DBB; Gulyas et al., 2003; Thompson et al., 2008). CA3-ის დორზალური რეგიონი აინერვირებს მედიალური სექტუმის დორზალურ და მედიალურ ნაწილს და ვენტრალური DBB-ის როსტრალურ და დორზალურ ნაწილს; ამის საპირისპიროდ, ვენტრალური ნაწილის აქსონები უკავშირდებიან მედიალური სექტუმის ლატერალურ და ვენტრალურ ნაწილს და ვენტრალური DBB-ის კაუდალურ და ვენტრალურ ნაწილს (Gaykema et al., 1991).

მიუხედავად იმისა, რომ ინტრასექტალური კავშირების შესახებ ჩვენი ცოდნა შეზღუდულია, ცნობილია, რომ კავშირები შეიცავს მცირერიცხოვან GABA-ერგულ შესავალს ლატერალური სექტუმიდან მედიალური სექტუმის ქოლინერგულ ნეირონებზე, რეციპროკულ კავშირებს მედიალური სექტუმის ქოლინერგულიდან და GABA-ერგულ ნეირონებზე და ასევე, მედიალური სექტუმის გუტამატერგული ნეირონები მთავრდებიან ახლომდებარე ქოლინერგულ და GABA-ერგულ ნეირონებზე (Hajszan et al., 2004; Manseau et al., 2005). სექტოჰიპოკამპური სისტემის ასეთი ანატომიური ორგანიზაცია ქმნის გრძელ უკუკავშირის ჯაჭვს ჰიპოკამპსა და მედიალურ სექტუმს შორის. ამ უკუკავშირის ჯაჭვს ქმნიან ქოლინერგული, GABA-ერგული და გლუტამატერგული ნეირონული პოპულაციები, რომლებიც ურთიერთობენ და ჰიპოკამპში რიტმული აქტიურობისა და სინაპსური პლასტიკურობის მოდულაციას ახდენენ.

1.2. ქოლინერგული სისტემა

აცეტილქოლინი (ACh) ფართოდ არის გავრცელებული ნერვულ სისტემაში და მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ტვინის ქერქის განვითარებაში, ქერქულ აქტიურობასა და დასწავლისა და მეხსიერების პროცესებში. ტვინის ღეროს და ბაზალური წინატვინის ქოლინერგული ნეირონები თავისი აქსონებით ტვინის მრავალ უბანში პროეცირდებიან.

ქოლინერგული ბირთვების კლასიფიკაცია. ძუძუმწოვართა თავის ტვინში ქოლინერგული ნეირონების რამდენიმე დაჯგუფებაა. ქოლინერგული ნეირონების კლასიფიკაცია, რომელიც Mesulam-მა და თანაავტორებმა (1983) მოგვარდეს, ემყარება საპროექციო ველების ტოპოგრაფიულ განაწილებას და ქოლინერგულ უჯრედებს ექვს ჯგუფად ყოფს. პირველი ჯგუფი (Ch1) შედგება მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული უჯრედებისაგან, მეორე ჯგუფი - ბროკას დიაგონალური კონის ბირთვის ვერტიკალური ნაწილის უჯრედებისაგან (Ch2). ეს ორი ჯგუფი ძირითადად ჰიპოკამპზე პროეცირდება. ბროკას დიაგონალური კონის ბირთვის ჰორიზონტალური ნაწილი შეადგენს მესამე ჯგუფს და პროეცირდება საყნოსავ ბოლქვზე (Ch3). მეოთხე ჯგუფი (Ch4) აინერვირებს ნეოკორტექსს, ამიგდალას და ეს უჯრედები მოთავსებულია ბაზალურ ბირთვში, პრეოპტიკურ მსხვილუჯრედოვან ბირთვსა და ბროკას დიაგონალური კონის ბირთვის ჰორიზონტალური ნაწილის ზოგიერთ უბანში. თალამუსის ინერვაცია ხდება დანარჩენი ორი ჯგუფის - Ch5-ის და Ch6-ის უჯრედებით. ისინი მოთავსებულნი არიან ხიდის ფეხების (pedunculopontine) ბირთვში და სახურავის ლატეროდორსალურ ბირთვში. მართალია ეს ბირთვები (Ch1-6) ქოლინერგულად ითვლება, მაგრამ ისინი შეიცავენ სხვა ტიპის უჯრედებსაც. მაგალითად, Ch3 ჯგუფის ბირთვებში მხოლოდ 10-20% უჯრედებისა არის ქოლინერგული, თუმცა შეიძლება ამ თანაფარდობამ მიაღწიოს 80-90%-ს, როგორც ეს არის Ch4 ჯგუფში. გამოკვლევათა უმრავლესობა, მათი საპროექციო ველებიდან (ჰიპოკამპი და ქერქი) გამომდინარე, მეხსიერებასა და დასწავლაში გადამწყვეტ როლს Ch1/Ch2 და Ch4 ჯგუფებს ანიჭებს.

ქოლინერგული სისტემის ყველა ფუნქცია კონტროლდება ACh-ის რეცეპტორების ორი ოჯახის მიერ: მუსკარინული (mAChRs) და ნიკოტინური ქოლინერგული რეცეპტორები (nAChRs; Drever et al., 2011).

ნიკოტინური ქოლინერგული რეცეპტორები. nACh რეცეპტორები წარმოდგენილია როგორც პერიფერიულად, ყველა მამოძრავებელი ფირფიტის დაბოლოებაზე, ასევე ცენტრალურად. თავის ტვინში ისინი ყველაზე დიდი რაოდენობითაა ჰიპოკამპში, ტემპორალურ ქერქსა და ბაზალურ წინატვინში, ანუ ტვინის იმ უბნებში, რომლებიც კლასიკურად მეხსიერების და დასწავლის პროცესების ცენტრებად განიხილება.

ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში nACh რეცეპტორების როლი ბოლომდე ნათელი არ არის, თუმცა თანხმდებიან, რომ მათ აქვთ მნიშვნელოვანი როლი მეხსიერებასა და დასწავლაში და ასევე, ყურადღების, სიფხიზლის და სენსორული პერცეფციის პროცესებში. ცნობილია, რომ მეხსიერების ფორმირებასა და შენახვაში მონაწილე ტვინის უბნები მდიდარია nACh რეცეპტორებით. ნიკოტინური და სხვა nACh რეცეპტორების აგონისტები აუმჯობესებენ დასწავლასა და მეხსიერებას ცხოველებში, მაშინ როცა nACh რეცეპტორებით მდიდარი უბნების დაზიანება არღვევს მეხსიერების ფორმირებას (Grutzendler and Morris, 2001).

თანამედროვე კვლევებში შეისწავლება nACh რეცეპტორების მახასიათებლები და როლი და ასევე გზები, რომლითაც შესაძლებელია მათი ფუნქციის მოდიფიკაცია წამლებითა და სხვადასხვა ქიმიური აგენტებით. ნაჩვენებია, რომ β -ამილოიდს, პროტეინს, რომელიც წარმოიქმნება ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტებში, შეუძლია დაუკავშირდეს nACh რეცეპტორებს და დაარღვიოს მისი ფუნქცია (Pettit et al., 2001). მიუხედავად ამისა, ზოგიერთ ნაერთს შეუძლია წინ აღუდგეს β -ამილოიდების ნეგატიურ გავლენას და შესაბამისად, მათი გამოყენება შესაძლებელია ალცჰეიმერის დაავადების სამკურნალოდ. თუმცა, წამლებით თერაპია ჯერ-ჯერობით შემოიფარგლება მხოლოდ დაავადების შემსუბუქებით ან პროგრესირების გადავადებით.

nACh რეცეპტორები შეიცავს ხუთ, ინდივიდუალურ ფუნქციური ცილის სუბერთეულს. მეცნიერებმა გამოყვეს რამდენიმე სუბერთეულის გენი ძუძუმწოვრებში, მათ შორის α -2, α -3, α -4, α -5, α -6, α -7, α -9, α -10, β 2, β 3, და β 4, ისევე როგორც რამდენიმე სუბერთეული ფრინველებსა და უხერხემლოებში (Small and Fodero, 2002). ფუნქციური nACh რეცეპტორების უმრავლესობა შეიცავს ერთზე მეტ სუბერთეულს და შესაბამისად, ჰეტერომერებს წარმოადგენენ. თუმცა, სუბერთეულების ყველანაირი კომბინაცია არ არის შესაძლებელი. მაგალითად, α -5 არ შეიძლება იყოს β 3 სუბერთეულთან ერთად, ხოლო α -6 შეიძლება იყოს კომბინაციაში β 3-თან და კიდევ ერთ რომელიმე სუბერთეულთან. ჰეტერომერული nACh რეცეპტორის სახეობა, რომელიც ნაპოვნია ნერვულ სისტემაში არის α -4- β 2, რომელიც როგორც ჩანს შეიცავს ორ α -4 და სამ β 2 სუბერთეულს. ამისგან განსხვავებით, α -7, α -8 და α -9 სუბერთეულებს შეუძლიათ შექმნან ჰომომერული რეცეპტორები, რომლებიც

შეიცავენ მხოლოდ ერთი ტიპის სუბერთეულებს. ამასთან დაკავშირებით უნდა აღინიშნოს, რომ nACh რეცეპტორის ერთ-ერთი მთავარ ტიპს ნერვულ სისტემაში წარმოადგენს α -7 ჰომომერული პენტამერი (Guan et al., 2000).

აცეტილქოლინის დაკავშირების საიტი ლოკალიზებულია იქ, სადაც α სუბერთეული ქმნის გადაკვეთას მეზობელ სუბერთეულთან. შესაბამისად, ფუნქციურ nACh რეცეპტორს პოტენციურად შეუძლია დაიკავშიროს ერთზე მეტი აცეტილქოლინის მოლეკულა. როგორც კი აცეტილქოლინის ორი მოლეკულა მაინც დაუკავშირდება, nACh რეცეპტორი იცვლის კონფორმაციას და იხსნება ცენტრალური არხი. ეს არხი ატარებს კათიონებს, როგორცაა Na^+ და Ca^{2+} , რომლებიც შედიან უჯრედში ამ არხის დახურვამდე.

ნეიროტრანსმიტერების რეცეპტორები ჩვეულებრივ განლაგებულნი არიან ნეირონთა დენდრიტებზე, თუმცა, nACh რეცეპტორები ასევე ნაპოვნია აქსონებზე. ამ შემთხვევაში, ელექტრული სიგნალი არ ვრცელდება დენდრიტებსა და უჯრედის სხეულზე, არამედ მოქმედებს ნეიროტრანსმიტერის გამოთავისუფლებაზე. როგორც ჩანს, სიგნალი წარმოიქმნება აქსონში, დენდრიტებისა და უჯრედის სხეულების გვერდის ავლით, რის გამოც, უფრო სწრაფად და პირდაპირ ხორციელდება პრესინაპსური კონტროლი. სავარაუდოდ, nACh რეცეპტორებზე დამოკიდებული კოგნიტიური ფუნქციების უმრავლესობის რეალიზაცია დამოკიდებულია ამ პრესინაპსურ, და არა პოსტინაპსურად განლაგებულ, nACh რეცეპტორებზე (Bourin et al. 2000).

nACh რეცეპტორების სინთეზისა და რეგულაციის მექანიზმების შესახებ ნაკლებადაა ცნობილი. ცხოველებში ნიკოტინის ქრონიკული შეყვანა იწვევს თავის ტვინში nACh რეცეპტორების up-რეგულაციას. ამის მსგავსად, თამბაქოს მოწევა ზრდის nACh რეცეპტორების დონეს. ამ მატების მექანიზმები კარგად გარკვეული არ არის. მიუხედავად იმისა, რომ ნიკოტინი არ უმატებს ტვინში nACh რეცეპტორების სუბერთეულების გენების ტრანსკრიპციას, როგორც ჩანს უმატებს nACh რეცეპტორების წარმოქმნას უჯრედის სხეულებში და მათ ექსპორტს დენდრიტებისკენ (Nashmi et al., 2003). ნიკოტინით გამოწვეული nACh რეცეპტორების დონის ასეთი up-რეგულაცია შესაძლოა ასახავდეს ბუნებრივ რეგულატორულ მექანიზმებს. ამ მექანიზმის შემდგომი კვლევა შესაძლოა

სასარგებლო იყოს nACh რეცეპტორების დისფუნქციასთან დაკავშირებული დაავადებების, მათ შორის ალცჰეიმერის დაავადების განვითარების მექანიზმების შეცნობისათვის.

მუსკარინული ქოლინერგული რეცეპტორები. mAChR წარმოადგენს შვიდი ტრანსმემბრანული დომენის შემცველ მეტაბოტროპულ რეცეპტორს და აქვს ხუთი ფარმაკოლოგიურად განსაზღვრული იზოფორმა - M₁-M₅ (Caulfield and Birdsall, 1998). მუსკარინული რეცეპტორები დაკავშირებული არიან G_{q/11} ცილასთან (M₁, M₃, და M₅) ან G_{i/o} ცილასთან (M₂ and M₄). G-ცილის დაკავშირების უპირატესობას განსაზღვრავს ამინომჟავების დივერგენციის თანმიმდევრობა მესამე უჯრედშიგა ჯაჭვში - M₁/M₃/M₅ თანმიმდევრობის შედარებით M₂/M₄ - თანმიმდევრობასთან (Wess et al., 1997). ჰიპოკამპში M₁ რეცეპტორები უპირატესად წარმოდგენილია პირამიდული ნეირონების სხეულსა და დენდრიტებზე და მარცვლოვან უჯრედებზე და მხოლოდ მცირე ფრაქციაა აქსონებსა და ტერმინალებზე (Yamasaki et al., 2010). ზოგიერთ შრომაში ნაჩვენებია მათი არსებობა ინტერნეირონებზე (Cea-Del Rio et al., 2010, 2011). M₂ რეცეპტორები განთავსებული არიან პირამიდული უჯრედების გარემომცველ ბოჭკოებზე და დიდი სიმკვრივით არიან წარმოდგენილნი პრესინაპსურად GABA-ერგულ ტერმინალებზე, რომლებიც პროეცირდებიან პირამიდული უჯრედების პერისომატურ უბანში (Szabo et al., 2010). იმუნოჰისტოქიმიურად ნაჩვენებია M₂ რეცეპტორების არსებობა CA1-ველის *stratum oriens*-სა და *alveus*-ში ინტერნეირონების დენდრიტებსა და სხეულებზე პოსტინაპსურად (Rouse et al., 1997). M₃ რეცეპტორები ნაკლები რაოდენობით არიან წარმოდგენილნი პირამიდულ ნეირონებსა და ინტერნეირონებზე (Cea-Del Rio et al., 2010, 2011), მაშინ როცა, M₄ რეცეპტორები მრავლად არიან არაპირამიდულ ნეირონებსა და გლუტამატერგულ ტერმინალებზე (Levey et al., 1995). M₅ რეცეპტორები ძალიან მცირე რაოდენობითაა ნანახი ჰიპოკამპში (Levey et al., 1995).

nACh რეცეპტორების გააქტიურებით გამოწვეული სწრაფი პასუხისაგან განსხვავებით, mACh რეცეპტორებთან დაკავშირებული ტრანსმისია ნელია, რაც გამოწვეულია მათი დამოკიდებულებით G-ცილასთან დაკავშირებულ გადაცემის მექანიზმთან (Madison et al., 1987). მათი პრე- და პოსტინაპსური განაწილების მიხედვით, მუსკარინულ რეცეპტორებს შეიძლება ჰქონდეთ განსხვავებული ეფექტი

ნეირონულ აქტიურობაზე, გამოხატავენ რა აცეტილქოლინის აქტიურობის ეფექტს. პრესინაპსური $G_{i/o}$ -სთან დაკავშირებული mACh (M_2 , M_4) რეცეპტორი იწვევს ძაბვა-მგრძნობიარე Ca^{2+} არხების ინჰიბიციას, cAMP-დაკავშირებული გადაცემის შემცირებას და ქოლინერგულ, GABA-ერგულ და გლუტამატერგულ ტერმინალებიდან ნეიროტრანსმიტერის გათავისუფლების შეკავებას (Szabo et al., 2010; Dasari and Gullledge, 2011). საპირისპიროდ, $G_{q/11}$ -სთან დაკავშირებული mACh (M_1 , M_3 , M_5) რეცეპტორი იწვევს NMDA დენების პოტენციაციას (Fernandez De Sevilla et al., 2008), ახდენს ძაბვა-მგრძნობიარე Ca^{2+} -ის დენების მოდულაციას (Toselli et al., 1989), იწვევს ფოსფოლიპაზა C-ს, ინოზიტოლტრიფოსფატის და უჯრედშიგა Ca^{2+} -ის up-რეგულაციას (Gullledge and Kawaguchi, 2007). $G_{q/11}$ -სთან დაკავშირებული mACh რეცეპტორები აგრეთვე იწვევენ კალიუმის მოქმედების შეკავებას, M-დენების ჩათვლით და აგრეთვე იმ დენების, რომლებიც საფუძვლად უდევს როგორც საშუალო, ასევე ნელ ჰიპერპოლარიზაციას, რითაც იწვევენ მემბრანის დეპოლარიზაციას და შემავალი წინააღმდეგობის გაზრდას (Buchanan et al., 2010; Giessel and Sabatini, 2010). საინტერესოა, რომ ორივე - mACh და nACh რეცეპტორები შეიძლება იყვნენ წარმოდგენილი ასტროციტებზე, გაატარონ უჯრედშიგნით Ca^{2+} და მოუმატონ ნეიროტრანსმიტერის გამოთავისუფლება, რითაც შეუძლიათ მოახდინონ სინაპსური ტრანსმისიისა და პლასტიკურობის მოდულაცია ჰიპოკამპში (Takata et al., 2011; Shen and Yakel, 2012).

რეცეპტორების სუბტიპების ფართო დიაპაზონი და მათი ლოკალიზაცია როგორც პრე- ისე პოსტსინაპსურ საიტებზე, როგორც ამაგზნებელ, ისე შემაკავებელ ნეირონებზე, საშუალებას აძლევს ქოლინერგულ სისტემას მოახდინოს უჯრედული, სინაპსური და ნერვული ქსელების აქტიურობის მოდულაცია ჰიპოკამპში. სწრაფ ნიკოტინურ და უფრო ნელ მუსკარინულ რეცეპტორზე დამოკიდებული პასუხების ფუნქციურმა ინტეგრაციამ, შესაძლოა განსაზღვროს აცეტილქოლინის უნარი იმოქმედოს ჰიპოკამპის შიგა ნერვულ წრეებში მიმდინარე დინამიკურ პროცესებზე, რაც მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ჰიპოკამპში ინფორმაციის დამუშავების პროცესში და მეხსიერების ფორმირებაში.

ნეირომოდულატორი აცეტილქოლინი ინტენსიურად შეისწავლება, ყურადღების პროცესებში, დასწავლასა და სინაპსურ პლასტიკურობაში მისი

მნიშვნელოვანი როლის გამო (Hasselmo, 2006; Micheau and Marighetto, 2011). აცეტილქოლინი ასევე ჩართულია ნევროლოგიური დაავადებების, მათ შორის ალცჰეიმერის დაავადების პათოგენეზში (Bartus et al., 1982; Schliebs and Arendt, 2011), რაც ქოლინერგულ სისტემას აქცევს სამიზნედ კოგნიტიური ფუნქციების გასაუმჯობესებლად, როგორცაა მაგ. აცეტილქოლინესთერაზა ინჰიბიტორები დემენციასთან საბრძოლველად.

აცეტილქოლინით უჯრედშორისი ურთიერთობა შეიძლება განხორციელდეს როგორც სინაპსური, ასევე არასინაპსური გზით. სინაპსური ნეიროტრანსმისია წარმოადგენს უჯრედშორის კომუნიკაციას, კარგად განსაზღვრული სტრუქტურით, სადაც ქიმიური სინაპსები ადაპტირებულნი არიან გაატარონ სიგნალები მოვლენების კასკადით, რაც საბოლოოდ მთავრდება იონური არხების აქტივაციით პოსტსინაპსურ მემბრანაზე. ამ მოდელში აცეტილქოლინესთერაზას (acetylcholinesterase - AChE) არსებობა და მაღალი კატალიზური აქტიურობა ზღუდავს ნეიროტრანსმისიას კლასიკური სინაპსების ან სინაპსური კონტაქტების (gap junction) კომპლექსებში. აქსონის ტერმინალის დეპოლარიზაციის შემდეგ, ნეიროტრანსმიტერი გამოთავისუფლება და უკავშირდება ნიკოტინურ ან მუსკარინულ აცეტილქოლინურ რეცეპტორებს და აცეტილქოლინი AChE-ის გავლენით სწრაფად იშლება ქოლინად და აცეტატად. შემდეგ ხდება ტერმინალებში ქოლინის უკუტრანსპორტირება მაღალ-აფინური ქოლინ-ტრანსპორტერის საშუალებით და რესინთეზირდება ისევ აცეტილქოლინად ენზიმის - აცეტილტრანსფერაზას (choline acetyltransferase - ChAT) ზემოქმედებით.

მეორე მხრივ, არასინაპსური ტრანსმისია ხასიათდება მრავალი უჯრედგარეთა გზებით, რომელთა საშუალებითაც სიგნალს შეუძლია სამგანზომილებიანი დიფუზური გავრცელებით გაააქტიუროს ექსტრასინაპსური რეცეპტორები. შედეგად, აცეტილქოლინთან დაკავშირებული ნეიროტრანსმისია, რომელიც არ დაექვემდებარება ჰიდროლიზს AChE-ის გავლენით, ავსებს უჯრედგარეთა სივრცეს და იწვევს nACh და mACh რეცეპტორების სტიმულაციას (Sarter et al., 2009).

სეპტოჰიპოკამპური ქოლინერგული ბოჭკოები კლასიფიცირებულია, როგორც სქელი, მიელინიზირებული აქსონები, რომლებსაც აქვთ დიდი ტერმინალური ბუტონები, რომლებიც ნანახია ჰიპოკამპის *stratum oriens*-ში, *stratum radiatum*-ში,

stratum launosum-moleculare-ში, *dentate hilus*-სა და დაკბილული ხვეულის ინფრამარცვლოვან ზონაში; წვრილი, არამიელინიზირებული ვარიკოზული ბოჭკოები ნანახია ჰიპოკამპის პირამიდული ნეირონების შრეში, დაკბილული ხვეულის მარცვლოვან და მოლეკულურ ფენებში (Gaykema et al., 1991). მონაცემები იმის შესახებ, რომ აქსონების ტერმინალების უმრავლესობა (80–90%) დიფუზურად არის ორგანიზებული (Descarries et al., 1997) და არ უკავშირდებიან სხვადასხვა პოსტინაპსურ საიტებს (Frotscher and Leranth, 1985;), წარმოშობს ჰიპოთეზას, რომ ქოლინერგული ტრანსმისია ჰიპოკამპში უპირატესად არასინაპსურ ტრანსმისიასთან არის დაკავშირებული. შესაბამისად, ჰიპოკამპში შემავალი ქოლინერგული პროექციები ქმნიან „ტონს“ დაბალ ნანომოლარულ დონეზე (Vinson and Justice, 1997), თუმცა კონცენტრაციამ შესაძლოა მოიმატოს მიკრომოლარულ დონემდე (Parikh et al., 2007; Zhang et al., 2010).

1.3. ჰიპოკამპის ქოლინერგული აქტიურობის როლი მეხსიერების პროცესებში

მეხსიერების პროცესებში ჰიპოკამპის მონაწილეობის დამადასტურებელ კლასიკურ მაგალითს წარმოადგენს პაციენტი H. M., რომელსაც ეპილეფსიის მძიმე ფორმის მკურნალობის მიზნით, ჰიპოკამპი ბილატერალურად ამოკვეთეს. შედეგად, მან სრულიად დაკარგა ახალი ფაქტების დამახსოვრების უნარი; ასევე, დაკარგა მეხსიერება ოპერაციამდე ცოტა ხნით ადრე მომხდარი მოვლენების შესახებ, თუმცა, ძველი მოვლენები ინტაქტურად იყო შენახული მეხსიერებაში (Scoville and Milner, 1957). ეს მონაცემები, ცხოველებზე ჩატარებულ ექსპერიმენტებთან ერთად (Morris et al., 1982), იძლევა დასკვნის საშუალებას, რომ ახალი ინფორმაციის დამახსოვრება ჰიპოკამპის ფუნქციობაზე არის დამოკიდებული, თუმცა, მეხსიერების კვალი საბოლოოდ, ტვინის სხვა ნაწილში ინახება და ჰიპოკამპზე აღარ არის დამოკიდებული (Squire and Zola-Morgan, 1991).

ცნობილია რომ მეხსიერების კოდირება მოიცავს ნერვულ წრეებში ნეირონთა შორის კავშირების მოდულაციას, რაც ხანგრძლივი პოტენციაციის (long-term potentiation - LTP) და ხანგრძლივი დეპრესიის (long-term depression - LTD) მსგავსი სინაპსური პლასტიკურობის (Bliss and Collingridg, 1993) მექანიზმის საფუძველზე

ხორციელდება. აღიარებულია, რომ დასწავლის დროს სინაპსური კავშირების ხანგრძლივი ცვლილებები ხდება ცენტრალურ გლუტამატერგულ ტრანსმისიაში (Dragoi, et al., 2003; Whitlock, et al., 2006). ჰიპოკამპში აღწერილია რამდენიმე გლუტამატერგული გზა. N-მეთილ-D-ასპარტატ გლუტამატერგული რეცეპტორი (*N*-methyl-D-aspartate receptor - NMDAR) მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ამაგზნებელი ამინომჟავებით გამოწვეულ ტრანსმისიასა და სინაპტოგენეზში, სინაპსურ პლასტიკურობასა და ნეირონული განვითარების პროცესებში (McDonald, et al., 1990), აგრეთვე, ნეიროდეგენერაციული დარღვევების განვითარებაში (Choi, 1992).

მრავალი მტკიცებულება არსებობს სივრცითი მეხსიერებისათვის NMDAR-ის აქტივაციის მნიშვნელობის შესახებ. პირველი ინფორმაცია ამის შესახებ მოწოდებული იყო 1986 წელს მორისის და კოლეგების (Morris et al., 1986) მიერ, რომლებმაც აღწერეს, რომ NMDAR-ის AP5-ით ბლოკირება აუარესებს სივრცით დასწავლას. LTP უპირატესად ჰიპოკამპის შიგა ნეირონულ ქსელებშია შესწავლილი. არსებობს მონაცემები, რომ ჰიპოკამპის LTP-ს ინდუქციის რეგულირებაში მონაწილეობს ჰიპოკამპის ქერქვეშა აფერენტები: ქოლინერგული შესავალი მედიალური სექტუმიდან (Robinson and Racine, 1982), ნორადრენერგული ბოჭკოები ლურჯი ლაქიდან (Hartley, 1991) და სეროტონინერგული აფერენტები მედიალური რაფეს ბირთვიდან (Klanchnik and Phillips, 1991).

აცეტილქოლინი და მეხსიერება. მრავალ კვლევაშია ნაჩვენები, რომ ჰიპოკამპდამოკიდებული დასწავლა ასოცირებულია ჰიპოკამპში აცეტილქოლინის დონის მატებასთან; შესაბამისად, უჯრედგარეთა აცეტილქოლინის მატება ჩართულია ჰიპოკამპდამოკიდებული მეხსიერების პროცესებში (Micheau and Marighetto, 2011). ქცევითი ექსპერიმენტების ნაწილში ნაჩვენებია, რომ ბაზალური წინატვინისა და მათი ქერქული პროექციების დაზიანებით გამოწვეული ქოლინერგული აქტიურობის დაქვეითება დასწავლისა და მეხსიერების დეფიციტს იწვევს (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).

ელექტროფიზიოლოგიური მონაცემები, ჰიპოკამპის სინაპსურ პლასტიკურობაში აცეტილქოლინის როლის შესახებ, არაერთგვაროვანია. სხვადასხვა *in vitro* და *in vivo* პირობებში, აცეტილქოლინი აადვილებს ან პირდაპირ იწვევს ჰიპოკამპში LTP-ს ან LTD-ს (Jo et al., 2010; Gu and Yakel, 2011; Sugisaki et al., 2011), რითაც დასტურდება ქოლინერგული შესავლის როლი სინაპსურ პლასტიკურობაში.

ნანახია, რომ mACh და nACh რეცეპტორების ფარმაკოლოგიური აქტივაცია იწვევს LTP-ს მსგავს სინაპსური ტრანსმისიის მატებას ჰიპოკამპის CA1 ველში (Drever et al, 2011). mACh რეცეპტორების პრესინაპსური შემაკავებელი M2/M4 სუბტიპის ბლოკადა მეთოკრამინის გამოყენებით ზრდის აცეტილქოლინის დონეს და იწვევს ფარმაკოლოგიურ LTP-ს (Li et al, 2007), ისეთი მექანიზმებით, რაც ტეტანუსით გამოწვეული LTP-ს მსგავსია (Hayes et al, 2008). შესაბამისად, აცეტილქოლინის ენდოგენური გამოთავისუფლება *in vivo* და ასევე, mACh-ის აგონისტების აპლიკაცია *in vitro* აადვილებს LTP-ს ინდუქციას (Drever et al, 2011). აცეტილქოლინის ენდოგენური გამოთავისუფლების მატება სპეციფიკურად ააქტივებს nACh რეცეპტორებს და შესაბამისად, ასევე ააქტივებს LTP-ს ინდუქციას (Nakauchi and Sumikawa, 2012). მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანება იწვევს LTP-ს გაუარესებას და ჰიპოკამპში გლუტამატერგული სინაპსური დენების ცვლილებას (Kanju et al, 2012).

mACh რეცეპტორების აქტივაციით LTP-ს გაადვილება შესაძლოა გამოწვეული იყოს სინაპსური NMDA რეცეპტორების გააქტივებით, რაც შესაძლოა უკავშირდებოდეს NMDA რეცეპტორების არხების ცვლილებას (Drever et al, 2011) ან ენდოპლაზმური რეტიკულუმიდან Ca²⁺-ის გათავისუფლებას (Fernandez de Sevilla et al, 2008). mACh რეცეპტორებიც იწვევენ კალიუმის სხვადასხვა არხის ინჰიბირებას, მცირე გამტარობის კალციუმზე დამოკიდებული KCa₂ არხების ჩათვლით (SK არხები) (Buchanan et al, 2010). შესაბამისად, mACh რეცეპტორების აქტივაციას შეუძლია გამოიწვიოს პარალელური ხანგრძლივი გაადვილება, როგორც α-amino-3-hydroxy-5-

methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA), ასევე NMDA რეცეპტორზე დამოკიდებული ტრანსმისით (Fernandez de Sevilla and Buno, 2010).

ნაჩვენებია, რომ ნიკოტინის ქრონიკული ზემოქმედება და *in vitro* ნიკოტინის მწვავე შეყვანა, ზრდის აცეტილქოლინის გამოთავისუფლებას და ამლიერებს NMDA რეცეპტორების პასუხებს ჰიპოკამპში (Yamazaki et al, 2006). ამის ერთ-ერთ პოტენციურ მექანიზმს შესაძლოა წარმოადგენდეს ნიკოტინის ზემოქმედება პრესინაპსურ nACh რეცეპტორებზე, რაც ზრდის გლუტამატის გამოთავისუფლებას და მის ზემოქმედებას პოსტინაპსურ NMDA რეცეპტორზე (Aramakis and Metherate, 1998). nACh რეცეპტორების გააქტივება იწვევს Ca^{2+} იონების შესვლას რეცეპტორული არხებით, რამაც შესაძლოა გამოიწვიოს Ca^{2+} იონების გათავისუფლება უჯრედშიგა რეზერვუარიდან (Shen and Yakel, 2009). ასევე, არსებობს მონაცემები, რომლებიც აჩვენებენ, რომ ნიკოტინს შეუძლია იმოქმედოს ჰიპოკამპდამოკიდებული მეხსიერების დეფიციტზე, რომელიც უკავშირდება NMDA რეცეპტორების ფუნქციას (Andre et al, 2011); ამ შრომების მიხედვით, AChE ინჰიბიტორებით მკურნალობას, nACh რეცეპტორები გააქტივების გზით, შეუძლია ქერქული ნეირონების დაცვა გლუტამატის ნეიროტოქსიკურობისაგან და ეს ზემოქმედება დოზაზე და დროზე დამოკიდებულია (Takada-Takatori et al, 2006).

ქოლინერგული მოდულაციის როლი სინაპსურ ტრანსმისიასა და პლასტიკურობაში. მას, შემდეგ, რაც განვსაზღვრეთ აცეტილქოლინის როლი ჰიპოკამპის შიგა წრეების ფუნქციაში, საჭიროა გავერკვეთ როგორ არეგულირებს აცეტილქოლინი სინაპსურ ტრანსმისიას. ჰიპოკამპში პრესინაპსური აცეტილქოლინური რეცეპტორები ნეიროტრანსმისიის მოდულაციას ახდენენ უჯრედის ტიპის და გზის სპეციფიკურობიდან გამომდინარე. *In vitro* კვლევებმა აჩვენა, რომ აცეტილქოლინს შეუძლია როგორც დათრგუნოს, ასევე გაადვილოს ჰიპოკამპში გამააქტივებელი ტრანსმისია. სინაპსური ტრანსმისიის დათრგუნვა პერფორანტული გზის შესავალში (Foster and Deadwyler, 1992), უკუმიმართულ CA3-ის კავშირებში (Hasselmo et al., 1995), შაფერის კოლატერალებში (Dasari and Gullledge, 2011) და კავშირებში CA1-დან სუბიკულუმში (Kunitake et al., 2004), გამოიწვევა პრესინაპსური mACh რეცეპტორების, უფრო მეტად M_1 და M_4 რეცეპტორების (Dasari and Gullledge, 2011) აქტივაციით, რაც ამცირებს პრესინაპსური ძაბვა-დამოკიდებული

Ca²⁺ არხების აქტიურობას (Seeger and Alzheimer, 2001). ტრანსმისიის გააქტიურება უკავშირდება პრესინაპსური $\alpha 7$ nA Ch რეცეპტორების გააქტიურებას, რაც იწვევს Ca²⁺ იონების შედინებას (Radcliffe et al., 1999). მუსკარინული M₂ რეცეპტორები აკავებენ გამოწვეულ ტრანსმისიას პარვალბუმინ-დადებით კალათისებრ უჯრედებსა და პირამიდულ უჯრედებს შორის არსებულ სინაპსებში (Szabo et al., 2010). ამისგან განსხვავებით, ნიკოტინური $\alpha 3\alpha 4$ რეცეპტორები აძლიერებენ სპონტანურ ტრანსმისიას იგივე სინაპსებში (Tang et al., 2011). პრესინაპსური $\alpha 4\alpha 2$ და $\alpha 7$ რეცეპტორები, აგრეთვე აძლიერებენ ტრანსმისიას შემაკავებელ სინაპსებში (Alkondon and Albuquerque, 2001). მუსკარინული M₁ და/ან M₃ რეცეპტორები, აგრეთვე ირიბად აკავებენ პრესინაპსურ გამოთავისუფლებას, პირამიდულ უჯრედებში ენდოკანაბიონებისა და ნიტრიტ-ოქსიდების სინთეზის გაძლიერებით, რაც ააქტიურებს CB1 რეცეპტორებს გუანილატ-ციკლაზას ქოლცისტოკინინ-პოზიტიური ინტერნეირონების ტერმინალებზე (Makara et al., 2007). ეს პროცესი დეპოლარიზაციით გამოწვეული ინჰიბიციის დათრგუნვის მსგავსი და, ამასთან ურთიერთშემავსებელი პროცესია (Wilson et al., 2001). ქოლინერგულ აქტიურობას, ასევე შეუძლია ჰქონდეს ძლიერი ეფექტი CA1 და CA3 ველის პირამიდული ნეირონების განმუხტვათა მახასიათებლებზე, რასაც შეუძლია შეცვალოს რიტმულ განმუხტვათა დროს სპაიკ-აქტიურობასა და სინაპსური პლასტიკურობის თანმიმდევრულ განვითარებას შორის კორელაცია.

ნეიროტრანსმიტერის პრესინაპსური გამოთავისუფლების ხანმოკლე ცვლილებებთან ერთად, აცეტილქოლინური რეცეპტორების აქტივაციამ შეიძლება გამოიწვიოს LTP ან LTD ჰიპოკამპის სინაპსურ ტრანსმისიაში დოზაზე დამოკიდებული ხასიათით. mACh რეცეპტორების სუსტი აქტივაცია, უჯრედშიგა სასიგნალო გზების გააქტივებით იწვევს LTP-ს, ხოლო ძლიერი აქტივაცია LTD-ს (Fernandez De Sevilla et al., 2008; Jo et al., 2010).

ქოლინერგული რეცეპტორების აქტივაციას შეუძლია პირდაპირ გამოიწვიოს ხანმოკლე და ხანგრძლივი სინაპსური პლასტიკურობა, ასევე შეუძლია სინაპსური პლასტიკურობის გამოწვევის მოდულაცია (Shinoe et al., 2005). ზუსტი მექანიზმი და ზემოქმედების მიმართულება შესაძლოა დამოკიდებული იყოს აცეტილქოლინის კონცენტრაციაზე, გამოთავისუფლების დროზე, ზემოქმედების დროზე და საერთო

ნეირონულ აქტიურობასთან დაკავშირებულ, nACh და mACh რეცეპტორების გააქტიურების თანმიმდევრობაზე (Gu and Yakel, 2011; Gu et al., 2012).

სინაპსური პლასტიკურობის მოდულაციის მექანიზმის ახსნის მრავალი ვარაუდი არსებობს (Buchanan et al., 2010; Giessel and Sabatini, 2010). M₁ რეცეპტორებთან დაკავშირებული კალციუმით გააქტიურებული მცირედ გამტარი კალიუმის არხების ინჰიბიცია იწვევს NMDA რეცეპტორების ფუნქციურ აქტივაციას და აადვილებს LTP-ს ინდუქციას. პრესინაპსური $\alpha 4$, $\alpha 2$, $\alpha 7$, ან M₂ რეცეპტორებით (Yamazaki et al., 2005), ან არაპირდაპირი გზით - ენდოკანაბიონების გამოთავისუფლებით (Chevalyere and Castillo, 2004), პირამიდული ნეირონების GABA-ერგული შეკავების მოდულაცია, ცვლის სინაპსური პლასტიკურობის ინდუქციას ამაგზნებელ სინაპსებზე. პოსტინაპსური აგზნებადობის გაძლიერება $\alpha 7$ რეცეპტორებით, აცეტილქოლინის აპლიკაციის დროითი მაჩვენებლის მიხედვით, აადვილებს LTP-ს ან LTD-ს (Ge and Dani, 2005). ასევე, M₁ რეცეპტორებზე დამოკიდებული ძაბვა-დამოკიდებული კალიუმის Kv7 არხების ინჰიბიცია აადვილებს LTP-ს (Cho et al., 2008; Petrovic et al., 2012). mACh რეცეპტორები აპიკალურ დენდრიტებში აგზნებადობას კალციუმის კონცენტრაციის ზრდით აადვილებენ (Cho et al., 2008).

და ბოლოს, M₁ და NMDA რეცეპტორები არეგულირებენ დენდრიტულ ძაბვა-დამოკიდებულ კალიუმის Kv4.2-ის არხებს (Losonczy et al., 2008), რითაც აადვილებენ LTP-ს ინდუქციას. მრავალი მექანიზმის არსებობა, რომელთაგან თვითოეული დამოკიდებულია აცეტილქოლინის გამოთავისუფლების სპეციფიკურ კონცენტრაციებზე და დროით ფაქტორზე, სინაპსურ პლასტიკურობაზე მათ პოტენციურად სხვადასხვა ეფექტებს ხსნის. მრავალი ასეთი მექანიზმი შეიძლება იყოს ჩართული. მაგალითად, პრესინაპსური M₂ რეცეპტორებით შემაკავებელი ტრანსმისიის შემცირება, დაკავშირებული $\alpha 7$ რეცეპტორებით პირამიდული ნეირონების აგზნებადობის მომატებასთან, აადვილებს LTP-ს ინდუქციას (Ge and Dani, 2005; Yamazaki et al., 2005). სხვა მაგალითში ნავენებია, რომ LTP-ს წარმოქმნა შეიძლება გაადვილდეს და LTD გამწვანდეს mACh რეცეპტორების აქტივაციით და ასევე, აცეტილქოლინის განსაზღვრული მაღალი კონცენტრაციისას LTD შეიძლება გადაირთოს LTP-ში (Sugisaki et al., 2011).

სეპტოპიპოკამპური პროექციების როლი. დეკლარატიული მეხსიერების ფორმირებაში ჰიპოკამპის ცენტრალური როლის გათვალისწინებით და ასევე, ის ფაქტი, რომ სეპტოპიპოკამპური გზები წარმოადგენს მძლავრ ქოლინერგულ შესავალს ჰიპოკამპში, სავარაუდოა, რომ ეს შესავალი მნიშვნელოვანია მეხსიერების პროცესებისათვის (Hasselmo, 2006; Drever et al., 2011). მაგალითისთვის, კვლევები შედეგები სეპტოპიპოკამპური სისტემის დაზიანების ეფექტების შესახებ ურთიერთსაწინააღმდეგოა (McGaughy et al., 2000; Lecourtier et al., 2011). ყველა კვლევაში, სეპტოპიპოკამპური გზების დაზიანებისას, რომელიც მოიცავს ქოლინერგული ნეირონების დაზიანებასაც, არ გამოვლინდა მეხსიერების დეფიციტი, რომელიც, როგორც წესი, ასაკთან დაკავშირებულ დარღვევებში ან ნეიროდეგენერაციული დაავადებების დროს ვლინდება (McGaughy et al., 2000; Micheau and Marighetto, 2011; Schliebs and Arendt, 2011). ასევე, აღსანიშნავია, რომ აცეტილქოლინის რეცეპტორების ფარმაკოლოგიური ან გენეტიკური ინჰიბიცია იწვევს მეხსიერების დარღვევას, თუმცა გაურკვეველია რეცეპტორების რომელი ქვეტიპები მონაწილეობენ ამ პროცესში და ტვინის რომელ უბანში არიან ისინი განლაგებული (Warburton et al., 2003; Atri et al., 2004; Wess, 2004).

ელექტროფიზიოლოგიური მონაცემები ჰიპოკამპის სინაპსურ პლასტიკურობაში აცეტილქოლინის როლის შესახებ, ასევე არაერთგვაროვანია. სხვადასხვა *in vitro* და *in vivo* პირობებში, აცეტილქოლინი აადვილებს ან პირდაპირ იწვევს ჰიპოკამპში LTP-ს ან დეპრესიას LTD-ს (Buchanan et al., 2010; Jo et al., 2010; Gu and Yakel, 2011; Sugisaki et al., 2011), რითაც დასტურდება ქოლინერგული შესავლის როლი სინაპსურ პლასტიკურობაში.

1.4. ალცჰეიმერის დაავადება - პათოგენეზი და მოდელები

ალცჰეიმერის დაავადება (Alzheimer's Disease - AD) პირველად 1906 წელს გერმანელმა ექიმმა ა. ალცჰეიმერმა აღწერა. 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. AD, რომელიც 65 წლის ასაკის შემდეგ ვითარდება, ამ დაავადების შემთხვევათა 85%-95%-ს შეადგენს (Selfridge et al.,

2013). ალცჰეიმერის დაავადება წარმოადგენს ნეიროდეგენერაციულ დაავადებას, რომელიც პირველ რიგში უვითარდებათ ხანდაზმულ ადამიანებს და დემენციის შემთხვევათა 70%-ს შეადგენს; 17-დან 25 მილიონამდე ადამიანია დაავადებული მსოფლიოში და მომავალი 50 წლის განმავლობაში მათი რაოდენობა შესაძლოა გაოთხმაგდეს. ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტებში აღწერილია მეხსიერებისა და კოგნიტიური ფუნქციის დარღვევის პროგრესირება. სიმპტომები ასევე შესაძლოა მოიცავდეს დარღვეულ ყურადღებას, მეტყველების სიძნელეებს და ემოციურ არასტაბილურობას. პაციენტების უმრავლესობა სიცოცხლეს ასრულებს მოხუცებულთა თავშესაფრებში და საკმაოდ დიდ ფინანსურ სიძნელეებს უქმნიან, როგორც სახელმწიფოს მთავრობებს, ასევე თავიანთ ოჯახებს. მხოლოდ ამერიკის შერთებულ შტატებში ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტებზე იხარჯება 100 მილიარდი დოლარი ყოველწლიურად, ანუ 195000 დოლარი თითოეულ პაციენტზე (Scott and Goa, 2000, Zarotosky et al., 2003).

მიუხედავად იმისა, რომ ალცჰეიმერის დაავადების ზუსტი მიზეზები არ არის ცნობილი, აღწერილია რამდენიმე ნევროლოგიური ცვლილება, რომელიც კორელირებს დაავადების ტიპურ სიმპტომებთან. ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტების ტვინში განსაკუთრებული დარღვევები ფიქსირდება ტვინის იმ უბნებში, რომლებიც პასუხისმგებლები არიან დასწავლისა და მეხსიერებისათვის. ერთ-ერთ კვლევაში ნაჩვენებია, რომ ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტების ბაზალურ ბირთვში (ბაზალური წინა ტვინის ნაწილი) 5-6-ჯერ ნაკლები ნეირონებია, ჯანმრთელი ადამიანის ტვინთან შედარებით (Giacobini, 2003). ამ დაავადების დროს დარღვევების ხასიათიდან გამომდინარე, ზუსტი დიაგნოზის დასმა შესაძლებელია მხოლოდ ტვინის ქსოვილის ბიოფსიით ან აუტოფსიის დროს (Scott and Goa, 2000).

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 β -ამილოიდური პეპტიდის

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

ამილოიდური ჰიპოთეზა. ჰიპოთეზა, რომელიც AD-ის ცენტრალურ მოვლენად და ფუნდამენტურ მიზეზად A β -ს დაგროვებას განიხილავს, პირველად 1991 წელს იქნა შემოთავაზებული (Hardy et al., 1992). AD-ის მოგვიანე ფორმის განვითარების კიდევ ერთი გენეტიკური რისკ-ფაქტორი არის აპოლიპოპროტეინი E (Apolipoprotein E - APOE4), რომელიც განაპირობებს A β -ს აკუმულირებას თავის ტვინის ქერქში AD-ის კლინიკურ გამოვლენამდე. ამილოიდური ჰიპოთეზის უფრო მეტი მტკიცებულებები მიღებულია ადამიანის ამილოიდის წინამორბედი ცილის (Amyloid precursor protein - APP) გენით მუტანტ ტრანსგენურ თაგვებზე, რომლებშიც გამოვლენილია ამილოიდური ფოლაქები და სივრცითი დასწავლის დეფიციტი (Hsiao et al., 1996). შემდეგი მტკიცებულება უკავშირდება ამილოიდური ვაქცინის კვლევას. A β -ს როგორც პასიური, ასევე აქტიური ვაქცინაცია იწვევს ტრანსგენურ თაგვებში როგორც ქცევითი ფენოტიპის, ასევე ამილოიდური ფოლაქების განვითარების შეჩერებას, ან თუნდაც აღაგებას (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).

ტაუ ჰიპოთეზა. ამ ჰიპოთეზის მიხედვით, AD-ის პათოგენეზში ცენტრალური მოვლენა არის ტაუს პათოლოგია. 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 ჰიპოთეზა განმტკიცებულია კლინიკური კვლევებით, სადაც ნაჩვენებია, რომ ნეიროფიბრილური გორგლების (neurofibrillary tangles – NFTs) 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.

დღეისათვის მზარდია იმ მონაცემთა რაოდენობა, რომლებშიც გამოვლენილია AD-ის პათოგენეზში სხვა ისეთი მექანიზმების ჩართულობა, რომლებიც ტაუსა და A β 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.

ჰიპოთეზა გლუტამატის ექსციტოტოქსიკურობის შესახებ. არსებობს ჰიპოთეზა AD-ის პათოგენეზში გლუტამატის ექსციტოტოქსიკურობის მნიშვნელობის შესახებ. 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 AD პაციენტების ტვინში უჯრედგარე გლუტამატის რაოდენობის ზრდის მიზეზი (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).

ქოლინერგული თეორია. 1970-1980 წლებში მეცნიერებმა განსაზღვრეს, რომ ალცჰეიმერის დაავადების განვითარების ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ფაქტორს

წარმოადგენს ქოლინერგული აქტიურობის დაქვეითება ტვინში. 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). ნანახია, რომ ალცჰეიმერის დაავადებისას 90%-ით არის შემცირებული აცეტილქოლინტრანსფერაზა და აცეტილქოლინესტერაზა აქტიურობა. ეს ორი ენზიმი მნიშვნელოვნად არის ჩართული აცეტილქოლინის დეგრადაციისა და სინთეზის პროცესში. ამ ფაქტმა მეცნიერები მიიყვანა მეხსიერების ასაკთანდაკავშირებული დისფუნქციის ქოლინერგულ ჰიპოთეზამდე, რომელიც გულისხმობს, რომ კოგნიტიური დეფიციტი ალცჰეიმერის დაავადებისას ქოლინერგული ტრანსმისიის დაქვეითების შედეგია (Small and Fodero, 2002). ალცჰეიმერის დაავადებისას 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).

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 აღენიშნებოდათ, 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, აცეტილქოლინესთერაზას ინჰიბიტორები სიმპტომურ გაუმჯობესებას იწვევენ (Summers et al., 1986). მანიპულაციები, რომლებიც ფარმაკოლოგიურად გამოწვეული მეხსიერების დეფიციტის პრევენციას ახდენს, ასევე ჰიპოკამპში აცეტილქოლინის დონის ცვლილებების პრევენციას იწვევს (Darnaudey et al., 2002).

დღეისათვის აღიარებულია, რომ ქოლინერგული ტრანსმისიის დაქვეითება მნიშვნელოვანია ამ დაავადების განვითარებისათვის, თუმცა ეს არ არის ამ პროცესში ჩართული ერთადერთი ფაქტორი. აღწერილია ნორმიდან გადახრა გლუტამატერგულ, ნორადრენერგულ, სეროტონინერგულ და დოფამინერგულ ტრანსმისიაში (Doggrell and Evans, 2003). საინტერესოა, რომ ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტებში არ არის შემცირებული კუნთის ბოჭკოებზე nACh რეცეპტორების ან მუსკარინული აცეტილქოლინური რეცეპტორების რაოდენობა.

ნიკოტინური რეცეპტორების როლი ალცჰეიმერის დაავადების პათოგენეზში.
მიუხედავად იმისა, რომ ნეირონული ქოლინერგული ტრანსმისია მთლიანობაში ალცჰეიმერის დაავადებისას შემცირებულია, სპეციფიკური ცვლილებები nACh რეცეპტორების ექსპრესიაში საკამათო გახდა მეცნიერთათვის. კვლევებმა აჩვენა α -7 რეცეპტორების შემცირება 17-დან 50%-მდე. α 4 რეცეპტორების შემთხვევაში მათი დაკარგვა ნაკლებია და შეადგენს დაახლოებით 30-40%-ს (Guan et al. 2000). კვლევებმა ასევე აჩვენა, α -3-ის შემცველი რეცეპტორების დაკარგვა ამ დაავადების დროს, თუმცა არ გამოვლინდა ცვლილებები β 2-ის შემცველ რეცეპტორებში (Guan et al. 2000).

კვლევებში ნანახია კორელაცია ალცჰეიმერის დაავადების მძიმე ფორმის მქონე პაციენტებში აღწერილ სიმპტომებსა და nACh რეცეპტორების დაკარგვას შორის პაციენტთა გარდაცვალების დროისთვის (Scott and Goa, 2000). მიუხედავად ამისა, აღნიშნულ იქნა, რომ დასწავლის დეფიციტი შესაძლოა სახეზე იყოს უჯრედების მნიშვნელოვან შემცირებამდე, რაც მიანიშნებს, რომ კოგნიტიური ფუნქციის დარღვევა არ უკავშირდება მხოლოდ უჯრედების კვდომას, არამედ, nACh რეცეპტორების, სინაპსური ტრანსმისიის ან უჯრედშიგა პროცესების დარღვევას

(O'Neill et al. 2002). ახალი თეორიების მიხედვით, nACh რეცეპტორების დაკარგვა, ისევე, როგორც მათი ფუნქციის მოშლა, შესაძლოა გამოწვეული იყოს ცილა β -ამილოიდით.

ბოლო ათწლეულში, მკვლევარებმა დაადგინეს განსაკუთრებული ურთიერთკავშირი ალცჰეიმერის დაავადებასა და nACh რეცეპტორებს შორის. დაავადების პროგრესირების მიზეზად არა მხოლოდ ქოლინერგული აქტიურობისა და ნეირონული nACh რეცეპტორების დონის დაქვეითება განიხილება, არამედ როგორც ახალმა კვლევებმა აჩვენა, ალცჰეიმერის დაავადებისას β -ამილოიდების წარმოქმნა პირდაპირ ან არაპირდაპირ მოქმედებს nACh რეცეპტორებთან დაკავშირებულ სინაპსურ ტრანსმისიაზე (Pettit et al. 2001). ერთ-ერთი მიმართულება დაავადების სამკურნალო სტრატეგიის განსაზღვრისა არის β -ამილოიდის ასეთი მოქმედების ეფექტის შესუსტება.

რამდენიმე კვლევაში ნაჩვენებია, რომ β -ამილოიდი ურთიერთქმედებს nACh რეცეპტორებთან. მაგალითად, β -ამილოიდი უპირატესად ტვინის იმ უბნებშია, სადაც განლაგებული არიან nACh რეცეპტორები და ნეირონები, რომლებიც აღჭურვილნი არიან α -7 nACh რეცეპტორებით, უპირატესად ისინი ილუპებიან β -ამილოიდების გავლენით. β -ამილოიდები და α -7 ერთად არიან წარმოდგენილი ამილოიდურ ფოლაქებში (Wang et al. 2000, Grassi et al. 2003). მკვლევარები ვარაუდობენ, რომ α -7 რეცეპტორები აადვილებენ β -ამილოიდური ცილების ინტერნალიზაციას უჯრედებში (Bourin et al. 2000). ამასთან, მკვლევარებმა აჩვენეს, რომ β -ამილოიდს შეუძლია პირდაპირ იმოქმედოს nACh რეცეპტორებზე, მათთან დაკავშირებით, ისევე როგორც შეუძლიათ არაპირდაპირ იმოქმედონ მათ ფუნქციაზე სხვა ცილებთან ან უჯრედების მემბრანასთან დაკავშირების გზით.

მიუხედავად იმისა, რომ ბოლო წლებში ბევრი რამ გახდა ნათელი nACh რეცეპტორებზე β -ამილოიდების პირდაპირი და არაპირდაპირი ეფექტების შესახებ, დღეისათვის ალცჰეიმერის დაავადების მკურნალობა არ არის განსაზღვრული და არ არის შექმნილი პრეპარატი, რომლის პირდაპირი სამიზნე იქნება β -ამილოიდი ან მისი nACh რეცეპტორებთან დაკავშირების პრევენციას მოახდენს. ალცჰეიმერის დაავადების თანამედროვე მკურნალობა მოიცავს აცეტილქოლინესთერაზა ინჰიბიტორების გამოყენებას, ხოლო მომავალში შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას

ქოლინერგული პრეკურსორები, ქოლინერგული აგონისტები, და ასევე ახლად შექმნილი ალოსტერული ნაერთები.

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, ტრანსგენურ 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 ტრანსგენური ცხოველები ასოცირდება მოტორულ დარღვევებთან, რაც მნიშვნელოვნად ამცირებს ქცევით ტესტებში მათი გამოყენების შესაძლებლობას. გარდა ტრანსგენური 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 ფარმაკოლოგიური 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.

თავი 2. ექსპერიმენტის მეთოდთა (ზოგადი ნაწილი)

2.1. მასალა

ექსპერიმენტები ჩატარებულია თეთრი ფერის, 220-300 გრ წონის, 102 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

მედიალური სექტუმის (Medial Septum - MS) ელექტროლიზური დაზიანება ხორციელდებოდა სტერეოტაქსული მეთოდით ჩანერგილი (AP - 0,7 ბრემადან, DV - 6,5 ქალას ძვლის ზედაპირიდან, ML - 0; Paxinos-ისა და Watson-ის ატლასის მიხედვით, 1982) კონსტანტანის ელექტროდებით მუდმივი დენის (1 მა., 30 წმ) გატარების საშუალებით. ოპერაციისთვის ცხოველთა ანესთეზირება ქლორალ-ჰიდრატის 4%-იანი ხსნარის (0,9 მლ/კგ-ზე) საშუალებით ხორციელდებოდა. ცრუოპერირებულ ცხოველებს უტარდებოდათ იდენტური პროცედურა ელექტროდებში დენის გატარების გარეშე.

მიკროინექციები, როგორც GAT1-SAP (325ng/μl) და 192 IgG-saporin-ით (1 μg/μl) იმუნოდაზიანებისათვის, ისე mouse saporin-ით (არ იწვევს ნეირონების დალუპვას) საკონტროლო ჯგუფისათვის (Advanced Targetting System, San Diego, USA), ხორციელდებოდა სტერეოტაქსული მეთოდის გამოყენებით. GAT1-SAP-ით 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). 192 IgG-saporin-ის ინექცია ხორციელდებოდა ბილატერალურად ორ დონეზე: AP - 0.45; ML - 0.25; DV - 7.8 (0.3 μl; 0.05 μl/min) და DV - 6.2 (0.2 μl; 0.05 μl/min). მიკროინექციის შემდეგ, იმუნოტოქსინის დიფუზიის მიზნით, თითოეულ დონეზე საინექციო ნემსი ყოვნდებოდა 9 და 6 წუთით, შესაბამისად. მიკროინექციისთვის გამოიყენებოდა

1მკლ-იანი ჰამილტონის შპრიცი და მიკროსაინექციო ტუმბო (CMA 402 Syringe Pump, Sweden).

ქცევითი ამოცანებით ცხოველთა ტესტირება ოპერაციიდან 10-12 დღის შემდეგ, 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 მეთოდოლოგია 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% ხსნარი (30მლ/წთ-ში), შემდეგ კი, 15 წთ-ის განმავლობაში ფიქსატორი – 4%-იანი ფორმალინის ხსნარი (30მლ/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. შემდეგ, 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 შესწავლისათვის.

ელექტროლიზური დაზიანების შემთხვევაში თავის ტვინის შესასწავლი სტრუქტურების ციტოარქიტექტონიკური საზღვრების იდენტიფიკაციისათვის, გამოიყენებოდა ნისლის მეთოდი, რისთვისაც ანათლები კრეზილ-ვიოლეტით, სტანდარტული მეთოდოლოგიის მიხედვით იღებებოდა.

იმუნოტოქსინებით (GAT1-SAP, 192 IgG-saporin) MS-ის დაზიანების ეფექტები ფასდებოდა აცეტილქოლინტრანსფერაზა-მგრძნობიარე (Acetylcholintransferase - ChAT) და გამა-ამინო-ერბო მჟავა ერგული (GABA-ერგული) პარალბუმინ-

მგრძობიარე (parvalbumine - PV) ნეირონების შეღებვის ინტენსივობის შემცირებაზე დაკვირვებით. MS-ის იმუნოტოქსინით დაზიანება, ასევე ფასდებოდა აცეტილქოლინესტერაზა მგრძობიარე ((Acetylcholinesterase - AChE) უჯრედების შემცირებით ჰიპოკამპის ანათლებზე (ჰიპოკამპის AChE გამოიყენება MS-ის დაზიანების მოცულობის შეფასებისათვის).

თვითოეული ჯგუფიდან შემთხვევითი შერჩევით ხდებოდა ნიმუშების აღება იმუნოშეღებისათვის. ფიქსირებული ანათალი იღებებოდა AChE-ის (h-134, კურდლის პოლიკლონური ანტისხეულები; Santa Cruz Biotechnology; Inc. USA), ChAT-ის (anti-choline-acetyltransferase antibody; abcam, EU) და PV-ის (anti-parvalbumin antibody; abcam, EU) პირველადი ანტისხეულებით და მეორადი კურდლის სპეციფიკური ანტისხეულებით (Rabbit specific secondary antibody/HRP) და ABC შეღებვის სისტემით. შეღებილი პრეპარატების შესწავლა ხდებოდა ფლუორესცენტული ოპტიკური მიკროსკოპით – Leica MM AF. უჯრედების რაოდენობრივი შეფასება ხდებოდა MS-სა და ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში. დასათვლელად გამოიყენებოდა ორგანზომილებიანი დასათვლელი ბადე (250 μm X 250 μm) და გადიდება შეადგენდა 400–ს. როგორც საექსპერიმენტო, ისე საკონტროლო ჯგუფიდან ხდებოდა MS-ის და ჰიპოკამპის 6-10 ანათლის შერჩევა. საკონტროლო და დაზიანების მქონე ჯგუფებიდან მიღებული ჰისტოლოგიური მონაცემების შესადარებლად გამოიყენებოდა Two-sample *t*-ტესტი.

2.4. ელექტროფორეზი და იმუნობლოტინგი (Western blotting)

დეკაპიტაციის შემდეგ ხდებოდა ჰიპოკამპის ამოღება და მშრალ ყინულში დაუყონებლივი გაყინვა. თითოეული ვირთაგვას ჰიპოკამპის ქსოვილი ქმნიდა ერთ ნიმუშს. ტვინის ქსოვილი სწრაფად ჰომოგენიზდებოდა ბუფერში: 20 mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.32 M სუკროზა, 1 mM მეთილენდიამინტეტრააცეტილ მჟავა, 0.5 mM ეთილენ გლიკოლ–ბის (2-aminoethylether)-N,N,N',N'-ტეტრააცეტილ მჟავას შემცველი პროტეაზა ინჰიბიტორების კოკტილი, რაც ცენტრიფუგდებოდა 1000 გ–მდე 10 წუთის განმავლობაში. სითხე (ბირთვისგან თავისუფალი ჰომოგენატი) ცენტრიფუგდებოდა 16 000გ–ით 20 წთ–ის განმავლობაში, ირეცხებოდა იგივე პირობებში და მიღებული P2 მემბრანა–მიტოქონდრიული ფრაქცია გამოიყენებოდა

მომდევნო ექსპერიმენტებში. ნატრიუმ დოდეცილ სულფატის (sodium dodecyl sulphate – SDS) კონცენტრირებული ხსნარი ემატებოდა ჰომოგენატის ფრაქციას, რომ მიგველო საბოლოო 5%-იანი კონცენტრაცია. ყველა ფრაქციაში ცილის კონცენტრაცია განისაზღვრებოდა გაოთხმაგებულად, რისთვისაც ვიყენებდით a micro bicinchoninic acid protein-ის გასაზომ კიტს (Pierce). ულუფები შეიცავდა 30 μg ცილას და თანაბარი მოცულობით ედებოდა გელს. SDS-გელის ელექტროფორეზი და ვესტერნ ბლოტინგი ტარდებოდა სტანდარტული პროტოკოლით. პირველ რიგში ცილა გადაიტანებოდა ნიტროცელულოზურ მემბრანებზე, მემბრანები იღებებოდა Ponceau S-ის ხსნარით, რომ დადასტურებულიყო მისი გადატანა და გელზე თანაბარი განაწილება. შემდეგ მემბრანები ორჯერ ირეცხებოდა ფიზიოლოგიური ხსნარით (+ 0.05%) და იჭრებოდა მოლეკულური წონის სტანდარტის შესაბამისად 3 ნაწილად, რომ ჩაგვეტარებინა ცალცალკე იმუნოშეღებვა ანტისხეულების გამოყენებით. გამოიყენებოდა სტანდარტული იმუნოქიმიური პროცედურები პეროქსიდაზა-მგრძნობიარე ანტისხეულების გამოყენებით და SuperSignal West Pico ქემილუმინესცენტური სუბსტრატი (Pierce). შემდეგ "ბლოტების" ექსპონირება ხდებოდა რენდგენის ფირებზე, რომელთა მგრძნობელობა წინასწარ იყო გაძლიერებული (Amersham). ჯგუფების ოპტიკური სიმკვრივე, რომელიც აჩვენებს $\alpha 7$ და M_1 რეცეპტორებს, იზომებოდა LabWorks 4.0-ის საშუალებით (UVP). აუტორადიოგრაფების კალკულაცია ხდებოდა თვითეულ გელში ოთხი სტანდარტის ჩართვით, რომლებიც შეიცავდნენ ჰომოგენატის ფრაქციას ინტაქტური ვირთაგვების თავის ტვინიდან. თითოეული სტანდარტი შეიცავს 15-60 μg ცილას. ყოველი ხაზის ოპტიკური სიმკვრივე ექსპერიმენტული სინჯებიდან (მათ შორის საკონტროლო ვირთაგვების ჰიპოკამპიდან) იყოფოდა ოპტიკურ სიმკვრივეზე, რომელიც, იგივე აუტორადიოგრაფების კალიბრირების გზით, შეესაბამებოდა 30 μg ცილას სტანდარტში.

2.5. 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 MS-ის სხვადასხვა დაზიანების მქონე ჯგუფებიდან მიღებული ჰისტოლოგიური მონაცემების შესადარებლად გამოიყენებოდა Two-sample *t*-ტესტი. ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც საშუალო ± SEM. განსხვავებათა სარწმუნოება ფასდებოდა $p < 0.05$ დონეზე.

თავი 3. მიღებული შედეგები

3.1. სეპტოჰიპოკამპური პროექციების სელექტიური და არასელექტიური დაზიანების ეფექტები ჰიპოკამპის ქოლინერგულ აქტიურობასა და მეხსიერებაზე

ჰიპოკამპის შიგა წრეებში აცეტილქოლინის გამოთავისუფლება იწვევს როგორც მუსკარინული (mAChRs), ასევე ნიკოტინური (nAChRs) ქოლინერგული რეცეპტორების აქტივაციას, რაც განაპირობებს უჯრედის აგზნებადობასა და სინაპსური ტრანსმისიის მოდულაციას. რეცეპტორთა ეს ორი ტიპი განსხვავებულად არის წარმოდგენილი ჰიპოკამპში და სხვადასხვა ფუნქციებში არის ჩართული. სეპტოჰიპოკამპური პროექციების ჩართულობა მეხსიერების მოდულაციაში, შეისწავლებოდა მეხსიერების სხვადასხვა ფორმასა და ჰიპოკამპში ქოლინერგული რეცეპტორების ექსპრესიაზე MS-ის ელექტროლიზური, ასევე ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების იმუნოტოქსინით სელექტიურად დაზიანების ეფექტების შედარების საფუძველზე.

3.1.1. სეპტოჰიპოკამპური პროექციების სელექტიური და არასელექტიური დაზიანების ეფექტები ჰიპოკამპის ქოლინერგული რეცეპტორების ექსპრესიაზე

იმუნოჰიმიური კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ვესტერნ ბლოტის მეთოდით ჰიპოკამპში ქოლინერგული ნიკოტინური $\alpha 7$ და მუსკარინული M_1 რეცეპტორების

ექსპრესიის შესწავლა MS-ის ელექტროლიზური (არასელექტიური) და იმუნოტოქსინებით (GAT1-SAP და 192 IgG saporin) სექტოპიპოკამპური ქოლინერგული ან GABA-ერგული პროექციების დაზიანების პირობებში.

3.1.1.1. მეთოდები

ცხოველები. ჰიპოკამპში ქოლინერგული რეცეპტორების ექსპრესია შეისწავლებოდა ქცევით ექსპერიმენტებში მონაწილე ყველა ჯგუფში შემთხვევით შერჩეულ 6 ცხოველზე. ქცევით ექსპერიმენტებში და შესაბამისად, იმუნოქიმიურ ექსპერიმენტებში მონაწილე ჯგუფებს ქმნიდნენ ცხოველები რომელთაც ჩაუტარდათ შემდეგი პროცედურები: MS-ის ელექტროლიზური დაზიანება, MS-ის ქოლინერგული ნეირონების დაზიანება 192 IgG-saporin-ის მიკროინექციით და MS-ის GABA-ერგული ნეირონების დაზიანება GAT1-SAP-ით, ასევე MS-ში mouse saporin-ის შეყვანა (დაზიანების კონტროლი).

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

ვესტერნ ბლოტი. დაწვრილებით იხილეთ ქვეთავში – 2.2.

3.1.1.2. მიღებული შედეგები

ქცევითი ექსპერიმენტების დასრულების შემდეგ ელექტროლიზური დაზიანების მქონე ყველა ცხოველში ხდებოდა დაზიანების ლოკალიზაციისა და ფართობის ვერიფიკაცია ნისლის მეთოდით შეღებილ ტვინის ანათლებზე (სურ.1ბ). ჩვენს ექსპერიმენტებში ელექტროლიზური დაზიანება მოიცავდა საშუალოდ ინტაქტური MS-ის 69%-ს (50%–88%). ქცევით ექსპერიმენტებში მიღებული შედეგებიდან სტატისტიკურ დამუშავებას ექვემდებარებოდა ელექტროლიზური დაზიანების მქონე მხოლოდ იმ ცხოველთა მონაცემები, რომელთა MS-ის მაქსიმალური და მინიმალური დაზიანების ფართობი და ლოკალიზაცია შეესაბამებოდა ანათალების სქემატურ გამოსახულებაზე მონიშნულ უბანს (სურ. 1ა).

საკონტროლო და იმუნოდაზიანების მქონე ჯგუფებიდან შემთხვევითად ხდებოდა 4 ცხოველის შერჩევა, რომელთა ტვინიდან აღებული ჰიპოკამპის და MS-ის

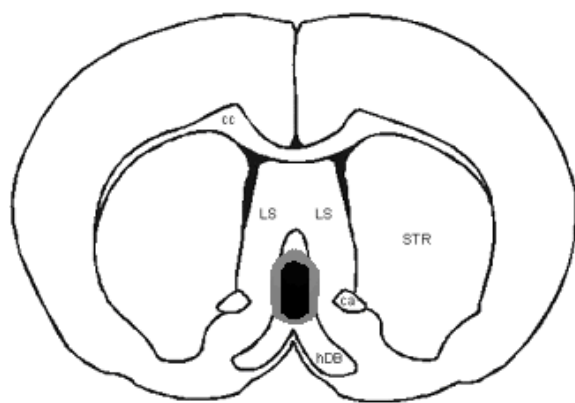
ანათლებზე იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით ფასდებოდა იმუნოტოქსინების (GAT1-SAP და 192 IgG-saporin) MS-ში მიკროინექციით გამოწვეული დაზიანების ხარისხი.

იმუნოჰისტოქიმიურმა კვლევამ აჩვენა, რომ MS-ში 192 IgG saporin-ის მიკროინექცია სარწმუნოდ ამცირებს ქოლინერგული ChAT-მგრძნობიარე ნეირონების შეღებვის ინტენსიობას 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 ($P < 0.05$). საკონტროლო და იმუნოდაზიანების მქონე ცხოველების იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით შეღებილი MS-ის ანათლების ნიმუშები და სტატისტიკური დამუშავების შედეგების ამსახველი ჰისტოგრამები მოცემულია სურ. 2 – 4-ზე.

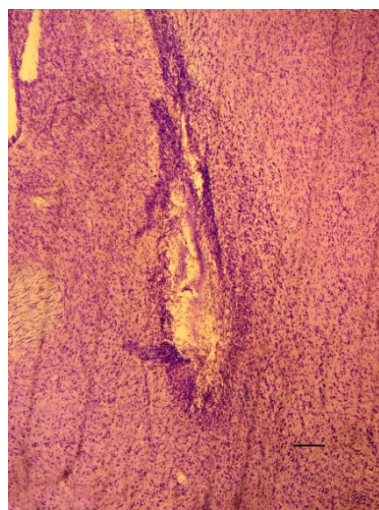
იმუნოჰისტოქიმიურ კვლევებში MS-ის იმუნოტოქსინებით დაზიანება, ასევე ფასდებოდა ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში AChE-მგრძნობიარე ნეირონების შეღებვის ინტენსიობის შეფასებით. მიღებულმა შედეგებმა გამოავლინა, რომ MS-ში 192 IgG-saporin-ის ინექცია იწვევს გაცილებით მეტი AChE-მგრძნობიარე ნეირონების სარწმუნო შემცირებას 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 - $P < 0.01$; (სურ. 5).

სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების ჰიპოკამპის ქოლინერგული ნიკოტინური $\alpha 7$ რეცეპტორების ექსპრესიის ვესტერნ ბლოტის მეთოდით ჩატარებული იმუნოქიმიური კვლევის შედეგების სტატისტიკურმა დამუშავებამ (The One-way-Way ANOVA) გამოავლინა ჯგუფის სარწმუნო ეფექტი ($P < 0.001$). Post Hock ანალიზით (Tukey Test) გამოვლინდა სარწმუნო განსხვავება საკონტროლო ჯგუფისა და MS-ის GAT1-SAP-ით ($P < 0.01$) და ელექტროლიზური ($P < 0.05$) დაზიანების მქონე ცხოველებს შორის და არასარწმუნო განსხვავება საკონტროლო ჯგუფისა და MS-ის 192 IgG-saporin-ით დაზიანების მქონე ცხოველებს შორის ($P = 0.094$). საკონტროლო და ელექტროლიზური დაზიანების მქონე ცხოველების ჰიპოკამპის ქოლინერგული მუსკარინული M_1 რეცეპტორების ექსპრესიის კვლევის სტატისტიკურმა დამუშავებამ

გამოავლინა არასარწმუნო განსხვავება ამ ჯგუფებს შორის ($P=1,000$). რადგან ელექტროლიზური დაზიანება არ იწვევს ჰიპოკამპის ქოლინერგული მუსკარინული M_1 რეცეპტორების ექსპრესიის ცვლილებას, იმუნოტოქსინებით დაზიანების ეფექტების კვლევა არ მივიჩნიეთ მიზანშეწონილად. იმუნოქიმიური კვლევის შედეგები და მიკროგრამები მოცემულია სურ. 6 და 7-ზე.

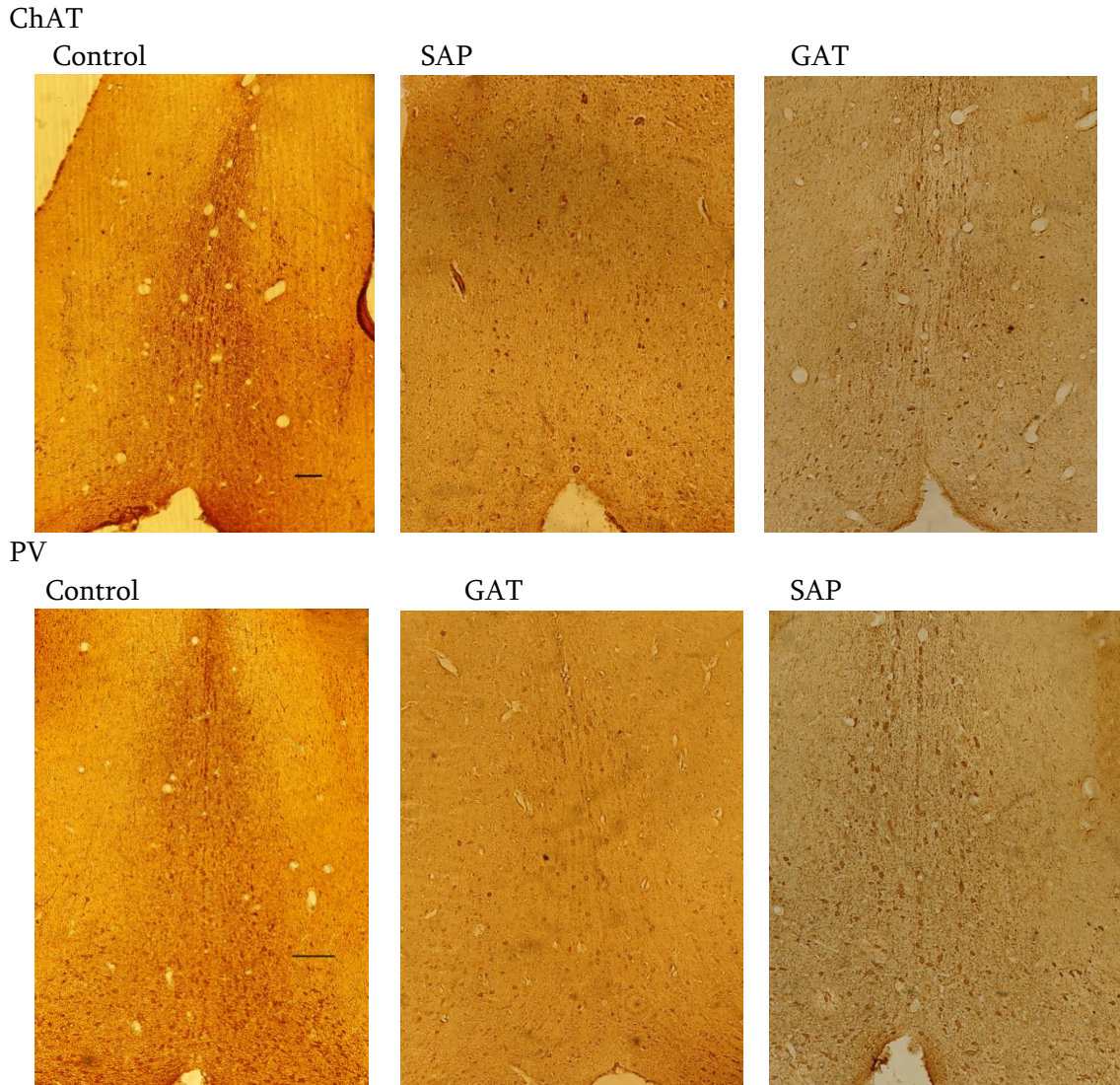


ა

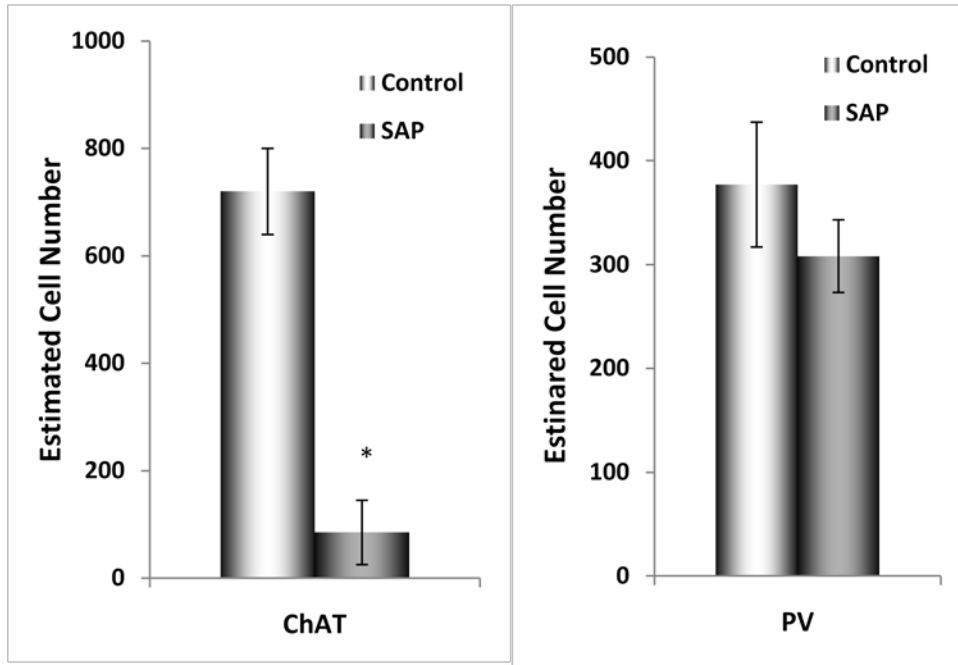


ბ

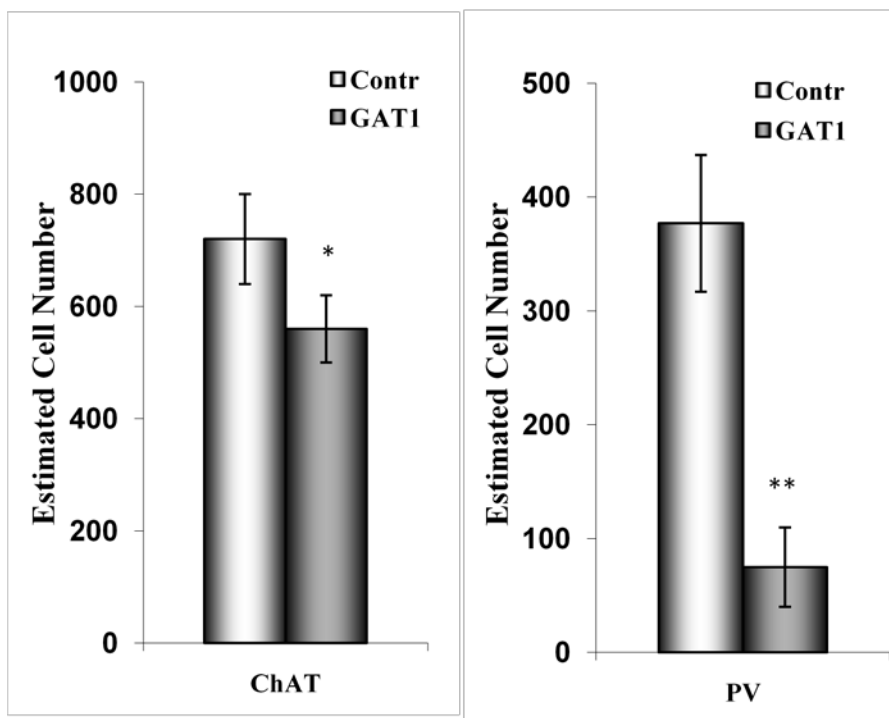
სურ.1. ა - MS-ის ელექტროლიზური დაზიანების მქონე ცხოველებში დაზიანების მაქსიმალური (ღია ფერი) და მინიმალური (მუქი ფერი) ფართობის სქემატური გამოსახულება; ბ - MS-ის ელექტროლიზური დაზიანების ნიმუში.



სურ. 2. MS-ის ანათლებზე ChAT- და GABA-ერგული PV-მგრძნობიარე იმუნოშეღებელი ნეირონები MS-ში Mouse saporin-ისა (Control), 192-IgG saporin-ის (SAP) GAT1-SAP-ის (GAT) შეყვანის შემდეგ. Scale bar, 250 μ m.



სურ. 3. საკონტროლო და 192 IgG-saporin-ით იმუნოდაზიანების მქონე ცხოველებში MS-ის ChAT- და GABA-ერგული PV-მგრძნობიარე ნეირონების რაოდენობა. * $P < 0.001$

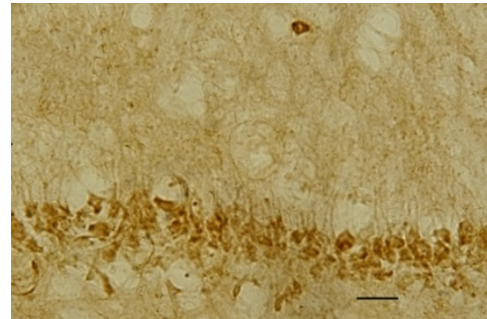


სურ. 4. საკონტროლო და GAT1-SAP-ით იმუნოდაზიანების მქონე ცხოველებში MS-ის ChAT- და GABA-ერგული PV-მგრძობიარე ნეირონების რაოდენობა. * $P < 0.05$; ** $P < 0.001$

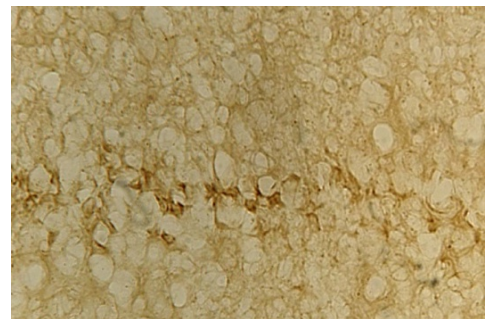
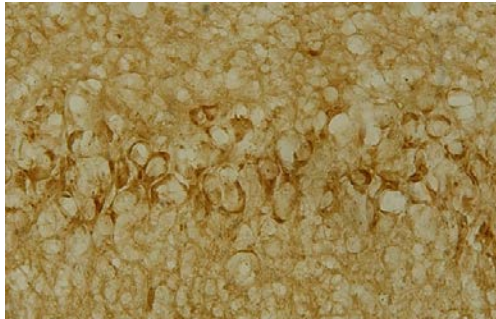
AChE CA3
Control



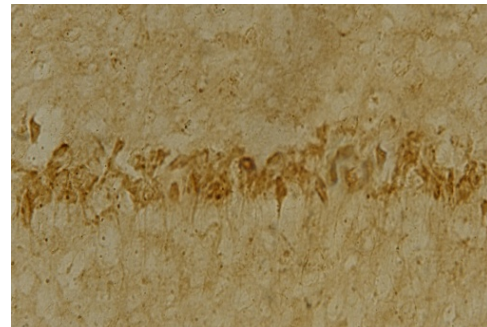
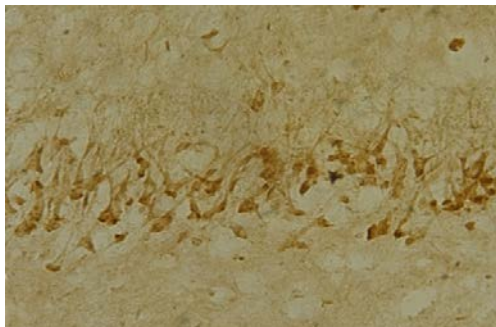
AChE CA1



SAP

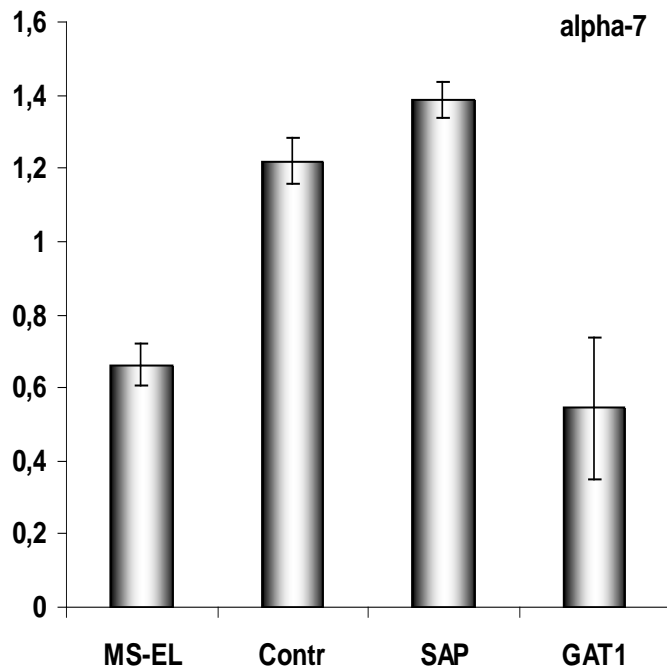


GAT

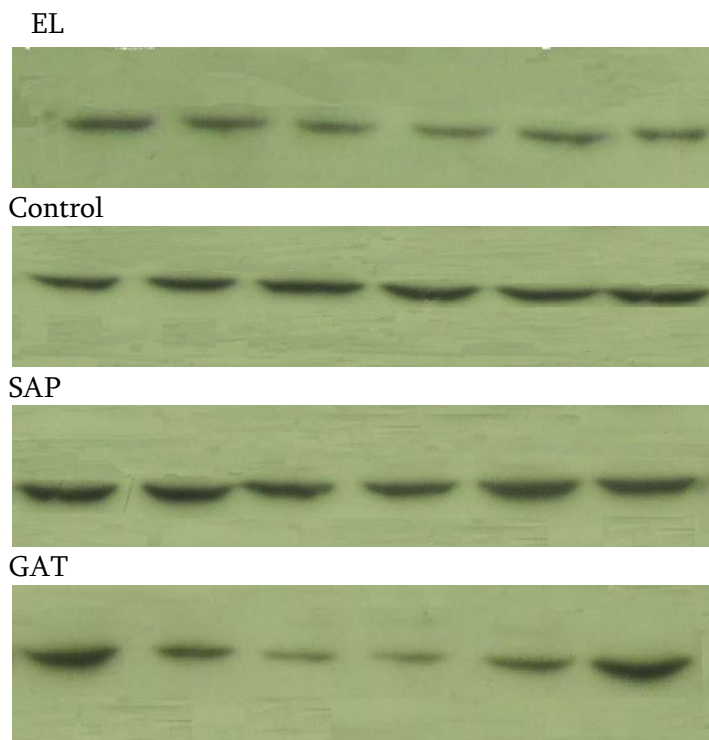


სურ.5. AChE მგრძობიარე იმუნოშეღებლი ნეირონები MS-ის იმუნოტოქსინებით დაზიანების მქონე ცხოველების ჰიპოკამპის CA1 და CA3 ველებში. Scale bar, 50 μ m.

ა

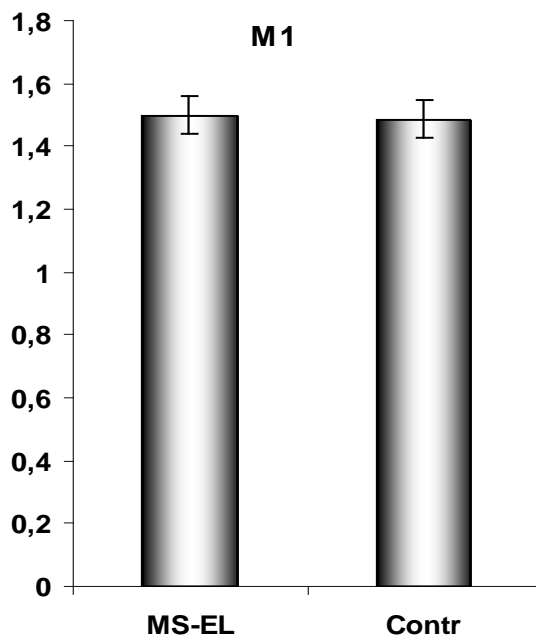


ბ

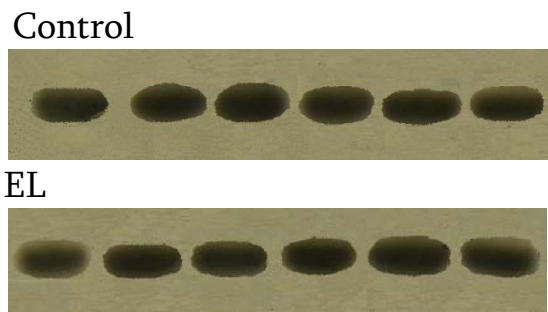


სურ. 6. ა – სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში იმუნოქიმიური მეთოდით (Western blot) გამოვლენილი ჰიპოკამპში ქოლინერგული ნიკოტინური $\alpha 7$ რეცეპტორების ექსპრესია. ბ – $\alpha 7$ რეცეპტორის მიკროგრამები.
ორდინატაზე: ცილის ფარდობითი კონცენტრაცია.

ა



ბ



სურ. 7. ა – სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში იმუნოქიმიური მეთოდით (Western blot) გამოვლენილი ჰიპოკამპში ქოლინერგული მუსკარინული M₁ რეცეპტორების ექსპრესია. ბ – M₁ რეცეპტორის მიკროგრამები.
ორდინატაზე: ცილის ფარდობითი კონცენტრაცია.

3.1.2. მედიალური სეპტუმის ელექტროლიზური და იმუნოტოქსინებით დაზიანების ეფექტები სივრცით ხანგრძლივ მეხსიერებაზე.

სივრცითი მეხსიერების შესაფასებლად გამოყენებული ამოცანების შესრულება შესაძლებელია, როგორც მეხსიერების დეკლარატიული ასევე არადეკლარატიული ფორმების გამოყენებით. 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 3.1.1) გამოვლინდა, რომ MS-ის ელექტროლიზური ან იმუნოტოქსინებით სეპტოჰიპოკამპური პროექციების სელექტიური დაზიანება იწვევს, როგორც ჰიპოკამპის ნეიროტრანსმიტერული აქტიურობის, ასევე რეცეპტორების ექსპრესიის ცვლილებებს. ასევე, გამოვლინდა MS-ში ChAT და GABA-ერგული PV მგძნობიარე უჯრედების სარწმუნო შემცირება.

ჰიპოკამპის დეკლარატიული მეხსიერებაში განსაკუთრებული როლის და ჰიპოკამპის შიგა ნერვული წრეების მოდულაციაში MS-ის როლის გათვალისწინებით, ექსპერიმენტების ამ სერიაში შეისწავლებოდა ვირთაგვებში MS-ის ელექტროლიზური და იმუნოტოქსინებით (GAT1-SAP და 192 IgG-saporin) დაზიანების ეფექტები მორისის წყლის აუზის ამოცანის ხილულბაქნიან ვერსიაში დასწავლის სტრატეგიის არჩევაზე.

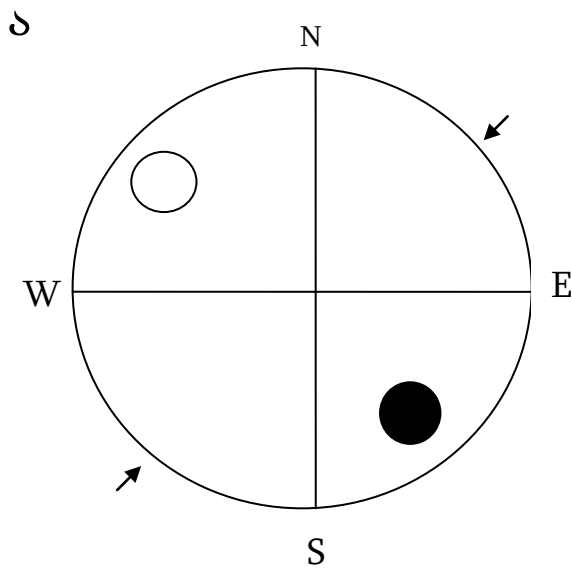
3.1.2.1. მეთოდები

ცხოველები. ქცევითი ექსპერიმენტები ჩატარებულია 32 ვირთაგვაზე; მათგან 8 ვირთაგვას ჩაუტარდა MS-ში GAT1-SAP-ის (GAT), 8 ვირთაგვას 192 IgG saporin -ის (SAP) მიკროინექცია, ხოლო საკონტროლო ჯგუფის 4 ვირთაგვას - mouse saporin-ის ინექცია. MS-ის ელექტროლიზური დაზიანების მქონე ჯგუფშიც (EL) $n = 8$, ხოლო საკონტროლო ჯგუფის 4 ვირთაგვას ჩაუტარდათ ცრუოპერაცია დაზიანების გარეშე. ნეიროქირურგიული ოპერაციის მიმდინარეობა და ცრუოპერაციის პროცედურა დაწვრილებით აღწერილია ზოგადი მეთოდის ქვეთავში - 2.2. რადგან

ცრუოპერირებულ და mouse saporin-ის მიკროინექციის მქონე ცხოველებს შორის სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა ($P > 0.05$), ისინი გაერთიანდა ერთ საკონტროლო ჯგუფში (control; $n = 8$).

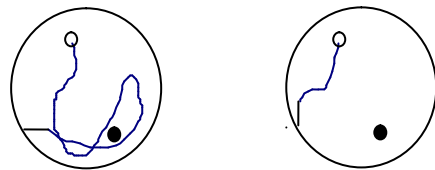
ნეიროქირურგიული ოპერაცია. დაწვრილებით აღწერილია ზოგადი მეთოდების თავში. იხ. 2.2.

მორისის წყლის აუზის ხილულბაქნიანი ვერსია. ცხოველთა ტესტირება ორიენტირებით მდიდარ გარემოში მორისის წყლის აუზის პირობებში ტარდებოდა. ექსპერიმენტების დროს აუზი შევსებული იყო გაუმჟვინვალე (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 ბაქნაზე 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 დამორებული, ორი სხვადასხვა ადგილიდან ხორციელდებოდა. სატესტო სინჯებში განხორციელებული პასუხები, ცურვის ტრაექტორიის საფუძველზე, კლასიფიცირდებოდა როგორც ადგილის დასწავლის სტრატეგია, ან ერთეულ მხედველობით სიგნალზე ორიენტაციის სტრატეგია. სურ. 8-ზე



ბ

ადგილის დასწავლა სიგნალით ორიენტაცია



სურ.8. მორისის აუზში სივრცითი ამოცანის ხილულბაქნიანი ვერსიით ტესტირების პირობები (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

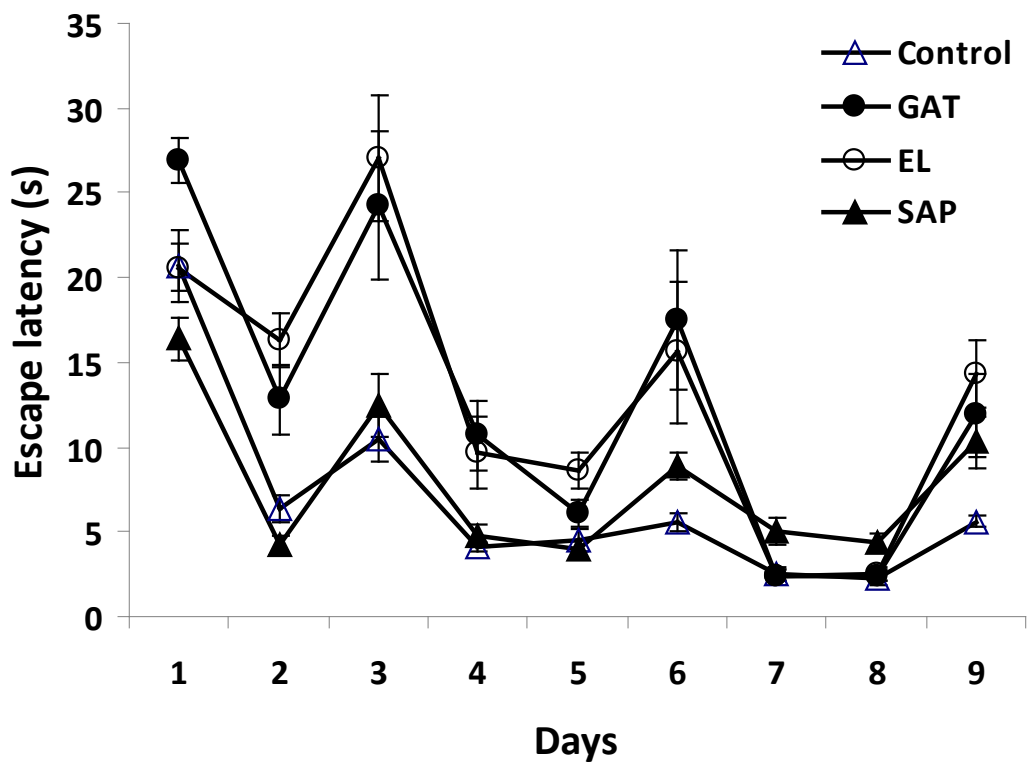
წარმოდგენილია მორისის აუზის სქემატური გამოსახულება და სხვადასხვა სტრატეგიით განხორციელებულ გაცურვათა ტრაექტორიები. წყლის აუზში აღირიცხებოდა გადაადგილების ტრაექტორია, ასევე, სხვა რაოდენობრივი მონაცემები (აუზის ცალკეულ ზონაში გატარებული დრო, ბაქნის პოვნის ლატენტობა, ცურვის სიჩქარე, გაცურვის მანძილი და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

სტატისტიკური ანალიზი: ქცევით ექსპერიმენტებში სხვადასხვა ჯგუფებში მიღებულ მონაცემთა შორის განსხვავების სარწმუნობა ფასდებოდა ANOVA-ს გამოყენებით (The two-Way ANOVA; SigmaStat statistical software). საჭიროების შემთხვევაში ტარდებოდა *post hoc* ანალიზი (Tukey's ტესტი). ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც $\text{საშ} \pm \text{SEM}$. განსხვავებათა სარწმუნობა შეფასებულია $P < 0.05$ დონეზე.

3.1.2.2. მიღებული შედეგები

საკონტროლო ჯგუფის და MS-ის ქოლინერგული ნეირონების დაზიანების მქონე ვირთაგვები სწრაფად სწავლობენ ხილული ბაქნის მოძიებას და 6-7 წმ-იან ზღვარს უკვე მეორე დღეს აღწევენ (სურ. 9). MS-ის ელექტროლიზური და GAT1-SAP-ით დაზიანების მქონე ცხოველები პირველი ოთხი დღე ბაქნის მოძიების ლატენტური დროით ჩამორჩებიან საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებს (Burjanadze et al., 2015). შესაბამისად, MS-ის ელექტროლიზური და GABA-ერგული ნეირონების დაზიანების მქონე ცხოველებში ადგილის დასწავლის პროცესი სარწმუნოდ შენელებულია.

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 ($F(4,287) = 12.569$; $P < 0.001$) და სატესტო სიტუაციის ($F(1,287) = 28.556$; $P < 0,001$) სარწმუნო ეფექტი; ასევე, გამოვლინდა ჯგუფსა და სატესტო სიტუაციას შორის სარწმუნო ურთიერთკავშირი ($F(4,287) = 3.744$; $P = 0.006$). სხვადასხვა ჯგუფს შორის განსხვავება დამოკიდებულია სატესტო სიტუაციაზე ანუ ტესტირება ტარდება ხილული თუ უხილავი ბაქნის პირობებში. ამოცანის ხილულბაქნიან ვერსიაში



სურ. 9. წყლის აუზის ამოცანაში ბაქნის პოვნის ლატენცური დროის საშუალო მაჩვენებლები ხილული (დღეები:1, 2, 4, 5, 7, 8) და უხილავი ბაქნის (დღეები:3, 6, 9) პირობებში.

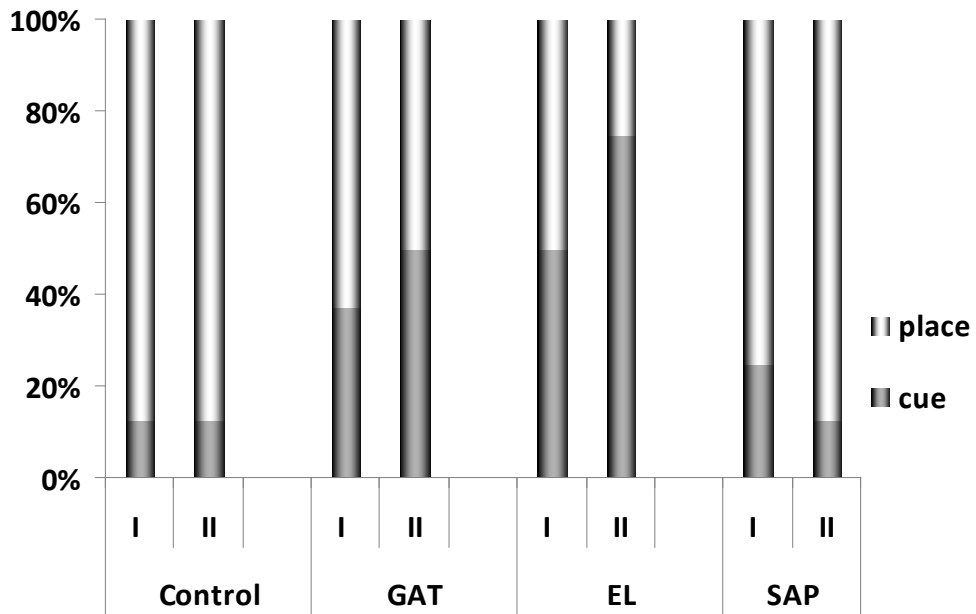
Post Hock ანალიზით გამოვლინდა ჯგუფებს შორის არასარწმუნო განსხვავება ($P > 0,05$), ხოლო უხილავბაქნიან ვერსიაში ბაქნის პოვნის ლატენტურ დროთა შორის განსხვავება საკონტროლო ჯგუფის და MS-ის ელექტროლიზური დაზიანების მქონე ($P < 0,001$) ან GAT1-SAP-ით დაზიანების მქონე ცხოველებს შორის განსხვავება სარწმუნოა ($P < 0,001$), თუმცა საკონტროლო და SAP-ით დაზიანების მქონე ცხოველებს შორის განსხვავება არასარწმუნოა ($P = 0,286$).

სატესტო სინჯებში პასუხები, ვირთაგვების გაცურვების ტრაექტორიის მიხედვით, კლასიფიცირდებოდა როგორც სიგნალზე ორიენტაციის ან ადგილის დასწავლის სტრატეგია. სატესტო სინჯში საკონტროლო და SAP ჯგუფის ცხოველების უმრავლესობა იყენებდა ადგილის დასწავლის სტრატეგიას. EL და GAT ჯგუფის ცხოველები, საკონტროლო და SAP ჯგუფის ცხოველებისაგან განსხვავებით ტესტს ასრულებდნენ უპირატესად სიგნალის დასწავლის სტრატეგიის გამოყენებით. საკონტროლო და SAP ჯგუფის ცხოველები სარწმუნოდ წარმატებულები იყვნენ უხილავი ბაქნის პირობებში, რაც უკავშირდება მათ მიერ ადგილის დასწავლის სტრატეგიის ეფექტურად გამოყენების უნარს.

ორივე სატესტო სინჯში ვირთაგვების მიერ გამოყენებული სტრატეგიების შესახებ ინფორმაცია მოტანილია სურ. 10-ზე და I ცხრილში.

ცხრილი I. ვირთაგვების რაოდენობა, რომლებიც იყენებდნენ ადგილის ან სიგნალის დასწავლის სტრატეგიას I და II სატესტო სინჯში.

		cue	place
Control	I	1	7
	II	1	7
GAT	I	3	5
	II	4	4
EL	I	4	4
	II	6	2
SAP	I	2	6
	II	1	7



სურ. 10. სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველთა მიერ ორ სატესტო სინჯში გამოყენებული ადგილის დასწავლის ან სიგნალზე ორიენტაციის სტრატეგია (%).

3.1.3. მედიალური სეპტუმის ელექტროლიზური და იმუნოტოქსინებით დაზიანების ეფექტები სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებაზე.

ექსპერიმენტების ამ სერიაში შეისწავლებოდა ვირთაგვებში MS-ის ელექტროლიზური და იმუნოტოქსინებით (GAT1-SAP და 192 IgG-saporin) დაზიანების ეფექტები სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებაზე. ხანმოკლე სივრცითი მეხსიერება ფასდებოდა სპონტანური მორიგეობის ამოცანაში.

3.1.3.1 მეთოდები

ცხოველები. ექსპერიმენტები ჩატარებულია 220-250 გ. წონის დაახლოებით 4 თვის ასაკის 34 მამრ ვირთაგვაზე, რომლებიც დაყოფილი იყვნენ 4 ჯგუფად: Control (n=8), EL (n=8), SAP (n=8) და GAT (n=10).

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

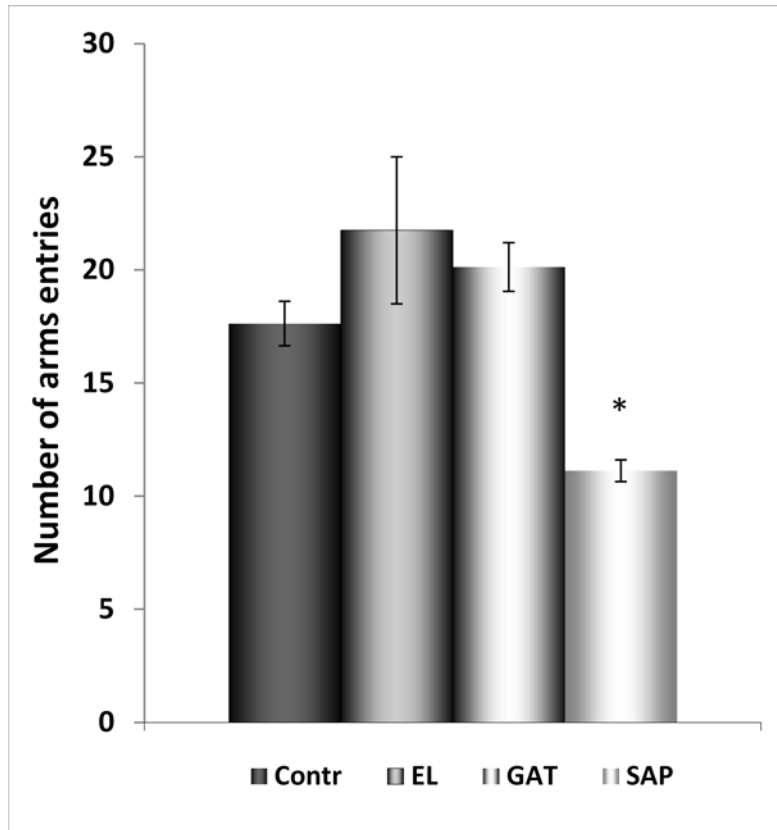
სპონტანური მორიგეობა: ცხოველთა ტრენირება მინდინარეობდა 4-მკლავიან ჯვრისმაგვარ ლაბირინთში, რომლის იატაკი და კედლები დამზადებული იყო ყავისფერი პლექსიგლასისაგან. ლაბირინთის მკლავები (12.5 სმ სიგანე, 46 სმ სიგრძე, 7 სმ სიმაღლე) ცენტრალური მოედნიდან რადიალურად იყო განლაგებული. ლაბირინთი მოთავსებული იყო საექსპერიმენტო 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 სარწმუნობა ფასდებოდა ANOVA-ს გამოყენებით (The One-way-Way ANOVA; SigmaStat statistical software). საჭიროების შემთხვევაში ტარდებოდა *post hoc* ანალიზი (Tukey's ტესტი). ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც $\text{საშ} \pm \text{SEM}$. განსხვავებათა სარწმუნობა შეფასებულია $P < 0.05$ დონეზე.

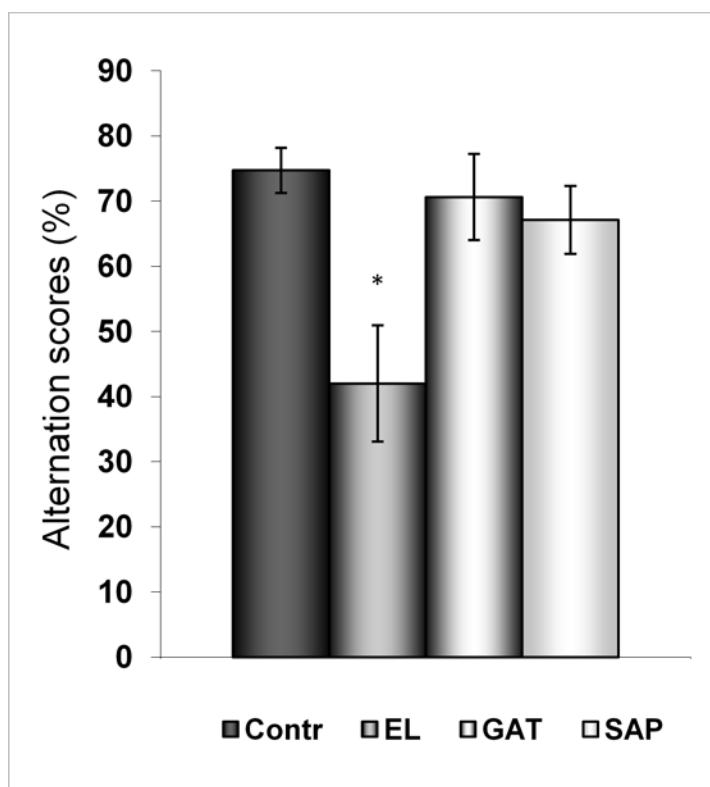
3.1.3.2. მიღებული შედეგები

სხვადასხვა ჯგუფში მკლავებში შესვლის რაოდენობრივი მაჩვენებლები მოცემულია სურ. 11-ზე. ამ მონაცემთა სტატისტიკური დამუშავებით (One-Way ANOVA) გამოვლინდა ჯგუფის სარწმუნო ეფექტი ($F_{3,31}=6,783$, $P = 0.001$). Post hoc (Tukey Test) ანალიზით არასარწმუნო განსხვავება გამოვლინდა საკონტროლო და ელექტროლიზური დაზიანების მქონე ($P = 0.381$), Gat-ის ($P = 0.759$) ან Sap-ის ($P = 0.072$) ინექციის მქონე ვირთაგვებს შორის. თუმცა, სარწმუნო განსხვავებაა EL და SAP ჯგუფებს შორის ($P = 0.001$) და ასევე, GAT და SAP ჯგუფებს შორის ($P = 0.007$).

სხვადასხვა ჯგუფებში სპონტანური მორიგეობის პროცენტული მაჩვენებლები მოცემულია სურ. 12-ზე. ამ მონაცემთა სტატისტიკური დამუშავებით (One-way-Way ANOVA) გამოვლინდა ჯგუფის სარწმუნო ეფექტი ($F_{3,31}=5,332$, $P = 0.005$). Post hoc (Tukey Test) ანალიზით გამოვლინდა სარწმუნო განსხვავება საკონტროლო და ელექტროლიზური დაზიანების მქონე ($P = 0.006$) ვირთაგვებს შორის, ხოლო საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებსა და Gat-ის ($P = 0.968$), ან Sap-ის ($P = 0.834$) ინექციის მქონე ვირთაგვებს შორის განსხვავება არასარწმუნოა (Dashniani et al., 2015).



სურ. 11. სპონტანური მორიგეობის ტესტის შესრულებისას მკლავებში შესვლის რაოდენობა სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში (საშ ± SEM).
 ორდინატაზე : მკლავებში შესვლათა რაოდენობა; *P < 0.01



სურ. 12. სპონტანური მორიგეობის ტესტის შესრულებისას მორიგეობის პროცენტული მაჩვენებლები სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში (საშ ± SEM).
 ორდინატაზე : სპონტანური მორიგეობა (%); *P < 0.01

3.2. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები მეხსიერების სხვადასხვა ფორმაზე მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული და GABA-ერგული პროექციების თანადროული დაზიანების პირობებში

გლუტამატერგულ ტრანსმისიას მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებისათვის განსაკუთრებული მნიშვნელობა აქვს. ამასთან, ნეიროდეგენერაციულ დარღვევებთან ასოცირებულ ნეირონების ექსციტოტოქსიკურ კვდომას, ამაგზნებელი ნეიროტრანსმიტერების მომატებულ აქტიურობას უკავშირებენ. კლინიკურმა გამოკვლევებმა დაადასტურა AD-ის სიმპტომატური მკურნალობისთვის NMDA (N-მეთილ-d-ასპარტატი) გლუტამატერგულ რეცეპტორის ანტაგონისტის 1-ამინო-3,5-დიმეთილადამანტანის (მემანტინი) ეფექტურობა და მეხსიერების მნიშვნელოვანი გაუმჯობესება მისი ქოლინესთერაზას ინჰიბიტორთან ერთად გამოყენებისას (Tariot et al., 2004; Gauthier et al., 2005; Reisberg et al., 2006).

ამ მონაცემებზე დაყრდნობით, ჩვენს ექსპერიმენტებში შევისწავლიდით მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტებს მეხსიერების სხვადასხვა ფორმაზე MS-ის ქოლინერგული და GABA-ერგული პროექციების თანადროული დაზიანების პირობებში. ჩვენს მიერ შერჩეული მემანტინის დოზა (5მგ/კგ) განისაზღვრა ლიტერატურაში არსებული მონაცემების მიხედვით, რომელთა საფუძველზე ეს დოზა შეიძლება მიჩნეულ იქნას ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტებში გამოყენებული თერაპიული დოზის ანალოგად.

ქცევით ექსპერიმენტებში მონაწილეობდა ცხოველების ოთხი ჯგუფი: საკონტროლო ჯგუფის ცხოველები, რომლებსაც უტარდებოდათ ინტრაპერიტონიალურად ფიზიოლოგიური ხსნარის - Contr(S) ან მემანტინის - Contr(M) შეყვანა და იმუნოდაზიანების მქონე ცხოველების ჯგუფები, რომელთაც ასევე უტარდებოდათ ინტრაპერიტონიალურად ფიზიოლოგიური ხსნარის - MS_{SIMM}(S) ან მემანტინის - MS_{SIMM}(M) შეყვანა. თვითოეულ ჯგუფში ცხოველთა რაოდენობა შეადგენდა 8-ს.

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,

ქცევითი ექსპერიმენტების დაწყებამდე. ინტრაპერიტონიალური შეყვანის მეთოდი არჩეულ იქნა ყველა ცხოველის მიერ მემანტინის თანაბარი დოზით მიღების უზრუნველსაყოფად, რაც შესაძლოა განვითარდეს ნივთიერებების პერორალურად მიღების შემთხვევაში.

3.2.1. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები ხანგრძლივ სივრცით მუხსიერებაზე მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული და GABA-ერგული პროექციების თანადროული დაზიანების პირობებში

ექსპერიმენტების ამ სერიაში შეისწავლებოდა ვირთაგვებში MS-ის იმუნოტოქსინებით – GAT1-SAP და 192 IgG-saporin თანადროული დაზიანების და მემანტინის ქრონიკული შეყვანის ეფექტები მორისის წყლის აუზის ამოცანის ხილულბაქნიან ვერსიაში დასწავლის სტრატეგიის არჩევაზე. წყლის აუზის ამოცანის დიზაინი აღწერილია ქვეთავში 3.1.1.

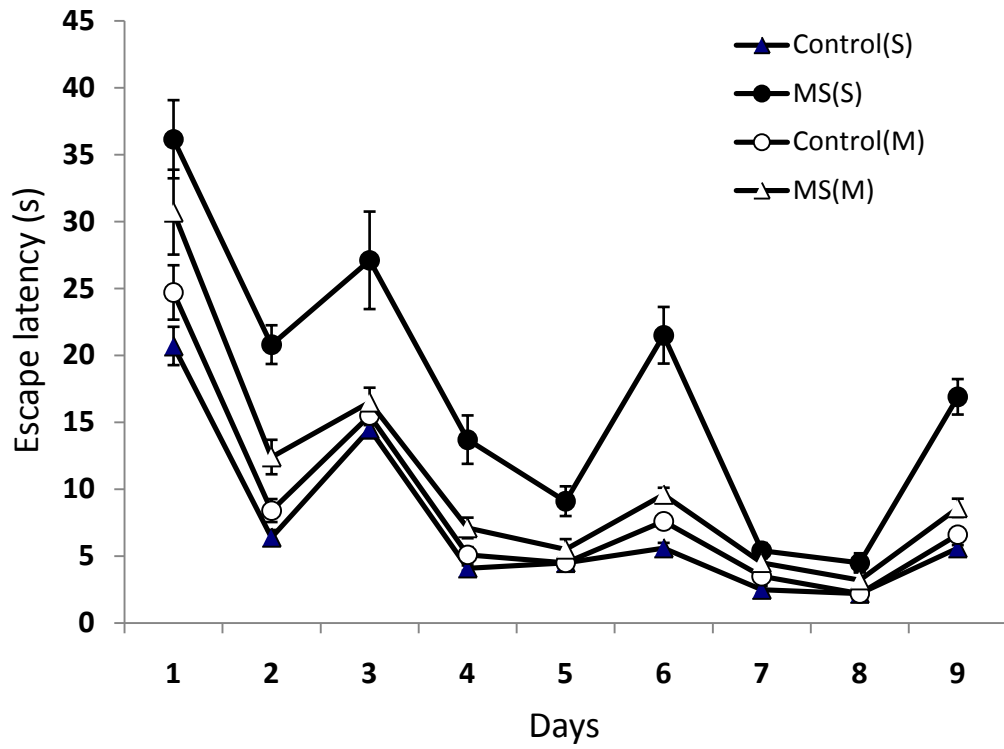
3.2.1.1. მეთოდები

ცხოველები. ექსპერიმენტები ჩატარებულია 220-250 გ. წონის დაახლოებით 4 თვის ასაკის 34 მამრ ვირთაგვაზე. ცხოველთა ჯგუფები და მემანტინის შეყვანის დიზაინი განსაზღვრულია ქვეთავში – 3.2.

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

3.2.1.2. შედეგები

საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვები, ისევე როგორც Contr(M) და MS_{IMM}(M) ჯგუფის ცხოველები, სწრაფად სწავლობენ ხილული ბაქნის მოძიებას და 6-7 წმ-იან ზღვარს უკვე მეოთხე დღეს აღწევენ (სურ. 13). MS-ის იმუნოდაზიანების მქონე ცხოველები, რომელთაც უტარდებოდათ ინტრაპერიტონიალურად ფიზიოლოგიური ხსნარის შეყვანა, პირველი ექვსი დღე ბაქნის მოძიების ლატენტური დროით ჩამორჩებიან სხვა ჯგუფის ცხოველებს და 7 წმ-იან ზღვარს მეშვიდე დღეს აღწევენ.



სურ. 13. წყლის აუზის ამოცანაში ბაქნის პოვნის ლატენცური დროის საშუალო მაჩვენებლები ხილული (დღეები:1, 2, 4, 5, 7, 8) და უხილავი ბაქნის(დღეები:3, 6, 9) პირობებში.

შესაბამისად, $MS_{SIMM}(S)$ ჯგუფში ადგილის დასწავლის პროცესი სარწმუნოდ შენელებულია.

სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველებში ბაქნის პოვნის ლატენტურ დროთა სტატისტიკურმა დამუშავებამ (two way ANOVA; ფაქტორები: ჯგუფი და სატესტო სიტუაცია - ხილული/უხილავი ბაქანი) გამოავლინა ჯგუფის ($F(3, 287) = 19,986; P < 0.001$) და სატესტო სიტუაციის ($F(1, 287) = 7,706; P = 0,006$) სარწმუნო ეფექტი; თუმცა, გამოვლინდა ჯგუფსა და სატესტო სიტუაციას შორის არასარწმუნო ურთიერთკავშირი ($F(3, 287) = 1,782; P = 0.151$). სხვადასხვა ჯგუფს შორის განსხვავება დამოკიდებულია სატესტო სიტუაციაზე. ამოცანის ხილულბაქნიან ვერსიაში Post Hock ანალიზით გამოვლინდა ჯგუფებს შორის არასარწმუნო განსხვავება $Contr(S)$ და $Contr(M)$ ან $MS_{SIMM}(M)$ ჯგუფებს შორის ($P=0,88; P=0,082$, შესაბამისად), ხოლო უხილავბაქნიან ვერსიაში ბაქნის პოვნის ლატენტურ დროთა შორის განსხვავება $Contr(S)$ და $MS_{SIMM}(S)$ ჯგუფებს შორის ($P<0,001$), ასევე $MS_{SIMM}(S)$ და $MS_{SIMM}(M)$ ჯგუფებს შორის ($P<0,001$) სარწმუნოა.

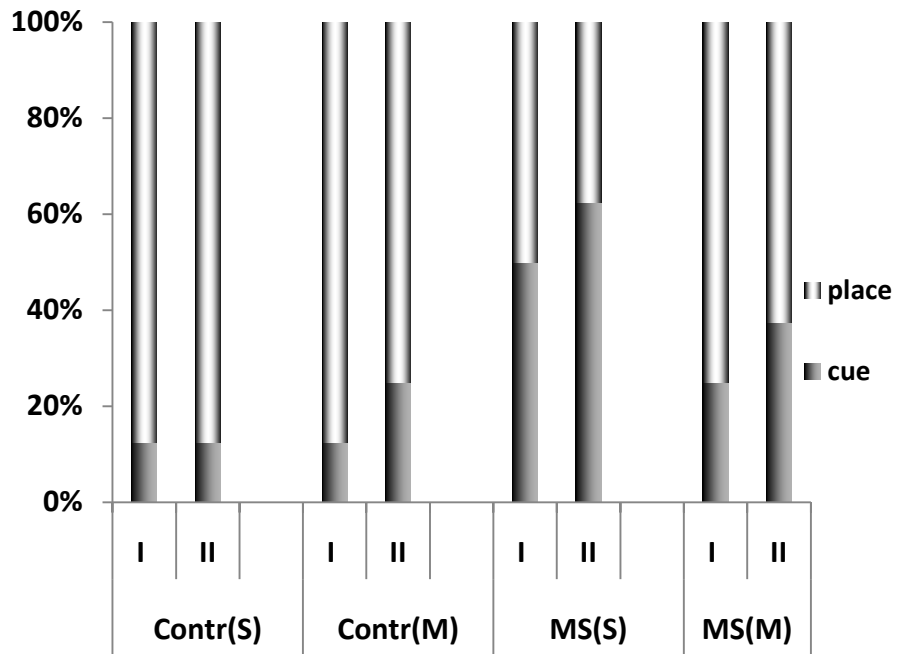
სატესტო სინჯებში პასუხები, ვირთაგვების გაცურვების ტრაექტორიის მიხედვით, კლასიფიცირდებოდა როგორც სიგნალზე ორიენტაციის ან ადგილის დასწავლის სტრატეგია. პირველ სატესტო სინჯში $MS_{SIMM}(S)$ ჯგუფის ცხოველებისაგან განსხვავებით, $contr(S)$, $contr(M)$ და $MS_{SIMM}(M)$ ჯგუფის ცხოველების უმრავლესობა იყენებდა ადგილის დასწავლის სტრატეგიას. $MS_{SIMM}(S)$ ჯგუფის ცხოველების უმრავლესობა ამოცანას ასრულებს სიგნალზე ორიენტაციის სტრატეგიით. ამ ჯგუფში სიგნალის დასწავლაზე დამოკიდებულების გაზრდა $contr(S)$, $contr(M)$ და $MS_{SIMM}(M)$ ჯგუფებთან შედარებით სარწმუნოა ($P < 0,05$, ყველა ჯგუფისთვის). მეორე სატესტო სინჯში $MS_{SIMM}(S)$ ჯგუფის ცხოველების უმრავლესობა ამოცანას ასრულებდა სიგნალზე ორიენტაციის სტრატეგიით, $contr(S)$, $contr(M)$ და $MS_{SIMM}(M)$ ჯგუფის ცხოველების უმრავლესობა კი, იყენებდა ადგილის დასწავლის სტრატეგიას. ამ ჯგუფებს შორის გამოყენებული სტრატეგიების მიხედვით სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა ($P > 0,1$). ორივე სატესტო სინჯში ვირთაგვების მიერ გამოყენებული სტრატეგიების შესახებ ინფორმაცია მოტანილია სურ. 14-ზე და II ცხრილში.

ცხრილი II. სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების მიერ I და II სინჯში გამოყენებული სტრატეგიები.

		cue	place
Contr(S)	I	1	7
	II	1	7
Contr(M)	I	1	7
	II	2	6
MS _{IMM} (S)	I	4	4
	II	6	2
MS _{IMM} (M)	I	2	6
	II	3	5

სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების მიერ ორივე სატესტო სინჯში გამოყენებული სტრატეგიების შეფასებამ გამოავლინა, რომ საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვები, რომელთაც უტარდებოდათ ინტრაპერიტონიალურად ფიზიოლოგიური ხსნარის შეყვანა, 16 სინჯიდან ადგილის დასწავლის სტრატეგიას იყენებდნენ 14 სინჯში, მაშინ როცა MS-ის იმუნოდაზიანების მქონე ცხოველები, რომელთაც უტარდებოდათ ინტრაპერიტონიალურად ფიზიოლოგიური ხსნარის შეყვანა, ეს სტრატეგია მხოლოდ ექვსჯერ გამოიყენეს. ადგილის დასწავლაზე დამოკიდებულების შემცირება ამ ჯგუფში საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით სარწმუნოა ($P < 0.02$).

საინტერესოა, რომ MS-ის იმუნოდაზიანების მქონე ცხოველები, რომელთაც უტარდებოდათ ინტრაპერიტონიალურად ფიზიოლოგიური ხსნარის შეყვანა ავლენდნენ მნიშვნელოვან განსხვავებას დასწავლის სესიის განმავლობაში. contr(S), contr(M) და MS_{IMM}(M) ჯგუფების ვირთაგვების უმრავლესობა (ადგილის დამსწავლელები) MS_{IMM}(S) ჯგუფის ცხოველებთან (სიგნალის დამსწავლელები) შედარებით, სარწმუნოდ წარმატებულები იყვნენ უხილავი ბაქნის პირობებში, რაც უკავშირდება მათ მიერ ადგილის დასწავლის სტრატეგიის ეფექტურად გამოყენების უნარს.



სურ. 14. სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველთა მიერ ორ სატესტო სინჯში გამოყენებული ადგილის დასწავლის ან სიგნალზე ორიენტაციის სტრატეგია (%).

3.2.2. მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტები ხანმოკლე სივრცით მებსიერებაზე მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული და GABA-ერგული პროექციების თანადროული დაზიანების პირობებში

ცხოველურ მოდელებში კოგნიტიურ ფუნქციებზე მემანტინის ეფექტები შესწავლილია ხანგრძლივი მებსიერების და ნაკლებად, ხანმოკლე მებსიერების პარადიგმაში. ექსპერიმენტების ამ სერიაში შეისწავლებოდა ვირთაგვებში MS-ის იმუნოტოქსინებით – GAT1-SAP და 192 IgG-saporin თანადროული დაზიანების და მემანტინის ქრონიკული შეყვანის ეფექტები სივრცით ხანმოკლე მებსიერებაზე. ხანმოკლე სივრცითი მებსიერება ფასდებოდა სპონტანური მორიგეობის ამოცანაში. ამოცანის დიზაინი აღწერილია ქვეთავში 3.1.2.

3.2.2.1. მეთოდები

ცხოველები. ცხოველთა ჯგუფები და მემანტინის შეყვანის დიზაინი განსაზღვრულია ქვეთავში – 3.2.

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

სტატისტიკური ანალიზი: ჯგუფებს შორის განსხვავების შესაფასებლად სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა ANOVA-ს გამოყენებით (One Way ANOVA; SigmaStat statistical software). საკონტროლო და MS-ის იმუნოდაზიანების მქონე ჯგუფებიდან მიღებული ჰისტოლოგიური მონაცემების შესადარებლად გამოიყენებოდა Two-sample t -ტესტი. ყველა მონაცემი წარმოდგენილია როგორც საშ \pm SEM. განსხვავებათა სარწმუნობა ფასდებოდა $p < 0.05$ დონეზე.

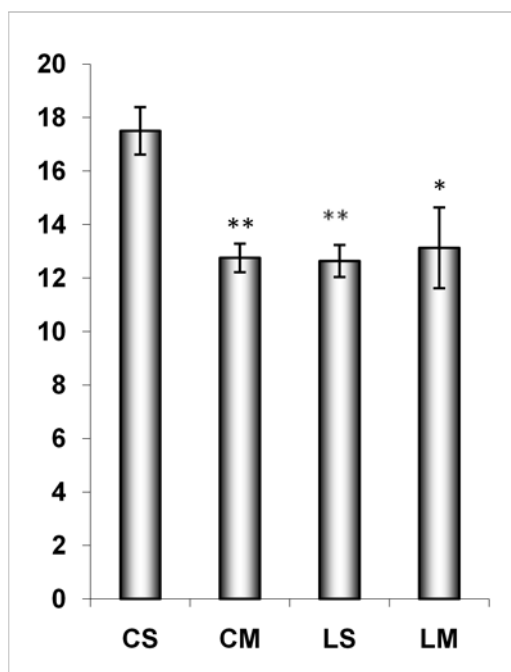
3.2.2.2. მიღებული შედეგები

სატესტო სესიაში სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების ლაბორინტის მკლავებში შესვლათა რაოდენობის სტატისტიკურმა ანალიზმა (The one way ANOVA) აჩვენა ჯგუფის სარწმუნო ეფექტი ($F_{3,31}=5.962$, $P = 0.003$). Post hoc (Tukey Test) ანალიზმა აჩვენა სარწმუნო განსხვავება Contr(S) და Contr(M) ჯგუფებს შორის ($P = 0.008$). ასევე სარწმუნო განსხვავება გამოვლინდა contr(S) ჯგუფსა და $MS_{IMM}(M)$ ან $MS_{IMM}(S)$

ჯგუფებს შორის ($P = 0.007$; $p = 0.016$, შესაბამისად). სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა $MS_{IMM}(M)$ და $MS_{IMM}(S)$ ჯგუფებს შორის ($P=0.983$; სურ. 15).

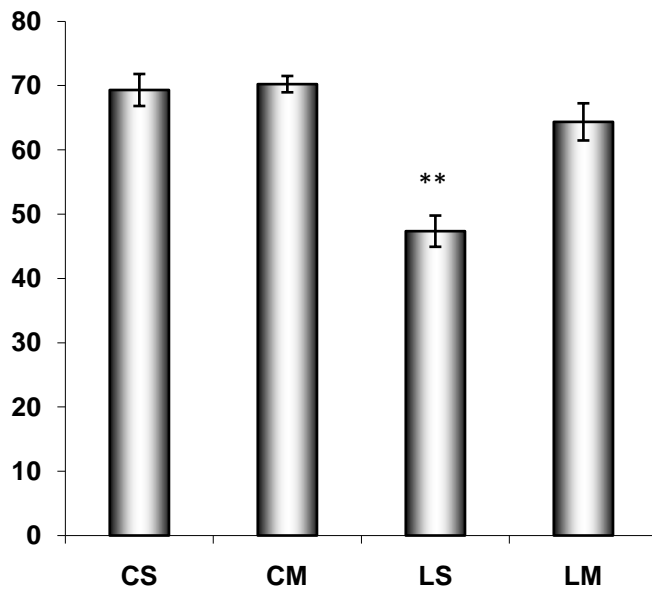
ქცევითმა ექსპერიმენტმა აჩვენა, რომ საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედება სარწმუნოდ ამცირებს მკლავებში შესვლათა რაოდენობას [Contr(M) vs. Contr(S)]. ეს მონაცემები შეესაბამება კვლევის მონაცემებს, რომელშიც გამოვლინდა, რომ 4 კვირის განმავლობაში მემანტინის ქრონიკულმა შეყვანამ სარწმუნოდ შეამცირა მკლავებში შესვლათა რაოდენობა ვირთაგვებში (Dashniani et al., 2012).

სურ. 16 აჩვენებს, რომ MS-ის იმუნოდაზიანება სარწმუნოდ აუარესებს სივრცითი მორიგეობის მაჩვენებელს. სატესტო სესიაში სხვადასხვა ჯგუფის ცხოველების სივრცითი მორიგეობის მაჩვენებლების სტატისტიკურმა ანალიზმა (The one way ANOVA) გამოავლინა ჯგუფის სარწმუნო ეფექტი ($F_{3,31}=20.449$, $P = 0.001$). Post hoc (Tukey Test) ანალიზმა აჩვენა სარწმუნო განსხვავება Contr(S) და $MS_{IMM}(S)$ ჯგუფის ცხოველებს შორის ($P < 0.001$), თუმცა $MS_{IMM}(M)$ და Contr(S), და ასევე Contr(S) და $MS_{IMM}(M)$ ჯგუფებს შორის სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა ($P = 0.993$, $P = 0.454$, შესაბამისად). მემანტინის ქრონიკული შეყვანა იწვევს სპონტანური მორიგეობის გაუმჯობესებას (Naneishvili et al., 2016). $MS_{IMM}(M)$ და $MS_{IMM}(S)$ ჯგუფის ცხოველებს შორის განსხვავება სარწმუნოა ($P < 0.001$).



სურ. 15. სპონტანური მორიგეობის ტესტის შესრულებისას მკლავებში შესვლის რაოდენობა სხვადასხვა ჯგუფის [CS - contr(S), CM - contr(M), LM - MS_{IMM}(M), LM - MS_{IMM}(S)] ცხოველებში. ორდინატაზე : მკლავებში შესვლათა რაოდენობა;

* P < 0.05, ** P < 0.01.



სურ. 16. სპონტანური მორიგეობის ტესტის შესრულებისას მორიგეობის პროცენტული მაჩვენებლები სხვადასხვა ჯგუფის [CS - contr(S), CM - contr(M), LM - MS_{IMM}(M), LM - MS_{IMM}(S)] ცხოველებში. ორდინატაზე : სპონტანური მორიგეობა (%); ** P < 0,001.

მიღებული შედეგების განხილვა

წარმოდგენილ ნაშრომში შევისწავლიდით სეპტოჰიპოკამპური პროექციების მნიშვნელობას ჰიპოკამპის ქოლინერგულ აქტიურობასა და მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებში. მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებს, ასევე ჰიპოკამპში მუსკარინული და ნიკოტინური ქოლინერგული რეცეპტორების ექსპრესიას შევისწავლიდით მედიალური სეპტუმის ელექტროლიზური და ასევე, იმუნოტოქსინებით ქოლინერგული ან/და GABA-ერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანების პირობებში. მედიალური სეპტუმის ელექტროლიზური დაზიანება მოიცავს, როგორც იქ არსებული უჯრედების, ისე გამავალი ბოჭკოების დაზიანებას. ადრეულ შრომებში მეხსიერების პროცესებში მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული ნეირონების მნიშვნელობაზე მსჯელობდნენ მედიალური სეპტუმის არასელექტიური - ელექტროლიზური ან ნეიროტოქსინებით დაზიანების ეფექტების საფუძველზე. მოგვიანებით, წინა საუკუნის 90-იანი წლების დასაწყისში პირველად იქნა გამოყენებული ბაზალური წინატვინის ქოლინერგული ნეირონების ეფექტური - სელექტიური დაზიანების მეთოდი (Wiley et al., 1991; Milner et al., 1997). ეს მეთოდი გულისხმობს იმუნოდაზიანების ტექნიკის გამოყენებას: დაბალი აფინურობის p75 ნეიროტროფინის p75 რეცეპტორის ანტისხეული უკავშირდება მცენარეული წარმოშობის პროტეინს საპორინს (saporin). მას შემდეგ, რაც 192 IgG-saporin-ის კომპლექსი მოხვდება უჯრედში, მიიჩნევა, რომ ის ტრასპორტირდება რეტროგრადულად სომაში, იწვევს რიბოსომის ინაქტივაციას, რაც განაპირობებს ცილების სინთეზის შეჩერებას და უჯრედის სიკვდილს (Curtis et al., 1995). 192 IgG-saporin-ის იმუნოდაზიანების სპეციფიკურობა განპირობებულია იმ ფაქტით, რომ p75 რეცეპტორები ძირითადად (განსაკუთრებით ბაზალურ წინატვინში), ლოკალიზებულნი არიან ქოლინერგულზე და არა GABA-ერგულ ნეირონებზე. თუმცა, სუბპოპულაციები რომლებიც ექსპრესირებენ ამ რეცეპტორს შესაძლოა არსებობდეს სხვა უბნებშიც. ამ ტოქსინის ნატიფი მიკროინექციის პირობებში სხვა რეგიონებზე მისი გავრცელება იშვიათად ვლინდება. შესაბამისად, 192 IgG-saporin განიხილება ერთ-ერთ ყველაზე სელექტიურ და პოტენციურ დამაზიანებელ

ტოქსინად და შესაბამისად, ჩვენს კვლევაში გამოიყენება სეპტოჰიპოკამპური ქოლინერგული გზის დაზიანებისა და AD-ის მოდელირებისთვის ცხოველებში.

უკანასკნელ დრომდე მედიალური სეპტუმის არაქოლინერგული ნეირონების დაზიანებისთვის გამოიყენებოდა ნეიროტოქსინები (იბოტენის, კაინის მჟავა და ა.შ.), რომლებიც უპირატესად, თუმცა არა სელექტიურად, სხვა ტიპის უჯრედებთან ერთად აზიანებს GABA-ერგულ უჯრედებს. ნეიროტოქსინების გამოყენების შემთხვევაში ქოლინერგული ნეირონების დაზიანების ხარისხი GABA-ერგულთან შედარებით მცირეა. რამდენიმე წლის წინ ხელმისაწვდომი გახდა ახალი იმუნოტოქსინი – GAT-1 SAP, რომელიც სელექტიურად აზიანებს GABA-ერგულ ნეირონებს. GAT-1 SAP წარმოადგენს GABA ტრანსპორტერ-1-ის (GAT-1) და საპორინის (ცილა , რომელიც იწვევს რიბოსომის ინაქტივაციას) ქიმიურ ნაერთს, ხოლო GAT-1 არის ნატრიუმ-დაკავშირებული ნეიროტრანსმიტერის ტრანსპორტერი, რომელიც პასუხისმგებელია GABA-ს მემბრანის გასწვრივ გადაადგილებაზე.

შესაბამისად, ჩვენს ექსპერიმენტებში ვიყენებდით მედიალური სეპტუმის, როგორც არასელექტიურ - ელექტროდაზიანების, ასევე იმუნოტოქსინებით ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანების მეთოდებს. ჩვენს ექსპერიმენტებში იმუნოტოქსინებით დაზიანების სელექტიურობის ვერიფიკაცია ხორციელდებოდა იმუნოჰისტოლოგიური კვლევის საფუძველზე. ამ კვლევებით გამოვლინდა, რომ მედიალურ სეპტუმში 192 IgG-saporin-ის მიკროინექციის პირობებში ძირითადად დაზიანებულია ქოლინერგული ნეირონები, ხოლო პარვალბუმინ მგრძნობიარე GABA-ერგული ნეირონები შენარჩუნებულია. პირიქით, GAT1-SAP-ის მიკროინექციის პირობებში GABA-ერგული ნეირონების რაოდენობა შემცირებულია, ხოლო ქოლინერგული ნეირონების რაოდენობა საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით უმნიშვნელოდ არის შემცირებული. მედიალური სეპტუმის გარდა იმუნოტოქსინების მიკროინექციის ეფექტებს ვაფასებდით ასევე, ჰიპოკამპში აცელქოლინესთერაზას შეღებვის ინტენსივობით, რომელიც ასევე გამოიყენება მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული ნეირონების დაზიანების შესაფასებლად. ამ შემთხვევაშიც მედიალურ სეპტუმში 192 IgG-saporin-ის მიკროინექციის პირობებში გამოვლინდა აცელქოლინესთერაზა

აქტიურობის მნიშვნელოვანი შემცირება და არ გამოვლინდა GAT1-SAP-ის მიკროინექციის პირობებში.

მეხსიერების პროცესებში სეპტოჰიპოკამპური პროექციების მნიშვნელობის გამოსავლენად ვიყენებით ამოცანებს, რომლებიც სივრცითი მეხსიერების შეფასებისთვის გამოიყენება. სივრცითი მეხსიერების დეკლარატიულ და არადეკლარატიულ ფორმას და დასწავლის პროცესს ვაფასებდით მორისის აუზის პირობებში, ხოლო სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებას - სპონტანური მორიგეობის ამოცანით. ეს არჩევანი განპირობებული იყო იმ გარემოებით, რომ სივრცითი მეხსიერება მღრღნელებში, მაიმუნებსა და ადამიანებში ჰიპოკამპის ერთ-ერთ ძირითად ფუნქციად მიიჩნევა. გარდა ამისა, დღეისათვის მიჩნეულია, რომ სივრცითი მეხსიერების მექანიზმები მღრღნელებსა და ადამიანებში ერთმანეთის მსგავსია, რაც შესაძლებელია ეფექტურად იქნას გამოყენებული ადამიანის კოგნიტიური ფუნქციების დარღვევათა ცხოველებზე მოდელირებისათვის. ამ არჩევანს ამართლებს ის გარემოებაც, რომ 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.

ჩვენს მიერ გამოყენებული მორისის აუზის ამოცანის მოდიფიკაცია, რომელიც Bizon-ის და კოლეგების (Bizon et al., 2003) მიერ არის შემოთავაზებული, შესაძლებლობას იძლევა შეფასდეს სივრცითი მეხსიერების, როგორც დეკლარატიული - ჰიპოკამპდამოკიდებული ფორმა, რომელიც ამ ამოცანაში ადგილის დასწავლით (ბაქნის ადგილმდებარეობის დასწავლა გარემოში არსებული მრავალი ორიენტირის საფუძველზე ხდება) ვასდება, ასევე, სივრცითი მეხსიერების არადეკლარატიული ფორმა, რომლის ფორმირებასა და რეალიზაციაში ჰიპოკამპი არ მონაწილეობს. ამ ამოცანაში სივრცითი მეხსიერების არადეკლარატიული ფორმა ვასდება ერთეულ სიგნალზე დამოკიდებული სტრატეგიის არჩევით, რაც დისკრეტულ სიგნალსა და ქცევით პასუხს შორის ასოციაციის ფორმირებას ეფუძნება.

ჰიპოკამპის დაზიანება არ აუარესებს სიგნალის დასწავლას, რომლის დროსაც, უსიამოვნო გარემოდან განრიდებისთვის გამოიყენება ერთეული სიგნალი, მაგალითად, ხილული ბაქანი. გარდა ამისა, მეხსიერების სხვადასხვა ფორმის ერთიდაიგივე პირობებში შეფასება და მონაცემთა შედარება საშუალებას იძლევა მეხსიერების დეფიციტის გამოვლენისას გამოირიცხოს ისეთი ფაქტორების ზემოქმედება, როგორცაა ცვლილებები მოტივაციურ და ემოციურ სფეროში, მოტორულ უნარებში, ყურადღების მექანიზმებსა და ა.შ.

მორისის აუზში დასწავლის პროცესი ფასდებოდა ტესტირების მომდევნო დღეებში ბაქნის პოვნის ლეტენტური დროის შემცირებით. მიღებული შედეგების თანახმად, ელექტროლიზური და GABA-ერგული ნეირონების დაზიანების მქონე 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 დაზიანების შედეგად არ იცვლება. საინტერესოა, რომ ქოლინერგული ნეირონების დაზიანების მქონე ცხოველები დასწავლის პროცესების მიმდინარეობით საკონტროლო ცხოველებისაგან არ განსხვავდებიან. დასწავლის პროცესში ცხოველების მიერ არჩეული სტრატეგიის გამოვლენა ხორციელდებოდა სატესტო სინჯებში. გამოვლინდა, რომ საკონტროლო და ქოლინერგული ნეირონების დაზიანების მქონე ცხოველები სატესტო სინჯებში უპირატესად ადგილის დასწავლის სტრატეგიის გამოყენებით ასრულებენ გაცურვებს, ხოლო ელექტროლიზური და GABA-ერგული ნეირონების დაზიანების მქონე ცხოველები უპირატესად სიგნალზე ორიენტაციის სტრატეგიას იყენებენ. ამრიგად, მიღებული შედეგები მიანიშნებს ჰიპოკამპდამოკიდებული სივრცითი მეხსიერების დეფიციტზე მხოლოდ ელექტროლიზური და GABA-ერგული ნეირონების დაზიანების მქონე ცხოველებში.

მიუხედავად იმისა, რომ მეხსიერების პროცესებში ჰიპოკამპის ქოლინერგული აქტიურობის მნიშვნელობა აღიარებულია, ჩვენი მონაცემების მიხედვით, ჰიპოკამპის ძირითადი ქოლინერგული შესავალის დაზიანება არ იწვევს სივრცითი მეხსიერების დეფიციტს. ეს ფაქტი არც თუ ისე მოულოდნელი იყო, რადგან სხვა ავტორების მიერ

მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული ნეირონების დაზიანების ეფექტები ჰიპოკამპდამოკიდებული მეხსიერების პროცესებში ურთიერთსაწინააღმდეგოა (Kirby, Rawlins, 2003; Frick et al., 2004; Lehmann et al., 2003, McGaughy et al., 2000; Lecourtier et al., 2011). სამეცნიერო ლიტერატურაში არსებული მონაცემების მიხედვით, სეპტოჰიპოკამპური გზების დაზიანება ყოველთვის არ იწვევს მეხსიერების დეფიციტს, რომელიც, როგორც წესი, ვლინდება ასაკთან დაკავშირებული დარღვევების ან ნეიროდეგენერაციული დაავადებების დროს (McGaughy et al., 2000; Micheau and Marighetto, 2011; Schliebs and Arendt, 2011). მეხსიერების დეფიციტი, უპირატესად, აღწერილია შრომებში, რომლებშიც 192 IgG-საპორინის პარკუჭებში შეყვანა ხდებოდა. არსებული მონაცემების მიხედვით, 192 IgG-საპორინის პარკუჭში მიკროინექცია აზიანებს არა მხოლოდ ბაზალური წინა ტვინის ქოლინერგულ ნეირონებს, არამედ ნათხემის პურკინიეს უჯრედებსაც (Waite et al., 1995), რაც თავის მხრივ, მოტორულ დარღვევებს განაპირობებს (Waite et al., 1995). ქოლინერგული ნეირონების თანადროულად, ნათხემის დაზიანება ართულებს დაზიანების ეფექტის ინტერპრეტაციას. შესაძლოა ვივარაუდოთ, რომ იმუნოტოქსინის პარკუჭებში მიკროინექციით გამოწვეული ეფექტი ბაზალური წინა ტვინის გარეთ მდებარე სტრუქტურების დაზიანებასთან არის დაკავშირებული.

ფაქტი, რომ სეპტოჰიპოკამპური სისტემის ქოლინერგული პროექციების სელექტიური დაზიანება სივრცითი მეხსიერების დეფიციტს არ იწვევს, ეჭვის ქვეშ აყენებს შეხედულებას მეხსიერებისა და დასწავლის პროცესებში ჰიპოკამპური აცეტილქოლინის მნიშვნელობის შესახებ. შესაძლოა ვივარაუდოთ, რომ სეპტოჰიპოკამპური ქოლინერგული ნეირონების დაზიანების შემდეგ ხდება საკომპენსაციო მექანიზმების ჩართვა ან დაზიანების მოცულობა არ არის საკმარისი. საკომპენსაციო მექანიზმების ამოქმედების სასარგებლოდ არსებობს მონაცემები, რომლის თანახმად, მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული ნეირონების დაზიანების შემდეგ ჰიპოკამპის გადარჩენილ ნერვულ ელემენტებში აცეტილქოლინის სინთეზი მატულობს (Waite and Chen, 2001); შესაძლოა, დაკარგული პროექციების კომპენსირებას აღნიშნული ცვლილებები განაპირობებს. თუმცა, საინტერესოა, რომ იგივე საკომპენსაციო მექანიზმების ჩართვა მედიალური სეპტუმის ნეიროტოქსინით დაზიანების შემთხვევაში არ ხდება.

ამავე დროს, სამეცნიერო ლიტერატურაში არსებული მონაცემების მიხედვით, ნეიროტოქსინით დაზიანება, რომელიც უპირატესად არაქოლინერგულ ნეირონებს აზიანებს, ჰიპოკამპში აცეტილქოლინის რაოდენობის უფრო ნაკლებ დაქვეითებას იწვევს, ვიდრე იმუნოტოქსინით ქოლინერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანება (Baxter et al., 1995). მიუხედავად ამისა, იმუნოტოქსინით დაზიანების პირობებში სივრცითი მეხსიერების დეფიციტი არ ვლინდება. ამავე დროს, ქოლინერგული ნეირონების დაზიანებით გამოწვეული ჰიპოკამპდამოკიდებული ზოგიერთი არასივრცითი ამოცანის შესრულების დეფიციტი ისეთივე მკვეთრია, როგორც ჰიპოკამპის ნეიროტოქსინით გამოწვეული დაზიანებისას (Baxter et al., 1997). ეს მონაცემები მიუთითებს, რომ ქოლინერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანების შემდეგ სივრცითი მეხსიერების შენარჩუნება, მხოლოდ დაზიანების სიმცირით, ან საკომპენსაციო მექანიზმების ამოქმედებით არ შეიძლება აიხსნას.

მეხსიერების პროცესებში სეპტოჰიპოკამპური ქოლინერგული პროექციების მონაწილეობის ერთერთ არგუმენტად ქოლინერგული აგონისტებით ჰიპოკამპზე ზემოქმედებისას, სეპტოჰიპოკამპური სისტემის დაზიანებით გამოწვეული მეხსიერების დეფიციტის აღდგენას განიხილავენ. აღსანიშნავია, რომ ქოლინერგული აგენტების გამოყენებისას, ძირითადად, განიხილავენ ქოლინერგულ ნეირონებზე მათ ეფექტებს, მაგრამ მუსკარინული რეცეპტორები წარმოდგენილია, როგორც ქოლინერგულ ასევე, GABA-ერგულ საპროექციო ნეირონებზე (Rouse and Levey, 1996). უნდა აღინიშნოს, რომ მუსკარინული აგენტები, ქოლინერგულ პროექციებზე მეტად, მედიალური სეპტუმიდან ჰიპოკამპში მიმავალი GABA-ერგული პროექციების მოდულაციას ახდენენ (Alreja et al., 2000; Wu et al., 2000). შესაბამისად, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ქოლინერგული აგენტების ზემოქმედებით მეხსიერების გაუმჯობესება, სეპტოჰიპოკამპურ GABA-ერგულ პროექციებზე ზემოქმედებით ხორციელდება.

გარდა ამისა, მეხსიერების პროცესებში ქოლინერგული სისტემის მონაწილეობის სასარგებლოდ, ანტიქოლინერგული პრეპარატების (სკოპოლამინი, ატროპინი) ამნეზიურ ეფექტს განიხილავენ. რამდენადაც აცეტილქოლინური რეცეპტორები ცნს-ში ვრცლად არის განლაგებული, მათ შორის ჰიპოკამპში, ნეოკორტექსში, ნუშისებრ კომპლექსში, თალამუსსა და სტრიატუმში (Perry and Kellar,

1995), ხოლო აღნიშნული ექსპერიმენტები, უპირატესად, ამ პრეპარატების სისტემური შეყვანის პირობებში ტარდებოდა, შესაძლებელია ვივარაუდოთ, რომ მეხსიერებაზე მათი ეფექტები სხვა სტრუქტურებზე ზემოქმედებით რეალიზდება. ამ მოსაზრებას ადასტურებს მონაცემები, რომლის თანახმად, სკოპოლამინის ზემოქმედებით მეხსიერების გაუარესება ჰიპოკამპის დაზიანების მქონე ცხოველებშიც ხდება (Wan et al., 1997).

ჩვენს ექსპერიმენტებში მიღებული მონაცემებისა და ლიტერატურაში არსებული მონაცემების შეჯერების საფუძველზე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ მედიალური სეპტუმის ელექტროლიზური დაზიანებით გამოწვეული მეხსიერების დეფიციტი არ არის მხოლოდ ქოლინერგული ნეირონების დაზიანებით განპირობებული. როგორც ჩანს, ჰიპოკამპზე დამოკიდებული ამოცანების მხოლოდ ნაწილი საჭიროებს აცეტილქოლინის მონაწილეობას.

მედიალური სეპტუმის ელექტროლიზური დაზიანებისას ქოლინერგულთან ერთად ზიანდება GABA-ერგული ნეირონები და ასევე, მედიალურ სეპტუმში გამავალი ნერვული ბოჭკოები, რაც ელექტროლიზური დაზიანებისას სივრცითი მეხსიერების დეფიციტში GABA-ერგული ნეირონების ჩართულობაზე მსჯელობის საშუალებას არ იძლევა. თუმცა, ჩვენს ექსპერიმენტებში იმუნოტოქსინით GABA-ერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანების მქონე ცხოველებში ჰიპოკამპდამოკიდებული სივრცითი მეხსიერების მნიშვნელოვანი დეფიციტი გამოვლინდა. ეს ფაქტი აჩვენებს, რომ ელექტროლიზური დაზიანების პირობებში მეხსიერების დეფიციტი სწორედ GABA-ერგული ნეირონების დაზიანებას უკავშირდება.

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).

მეხსიერების პროცესებში GABA-ერგული სეპტოჰიპოკამპური პროექციების მნიშვნელობის შეფასებისას, გასათვალისწინებელია ჩვენს ექსპერიმენტებში ჰიპოკამპში ნიკოტინური (α -7) და მუსკარინული (M_1) ქოლინერგული რეცეპტორების ექსპრესიის კვლევის შედეგები, რომლებიც ასევე მედიალური სეპტუმის სელექტიური და არასელექტიური დაზიანების პირობებში შეისწავლებოდა.

ჩვენს ექსპერიმენტებში ნიკოტინური (α -7) რეცეპტორის კვლევის მიზანშეწონილობა განაპირობა ორმა გარემოებამ: კვლევებში ნანახია კორელაცია ალცჰეიმერის დაავადების მქონე პაციენტებში აღწერილ სიმპტომებსა და nACh რეცეპტორების შემცირებას შორის (Scott and Goa 2000). არსებული მონაცემების თანახმად გამოვლენილია α -7 რეცეპტორების შემცირება 17-დან 50%-მდე; გარდა ამისა, უკანასკნელ პერიოდში მიღებული შედეგების თანახმად, მეცნიერები მნიშვნელოვან როლს ანიჭებენ ალცჰეიმერის დაავადების პათოგენზში ნიკოტინური რეცეპტორების ჩართულობას. დაავადების პროგრესირების მიზეზად არა მხოლოდ ქოლინერგული აქტიურობისა და ნეირონული nACh რეცეპტორების დონის დაქვეითება განიხილება, არამედ ალცჰეიმერის დაავადებისას β -ამილოიდების პირდაპირი ან არაპირდაპირი ზემოქმედება nACh რეცეპტორებთან დაკავშირებულ სინაპსურ ტრანსმისიაზე (Pettit et al., 2001). ახალი თეორიების მიხედვით, nACh რეცეპტორების დაკარგვა, ისევე როგორც მათი ფუნქციის მოშლა, შესაძლოა გამოწვეული იყოს ცილა β -ამილოიდით. აღწერილია, რომ β -ამილოიდი უპირატესად ტვინის იმ უბნებშია, რომლებიც მდიდარია nACh რეცეპტორებით. ხოლო, β -ამილოიდების გავლენით უპირატესად ილუპება ნეირონები, რომლებიც ალჭურვილნი არიან α -7 nACh რეცეპტორებით, β -ამილოიდები და α -7 რეცეპტორები ერთად არიან წარმოდგენილი ამილოიდურ ფოლაქებში (Wang et al., 2000, Grassi et al.,

2003). მკვლევარები ვარაუდობენ, რომ α -7 რეცეპტორები აადვილებენ β -ამილოიდური ცილების ინტერნალიზაციას უჯრედებში (Bourin et al., 2000). ამასთან, მკვლევარებმა აჩვენეს, რომ β -ამილოიდს შეუძლია პირდაპირ იმოქმედოს nACh რეცეპტორებზე მათთან დაკავშირებით, ისევე როგორც შეუძლიათ არაპირდაპირ იმოქმედონ მათ ფუნქციაზე სხვა ცილებთან ან უჯრედების მემბრანასთან დაკავშირების გზით. ამიტომ, დაავადების სამკურნალო სტრატეგიის განსაზღვრის ერთ-ერთი მიმართულება არის β -ამილოიდის nACh რეცეპტორებთან ურთიერთობის ეფექტის შესუსტება.

ჩვენს ექსპერიმენტებში პირველად არის შესწავლილი მედიალური სეპტუმის სხვადასხვა სახის დაზიანების პირობებში ჰიპოკამპში ქოლინერგული რეცეპტორების ექსპრესიის ცვლილებები. საკონტროლო და ელექტროლიზური დაზიანების მქონე ცხოველების ჰიპოკამპის ქოლინერგული მუსკარინული M_1 რეცეპტორების ექსპრესიის კვლევის სტატისტიკურმა დამუშავებამ გამოავლინა არასარწმუნო განსხვავება ამ ჯგუფებს შორის. რადგან ელექტროლიზური დაზიანება არ იწვევს ჰიპოკამპის ქოლინერგული მუსკარინული M_1 რეცეპტორების ექსპრესიის ცვლილებას, იმუნოტოქსინებით დაზიანების ეფექტების კვლევა არ მივიჩნიეთ მიზანშეწონილად.

კვლევით გამოვლინდა, რომ მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული ნეირონების დაზიანება არ იწვევს ჰიპოკამპში ნიკოტინური (α -7) ქოლინერგული რეცეპტორების ექსპრესიის მნიშვნელოვან ცვლილებებს, მაშინ როცა მედიალური სეპტუმის ელექტროლიზური ან GABA-ერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანება იწვევს ნიკოტინური (α -7) რეცეპტორების მნიშვნელოვან შემცირებას. ეს მონაცემები განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს იმის გამო, რომ რეცეპტორების ექსპრესიის შემცირება კორელირებს მეხსიერების დეფიციტთან, რომელიც ასევე, მხოლოდ მედიალური სეპტუმის ელექტროლიზური ან GABA-ერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანების პირობებში ვლინდება. ამ მონაცემებით პირველად არის გამოვლენილი ნიკოტინური (α -7) ქოლინერგული რეცეპტორების ექსპრესიის ცვლილებები ჰიპოკამპის დენერვაციის შემდეგ და ვვარაუდობთ, რომ ჰიპოკამპის მედიალური სეპტუმიდან შემომავალი ინერვაცია (ძირითადად GABA-ერგული) მონაწილეობს ჰიპოკამპის ქოლინერგული ტრანსმისიის რეგულირებაში.

სამეცნიერო ლიტერატურაში არსებული მონაცემების და ჩვენს ექსპერიმენტებში მიღებული შედეგების საფუძველზე $\alpha 7$ ნიკოტინური რეცეპტორები შეიძლება განისაზღვროს თერაპიულ სამიზნედ იმ დაავადებათა სამკურნალოდ, რომლებიც მოიცავს სეპტოჰიპოკამპური გზების დაზიანებას. მიღებული მონაცემები ასევე მიანიშნებს, რომ ჰიპოკამპში მედიალური სეპტუმიდან GABA-ერგული შესავალი უფრო მნიშვნელოვან როლს ასრულებს მეხსიერების პროცესებსა და ჰიპოკამპში რეცეპტორებზე ზემოქმედებით ქოლინერგული აქტიურობის რეგულირებაში, ვიდრე მედიალური სეპტუმიდან ქოლინერგული შესავალი.

აღსანიშნავია, რომ GABA-ერგული შესავალის მნიშვნელობაზე ქოლინერგული რეცეპტორების ფუნქციის რეგულირებაში მიანიშნებს ასევე, სხვა ავტორების მიერ მიღებული მონაცემები. ამ კვლევაში ელექტროფიზიოლოგიურ ექსპერიმენტებში შეისწავლიდნენ მედიალური სეპტუმის დაზიანების ეფექტებს *stratum radiatum*-ის ინტერნეირონების $\alpha 7$ ნიკოტინურ რეცეპტორების ფუნქციაზე (Thinschmidt et al., 2005). მათ აჩვენეს, რომ ფოკალურად სომაზე ACh-ის (1 mM) აპლიკაცია იწვევს MLA (methyllycaconitine – MLA) მიმართ მგრძობიარე დენების აღმოცენებას, რომელიც მნიშვნელოვნად მცირდება ფიმბრია-ფორნიქსის დაზიანების შემდეგ. დენების ამპლიტუდის შემცირების პრევენცია ან მისი აღდგენა საკონტროლო ცხოველების დონემდე შესაძლებელია $\alpha 7$ რეცეპტორების სელექტიური აგონისტით GTS-21-ით (ამ ნივთიერებით ზემოქმედება არ ცვლის დენის ამპლიტუდას ინტაქტურ ცხოველებში). სელექტიური ქოლინერგული ნეიროტოქსინის 192 IgG-saporin-ის მედიალურ სეპტუმში მიკროინექცია არ იწვევს $\alpha 7$ რეცეპტორების MLA მგრძობიარე დენების შემცირებას, თუმცა მედიალურ სეპტუმში ChAT, ხოლო ჰიპოკამპში AChE შეღებვის ინტენსივობა მნიშვნელოვნად მცირდება. პირიქით მედიალური სეპტუმის კაინის მჟავით დაზიანება, რომელიც სელექტიურობას უპირატესად ამჟღავნებს GABA-ერგული საპროექციო ნეირონების მიმართ, იწვევს დენის ამპლიტუდის მნიშვნელოვან შემცირებას. ამ მონაცემების საფუძველზე ავტორი მჯელობს ჰიპოკამპის ქოლინერგული $\alpha 7$ რეცეპტორების ფუნქციის რეგულირებაში GABA-ერგული შესავლის უპირატეს როლზე ქოლინერგულთან შედარებით.

ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში nACh რეცეპტორების როლი ბოლომდე ნათელი არ არის, თუმცა თანხმდებიან, რომ მათ აქვთ მნიშვნელოვანი როლი

მეხსიერებასა და დასწავლაში და ასევე ყურადღების, სიფხიზლის და სენსორული პერცეპციის პროცესებში. ცნობილია, რომ მეხსიერების ფორმირებასა და შენახვაში მონაწილე ტვინის უბნები მდიდარია nACh რეცეპტორებით. ნიკოტინური რეცეპტორების აგონისტები აუმჯობესებენ დასწავლასა და მეხსიერებას ცხოველებში, მაშინ როცა nACh რეცეპტორებით მდიდარი უბნების დაზიანება არღვევს მეხსიერების ფორმირებას (Grutzendler and Morris, 2001).

ამრიგად, ჩვენს ექსპერიმენტებში მიღებული შედეგები და სამეცნიერო ლიტერატურაში არსებული მასალა საფუძველს გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ ჰიპოკამპის ქოლინერგული აქტიურობის რეგულირებასა და სივრცითი მეხსიერების პროცესებში უპირატესად სეპტოჰიპოკამპური GABA-ერგული პროექციები მონაწილეობენ, ხოლო ქოლინერგული პროექციების როლი როგორც ქცევით, ასევე იმუნოქიმიურ ექსპერიმენტებში არ გამოვლინდა. სავარაუდოდ, სეპტოჰიპოკამპური GABA-ერგული პროექციები მეხსიერების პროცესებზე გავლენას $\alpha 7$ ნიკოტინურ ქოლინერგულ რეცეპტორებზე ზემოქმედებით ახორციელებენ.

ქცევითი ექსპერიმენტების ერთ სერიაში შევისწავლიდით სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერების პროცესებს მედიალური სეპტუმის სხვადასხვა დაზიანების პირობებში. სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებას ვაფასებდით სპონტანური მორიგეობის ამოცანით, რომელიც სპონტანურად აღმოცენებულ კვლევით ქცევაზეა დაფუძნებული. ამ ექსპერიმენტების შედეგებით გამოვლინდა, რომ მედიალური სეპტუმის არასელექტიური, ელექტროლიზური დაზიანება აუარესებს სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებას, თუმცა მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანება არ იწვევს მეხსიერების მნიშვნელოვან გაუარესებას. ლიტერატურაში არსებული მონაცემები სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებაზე მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული ნეირონების დაზიანების ეფექტების შესახებ ურთიერთსაწინააღმდეგოა (Pang and Nocera, 1999; Kirby et al., 2003). კვლევაში, სადაც სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებას T-ს მაგვარ ლაბირინთში იკვლევდნენ, ქოლინერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანების პირობებში მეხსიერების პროცესების გაუარესება არ გამოვლინდა. სხვა ავტორების მიერ (Wrenn et al., 1999) აღწერილია სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერების დეფიციტი, რომელიც გამოვლინდა 192 IgG-saporin-ის პარკუჭებში ინექციის პირობებში, რაც, როგორც აღრე

აღნიშნეთ ქოლინერგული ნეირონების დაზიანების თანადროულად იწვევს ნათხემის პურკინიეს უჯრედების დაზიანებასაც, რაც თავის მხრივ ართულებს მონაცემთა ცალსახა შეფასებას.

ექსპერიმენტების ამ სერიაში მიღებული მონაცემები აჩვენებს, რომ ელექტროლიზური დაზიანების ეფექტები შეიძლება განპირობებული იყოს ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების თანადროული დაზიანებით ან/და მედიალურ სეპტუმში გამავალი ბოჭკოების დაზიანებით. მეხსიერების დეფიციტში სეპტოჰიპოკამპური პროექციების მნიშვნელობის გამოსავლენად და/ან ამ დეფიციტში მედიალური სეპტუმში გამავალი ბოჭკოების მონაწილეობის გამორიცხვის მიზნით, ცხოველების ერთ ჯგუფში შევისწავლეთ იმუნოტოქსინებით მედიალურ სეპტუმის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების თანადროული დაზიანების ეფექტები სივრცით ხანმოკლე მეხსიერებაზე, რომელსაც იგივე, სპონტანური მორიგეობის ამოცანით ვაფასებდით. გამოვლინდა, რომ მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების თანადროული დაზიანება იწვევს ელექტროლიზური დაზიანების მსგავს ეფექტს, რაც გამორიცხავს ან თუნდაც ეჭვის ქვეშ აყენებს აღნიშნულ დეფიციტში მედიალურ სეპტუმში გამავალი ბოჭკოების მონაწილეობას და ავლენს სეპტოჰიპოკამპური პროექციების მნიშვნელობას სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერების პროცესებში; ამასთან, ქოლინერგული ან GABA-ერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანება არ არის საკმარისი მეხსიერების დეფიციტის გამოსავლენად.

ამრიგად, ჩვენს ექსპერიმენტებში ხანგრძლივი სივრცითი მეხსიერებისაგან განსხვავებით სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერება უფრო სენსიტიური აღმოჩნდა სეპტოჰიპოკამპური ქოლინერგული საპროექციო ნეირონების დაზიანების მიმართ. უნდა აღინიშნოს, რომ განსხვავებით სივრცითი ხანგრძლივი მეხსიერებისაგან, სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერება, რომელიც ჩვენს ექსპერიმენტებში სპონტანური მორიგეობის ამოცანაში ტესტირების საფუძველზე ფასდება, ყურადღების მექანიზმების მეტ ჩართულობას მოითხოვს. თუ გავითვალისწინებთ ქოლინერგული სისტემის მნიშვნელობას ყურადღების მექანიზმებში, შესაძლოა ვივარაუდოთ, რომ მედიალური სეპტუმის დაზიანებით განვითარებული სივრცითი ხანმოკლე

მეხსიერების დეფიციტი გარკვეულწილად ქოლინერგული ნეირონების დაკარგვას და ყურადღების მექანიზმების გაუარესებას უნდა უკავშირდებოდეს.

ექსპერიმენტების შემდეგი სერიები ითვალისწინებდა მედიალური სეპტუმის დაზიანებით განპირობებული მეხსიერების დარღვევათა კორექციის გზების გამოვლენას. 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). არსებული კვლევებით არ არის დადგენილი მემანტინის თერაპიული დოზების შესაძლო ეფექტები მეხსიერების სხვადასხვა ფორმაზე. ასევე არ არის შესწავლილი აქვს თუ არა მემანტინს მედიალური სეპტუმის დაზიანებით განპირობებული მეხსიერების დარღვევის კორექციის პოტენცია.

ჩვენს მიერ შერჩეული მემანტინის დოზა განისაზღვრა ლიტერატურაში არსებული მონაცემების საფუძველზე. რელევანტური თერაპიული დოზა ცხოველებისთვის განისაზღვრება პლაზმაში მისი შემცველობით, რომელიც შეესაბამება ადამიანებში მემანტინით მკურნალობისას პლაზმაში არსებულ დონეს. გამოქვეყნებულ შრომებში აღწერილია, რომ მემანტინის თერაპიული დოზით (ჩვეულებრივ 20-30 მგ/დღეში) ქრონიკული მკურნალობისას მემანტინის დონე პლაზმაში აღწევს 0,4-1 მმოლ/ლ-ში (Periclou et al., 2006). შესაბამისად, 1 მმოლ/ლ-ში კონცენტრაცია ვირთაგვებში მიიღწევა მემანტინის 5მგ/კგ დოზით მწვავე ინტრაპერიტონიალური შეყვანისას (Zoladz et al., 2006).

ჩვენს ექსპერიმენტებში მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების ეფექტებს ვაფასებდით, როგორც საკონტროლო, ასევე, მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების დაზიანების მქონე ცხოველებში. გამოვლინდა, რომ მემანტინით ზემოქმედება არ იწვევს სივრცითი მეხსიერების მნიშვნელოვან ცვლილებებს საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში მორისის აუზში ან სპონტანური მორიგეობის ამოცანით ტესტირებისას. ამ ექსპერიმენტებში წარმოდგენილი მონაცემების მიხედვით იმუნოტოქსინებით მედიალური სეპტუმის ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების თანადროული დაზიანება იწვევს, როგორც ხანგრძლივი, ასევე ხანმოკლე სივრცითი მეხსიერების მნიშვნელოვან გაუარესებას.

დაზიანების მქონე ცხოველების ერთ ჯგუფში ინტრაპერიტონიალურდ შეგვყავდა მემანტინი (იმუნოტოქსინებით დაზიანების შემდეგ, ყოველდღიურად 13 დღის განმავლობაში), ხოლო მეორე ჯგუფის ცხოველებში იგივე განრიგით - ფიზიოლოგიური ხსნარი. გამოვლინდა, რომ მემანტინით ზემოქმედება იწვევს სივრცითი მეხსიერების დეფიციტის პრევენციას მედიალური სეპტუმის დაზიანებისას. საინტერესოა, რომ ეს ეფექტი მნიშვნელოვანია, როგორც ხანგრძლივი, ასევე ხანმოკლე სივრცითი მეხსიერების შეფასებისას. მიღებული შედეგები მნიშვნელოვანია, რამდენადაც მიანიშნებს ამ მოდელის ვალიდურობაზე ნეიროდეგენერაციული დაავადების მქონე პაციენტების მეხსიერების დარღვევების გაუმჯობესებისა ან ამ დარღვევათა პრევენციის მიზნით, ახალი სამკურნალო პრეპარატების პრეკლინიკური კვლევებისათვის.

მეხსიერების პროცესებზე მემანტინით ზემოქმედების შესახებ არსებული მონაცემები ხშირად ურთიერთსაწინააღმდეგოა. ზოგიერთ ექსპერიმენტში აფასებდნენ მემანტინის მწვავე ზემოქმედების ეფექტებს, ხოლო მემანტინის ინტრაპერიტონიალური ინექცია ქცევითი ექსპერიმენტების დაწყებამდე 30 წთ-ით ადრე ტარდებოდა (Dashniani et al., 2011). ჩვენს ექსპერიმენტებში ქცევითი ამოცანებით ტესტირება ტარდებოდა მემანტინის ქრონიკული ზემოქმედების დასრულებიდან 24 სთ-ის შემდეგ. უნდა აღინიშნოს, რომ პრეპარატის შეყვანის გზებმა და დრომ შესაძლოა შეცვალოს პრეპარატის მოქმედების ეფექტი ქცევით ტესტებზე, რომლებიც აფასებს კოგნიტიურ პროცესებს. მემანტინის ქრონიკული შეყვანა ორალურად ან კანქვეშ – ოსმოსური მინი-პამპით, განაპირობებს პლაზმაში წამლის მდგრად დონეს (Danysz et al., 1997; Minkeviciene et al., 2008; Van Dam and De Deyn, 2006), ამის საწინააღმდეგოდ, მემანტინის მწვავე ერთჯერადმა ინექციამ შესაძლებელია გამოიწვიოს უფრო მაღალი პიკური კონცენტრაცია პლაზმაში და გამოიწვიოს გვერდითი ეფექტები, ისეთი როგორცაა ატაქსია, სტერეოტიპული ქცევის და დასწავლის გაუარესება (Danysz et al., 1997; Sukhanov et al., 2004). მემანტინის განმეორებითი ინტრაპერიტონიალური დოზები თავგებში არ იწვევს რაიმე სენსომოტორულ გაუარესებას, თუმცა იგივე ერთჯერადმა დოზამ შეიძლება გამოიწვიოს მისი გამოვლენა (Kos and Popik, 2005). ეს შედეგები მიუთითებს, რომ მემანტინის განმეორებითი შეყვანა იწვევს ტოლერანტობას უარყოფითი გვერდით

ეფექტების განვითარების მიმართ. შესაბამისად, სხვადასხვა ექსპერიმენტში მეხსიერების პროცესებზე მემანტინის ეფექტებს შორის განსხვავება განპირობებულია მემანტინის შეყვანის განსხვავებული დოზებით.

მიუხედავად იმისა, რომ მემანტინი არის MNDA რეცეპტორის ანტაგონისტი და AD პაციენტებში მემანტინის დადებით გავლენებს უპირატესად ექსციტოტოქსიკური ნეიროდეგენერაციის პრევენციას უკავშირებენ, მეცნიერთა შორის არის განსხვავებული აზრები. მემანტინის, როგორც ანტი-პარკინსონული აგენტის პრეკლინიკური შესწავლა (Danysz et al., 1997) ცხადყოფს, რომ მემანტინი ურთიერთქმედებს დოფამინერგულ, სეროტონინერგულ და ქოლინერგულ ტრანსმიტერულ სისტემებთან. უკანასკნელი შრომები, ასევე მიუთითებს მემანტინის უფრო ეფექტურ კავშირს ქოლინერგულ რეცეპტორებთან, ვიდრე MNDA რეცეპტორებთან (Aracava et al., 2005). აღნიშნული ლიტერატურის და ჩვენი მონაცემების საფუძველზე ქოლინერგულ ტრანსმიაზე მემანტინის ზემოქმედების ეფექტების კვლევა შესაძლოა ჩვენი შემდგომი კვლევის საგანი გახდეს. ამრიგად, ჩვენი კვლევებით გამოვლინდა, რომ ზრდასრულ ვირთაგვებში მემანტინის თერაპიული დოზის რელევანტური დოზით ქრონიკული ზემოქმედებით შესაძლებელია მედიალური სეპტუმის დაზიანებით გამოწვეული სივრცით მეხსიერების დეფიციტის პრევენცია.

დასკვნები და ძირითადი მეცნიერული მიღწევები

ჩატარებული კვლევის შედეგად შესაძლებელი გახდა დასკვნების ჩამოყალიბება:

1. მედიალური სეპტუმის არასელექტიური ან იმუნოტოქსინით GABA-ერგული ნეირონების დაზიანება, ქოლინერგული ნეირონების დაზიანებისაგან განსხვავებით, იწვევს ჰიპოკამპში α -7 nACh რეცეპტორების ექპრესიის შემცირებას;
2. მედიალური სეპტუმის ელექტროლიზური დაზიანება არ იწვევს M_1 mACh რეცეპტორების ექპრესიის ცვლილებას;

3. სექტოპიპოკამპური პროექციების არასელექტიური დაზიანებით გამოწვეული მეხსიერების დეფიციტი მოიცავს ჰიპოკამპზე დამოკიდებულ კოგნიტიურ ფუნქციებს.
4. მედიალური სექტუმი მონაწილეობს დეკლარატიული სივრცითი მეხსიერების პროცესებში, ხოლო არადეკლარატიული სივრცითი მეხსიერება სექტოპიპოკამპური სისტემის ჩართულობის გარეშე რეალიზდება.
5. გამოვლენილია სექტოპიპოკამპური პროექციების ქოლინერგულ და GABA-ერგული შემადგენელს შორის ფუნქციათა დისოციაცია სივრცითი მეხსიერების პროცესებში და ამ პროცესებში მედიალური სექტუმის GABA-ერგული ნეირონების ჩართულობა.
6. გამოვლენილია კორელაცია მედიალური სექტუმის დაზიანებით გამოწვეულ მეხსიერების დაღვევასა და ჰიპოკამპში α -7 nACh რეცეპტორების ექსპრესიის ცვლილებებს შორის; დაზიანებით გამოწვეული მეხსიერების დეფიციტი შესაძლოა, განპირობებულია მედიალური სექტუმის GABA-ერგული სექტოპიპოკამპური პროექციების დაზიანებისას ჰიპოკამპში α -7 nACh რეცეპტორების ექსპრესიის შემცირებით
7. მედიალური სექტუმის ქოლინერგული ან GABA-ერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანება არ არის საკმარისი სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერების დეფიციტის გამოსავლენად.
8. იმუნოტოქსინებით ქოლინერგული და GABA-ერგული ნეირონების თანადროული დაზიანება იწვევს სივრცითი ხანმოკლე მეხსიერების დეფიციტს.
9. მემანტინის თერაპიული დოზის რელევანტური დოზით ქრონიკული ზემოქმედება არ აუარესებს სივრცით მეხსიერებას ინტაქტურ ცხოველებში და იწვევს სივრცითი მეხსიერების დეფიციტის პრევენციას მედიალური სექტუმის დაზიანებისას.

ამრიგად, მედიალური სექტუმის ქოლინერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანება, მიუხედავად იმისა, რომ იწვევს მედიალურ სექტუმში ChAT, ხოლო ჰიპოკამპში AChE იმუნოშეღებვის ინტენსივობის მნიშვნელოვან შემცირებას, არ იწვევს α 7 nACh რეცეპტორების ექსპრესიის მნიშვნელოვან ცვლილებას. ჩვენს

ექსპერიმენტებში პირველად არის გამოვლენილი $\alpha 7$ nACh რეცეპტორების ექსპრესიის მნიშვნელოვანი შემცირება GABA-ერგული ნეირონების სელექტიური დაზიანების პრობებში, რომელიც კორელირებს მედიალური სეპტუმის დაზიანებით განპირობებულ მეხსიერების დარღვევებთან. მიღებული მონაცემების მიხედვით ჰიპოკამპის GABA-ერგული შესავალი უფრო მნიშვნელოვან როლს ასრულებს $\alpha 7$ ნიკოტინური რეცეპტორების ფუნქციის რეგულაციაში ვიდრე ჰიპოკამპის ქოლინერგული შესავალი, ამასთან $\alpha 7$ ნიკოტინური რეცეპტორები შეიძლება მიჩნეულ იქნას იმ დაავადებათა თერაპიულ სამიზნედ, რომლებიც დაკავშირებულია სეპტოჰიპოკამპური გზების ნეიროდეგენერაციასთან.

ლიტერატურის სია

1. Alkondon M. and Albuquerque E. X., Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ and $\alpha 4\beta 2$ subtypes differentially control GABAergic input to CA1 neurons in rat hippocampus. *J Neurophysiol.*, 2001, 86, 3043–3055.
2. 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.
3. Alreja M., Wu M., Liu W., Atkins J.B., Leranth C. and Shanabrough M., Muscarinic tone sustains impulse flow in the septohippocampal GABA but not cholinergic pathway: Implications for learning and memory. *J. Neurosci.*, 2000, 20:8103–8110.
4. Amaral D. and Witter M., Hippocampal formation. In: Paxinos G. ed. *The rat nervous system*. San Diego: Academic Press, 1995, pp. 443-492.
5. Amaral D. G. and Kurz J., An analysis of the origins of the cholinergic and noncholinergic septal projections to the hippocampal formation of the rat. *J Comp. Neurol.*, 1985, 240, 37–59.
6. Andre J.M., Leach P.T., Gould T.J., Nicotine ameliorates NMDA receptor antagonist-induced deficits in contextual fear conditioning through high-affinity

- nicotinic acetylcholine receptors in the hippocampus. *Neuropharmacology*, 2011, 60:617- 25.
7. Ankarcrona M., Mangialasche F., Winblad B., Rethinking Alzheimer's disease therapy: are mitochondria the key? *J. Alzheimers Dis.*, 2010, 20 Suppl 2:S579–90.
 8. Aracava Y., Pereira E.F., Maelicke A., Albuquerque E.X., Memantine blocks $\alpha 7^*$ nicotinic acetylcholine receptors more potently than N-methyl-D-aspartate receptors in rat hippocampal neurons. *J Pharmacol. Exp. Ther.*, 2005, 312: 3:1195–1205.
 9. Aramakis V.B., Metherrate R., Nicotine selectively enhances NMDA receptor- mediated synaptic transmission during postnatal development in sensory neocortex. *J Neurosci.*, 1998, 18:8485- 95.
 10. Atri A., Sherman S., Norman K.A., Kirchhoff B.A., Nicolas M.M., Greicius M.D. et al., Blockade of central cholinergic receptors impairs new learning and increases proactive interference in a word paired-associate memory task. *Behav. Neurosci.*, 2004, 118, 223–236.
 11. Balducci C., Forloni G., *Neuromolecular Med.* APP transgenic mice: their use and limitations, 2011, 13(2):117-37.
 12. Bartus R.T., Dean R.L., 3rd, Beer B. and Lippa A.S., The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 1982, 217, 408–414.
 13. Baxter M.G. and Gallagher M., Cognitive effects of selective loss of basal forebrain cholinergic neurons: Implications for cholinergic therapies of Alzheimer's disease. In *Pharmacological treatment of Alzheimer's disease: Molecular and neurobiological foundations* (eds. J.D. Brioni and M.W. Decker), 1997, pp.87 –103. Wiley, New York.
 14. Baxter M.G., Bucci D.J., Gorman L.K., Wiley R.G. and Gallagher M., Selective immunotoxic lesions of basal forebrain cholinergic cells: Effects on learning and memory in rats. *Behav. Neurosci.*, 1995, 109:714 –722.
 15. Bizon J.L., Han J.S., Hudon C., Gallagher M., Effects of hippocampal cholinergic deafferentation on learning strategy selection in a visible platform version of the water maze. *Hippocampus*, 2003, 13:676 –684.
 16. Bliss T.V. and Collingridge G.L., A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 1993, 361: 31–39.

17. Bourin M. et al., Nicotinic receptors and Alzheimer's disease. *Current Medical Research and Opinion*, 2000, 19, 169-177.
18. Bowen D.M., Smith C.B., White P. and Davison A.N., Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. *Brain*, 1976, 99:459–496.
19. 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.
20. Buchanan K.A., Petrovic M.M., Chamberlain S.E., Marrion N.V. and Mellor J.R., Facilitation of long-term potentiation by muscarinic M(1) receptors is mediated by inhibition of SK channels. *Neuron*, 2010, 68, 948–963.
21. Burjanadze M., Mataradze S., Rusadze Kh., Chckikvishvili N., Dashniani M. Selective lesion of GABA-ergic neurons in the medial septum by GAT1-saporin impairs spatial learning in a water-maze. *Georg. Med. News*. N3 (240) Georgia, 2015;
22. 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.
23. Caulfield M.P., Birdsall N.J., International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol. Rev.*, 1998, 50, 279–290.
24. Cea-Del Rio C.A., Lawrence J.J., Erdelyi F., Szabo G. and McBain C.J., Cholinergic modulation amplifies the intrinsic oscillatory properties of CA1 hippocampal cholecystokinin-positive interneurons. *J Physiol.*, 2011, 589, 609–627.
25. Cea-Del Rio C.A., Lawrence J.J., Tricoire L., Erdelyi F., Szabo G. and McBain C.J., M3 muscarinic acetylcholine receptor expression confers differential cholinergic modulation to neurochemically distinct hippocampal basket cell subtypes. *J Neurosci.*, 2010, 30, 6011–6024.
26. 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.
27. Chevaleyre V. and Castillo P.E., Endocannabinoid-mediated metaplasticity in the hippocampus. *Neuron.*, 2004, 43, 871–881.

28. Cho K.H., Jang H.J., Lee E.H., Yoon S.H., Hahn S.J., Jo Y.H. et al., Differential cholinergic modulation of Ca²⁺ transients evoked by backpropagating action potentials in apical and basal dendrites of cortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol.*, 2008, 99, 2833–2843.
29. Choi D.W., Excitotoxic cell death. *J Neurobiol.*, 1992, 23, 1261e1276.
30. Chrobak J.J., András Lörincz and György Buzsáki, Physiological patterns in the hippocampo-entorhinal cortex system. *Hippocampus.*, 2000, 10, 4, 457–465.
31. Cobb S.R. and Davies C.H., Cholinergic modulation of hippocampal cells and circuits. *J Physiol. Lond.*, 2005, 562, 81–88.
32. Coyle J.T., Price D.L. and DeLong M.R., Alzheimer's disease: A disorder of cortical cholinergic innervation. *Science*, 1983, 219:1184 –1190.
33. Curtis R., Adryan K.M., Stark J.L., Park J.S., Compton D.L., Weskamp G., Huber L.J., Chao M.V., Jaenisch R. and Lee K.F., Differential role of the low affinity neurotrophin receptor (p75) in retrograde axonal transport of the neurotrophins. *Neuron*, 1995, 14:1201–1211.
34. Danysz W., Parsons C.G., Kornhuber J., Schmidt W.J., Quack G., Aminoadamantanes as NMDA receptor antagonists and antiparkinsonian agents: preclinical studies. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 1997, 21:455–468.
35. Darnaudery M., Pallares M., Piazza P.V., Le Moal M. and Mayo W., The neurosteroid pregnenolone sulfate infused into the medial septum nucleus increases hippocampal acetylcholine and spatial memory in rats. *Brain Res.*, 2002, 951:237 –242.
36. Dasari S. and Gullledge A.T., M1 and M4 receptors modulate hippocampal pyramidal neurons. *J Neurophysiol.*, 2011, 105, 779–792.
37. Dashniani M., Beselia G., Maglakelidze G., Burjanadze M., Chkhikvishvili N., *Georgian Medical News*, 2009, 1 (166), 81-85.
38. Dashniani M., Burjanadze M., Beselia G., Chkhikvishvili N., Kruashvili L., Effects of the uncompetitive NMDA receptor antagonist memantine on spatial memory in medial septal lesioned rats. *Georg. Med. News.*, 2011, no 12 (201) 55-61.

39. Dashniani M., Burjanadze M., Naneishvili T., Kruashvili L., Sepashvili M., Effects of chronic memantine treatment on hippocampal extracellular glutamate and GABA levels during spatial alternation testing. *Georg. Med. News.*, 2012, no 1 (202) 68-75.
40. Dashniani M., Kruashvili L., Rusadze Kh., Mataradze S., Beselia G. Effects of immunotoxic and electrolytic lesions of medial septal area on spatial short-term memory in rats. *Georg. Med. News.* 2015, N2 (239).
41. Descarries L., Gisiger V., Steriade M., Diffuse transmission by acetylcholine in the CNS. *Prog Neurobiol.*, 1997, Dec;53(5):603-25.
42. Doggrell S. and Evans S., Treatment of dementia with neurotransmission modulation. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2003, 12, 1633-1654.
43. Drachman D.A. and Leavitt J., Human memory and the cholinergic system. A relationship to aging? *Arch. Neurol.*, 1974, 30:113-121.
44. Dragoi G., Harris K.D., Buzsaki G., Place representation within hippocampal networks is modified by long-term potentiation. *Neuron.* 2003, 5, 843-853.
45. Drever B.D., Riedel G. and Platt B., The cholinergic system and hippocampal plasticity. *Behav. Brain Res.*, 2011, 221, 505–514.
46. Dutar P., Bassant M.H., Senut M.C. and Lamour Y., The septohippocampal pathway: structure and function of a central cholinergic system. *Physiol. Rev.*, 1995, 75, 393–427.
47. Easton A., Douchamps V., Eacott M., Lever C., A specific role for septohippocampal acetylcholine in memory?. *Neuropsychologia*, 2012, 50:3156-68.
48. Fernandez de Sevilla D., Buno W., The muscarinic long-term enhancement of NMDA and AMPA receptor-mediated transmission at Schaffer collateral synapses develop through different intracellular mechanisms. *J Neurosci.*, 2010, 30:11032- 42.
49. Fernandez De Sevilla D., Nunez, A., Borde M., Malinow R. and Buno W., Cholinergic-mediated IP3-receptor activation induces long-lasting synaptic enhancement in CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci.*, 2008, 28, 1469–1478.
50. Foster T.C. and Deadwyler S.A., Acetylcholine modulates averaged sensory evoked responses and perforant path evoked field potentials in the rat dentate gyrus. *Brain Res.*, 1992, 587, 95–101.

51. Francis P.T., Palmer A.M., Sims N.R., Bowen D.M., Davison A.N., Esiri M.M., Neary D., Snowden J.S. and Wilcock G.K., Neurochemical studies of early-onset Alzheimer's disease. Possible influence on treatment. *New Eng. J Med.*, 1985, 313:7 –11.
52. Freund T.F. and Antal M., GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature*, 1988, 336, 170–173.
53. Freund T.F. and Gulyas A.I., Inhibitory control of GABAergic interneurons in the hippocampus. *Can J Physiol Pharmacol.*, 1997, 75:479-487.
54. Frick et al., Transformation of opium poppy (*Papaver somniferum* L.) with antisense berberine bridge enzyme gene (anti-bbe) via somatic embryogenesis results in an altered ratio of alkaloids in latex but not in roots. *Transgenic Res.*, 2004, 13(6):607-13.
55. Frick K.M., Kim J.J. and Baxter M.G., Effects of complete immunotoxin lesions of the cholinergic basal forebrain on fear conditioning and spatial learning. *Hippocampus*, 2004, 14, 244-254.
56. 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.
57. 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, 459-464.
58. Gaykema R.P., Van Der Kuil J., Hersh L.B. and Luiten P.G., Patterns of direct projections from the hippocampus to the medial septum-diagonal band complex: anterograde tracing with *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin combined with immunohistochemistry of choline acetyltransferase. *Neuroscience*, 1991, 43, 349–360.
59. Ge S. and Dani J.A., Nicotinic acetylcholine receptors at glutamate synapses facilitate long-term depression or potentiation. *J Neurosci.*, 2005, 25, 6084–6091.
60. Giacobini E., Cholinergic function and Alzheimer's disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 2003, Volume 18, Issue Supplement 1, pages S1–S5.
61. Giessel A.J. and Sabatini B.L., M1 muscarinic receptors boost synaptic potentials and calcium influx in dendritic spines by inhibiting postsynaptic SK channels. *Neuron*, 2010, 68, 936–947.

62. Gotz J. et al., A decade of tau transgenic animal models and beyond *Brain Pathol.*, 2007, 17, 91–103 .
63. Grassi F. et al., Amyloid Beta1-42 peptide alters the gating of human and mouse alpha-bungarotoxin-sensitive nicotinic receptors. *The Journal of Physiology*, 2003, 547, 147-157.
64. Gritti I., Henny P., Galloni F., Mainville L., Mariotti M. and Jones B.E., Stereological estimates of the basal forebrain cell population in the rat, including neurons containing choline acetyltransferase, glutamic acid decarboxylase or phosphate-activated glutaminase and colocalizing vesicular glutamate transporters. *Neuroscience*, 2006, 143, 1051–1064.
65. Grutzendler J. and Morris J., Cholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease. *Drugs*, 2001, 61, 41-52.
66. Gu Z. and Yakel J.L., Timing-dependent septal cholinergic induction of dynamic hippocampal synaptic plasticity. *Neuron*, 2011, 71, 155–165.
67. Gu Z., Lamb P.W. and Yakel J.L., Cholinergic coordination of presynaptic and postsynaptic activity induces timing-dependent hippocampal synaptic plasticity. *J Neurosci.*, 2012, 32, 12337–12348.
68. Guan Z. et al., Decreased Protein Levels of Nicotinic Receptor Subunits in the Hippocampus and Temporal Cortex of Patients with Alzheimer's Disease. *Journal of Neurochemistry*, 2000, 74, 237-243.
69. Gullledge A.T. and Kawaguchi Y., Phasic cholinergic signaling in the hippocampus: functional homology with the neocortex. *Hippocampus*, 2007, 17, 327–332.
70. Gulyas A.I., Hajos N., Katona I. and Freund T.F., Interneurons are the local targets of hippocampal inhibitory cells which project to the medial septum. *Eur. J Neurosci.*, 2003 17, 1861–1872.
71. Hajszan T., Alreja M. and Leranth C., Intrinsic vesicular glutamate transporter 2-immunoreactive input to septohippocampal parvalbumin-containing neurons: novel glutamatergic local circuit cells. *Hippocampus*, 2004, 14, 499–509.
72. Hardy J.A., Higgins G.A., Alzheimer's disease: The amyloid cascade hypothesis. *Science*, 1992, 256(5054):184-5.

73. Hartley C., Noradrenergic and locus coeruleus modulation of the perforant path-evoked potential in rat dentate gyrus supports a role for the locus coeruleus in attentional and memorial processes. *Prog. Brain Res.*, 1991, 88, 307-321.
74. Hasselmo M.E., Sarter M., Modes and models of forebrain cholinergic neuromodulation of cognition. *Neuropsychopharmacology*, 2011, 36:52-73.
75. Hasselmo M.E., Schnell E. and Barkai E., Dynamics of learning and recall at excitatory recurrent synapses and cholinergic modulation in rat hippocampal region CA3. *J Neurosci.*, 1995, 15, 5249–5262.
76. Hasselmo M.E., The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2006, 16, 710–715.
77. Hayes J., Li S., Anwyl R., Rowan M.J., A role for protein kinase A and protein kinase M zeta in muscarinic acetylcholine receptor- initiated persistent synaptic enhancement in rat hippocampus in vivo. *Neuroscience*, 2008, 151:604- 12.
78. Hernandez F., Avila J., Tauopathies. *Cell Mol Life Sci.*, 2007, 64(17):2219-33.
79. 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_β42 immunisation in Alzheimer's disease: Follow-up of a randomised, placebo-controlled phase I trial. *Lancet*, 2008, 372, 216–223.
80. Hsiao K., Chapman P., Nilsen S., Eckman C., Harigaya Y., Younkin S. et al., Correlative memory deficits, Aβ elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science*, 1996, 274(5284):99-102.
81. 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.
82. Huh C.Y., Goutagny R. and Williams S., Glutamatergic neurons of the mouse medial septum and diagonal band of Broca synaptically drive hippocampal pyramidal cells: relevance for hippocampal theta rhythm. *J Neurosci.*, 2010, 30, 15951–15961.
83. Jakab R.L. and Leranth C., Septum. In: Paxinos G., ed. *The rat nervous system*. San Diego: Academic Press, 1995, pp. 405-442.

84. Thinschmidt J.S., Frazier C.J., King M.A., Meyer E.M., Papke R.L., Septal innervation regulates the function of $\alpha 7$ nicotinic receptors in CA1 hippocampal interneurons, 2005, Volume 195, Issue 2, October, Pages 342–352.
85. Jo J., Son G.H., Winters B.L., Kim M.J., Whitcomb D.J., Dickinson B.A. et al., Muscarinic receptors induce LTD of NMDAR EPSCs via a mechanism involving hippocalcin, AP2 and PSD-95. *Nat. Neurosci.*, 2010, 13, 1216–1224.
86. 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.
87. Katz P.S., Neural mechanisms underlying the evolvability of behaviour. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 2011, 366, 2086–2099.
88. Katzman R., The dementias: Alzheimer disease. In: Rowland L.L., ed. *Merritt's Textbook of Neurology*. 8th ed. Philadelphia, Pa: Lea & Febiger, 1989, 637–644.
89. Kirby B.P. and Rawlins J.N., The role of the septo-hippocampal cholinergic projection in T-maze rewarded alternation. *Behav. Brain Res.*, 2003, 143:41–48.
90. Kiss J., Patel A.J., Baimbridge K.G. & Freund T.F., Topographical localization of neurons containing parvalbumin and choline acetyltransferase in the medial septum-diagonal band region of the rat. *Neuroscience*, 1990, 36 61–72.
91. Klancnik J.M. and Phillips A.G., Modulation of synaptic plasticity in the dentate gyrus of the rat by electrical stimulation of the median raphe nucleus. *Brain Res.*, 1991, 557, 236-240.
92. Kos T., Popik P., A comparison of the predictive therapeutic and undesired side-effects of the NMDA receptor antagonist, memantine, in mice. *Behav. Pharmacol.*, 2005, 16, 155-61.
93. Krstic D., Knuesel I., Deciphering the mechanism underlying late-onset Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.*, 2013, 9(1):25–34.
94. 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.

95. Kunitake A., Kunitake T. and Stewart M., Differential modulation by carbachol of four separate excitatory afferent systems to the rat subiculum in vitro. *Hippocampus*, 2004, 14, 986–999.
96. 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.
97. Lau A., Tymianski M., Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. *Pflugers Arch*, 2010, 460:525-42.
98. Lecourtier L., De Vasconcelos A.P., Leroux E., Cosquer B., Geiger K., Lithfous S. et al., Septohippocampal pathways contribute to system consolidation of a spatial memory: sequential implication of GABAergic and cholinergic neurons. *Hippocampus*, 2011, 21, 1277–1289.
99. Lehmann O., Grottick A.J., Cassel J.C. and Higgins G.A., A double dissociation between serial reaction time and radial maze performance in rats subjected to 192 IgG-saporin lesions of the nucleus basalis and/or the septal region. *Eur. J. Neurosci.*, 2003, 18:651 – 666.
100. Levey A.I., Edmunds S.M., Koliatsos V., Wiley R.G. and Heilman C.J., Expression of m1-m4 muscarinic acetylcholine receptor proteins in rat hippocampus and regulation by cholinergic innervation. *J Neurosci.*, 1995, 15, 4077–4092.
101. Li S., Cullen W.K., Anwyl R., Rowan M.J., Muscarinic acetylcholine receptor- dependent induction of persistent synaptic enhancement in rat hippocampus in vivo. *Neuroscience*, 2007, 144:754- 61.
102. Losonczy A., Makara J.K. and Magee J.C., Compartmentalized dendritic plasticity and input feature storage in neurons. *Nature*, 2008, 452, 436–440.
103. Madison D.V., Lancaster B. and Nicoll R.A., Voltage clamp analysis of cholinergic action in the hippocampus. *J Neurosci.*, 1987, 7, 733–741.
104. Makara J.K., Katona I., Nyiri G., Nemeth B., Ledent C., Watanabe M. et al., Involvement of nitric oxide in depolarization-induced suppression of inhibition in

- hippocampal pyramidal cells during activation of cholinergic receptors. *J Neurosci.*, 2007, 27, 10211–10222.
105. Manns I.D., Mainville L. and Jones B.E., Evidence for glutamate, in addition to acetylcholine and GABA, neurotransmitter synthesis in basal forebrain neurons projecting to the entorhinal cortex. *Neuroscience*, 2001, 07, 249–263.
 106. Manseau F., Danik M. and Williams S., A functional glutamatergic neurone network in the medial septum and diagonal band area. *J Physiol.*, 2005, 566, 865–884.
 107. Marder E., Neuromodulation of neuronal circuits: back to the future. *Neuron.*, 2012, 76, 1–11.
 108. McDonald J.W. and Johnston M.V., Physiological and pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 1990. 1, 41-70.
 109. McGaughy J., Everitt B.J., Robbins T.W. and Sarter M., The role of cortical cholinergic afferent projections in cognition: impact of new selective immunotoxins. *Behav. Brain Res.*, 2000, 115, 251–263.
 110. 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.
 111. Mesulam M.M. and Van Hoesen G.W., Acetylcholinesterase-rich projections from the basal forebrain of the rhesus monkey to neocortex. *Brain Res.*, 1976, 109:152 –157.
 112. Mesulam M.M., Mufson E.J., Wainer B.H. and Levey A.I., Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience*, 1983, 10:1185-1201.
 113. Micheau J. and Marighetto A., Acetylcholine and memory: a long, complex and chaotic but still living relationship. *Behav. Brain Res.*, 2011, 221, 424–429.
 114. Milner T.A., Amaral D.G., Evidence for a ventral septal projection to the hippocampal formation of the rat. *EXD Brain Res.*, 1984, 55:579-585.
 115. Milner T.A., Wiley R.G., Kurucz O.S., Prince S.R. and Pierce J.P., Selective changes in hippocampal neuropeptide Y neurons following removal of the cholinergic septal inputs. *J Comp. Neurol.*, 1997, 386:46–59.

116. Minkeviciene R., Banerjee P., Tanila H., Cognition-enhancing and anxiolytic effects of memantine. *Neuropharmacolog.*, 2008, 54:1079–1085.
117. 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.
118. Morris R.G., Anderson E., Lynch G.S., Baudry M., Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature.*, 1986, 319:774–776.
119. Morris R.G., Long-term potentiation and memory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.*, 2003, 358:643-7.
120. Morris R.G.M., Garrud P., Rawlins J.N.P., O'Keefe J., Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 1982, 297, 681–683.
121. 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.
122. Nakauchi S., Sumikawa K., Endogenously released ACh and exogenous nicotine differentially facilitate long-term potentiation induction in the hippocampal CA1 region of mice. *Eur J Neurosci.*, 2012, 35:1381-95.
123. 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” *Bulletin of Georgian national academy of science*. 2016, vol.10, no.2.
124. Nashmi R. et al., Assembly of alpha-4Beta2 Nicotinic Acetylcholine Receptors Assessed with Functional Fluorescently Labeled Subunits: Effects of Localization, Trafficking, and Nicotine-Induced Upregulation in Clonal Mammalian Cells and in Cultured Midbrain Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 2003, 23, 11554-11567.
125. Nyakas C., Luiten P.G., Spencer D.G. and Traber J., Detailed projection patterns of septal and diagonal band efferents to the hippocampus in the rat with emphasis on innervation of CA1 and dentate gyrus. *Brain Res. Bull.*, 1987, 18, 533–545.

126. O'Neill M. et al., The Role of Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors in Acute and Chronic Neurodegeneration. *Current Drug Targets. CNS and Neurological Disorders*, 2002, 1, 399-411.
127. Oresic M., Hyotylainen T., Herukka S.K., Sysi-Aho M., Mattila I., Seppanen-Laakso T. et al., Metabolome in progression to Alzheimer's disease. *Translational Psychiatry*, 2011, 1, e57.
128. Pang K.C.H. and Nocera R., Interactions between 192-IgG saporin and intraseptal cholinergic and GABAergic drugs: Role of cholinergic medial septal neurons in spatial working memory. *Behav. Neurosci.*, 1999, 113:265 –275.
129. Papp E.C., Hajos N., Acsady L. and Freund T.F., Medial septal and median raphe innervation of vasoactive intestinal polypeptide-containing interneurons in the hippocampus. *Neuroscience*, 1999, 90, 369–382.
130. Parikh V., Kozak R., Martinez V. and Sarter M., Prefrontal acetylcholine release controls cue detection on multiple timescales. *Neuron*, 2007, 56, 141–154.
131. 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.
132. Paxinos G., Watson C., In: *The rat brain in stereotaxic coordinates* Ed 4 San Diego: Academic., 1998.
133. Perry D.C. and Kellar K.J., [3H] epibatidine labels nicotinic receptors in rat brain: An autoradiographic study. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1995, 275:1030 –1034.
134. Petrovic M.M., Nowacki J., Olivo V., Tsaneva-Atanaseva K., Randall A.D. and Mellor, J.R., Inhibition of post-synaptic Kv7/KCNQ/M channels facilitates long-term potentiation in the hippocampus. *PLoS ONE*, 2012, 7:e30402.
135. Pettit D. et al., Beta-Amyloid1-42 Peptide Directly Modulates Nicotinic Receptors in the Rat Hippocampal Slice. *The Journal of Neuroscience*, 2001, 21(RC120)., 1-5.
136. Radcliffe K.A., Fisher J.L., Gray R., Dani J.A., Nicotinic modulation of glutamate and GABA synaptic transmission of hippocampal neurons. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1999, 868: 591-610.

137. 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.
138. Robinson G.B. and Racine R.S., Heterosynaptic interactions between septal and entorhinal inputs to the dentate gyrus: long-term potentiation effects. *Brain Res.*, 1982, 249, 162-166.
139. Rouse S.T. and Levey A.I., Expression of m1-m4 muscarinic acetylcholine receptor immunoreactivity in septohippocampal neurons and other identified hippocampal afferents. *J. Comp. Neurol.*, 1996, 375:406–416.
140. Rouse S.T., Thomas T.M. and Levey A.I., Muscarinic acetylcholine receptor subtype, m2: diverse functional implications of differential synaptic localization. *Life Sci.*, 1997, 60, 1031–1038.
141. Santacruz K., Lewis J., Spire 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.
142. Sarter M., Parikh, V. and Howe W.M., Phasic acetylcholine release and the volume transmission hypothesis: time to move on. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2009, 10, 383–390.
143. Schliebs R. and Arendt T., The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behav. Brain Res.*, 2011, 221, 555–563.
144. Scott L. and Goa K., Galantamine: A Review of its Use in Alzheimers Disease. *Drugs.*, 2000, 60, 1095-1122.
145. Scoville W. B., Milner B., Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of Neurobiology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 1957, 20, 11-21.
146. Seeger T. and Alzheimer C., Muscarinic activation of inwardly rectifying K(+) conductance reduces EPSPs in rat hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Physiol.*, 2001, 535, 383–396.
147. Selfridge J.E., Lezi E., Lu J., Swerdlow R.H., Role of mitochondrial homeostasis and dynamics in Alzheimer’s disease. *Neurobiol. Dis.*, 2013, 51, 3–12.
148. Selkoe D.J., Alzheimer’s disease: Genes, proteins, and therapy. *Physiol. Rev.*, 2001, 81, 741–766.

149. Shen J.X. and Yakel J.L., Functional alpha7 nicotinic ACh receptors on astrocytes in rat hippocampal CA1 slices. *J Mol. Neurosci.*, 2012, 48, 14–21.
150. Shen J.X., Yakel J.L., Nicotinic acetylcholine receptor- mediated calcium signaling in the nervous system. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2009, 30:673- 80.
151. Shinoe T., Matsui M., Taketo M.M., Manabe T., Modulation of synaptic plasticity by physiological activation of M1 muscarinic acetylcholine receptors in the mouse hippocampus. *J Neurosci.*, 2005, 25:11194 –11200.
152. Small D. and Fodero L., Cholinergic regulation of synaptic plasticity as a therapeutic target in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2002, 4, 349-355.
153. Squire L.R. and Zola-Morgan S., The medial temporal lobe memory system. *Science*, 1991, 253:1380-1386.
154. Sugisaki E., Fukushima Y., Tsukada M. and Aihara, T., Cholinergic modulation on spike timing-dependent plasticity in hippocampal CA1 network. *Neuroscience*, 2011, 192, 91–101.
155. Sukhanov L.M., Zakharova I.S., Danysz W., Bernalov A.Y., Effects of NMDA receptor channel blockers, MK-801 and memantine, on locomotor activity and tolerance to delay of reward in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *Behav. Pharmacol.*, 2004, 15, 263-271.
156. Summers W.K., Majorski L.V., Marsh G.M., Tachiki K. and Kling A., Oral tetrahydroaminoacridine in long-term treatment of senile dementia, Alzheimer type. *New Eng. J Med.*, 1986, 315:1241 –1245.
157. Szabo G.G., Holderith N., Gulyas A.I., Freund T.F. and Hajos N., Distinct synaptic properties of perisomatic inhibitory cell types and their different modulation by cholinergic receptor activation in the CA3 region of the mouse hippocampus. *Eur. J Neurosci.*, 2010, 31, 2234–2246.
158. Takacs V.T., Freund T.F. and Gulyas A.I., Types and synaptic connections of hippocampal inhibitory neurons reciprocally connected with the medial septum. *Eur. J Neurosci.*, 2008, 28, 148–164.
159. Takada- Takatori Y., Kume T., Sugimoto M., Katsuki H., Sugimoto H., Akaike A., Acetylcholinesterase inhibitors used in treatment of Alzheimer's disease prevent

- glutamate neurotoxicity via nicotinic acetylcholine receptors and phosphatidylinositol 3- kinase cascade. *Neuropharmacology*, 2006, 51:474- 86.
160. Takata N., Mishima T., Hisatsune C., Nagai T., Ebisui E., Mikoshiba K. et al., Astrocyte calcium signaling transforms cholinergic modulation to cortical plasticity in vivo. *J Neurosci.*, 2011, 31, 18155–18165.
 161. Tang A.H., Karson M.A., Nagode D.A., McIntosh J.M., Uebele V.N., Renger J.J. et al., Nerve terminal nicotinic acetylcholine receptors initiate quantal GABA release from perisomatic interneurons by activating axonal T-type (Cav3) Ca(2)(+) channels and Ca(2)(+) release from stores. *J Neurosci.*, 2011, 31, 13546–13561.
 162. Tariot P.N., Farlow M.R., Grossberg G.T., Graham S.M., McDonald S., Gergel I., Memantine treatment in patients with moderate to severe Alzheimer disease already receiving donepezil: a randomized controlled trial. *JAMA.*, 2004, 291:317–324.
 163. Thompson C.L., Pathak S.D., Jeromin A., Ng L.L., Macpherson C.R., Mortrud M.T. et al., Genomic anatomy of the hippocampus. *Neuron*, 2008, 60, 1010–1021.
 164. Toselli M., Lang J., Costa T. and Lux H.D., Direct modulation of voltage-dependent calcium channels by muscarinic activation of a pertussis toxin-sensitive G-protein in hippocampal neurons. *Pflugers Arch.*, 1989, 415, 255–261.
 165. 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.
 166. Van Dam D., De Deyn P.P., Cognitive evaluation of disease-modifying efficacy of Galantamine and Memantine in the APP23 model. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 2006, 16, 59-69.
 167. Vinson P.N. and Justice J.B. Jr., Effect of neostigmine on concentration and extraction fraction of acetylcholine using quantitative microdialysis. *J Neurosci. Methods*, 1997, 73, 61–67.
 168. Wainer B.H., Bolam J.P., Freund T.F., Henderson Z., Totterdell S. and Smith A.D., Cholinergic synapses in the rat brain: a correlated light and electron microscopic immunohistochemical study employing a monoclonal antibody against choline acetyltransferase. *Brain Res.*, 1984, 308, 69–76.

169. Waite J.J. and Chen A.D., Differential changes in rat cholinergic parameters subsequent to immunotoxic lesion of the basal forebrain nuclei. *Brain Res.*, 2001, 918:113–120.
170. Waite J.J., Chen A.D., Wardlow M.L., Wiley R.G., Lappi D.A. and Thal L.J., 192 immunoglobulin G-saporin produces graded behavioral and biochemical changes accompanying the loss of cholinergic neurons of the basal forebrain and cerebellar Purkinje cells. *Neuroscience*, 1995, 65:463–476.
171. Wan R.Q., Pang K. and Olton D.S., Nonhippocampal muscarinic receptors are required for nonspatial working memory. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1997, 58:361–367.
172. Wang H.Y., Lee D.H., D'Andrea M.R., Peterson P.A., Shank R.P. and A. Reitz B., β -amyloid1-42 binds to $\alpha 7$ 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.
173. Warburton E.C., Koder T., Cho K., Massey P.V., Duguid G., Barker G.R. et al., Cholinergic neurotransmission is essential for perirhinal cortical plasticity and recognition memory. *Neuron*, 2003, 38, 987–996.
174. Wess J., Liu J., Blin N., Yun J., Lerche C. and Kostenis E., Structural basis of receptor/G protein coupling selectivity studied with muscarinic receptors as model systems. *Life Sci.*, 1997, 60, 1007–1014.
175. Wess J., Muscarinic acetylcholine receptor knockout mice: novel phenotypes and clinical implications. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2004, 44, 423–450.
176. Whitlock J.R., Heynen A.J., Shuler M.G., Bear M.F., Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science*, 2006, 5790, 1093–1097.
177. Wiley R.G., Oeltmann T.N. and Lappi D.A., Immunolesioning: selective destruction of neurons using immunotoxin to rat NGF receptor. *Brain Res.*, 1991, 562:149–153.
178. Wilson R.I., Kunos G. and Nicoll R.A., Presynaptic specificity of endocannabinoid signaling in the hippocampus. *Neuron*, 2001, 31, 453–462.
179. Woodruff-Pak D.S., Animal models of Alzheimer's disease: therapeutic implications. *J Alzheimers Dis.*, 2008, (4):507–21.

180. Wrenn C.C., Lappi D.A., Wiley R.G., Threshold relationship between lesion extent of the cholinergic basal forebrain in the rat and working memory impairment in the radial maze *Brain Res.*, 1999, 847: 284–298.
181. Wu M., Shanabrough M., Leranth C. and Alreja M., Cholinergic excitation of septohippocampal GABA but not cholinergic neurons: Implications for learning and memory. *J. Neurosci.*, 2000, 20:3900–3908.
182. Yamasaki M., Matsui M. and Watanabe M., Preferential localization of muscarinic M1 receptor on dendritic shaft and spine of cortical pyramidal cells and its anatomical evidence for volume transmission. *J Neurosci.*, 2010, 30, 4408–4418.
183. Yamazaki Y., Jia Y., Hamau N. and Sumikawa K., Nicotine-induced switch in the nicotinic cholinergic mechanisms of facilitation of long-term potentiation induction. *Eur. J Neurosci.*, 2005, 22, 845–860.
184. Yamazaki Y., Jia Y., Niu R., Sumikawa K., Nicotine exposure in vivo induces long-lasting enhancement of NMDA receptor-mediated currents in the hippocampus. *Eur J Neurosci.*, 2006, 23:1819- 28.
185. Zarotosky V. et al., Galantamine hydrobromide: An agent for Alzheimer's disease. *Americal Journal of Health-System Pharmacists*, 2003, 60, 446-452.
186. Zhang H., Lin S.C. and Nicoletis M.A., Spatiotemporal coupling between hippocampal acetylcholine release and theta oscillations in vivo. *J Neurosci.*, 2010, 30, 13431–13440.
187. Zlokovic B.V., Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 2011, 3, 723-738.
188. Zoladz P.R., Campbell A.M., Park C.R., Schaefer D., Danysz W., Diamond D.M., Enhancement of long-term spatial memory in adult rats by the noncompetitive NMDA receptor antagonists, memantine and neramexane *Diamond a,b,c, Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2006, 85 298–306.