



საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის  
ქართული უნივერსიტეტი

*ხელნაწერის უფლებით*

ინფორმატიკის, მათემატიკისა და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა

სკოლა (ფაკულტეტი)

საგანმანათლებლო პროგრამა - მეხსიერების ნერვული მექანიზმები

ნელი მაღლაკელიძე

თავის ტვინის ორექსინერგული სისტემის, როგორც უნიპოლარული  
დეპრესიული მდგომარეობის ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის  
დარღვევების ეტიოლოგიის შესაძლო ინტეგრალური კომპონენტის

**კვლევა**

ბიოლოგია/სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა დოქტორის აკადემიური ხარისხის  
მოსაპოვებლად წარმოდგენილი ნაშრომის

**სადისერტაციო მაცნე**

05 მეცნიერება/ საბუნებისმეტყველო მეცნიერებანი

0504 ბიოლოგია/სიცოცხლის შემსწავლელი მეცნიერებანი

თბილისი

2016

სადისერტაციო ნაშრომი შესრულებულია ივანე ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრში და საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტის ინფორმატიკის, მათემატიკის და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა სკოლის (ფაკულტეტის) მეხსიერების ნერვული მექანიზმების მიმართულეაზე.

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

**ნარგიზ ნაჭყებია,**

ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,  
პროფესორი

ოფიციალური ოპონენტები:

**1. ელენე აბზიანიძე,**

ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,  
პროფესორი

**2. თამილა ბაგაშვილი,**

აკადემიური დოქტორი ბიოლოგიაში,  
ასოცირებული პროფესორი

დისერტაციის დაცვა შედგება 2016 წლის 14 ივლისს 15 საათზე, საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტის ინფორმატიკის, მათემატიკის და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა სკოლის (ფაკულტეტის) სადისერტაციო კომისიის სხდომაზე.

მისამართი: 0162, თბილისი, ილია ჭავჭავაძის №53, II კორპუსი, აკად. ილია ვეკუას სახ. აუდიტორია.

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

სადისერტაციო მაცნე დაიგზავნა 2016 წლის 14 ივნისს

**სადისერტაციო საბჭოს მდივანი, გიორგი მაქაცარია**

ფიზიკა-მათემატიკის მეცნიერებათა დოქტორი,  
პროფესორი

## ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

**თემის აქტუალობა.** უნიპოლარული დეპრესია ერთ-ერთი სერიოზული მენტალური დარღვევაა, რომელსაც სულ უფრო მზარდი გავრცელება აქვს მთელ მსოფლიოში. ამის მიუხედავად, მის სამკურნალოდ დღემდე გამოყენებული ფარმაცოლოგიური საშუალებების ეფექტურობა შეზღუდულია, რის მიზეზსაც დეპრესიული დაავადების პათოგენეზში ჩართული მექანიზმების არასრული ცოდნა წარმოადგენს. მათი საფუძვლიანი გარკვევა აუცილებელია დეპრესიის საწინააღმდეგო, უფრო მეტად ადეკვატური, წამლების წარმოების მიზნით. ამიტომ, მნიშვნელოვანია დეპრესიის პათოგენეზში ჩართული, ახალი, უფრო მეტად ადეკვატური, ნეიროქიმიური სამიზნეების ძიება და ასეთ სამიზნედ თავის ტვინის ორექსინერგულ სისტემას განვიხილავთ.

დეპრესიის პათოგენეზში ჰიპოთალამუსის ორექსინერგული სისტემის მიზეზობრივი ჩართულობის გარკვევისთვის სადისერტაციო ნაშრომში დაგეგმილი პრეკლინიკური კვლევები პირველად ჩატარდა ორ, განსხვავებული მექანიზმით და მეთოდური მიდგომით გამოყვანილ, სხვადასხვა ტიპის დეპრესიის ცხოველურ მოდელებზე. მიგვაჩნია, რომ ამ მოდელებზე მიღებული შედეგები შესძლებს ჩვენ მიერ დასმულ საკითხებზე პასუხის გაცემას. შედეგად შესაძლო გახდება პრეკლინიკური მონაცემების რეალურ თერაპიულ პოტენციალში გადაყვანა, დეპრესიის მკურნალობის ახალი სტრატეგიის შემუშავება და თეორიული ჩარჩოს შემოთავაზება, რომელშიც ორექსინერგული სისტემა შეიძლება განვიხილოთ, როგორც უნიპოლარული დეპრესიის ეტიოლოგიის ინტეგრალური კომპონენტი.

**კვლევის ძირითადი მიზანი და ამოცანები:** კვლევის მიზანს შეადგენდა ჰიპოთალამური ნეიროპეპტიდების, ორექსინების, მაწარმოებელი ნეირონების შესწავლა იმ ახალი ნეიროქიმიურად იდენტიფიცირებული უჯრედული სამიზნეს როლში, რომლის ფუნქციური მოდიფიკაციაც შეიძლება ჩართული იყოს, ერთი მხრივ, ცხოველებში, უნიპოლარული დეპრესიის მსგავსი მდგომარეობის განვითარებაში, ხოლო, მეორე მხრივ, ამ დაავადების განვითარების პრევენციაში. ამ მიზნით გათვალისწინებული იყო ექსპერიმენტული კვლევების ისეთი დიზაინის შემუშავება, რომელიც უზრუნველყოფდა ორექსინერგული სისტემის ფუნქციის დათრგუნვას, ან გაძლიერებას, ადრეული ონტოგენეზის პერიოდში და ზრდასრულ დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში და აღნიშნულ პირობებში დეპრესიული მდგომარეობის დამახასიათებელი ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევების განვითარების ალბათობის და მათი პრევენციის გზების შესწავლას.

ნაშრომში, რამოდენიმე მიმართულების პრიორიტეტული კვლევები იყო დაგეგმილი, რაც ორექსინერგულ სისტემასა და უნიპოლარულ დეპრესიას შორის შესაძლო მიზეზობრივი კავშირის გარკვევის საშუალებას იძლევა და ამიტომ, მათ, კლინიკური თვალსაზრისით, დიდი მნიშვნელობა აქვს. გამოკვლევები ჩატარდა ორი ტიპის დეპრესიის ცხოველურ მოდელებზე. ერთი მსოფლიოს ბევრ ლაბორატორიაში უკვე აპრობირებული მოდელია, რომელსაც ახასიათებს თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი, ხოლო მეორე გამოყვანილია ლაბორატორიაში, სადაც სადოქტორო დისერტაციის სამეცნიერო ნაწილი შესრულდა. ახალ მოდელს თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებს. აღნიშნულ ცხოველურ მოდელებზე პირველად იქნა შესწავლილი ჰიპოთალამუსის სხვადასხვა უბნის ორექსინის მაწარმოებელი ნეირონების მნიშვნელობა დეპრესიის პათოგენეზში და უკვე განვითარებული დეპრესიული მდგომარეობის დამახასიათებელი რიგი სიმპტომების - ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის ცვლილებების, ნორმალიზებაში. გამოყენებულ იქნა ორექსინების (ორექსინA-ს და ორექსინB-ს) და ორექსინის

რეცეპტორების (ორექსინ1-ის და ორექსინ2-ის) არა-სელექციური და სელექციური ანტაგონისტების მიკროინექციები თავის ტვინის ლატერალურ პარაკუჭში.

**საკვლევი ამოცანები.** სადოქტორო პროგრამის მეცნიერული ნაწილი 12 კონკრეტული ამოცანის შესრულებას ითვალისწინებდა:

**ამოცანა 1.** ორექსინA-ს შეყვანა ვირთაგვების ღლაპებში, ონტოგენეზის პერიოდში და მისი ეფექტები დეპრესიული მდგომარეობის მსგავსი ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევების განვითარებაზე, რომლებიც თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით უნდა იქნას გამოწვეული;

**ამოცანა 2.** ორექსინA-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური (ICV) მიკროინექცია ვირთაგვებში, ზრდასრულ პერიოდში და მისი ეფექტები დეპრესიული მდგომარეობის მსგავსი ქცევით და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებზე, რომლებიც თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით არის გამოწვეული;

**ამოცანა 3.** ორექსინB-ს შეყვანა ვირთაგვების ღლაპებში, ონტოგენეზის პერიოდში და მისი ეფექტები დეპრესიული მდგომარეობის მსგავსი ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევების განვითარებაზე, რომლებიც თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით უნდა იქნას გამოწვეული;

**ამოცანა 4.** ორექსინB-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური (ICV) მიკროინექცია ვირთაგვებში, ზრდასრულ პერიოდში და მისი ეფექტები დეპრესიული მდგომარეობის მსგავსი ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებზე, რომლებიც თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით არის გამოწვეული;

**ამოცანა 5.** ორექსინA-ს შემცველობის მატება თავზურგტვინის სითხეში (CSF), ინტრაცერებროვენტრიკულური (ICV) მიკროინექციით და მისი ეფექტების კვლევა დეპრესიის მსგავსი ქცევით და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებზე, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ;

**ამოცანა 6.** ორექსინB-ს შემცველობის მატება CSF-ში, ICV მიკროინექციით და მისი ეფექტების კვლევა დეპრესიის მსგავსი ქცევით და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებზე, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც ახასიათებთ თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა;

**ამოცანა 7.** ორექსინ1 და ორექსინ2 რეცეპტორების სელექციური და კომბინირებული ანტაგონისტების შეყვანა ადრეული ონტოგენეზის პერიოდში, სეროტონინის უკუმთანთქმის სელექციური ინჰიბიტორების კანქვეშა ინექციის პარალელურად, და მათი ეფექტები ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევების განვითარებაზე ზრდასრულ პერიოდში;

**ამოცანა 8.** ორექსინ1 და ორექსინ2 რეცეპტორების სელექციური და კომბინირებული ანტაგონისტების შეყვანა ზრდასრულ პერიოდში და მისი ეფექტები ქცევით და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებზე დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ;

**ამოცანა 9.** ორექსინ1 და ორექსინ2 რეცეპტორების სელექციური და კომბინირებული ანტაგონისტების შეყვანა ადრეული ონტოგენეზის პერიოდში, მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის ანტაგონისტების კანქვეშა ინექციის პარალელურად, და მათი ეფექტები ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევების განვითარებაზე ზრდასრულ პერიოდში;

**ამოცანა 10.** ორექსინ1 და ორექსინ2 რეცეპტორების სელექციური და კომბინირებული ანტაგონისტების შეყვანა ზრდასრულ პერიოდში და მისი ეფექტები ქცევით და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებზე დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ;

**ამოცანა 11.** ორექსინA–ს შემცველობის გაზომვა, თავზურგტვინის სითხეში, საკონტროლო ცხოველებში და დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინში მონომინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ;

**ამოცანა 12.** ორექსინA–ს შემცველობის გაზომვა, თავზურგტვინის სითხეში, საკონტროლო ცხოველებში და დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ–სენსიტიურობა ახასიათებთ.

### ***ნაშრომის მეცნიერული სიახლე და პრაქტიკული მნიშვნელობა.***

თავის ტვინის ორექსინერგული სისტემის, როგორც უნიპოლარული დეპრესიული მდგომარეობის ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევების ეტიოლოგიის შესაძლო ინტეგრალური კომპონენტის კვლევის მოსალოდნელ შედეგებს, როგორც თეორიული, ისე პრაქტიკული მნიშვნელობა აქვს. გამოკვლევების ჩატარება დეპრესიის ორი სხვადასხვა ტიპის ცხოველურ მოდელებზე საშუალებას მოგვცემს გავაკეთოთ მნიშვნელოვანი დასკვნა იმის შესახებ, თუ რა უფრო უპირატესია ორექსინების, როგორც დეპრესიის პათოფიზიოლოგიის ინტეგრალური კომპონენტის თვალსაზრისით, ჰიპოთალამური ორექსინერგული სისტემის კავშირები თავის ტვინის მონომინერგულ სისტემასთან, თუ მუსკარინულ ქოლინერგულ სისტემასთან, რასაც დიდი თეორიული მნიშვნელობა აქვს თანამედროვე ნეიროფიზიოლოგიაში. ამგვარი დასკვნის გაკეთება ხელს შეუწყობს დეპრესიის ფუნდამენტური ნეიროფიზიოლოგიური და ნეიროქიმიური მექანიზმების უფრო სრულყოფილ შეცნობას და საფუძველს მისცემს ადამიანებში უნიპოლარული დეპრესიის თერაპიის ახალი სტრატეგიის შემუშავებას ჰიპოთალამური ნეიროპეპტიდების, ორექსინA-ს და ორექსინ-B-ს და/ან მათი რეცეპტორების ანტაგონისტების გამოყენებით.

პროექტის შედეგებზე არსებობს პოტენციური მოთხოვნილება, რაც დეპრესიის მკურნალობის ახალი, უფრო ადექვატური და ეფექტური სტრატეგიის შექმნის აუცილებლობაში გამოიხატება. სწორედ ამიტომ, ჰიპოთალამუსის ორექსინერგული სისტემის როლის გარკვევა უნიპოლარული დეპრესიის პათოფიზიოლოგიაში მნიშვნელოვანი იქნება მედიცინისა და ფარმაკოლოგიური დარგის სპეციალისტებისთვის.

***პუბლიკაციები.*** დისერტაციის მასალებზე გამოქვეყნებულია სამი სტატია (იხ. გვ 19–21). ნაშრომის ძირითადი შედეგები მოხსენებულია 12 სხვადასხვა საერთაშორისო სამეცნიერო ფორუმზე და სასწავლო პროგრამით გათვალისწინებულ 3 კოლოქვიუმზე.

***ნაშრომის სტრუქტურა და მოცულობა:*** დისერტაციის სტრუქტურა შესაბამისობაშია კვლევაში დასმულ ამოცანებსა და მიზნებთან და შემდეგი ძირითადი თავისგან შედგება:

- შესავალი, რომელიც მოიცავს ნაშრომის ზოგად დახასიათებას და მიღებული შედეგების აქტუალობას, სამეცნიერო და პრაქტიკულ მნიშვნელობას;
- შინაარსი (სადისერტაციო ნაშრომის ძირითადი ნაწილი), რომელიც სამ თავს შეიცავს;
- თავი IV, მიღებული შედეგების საერთო განხილვა;
- შემაჯამებელი დასკვნები;
- ლიტერატურის სია.

დისერტაციის სრული მოცულობა შეადგენს 221 გვერდს, და მოიცავს 94 სურათს, და 156 დასახელების ციტირებული ლიტერატურის სიას.

## ნაშრომის ძირითადი შინაარსი თავი I. ლიტერატურის მიმოხილვა

ორექსინები ახალადმოჩენილი ნეიროპეპტიდებია და ამიტომ, მათი ზუსტი ლოკალიზაციის, ორექსინის ნეირონების აფერენტული და ეფერენტული კავშირების და მიზეზობრივი ჩართულობის კვლევა, როგორც მთელი რიგი ფიზიოლოგიური ფუნქციების მიმდინარეობაში, ისე ზოგიერთი ფსიქონერვული დაავადების პათოგენეზში, აქტუალურია და დიდი ინტერესის საგანია მსოფლიოს მრავალი ქვეყნის მეცნიერთა მხრიდან. ლიტერატურის მიმოხილვაში წარმოდგენილია ორექსინების აღმოჩენის ისტორია, ორექსინის რეცეპტორების კლასიფიკაცია, აფინურობა, მათი გავრცელება ცენტრალური ნერვული სისტემის მთელ რიგ სტრუქტურებში, ორექსინის ნეირონების აფერენტული კავშირები, ფაქტორები, რომლებიც ორექსინის ნეირონების აქტივობაზე ახდენს გავლენას, ორექსინების დეფიციტის მიზეზობრივი კავშირი ნარკოლეპსიასთან, ორექსინების როლი ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგულაციაში, მექანიზმი, რომელიც ღვიძილს ასტაბილურებს და ორექსინების ჩართულობა ამ პროცესში, შესავალი ლიმბური სისტემიდან, ორექსინების შესაძლო ფუნქციები, თავის ტვინის ორექსინერგული სისტემა და უნიპოლარული დეპრესია.

### თავი II. მასალა და მეთოდები

ნაშრომის ამ ნაწილში აღწერილია თავის ტვინის სხვადასხვა უბნებში სუმარული ელექტრული აქტივობის სარეგისტრაციო მაკროელექტროდების სტერეოტაქსული ჩანერგვისათვის საჭირო ქირურგიული ოპერაციის და ცხოველების პოსტ-ოპერაციული მოვლის პროცედურები. წარმოდგენილია ძილ-ღვიძილის ციკლის უწყვეტი კომპიუტერული ეგ რეგისტრაციის პროცედურა, CADWELL Easy II EEG PSG და SAGURA EEG/PSG სისტემების საშუალებით და ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანული სტრუქტურის შესაფასებლად გამოყენებული პარამეტრები. დაწვრილებით არის აღწერილი ორი განსხვავებული ტიპის დეპრესიის ცხოველური მოდელის გამოყვანის ძველი და ახალი მეთოდები და პროცედურა, ლოკომოტორული და კვლევითი ქცევის შესაფასებლად საჭირო ქცევითი პარამეტრები, თავის ტვინის ლატერალურ პარაკუჭში, ნეიროპეპტიდების, ორექსინA-ს და ორექსინB-ს, ინტრაცერებროვენტრიკულური (ICV) მიკროინექციისთვის საჭირო აქსესუარები და პროცედურა, ვირთაგვებში თავზურგტვინის სითხის აღების კომბინირებული სტერეოტაქსული მეთოდი და მასში ნეიროპეპტიდების შემცველობის გაზომვის მეთოდი, ამ მიზნისთვის აუცილებელი სპეციალური კიტების გამოყენებით.

მიღებული მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება ხდებოდა სტიუდენტის t კრიტერიუმით და სტატისტიკური სარწმუნოობის დონეებად აღებული იყო \* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ .

### თავი III. მიღებული შედეგები

**ამოცანა 1. ორექსინA-ს შეყვანა ვირთაგვების ღლაპებში, ონტოგენეზის პერიოდში და მისი ეფექტები დეპრესიული მდგომარეობის მსგავსი ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევების განვითარებაზე, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომლებიც თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით უნდა იქნას გამოყვანილი.**

ცდების ამ სერიაში ხდებოდა ორექსინA-ს 10 მკგ/მკლ და/ან 25 მკგ/მკლ პერორალური გამოყენება ვირთაგვების ერთკვირიან ღლაპებში, ადრეული ონტოგენეზის პერიოდში. აღნიშნული პროცედურა მიმდინარეობდა ვირთაგვების ერთკვირიან ღლაპებში მელიპრამინის კანქვეშა ინექციის პარალელურად. ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის

დარღვევების შესწავლა ხდებოდა ზრდასრულ ვირთაგვებზე. აღმოჩნდა, რომ ორექსინA-ს პერორალური მიცემა ვირთაგვების ერთკვირიანი ღლაპებისთვის, ადრეული ონტოგენეზის პერიოდში, ზრდასრულ პერიოდში ქცევის და ძილ-ღვიძილის ციკლის მნიშვნელოვან ცვლილებებს არ იწვევს, რაც იმას მიუთითებს, რომ ნეიროპეპტიდების პერორალური გამოყენების შემთხვევაში ორექსინA-ს ეფექტურობა ძალიან შეზღუდული უნდა იყოს.

**ამოცანა 2. ორექსინA-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური (ICV) მიკროინექცია ვირთაგვებში, ზრდასრულ პერიოდში და მისი ეფექტები დეპრესიული მდგომარეობის მსგავს ქცევით და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებზე, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომლებიც თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით არის გამოყვანილი.** ეს ამოცანა სამ ქვეამოცანას შეიცავდა. ამოცანა2ა და 2ბ ქცევით ცვლილებებს შეისწავლიდა ინტაქტურ კონტროლში და დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში. ექსპერიმენტების ამ სერიაში მიღებული მონაცემები აშკარად აჩვენებს, რომ ორექსინA-ს 10მკგ/მკლ და 25 მკგ/მკლ დოზების ინტრაცერებროვენტრიკულური მიკროინექცია, თავის ტვინის ლატერალურ პარაკუჭში, მკვეთრად ზრდის ლოკომოტორულ და კვლევით ქცევას ინტაქტურ ვირთაგვებში.

ორექსინA-ს შემცველობის მატებას თავზურგტვინის სითხეში, რაც ჩვენს ექსპერიმენტებში ამ ნეიროპეპტიდის თავის ტვინის ლატერალურ პარაკუჭში მიკროინექციით ხდებოდა, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომლებიც თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით მიიღება, ინტაქტურ ცხოველებთან შედარებით, ნაკლებ ინტენსიური ეფექტი აქვს. კერძოდ, ქცევითი ცვლებების შესასწავლი ყველა პარამეტრის სიხშირე, აღნიშნული მანიპულაციის შემდეგ, იზრდება, მაგრამ მნიშვნელოვნად ნაკლები სიძლიერით, ვიდრე ეს ინტაქტურ ცხოველებში გამოიწვევა. იზრდება ლოკომოტორული აქტივობა, უფრო ნაკლები ეფექტია კვლევით ქცევაზე, თუმცა დეპრესიის ცხოველური მოდელების ფონურ მონაცემებთან შედარებით კვლევითი, ანუ ექსპლორატორული ქცევა, ორექსინA-ს 10მკგ/მკლ და 25 მკგ/მკლ გავლენით, სტატისტიკურად სარწმუნოდ ძლიერდება; იზრდება აგრეთვე საკვების მიღების სიხშირე, რაც დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში ანჰედონიის შემცირებაზე მიუთითებს. ორექსინA-ს შემცველობის მატებია თავზურგტვინის სითხეში უცვლელად ტოვებს წყლის სმის მოტივაციას.

ამოცანა 2გ ითვალისწინებდა ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანული სტრუქტურის ცვლილებების შესწავლას საკონტროლო ცხოველებში და დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში. ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანული სტრუქტურის ანალიზმა და ინტაქტური ცხოველების მონაცემებთან შედარებამ საშუალება მოგვცა გამოგვევლინა, რომ დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ, შემცირებულია აქტიური ღვიძილის სიხშირე და ტოტალური დრო, გაზრდილია პასიური ღვიძილის და ზერელე ნელტალღოვანი ძილის დადგომის სიხშირე და ტოტალური დრო, გაზრდილია ღრმა ნელტალღოვანი ძილის სიხშირე და შემცირებულია ამ ფაზის ტოტალური დრო. ეს ძალიან მნიშვნელოვანი ფაქტებია, რომელიც იმას მიუთითებს, რომ დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, ადამიანების დეპრესიული დაავადების მსგავსად, დათრგუნულია აქტიური ღვიძილის მდგომარეობა და ძალიან არის გაუარესებული ნელტალღოვანი ძილის ხარისხი, რასაც ამ ფაზის გაზერელეება და მის სიხშირის, ანუ წყვეტადობის, გაზრდა იწვევს. შემცირებულია პარადოქსული ძილის ფარული პერიოდი და მომატებულია პარადოქსული ძილის დადგომის სიხშირე და ტოტალური დრო.

აღმოჩნდა, რომ ორექსინA-ს ორივე დოზის ინტრაცერებროვენტრიკულური შეყვანა, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, ზრდის ზერელე და ღრმა ნელტალღოვანი ძილის სიხშირეებს, საკონტროლო ცხოველების მონაცემებთან შედარებით, და დოზა-

დამოკიდებულად ამცირებს ღრმა ნელტალღოვანი ძილის ჯამურ დროს. იზრდება პარადოქსული ძილის ფარული პერიოდი, მნიშვნელოვნად მცირდება პარადოქსული ძილის სიხშირე და ტოტალური დრო.

პარადოქსული ძილის აღწერილი ცვლილებები დეპრესიულ პაციენტებში გამოყენებული თერაპიების ერთ-ერთი სასურველი და მისაღწევი ეფექტია, თუმცა ხშირ შემთხვევაში მისი მიღწევა, დღეისათვის არსებული მკურნალობების ფონზე, გაძნელებულია.

**ამოცანა 3. ორექსინB-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური (ICV) მიკროინექცია ვირთაგვებში, ონტოგენეზის პერიოდში და მისი ეფექტები დეპრესიული მდგომარეობის მსგავსი ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევების განვითარებაზე, რომლებიც თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით უნდა იქნას გამოწვეული.**

ცდების ამ სერიაში ხდებოდა ორექსინB-ს 10 და/ან 25 მკგ/მკლ პერორალური გამოყენება ვირთაგვების ერთკვირიან ღლაპებში, ადრეული ონტოგენეზის პერიოდში. აღნიშნული პროცედურა მიმდინარეობდა მელიპრამინის კანქვეშა ინექციის პარალელურად. ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევების შესწავლა ზრდასრულ ვირთაგვებზე ხდებოდა. აღმოჩნდა, რომ ორექსინB-ს პერორალური მიცემა ვირთაგვების ერთკვირიანი ღლაპებისთვის, ადრეული ონტოგენეზის პერიოდში, ზრდასრულ პერიოდში ქცევის და ძილ-ღვიძილის ციკლის მნიშვნელოვან ცვლილებებს არ იწვევს, რაც იმას მიუთითებს, რომ ნეიროპეპტიდების პერორალური გამოყენების შემთხვევაში ორექსინB-ს ეფექტურობა ძალიან შეზღუდული უნდა იყოს.

შეიძლება გვევარაუდა, რომ ორექსინB-ს პერორალური გამოყენების არაეფექტურობა ამ ნეიროპეპტიდის სიცოცხლის ხანმოკლე პერიოდის გამო იყოს გამოწვეული, თუმცა აღმოჩნდა, რომ ეს მეთოდი არც ორექსინA-ს ეფექტურობის შესასწავლად არის ადეკვატური, რომლის სიცოცხლის ხანგრძლივობაც გაცილებით დიდია.

**ამოცანა 4. ორექსინB-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური (ICV) მიკროინექცია ვირთაგვებში, ზრდასრულ პერიოდში და მისი ეფექტები დეპრესიული მდგომარეობის მსგავსი ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებზე, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომლებიც თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით არის გამოყვანილი.**

ამოცანა4 სამ ქვეამოცანას შეიცავდა. ქვეამოცანა 4ა და 4ბ ეძღვნებოდა ქცევითი ცვლილებების შესწავლას საკონტროლო ცხოველებში და დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ.

აღმოჩნდა, რომ ორექსინB-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური მიკროინექცია, თავის ტვინის ლატერალურ პარაკუჭში, ინტაქტურ ვირთაგვებში უმნიშვნელოდ ზრდის ლოკომოტორულ და კვლევით ქცევას, ორექსინB-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური მიკროინექცია არ ცვლის თავის აწევის და ვერტიკალური დგომების რაოდენობას ინტაქტურ ცხოველებში, უცვლელი რჩება კვებითი და წყლის სმის მოტივაციები.

ორექსინB-ს შემცველობის მატება თავზურგტვინის სითხეში, რაც ჩვენს ექსპერიმენტებში ამ ნეიროპეპტიდის თავის ტვინის ლატერალურ პარაკუჭში მიკროინექციით ხდებოდა, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომლებიც თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით მიიღება, უმნიშვნელოდ ზრდის ლოკომოტორულ აქტივობას, ინტაქტურ ცხოველებთან შედარებით ნაკლებინტენსიური ეფექტი აქვს კვლევით ანუ ექსპლორატორულ ქცევაზე და არ მოქმედებს კვებით და წყლის სმის მოტივაციაზე.



ქვეამოცანა 4გ შეისწავლიდა ორექსინB-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური მიკროინექციის ეფექტებს ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანულ სტრუქტურაზე. ნაჩვენები იქნა, რომ: ა) ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზის ინტრაცერებროვენტრიკულური შეყვანის გავლენით, საკონტროლო ცხოველებში იზრდება დაძინების ფარული პერიოდი, იზრდება აქტიური ღვიძილის სიხშირე და მისი ტოტალური დრო, მცირდება პარადოქსული ძილის სიხშირე და ტოტალური დრო; ბ) ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზების ინტრაცერებროვენტრიკულური შეყვანის გავლენით, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ, იზრდება დაძინების ფარული პერიოდი, იზრდება აქტიური ღვიძილის ტოტალური დრო, მცირდება ღრმა ნელტალღოვანი ძილის ტოტალური დრო, პარადოქსული ძილის სიხშირე და ტოტალური დრო და ღრმა ნელტალღოვანი ძილის ფრაგმენტაციის ხარისხი.

**ამოცანა 5. ორექსინA-ს შემცველობის მატება თავზურგტვინის სითხეში (CSF), ინტრაცერებროვენტრიკულური (ICV) მიკროინექციით და მისი ეფექტების კვლევა დეპრესიის მსგავს ქცევით და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებზე, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ.**

ამოცანა 5 ორი ქვეამოცანისგან შედგებოდა. ქვეამოცანა 5.ა შეისწავლიდა ქცევით ცვლილებებს დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ და ორექსინA-ს ეფექტებს აღნიშნულ ცვლილებებზე. აღმოჩნდა, რომ დეპრესიის ცხოველურ მოდელებს მთელი რიგი ქცევითი ცვლილებები აღინიშნება - გაზრდილია ლოკომოტორული აქტივობა, შემცირებულია ქექვის, გრუმინგების, თავის აწევის სიხშირეები, სრულად არის დათრგუნული ვერტიკალური დგომების შემთხვევები, ორჯერ არის შემცირებული კვებითი მოტივაცია და დათრგუნულია წყლის სმის მოტივაცია.

სადისერტაციო ნაშრომის ამ ამოცანაში პირველად იქნა შესწავლილი ორექსინების ინტრაცერებროვენტრიკულური შეყვანის ეფექტები ცხოველთა ქცევაზე ადაპტირებულ გარემოში, დეპრესიის ახალ ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ. აღმოჩნდა, რომ ორექსინA-ს ეფექტები ლოკომოტორულ და ექსპლორატორულ ქცევაზე უფრო ძლიერია დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ, ვიდრე იმ მოდელებში, რომლებსაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ.

კერძოდ, ორექსინA-ს შემცველობის მატება თავზურგტვინის სითხეში, რაც ჩვენს ექსპერიმენტებში ამ ნეიროპეპტიდის თავის ტვინის ლატერალურ პაქუჟში მიკროინექციით ხდებოდა, დეპრესიის ცხოველური მოდელების ქცევის შემდეგ ძირითად ცვლილებებს იწვევს: მკვეთრად ზრდის ლოკომოტორულ აქტივობას; თრგუნავს კვლევით ანუ ექსპლორატორულ ქცევას; ზრდის კვების მიღების სიხშირეს და არ მოქმედებს წყლის სმის მოტივაციაზე.

ამრიგად, ექსპერიმენტულ კვლევებში გამოყენებულ ორივე ტიპის დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში ვითარდება ქცევის ისეთი დარღვევები, რაც უნიპოლარულ დეპრესიის დამახასიათებელ ქცევით დარღვევებს მოგვაგონებს. მოდელების ქცევითი ცვლილებების შედარება აჩვენებს, რომ დეპრესიის მსგავსი ქცევითი ცვლილებების ხარისხი უფრო მაღალია დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, როელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ.

საკვების მიღების სიხშირის შესწავლამ დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში აჩვენა, რომ ეს პარამეტერი ორივე ტიპის მოდელებშია შემცირებული, განსაკუთრებით ინტენსიურად კი მოდელებში ქოლინერგული სუპერსენსიტიურობით. ორივე მოდელებში, დაკვირვების 5 სთ პერიოდის განმავლობაში, სრულად არის დათრგუნული წყლის სმის მოტივაცია.

მიგვაჩნია, რომ საკვების მიღების სიხშირის შემცირება, უფრო მეტად, სიამოვნების განცდის უნარის დაქვითებაზე უნდა მიუთითებდეს, რაც დეპრესიის მოდელებში ანჰედონიის დონის ზრდის ერთ-ერთი პირდაპირი მაჩვენებელია.

ქვეამოცანა 5ბ ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანული სტრუქტურის ცვლილებების შესწავლას ითავლისწინებდა. აღმოჩნდა, რომ დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ, შემცირებულია აქტიური ღვიძილის სიხშირე და ტოტალური დრო, გაზრდილია პასიური ღვიძილის და ზერელე ნელტალოვანი ძილის დადგომის სიხშირე და ტოტალური დრო, გაზრდილია ღრმა ნელტალოვანი ძილის სიხშირე და შემცირებულია ამ ფაზის ტოტალური დრო, რაც მისი ხარისხის გაუარესებაზე მიუთითებს, და მკვეთრად არის გაზრდილი პარადოქსული ძილის დადგომის სიხშირე და ტოტალური დრო. ეს ცვლილებები ძალიან ჰგავს ძილის დარღვევებს, რომელიც უნიპოლარული დეპრესიისთვის არის დამახასიათებელი და ამიტომ ისინი დეპრესიის მოცემული ცხოველური მოდელის ვალიდურობის მაჩვენებელია.

ნაჩვენები იქნა, რომ ორექსინA-ს 10 და 25 მკგ/მკლ დოზების მოქმედებით დეპრესიის ცხოველური მოდელებისათვის დამახასიათებელი ცვლილებების მნიშვნელოვანი კორექცია ხდება. ორექსინA-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური შეყვანის გავლენით, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ, იზრდება დამინების ფარული პერიოდი, აქტიური ღვიძილის სიხშირე და ტოტალური დრო, მცირდება ღრმა ნელტალოვანი ძილის ტოტალური დრო, მცირდება პარადოქსული ძილის სიხშირე და მკვეთრად იზრდება პარადოქსული ძილის დადგომის ფარული პერიოდი.

**ამოცანა 6. ორექსინB-ს შემცველობის მატება CSF-ში, ICV მიკროინექციით და მისი ეფექტების კვლევა დეპრესიის მსგავს ქცევით და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებზე, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ.**

ამოცანა 6 ორ ქვეამოცანას შეიცავდა. ამოცანა 6ა ორექსინB-ს ქცევით ეფექტებს შეისწავლიდა. ექსპერიმენტების ამ სერიაში მიღებული მონაცემების ანალიზმა აჩვენა, რომ დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ, ლოკომოციის სიხშირე, საკონტროლო მონაცემებთან შედარებით, მკვეთრად არის გაზრდილი. ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზის ინტრაცერებროვენტრიკულური შეყვანის გავლენით მისი სიდიდე, მოდელების ფონურ მონაცემებთან შედარებით, მცირდება, ხოლო საკონტროლო მონაცემებთან შედარებით უცვლელი რჩება. ქექვის სიხშირე, მოდელებში, საკონტროლო მონაცემებთან შედარებით, არ იცვლება, ხოლო მოდელების ფონურ მონაცემთან შედარებით, მნიშვნელოვნად მატულობს. რაც შეეხება გრუმინგების რაოდენობას, ქცევის ეს პარამეტრი დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ, შემცირებული აღმოჩნდა. გრუმინგების სიხშირე, ორექსინB-ს მიკროინექციის ფონზე, საკონტროლო მონაცემებთან შედარებით, მნიშვნელოვნად არ შეიცვალა, თუმცა მოდელების ფონურ მონაცემებთან შედარებით ორჯერ გაიზარდა. აღმოჩნდა, რომ ყნოსვების სიხშირე, დეპრესიის ცხოველური მოდელების ფონურ ქცევაში, მნიშვნელოვნად არ იცვლება, და ვერც ორექსინB-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური მიკროინექცია ავლენს ეფექტს. თავის აწევათა რაოდენობა მოდელებში, საკონტროლო მონაცემებთან შედარებით, თითქმის 7-ჯერ მცირდება. ორექსინB-ს მოქმედებით მთლიან 5 სთ პერიოდში მატულობს, თუმცა საკონტროლო მონაცემებთან შედარებით, მკვეთრად შემცირებული რჩება. ვერტიკალური დგომები მოდელების ფონურ ქცევაში საერთოდ არ

ფიქსირდება, ხოლო ორექსინB-ს მოქმედების ფონზე მატულობს, თუმცა საკონტროლო მონაცემებს მაინც ჩამორჩება.

დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში საკვების მიღების სიხშირე საკონტროლო მონაცემთან შედარებით შემცირებულია. ხოლო ორექსინB-ს გავლენით საკვების მიღების სიხშირე უცვლელი რჩება.

ამრიგად, ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზის ქცევითი ეფექტები, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ იმ ქცევითი ეფექტების მსგავსია, რომელსაც ორექსინB-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური მიკროინექცია იწვევდა დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებს (იხ. ამოცანა 4.ბ).

ამოცანა 6ბ შეისწავლიდა ორექსინB-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური მიკროინექციის ეფექტებს ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანულ სტრუქტურაზე. მიღებული შედეგების ანალიზმა აჩვენა, რომ ძილის დადგომის ფარული პერიოდი, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ, საკონტროლო ცხოველების ძილის ლატენცობასთან შედარებით, ორჯერ არის შემცირებული. ორექსინB-ს შემცველობის მატება თავზურგტვინის სითხეში ფარულ პერიოდს მნიშვნელოვნად (3.5-ჯერ) ზრდის. ცალკეული ქცევითი მდგომარეობების (ფაზების) დადგომის სიხშირეთა ანალიზი აჩვენებს, რომ ორექსინB-ს შემცველობის მატება თავზურგტვინის სითხეში, დოზით 25 მკგ/მკლ, საკონტროლო ცხოველებში აქტიური ღვიძილის სიხშირეს ორჯერ ზრდის. დეპრესიის ცხოველური მოდელების აქტიური ღვიძილის სიხშირე ორჯერ მატულობს, როგორც საკონტროლო მონაცემებთან, ისე მოდელების ფონურ მონაცემებთან შედარებით.

ნორმალური ძილ-ღვიძილის ციკლის ერთ-ერთ ყველაზე მნიშვნელოვან კომპონენტს ზერელე ნელტალღოვანი ძილის დადგომის სიხშირე წარმოადგენს, ვინაიდან მისი სიხშირის გაზრდა ძილის ხარისხის გაუარესების ერთ-ერთი მაჩვენებელია. ზერელე ნელტალღოვანი ძილის დადგომის სიხშირე, საკონტროლო ცხოველებში, ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზის გავლენით, მნიშვნელოვან ცვლილებებს არ განიცდის. დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში ღრმა ნელტალღოვანი ძილის დადგომის სიხშირე თითქმის სამჯერ არის გაზრდილი საკონტროლო ცხოველების მონაცემთან შედარებით. ორექსინB-ს მოქმედებით ამ პარამეტრის სიდიდე კიდევ უფრო მატულობს.

იგივე მიმართულების ცვლილებები ხდება ღრმა ნელტალღოვანი ძილის სიხშირესთან მიმართებაში. კერძოდ, საკონტროლო ცხოველებში ეს სიდიდე არ იცვლება. დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში ღრმა ნელტალღოვანი ძილის სიხშირე სამჯერ არის მომატებული. ორექსინB-ს მოქმედებით ეს პარამეტრი დაახლოებით 1.5-ჯერ მცირდება, თუმცა საკონტროლო მონაცემებთან შედარებით მაინც ორჯერ გაზრდილი რჩება.

საინტერესო შედეგები იქნა მიღებული პარადოქსული ძილის რაოდენობრივი მაჩვენებლების ანალიზისას. ამ ფაზის სიხშირე, საკონტროლო ცხოველებში, ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზის გავლენით შემცირდა. პარადოქსული ძილის დადგომის სიხშირე, დეპრესიის ცხოველური მოდელების ფონურ ძილ-ღვიძილის ციკლში, მნიშვნელოვნად არის გაზრდილი საკონტროლო მონაცემთან შედარებით. ეს პარამეტრი, 25 მკგ/მკლ დოზის გავლენით თითქმის ორჯერ შემცირდა. დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში მკვეთრად არის გაზრდილი. აგრეთვე პარადოქსული ძილის ფრაგმენტების (პარადოქსულ ძილში გადასვლათა მცდელობების) სიხშირე, ორექსინB-ს მოქმედებით პარადოქსული ძილის ეს პარამეტრი მკვეთრად მატულობს.

ძილ-ღვიძილის ციკლის სხვადასხვა ფაზათა ტოტალური დროის სტატისტიკურმა დამუშავებამ, ანალიზის სხვადასხვა პერიოდების მიხედვით აჩვენა, რომ აქტიური ღვიძილის ტოტალური დრო, საკონტროლო ცხოველებში ფიზიოლოგიური ხსნარით, თანაბრად არის გადანაწილებული ეგ რეგისტრაციის პირველ და მეორე 2.5 სთ

პერიოდებში. ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზის ინტრაცერებროვენტრიკულური შეყვანა მკვეთრად ზრდის აქტიური ღვიძილის დროს, პოსტინექციური პირველი 2.5 სთ განმავლობაში, ხოლო მეორე 2.5 სთ პერიოდში მკვეთრად ამცირებს.

დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ, ფონურ ძილ-ღვიძილის ციკლში, აქტიური ღვიძილის დრო, საკონტროლო მონაცემთან შედარებით, თითქმის უცვლელია. ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზის ინტრაცერებროვენტრიკულური შეყვანა ამ პარამეტრს მნიშვნელოვნად ზრდის, როგორც დაკვირვების პირველ ორ ნახევარ საათიან პერიოდში, ისე მთლიან 5 სთ პერიოდში.

პასიური ღვიძილის ტოტალური დრო, საკონტროლო ცხოველებში, ორექსინB-ს გავლენით ცვლილებას არ განიცდის. დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში პასიური ღვიძილის ტოტალური დრო ფონურ მონაცემებთან შედარებით უმნიშვნელოდ არის გაზრდილი. დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში ორექსინB-ს გავლენით ამ პარამეტრის სიდიდე მკვეთრად მცირდება.

რაც შეეხება ზერელე ნელტალღოვანი ძილის ტოტალურ დროს, ეს პარამეტრი, ორექსინB-ს გავლენით საკონტროლო ცხოველებში მნიშვნელოვან ცვლილებებს არ ექვემდებარება. ხოლო დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში ეგ რეგისტრაციის სამივე პერიოდში სტატისტიკურად სარწმუნოდ მცირდება.

აღმოჩნდა, რომ ღრმა ნელტალღოვანი ძილის ტოტალური დრო თანაბრად არის გადანაწილებული საკონტროლო ცხოველების ეგ რეგისტრაციის პირველ და მეორე 2.5 სთ პერიოდებში. ეს სიდიდე, ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზის გავლენით, უცვლელი რჩება.

დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ, ფონურ ძილ-ღვიძილის ციკლში, ღრმა ნელტალღოვანი ძილის ტოტალური დრო, საკონტროლო ცხოველების მონაცემებთან შედარებით, მნიშვნელოვნად შემცირებული აღმოჩნდა. ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზის მოქმედებით, ამ ფაზის დროითი პარამეტრები რეგისტრაციის მეორე 2.5 სთ და მთლიან 5 სთ ციკლში ფონთან შედარებით შემცირებულია.

ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზის მოქმედებით, საკონტროლო ცხოველებში, პარადოქსული ძილის ტოტალური დრო 1.5-ჯერ მცირდება. რაც შეეხება დეპრესიის ცხოველურ მოდელებს, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ, პარადოქსული ძილის ტოტალური დრო მათში მნიშვნელოვნად არის მომატებული. ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზის მოქმედებით, პარადოქსული ძილის ტოტალური დრო მნიშვნელოვნად მცირდება, თუმცა დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში ამ ფაზის სრული დათრგუნვა არ ხდება, როგორც ეს ორექსინA-ს ეფექტების აღწერისას იყო ნაჩვენები.

როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული უნიპოლარული დეპრესიისთვის დამახასიათებელი ძილის დარღვევების ერთ-ერთ ძირითად მახასიათებელს პარადოქსული ძილის ფარული პერიოდის ცვლილება წარმოადგენს. ამიტომ ამ პარამეტრის შესწავლა დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში ერთ-ერთი ყველაზე საინტერესო საკითხია. აღმოჩნდა, რომ დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ, პარადოქსული ძილის ლატენობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ არის შემცირებული, საკონტროლო ცხოველების ფარულ პერიოდთან შედარებით. ორექსინB-ს 25 მკგ/მკლ დოზის მოქმედებით, საკონტროლო ცხოველებში, ფარული პერიოდი ფონთან შედარებით მატულობს. ფარული პერიოდის ზრდა განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში.

**ამოცანა 7. ორექსინ1 და ორექსინ2 რეცეპტორების სელექციური და კომბინირებული ანტაგონისტების შეყვანა ადრეული ონტოგენეზის პერიოდში, სეროტონინის უკუმთანთქმის სელექციური ინჰიბიტორების კანქვეშა ინექციის პარალელურად, და მათი ეფექტები ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევების განვითარებაზე ზრდასრულ პერიოდში.**

ამ სერიის ექსპერიმენტებში, ვირთაგვების ერთკვირიან ღლაპებში, მელიპრამინის კანქვეშა შეყვანას ორექსინ-1 და/ან ორექსინ-2 რეცეპტორების ანტაგონისტების კანქვეშა ინექცია ემატებოდა. პროცედურა უწყვეტად გრძელდებოდა ორი კვირის განმავლობაში. როგორც ზემოთ იყო აღწერილი ვირთაგვების ღლაპები, რომლებიც ადრეული ონტოგენეზის პერიოდში მხოლოდ მელიპრამინის კანქვეშა ინექციებს ღებულობდნენ ზრდასრულ პერიოდში ქცევისა და ძილ-ღვიძილის ციკლის ისეთ ცვლილებებს ავლენენ, რაც ძალიან მოგვაგონებს დეპრესიული პაციენტების დამახასიათებელ ცვლილებებს. ამ პროცესებში ორექსინების შესაძლო მონაწილეობის დადგენის მიზნით დეპრესიის აღნიშნულ მოდელებში ზრდასრულ პერიოდში ვახდენდით ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანული სტრუქტურის ცვლილებების შესწავლას.

ამოცანის შესრულების შედეგად მიღებული შედეგების სტატისტიკურმა დამუშავებამ აჩვენა, რომ ორექსინ1 და ორექსინ2 რეცეპტორების სელექციური და კომბინირებული ანტაგონისტების შეყვანას, ადრეული ონტოგენეზის პერიოდში, სეროტონინის უკუმთანთქმის სელექციური ინჰიბიტორების კანქვეშა ინექციის პარალელურად, ხანგრძლივი ეფექტები, ვირთაგვების ქცევაზე ზრდასრულ პერიოდში, არა აქვს. ექსპერიმენტების ამ სერიაში ზრდასრული ვირთაგვების ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანული სტრუქტურის ცვლილებები არ განსხვავდებოდა იმ ცვლილებებისგან, რომლებიც მიღებულია დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ. ეს ცვლილებები ამოცანა2-ის შედეგებშია აღწერილი.

**ამოცანა 8. ორექსინ1 და ორექსინ2 რეცეპტორების სელექციური და კომბინირებული ანტაგონისტების შეყვანა ზრდასრულ პერიოდში, და მისი ეფექტები ქცევით და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებზე დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ.**

შევისწავლეთ ორექსინ-1 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონისტის, SB 334867-ის (5მგ/კგ, შეყვანა ხდებოდა შიდაპერიტონეალურად), ორექსინ-2 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონისტის JNJ 10397049-ის (10 მგ/კგ, შეყვანა ხდებოდა კანქვეშა) და ამ რეცეპტორების კომბინირებული ანტაგონისტის EMPA-ს (10 მგ/კგ, შეყვანა შიდაპერიტონეალურად) ეფექტები მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით გამოყვანილ დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში. თითოეული ანტაგონისტის სამ-სამი დოზა იქნა გამოყენებული, დისერტაციაში წარმოდგენილია ყველაზე ეფექტური დოზების გავლენით მიღებული შედეგები.

ამოცანა 8ა ორექსინის რეცეპტორების ანტაგონისტების ქცევით ეფექტებს შეისწავლიდა. ორექსინ-1 რეცეპტორების ანტაგონისტის SB 334867-ის 5მგ/კგ დოზის გავლენით ვირთაგვების ქცევის მნიშვნელოვანი ცვლილებები ხდება. სრულად ითრგუნება ლოკომოციის სიხშირე, როგორც ინტაქტური ცხოველების, ისე დეპრესიის ცხოველური მოდელის ფონურ მონაცემებთან შედარებით. ქექვის სიხშირე დეპრესიის ცხოველური მოდელების ფონთან შედარებით თითქმის 2.5-ჯერ მატულობს, თუმცა დეპრესიის ცხოველური მოდელების ფონურ სიდიდებთან შედარებით, დაკვირვების სამივე პერიოდის მიხედვით, ძალიან არის შემცირებული.

გრუმინგების რაოდენობა, დაკვირვების სამივე პერიოდის მიხედვით, ინტაქტური კონტროლის მონაცემებთან შედარებით მნიშვნელოვნად არ იცვლება, ხოლო მოდელების ფონურ მონაცემებთან შედარებით სამჯერ არის შემცირებული.

სრულად ითრგუნება ყნოსვის, თავის აწევის და ვერტიკალური დგომების სიხშირეები. მცირდება საკვების მიღების სიხშირე და უცვლელია წყლის სმის მოტივაცია.

ორექსინ-2 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონისტის, JNJ 10397049-ის 10 მგ/კგ დოზის გავლენით ლოკომოციის სიხშირე, საკონტროლო მონაცემებთან შედარებით მკვეთრად მატულობს, თუმცა დეპრესიის ცხოველური მოდელების ფონურ მონაცემებთან შედარებით უმნიშვნელოდ იზრდება. დაკვირვების სამივე პერიოდში მკვეთრად მატულობს ქექვის სიხშირე. გრუმინგების რაოდენობა ინტაქტური ცხოველების ფონურ მონაცემს მნიშვნელოვნად აჭარბებს, ხოლო მოდელების ფონურ მონაცემს სარწმუნოდ ჩამორჩება. JNJ 10397049-ის მოქმედებით, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, იზრდება ყნოსვის სიხშირე და მკვეთრად მცირდება თავის აწევის და ვერტიკალური დგომების რაოდენობა.

ორექსინ-2 რეცეპტორების დაბლოკვის ფონზე მატულობს საკვების მიღების სიხშირე და იზრდება წყლის სმის მოტივაცია.

ორექსინ-1 და ორექსინ-2 რეცეპტორების კომბინირებულ ანტაგონისტის, EMPA-ს ეფექტები დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ, მნიშვნელოვანი არ აღმოჩნდა და ამიტომ მონაცემები ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზების მიხედვით სადისერტაციო ნაშრომში არ არის განხილული.

ამრიგად, ორექსინ-1 და ორექსინ-2 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონიზება ერთმანეთის საპირისპირო ეფექტებს ავლენს დეპრესიის ცხოველური მოდელების ქცევაზე, რაც მიუთითებს ამ რეცეპტორების, განსხვავებულ როლზე ვირთაგვების ქცევაში და მათ დარღვევებში დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში.

ამოცანა 8მ შეისწავლიდა ორექსინების რეცეპტორების ანტაგონისტების ეფექტებს ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანულ სტრუქტურაზე. აღმოჩნდა, რომ დაძინების ფარული პერიოდი ორექსინ-1 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონისტის, SB 334867-ის 5 მგ/კგ დოზის გავლენით უმნიშვნელოდ მცირდება. თითქმის უცვლელი რჩება აქტიური ღვიძილის სიხშირე, ხოლო პასიური ღვიძილის სიხშირე 1.5-ჯერ მატულობს.

უმნიშვნელო ცვლილებებია ზერელე ნელტალღოვანი და ღრმა ნელტალღოვანი ძილის დადგომის სიხშირეებში. პარადოქსული ძილის დადგომის შემთხვევათა რაოდენობა უმნიშვნელოდ მატულობს, ხოლო მისი ფრაგმენტების სიხშირე მკვეთრად იზრდება.

SB 334867-ის 5 მგ/კგ დოზის მოქმედებით მკვეთრად მცირდება აქტიური ღვიძილის, პასიური ღვიძილის და ზერელე ნელტალღოვანი ძილის ტოტალური დრო, 5 სთ ეგ რეგისტრაციის პერიოდში. ფონურ მონაცემებთან შედარებით თითქმის ორჯერ იზრდება ღრმა ნელტალღოვანი ძილის ჯამური ხვედრითი წილი. განსაკუთრებით მკვეთრად მატულობს პარადოქსული ძილის ჯამური დრო, ეგ რეგისტრაციის მეორე 2.5 სთ და მთლიან 5 სთ პერიოდებში და უმნიშვნელოდ იზრდება პარადოქსული ძილის ფარული პერიოდი.

ორექსინ-2 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონისტის, JNJ 10397049-ის 10 მგ/კგ დოზის მოქმედებით მკვეთრად იზრდება დაძინების ფარული პერიოდი, რომელიც თითქმის ოთხჯერ აჭარბებს ფონურ მაჩვენებლს. მკვეთრად მატულობს აქტიური ღვიძილის სიხშირე, თითქმის 2.5-ჯერ ფონურ მონაცემებთან შედარებით. მატულობს აგრეთვე პასიური ღვიძილის სიხშირე, თუმცა მატება არ არის ისეთი მკვეთრი, როგორც აქტიური ღვიძილის შემთხვევაში. მცირდება ზერელე ნელტალღოვანი ძილის, ღრმა ნელტალღოვანი ძილის და პარადოქსული ძილის სიხშირეები. ეფექტი განსაკუთრებით ძლიერია პარადოქსული ძილის შემთხვევაში, ამ ფაზის სიხშირე თითქმის 8-ჯერ კლებულობს.

JNJ 10397049-ის 10 მგ/კგ დოზის მოქმედებით მნიშვნელოვნად (დაახლოებით სამჯერ) იზრდება დაძინების ფარული პერიოდი. იცვლება ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზათა ტოტალური დრო. მკვეთრად იზრდება აქტიური ღვიძილის ტოტალური დროითი წილი

ეგ რეგისტრაციის მთლიან 5 სთ პერიოდში, პასიური ღვიძილის ჯამური დრო, ფონურ მონაცემებთან შედარებით, მკვეთრად მცირდება. შემცირებულია აგრეთვე ზერელე ნელტალლოვანი ძილის დროითი ხვედრითი წილი. განსაკუთრებით მკვეთრი ეფექტები ვლინდება ღრმა ნელტალლოვან და პარადოქსულ ძილთან მიმართებაში - ღრმა ნელტალლოვანი ძილის დრო სამჯერ მცირდება, ხოლო პარადოქსული ძილის ტოტალური დრო 5-ჯერად შემცირებას ექვემდებარება. მკვეთრად იზრდება პარადოქსული ძილის ფარული პერიოდი, რომლის სიდიდეც სამჯერ აჭარბებს ფონურ მაჩვენებელს.

**ამოცანა 9. ორექსინ1 და ორექსინ2 რეცეპტორების სელექციური და კომბინირებული ანტაგონისტების შეყვანა ადრეული ონტოგენეზის პერიოდში, მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის ანტაგონისტების კანქვეშა ინექციის პარალელურად, და მათი ეფექტები ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევების განვითარებაზე ზრდასრულ პერიოდში.**

ამ სერიის ექსპერიმენტებში, ვირთაგვების ერთგვირიან ღლაპებში, სკოპოლამინის კანქვეშა შეყვანას ემატებოდა ორექსინ-1 და/ან ორექსინ-2 რეცეპტორების ანტაგონისტების კანქვეშა ინექცია. პროცედურა უწყვეტად გრძელდებოდა ორი კვირის განმავლობაში. ზრდასრულ პერიოდში ასეთი ვირთაგვები ქცევისა და ძილ-ღვიძილის ციკლის ისეთ ცვლილებებს ავლენენ, რაც ძალიან მოგვაგონებს დეპრესიული პაციენტების დამახასიათებელ ცვლილებებს. ამ პროცესებში ორექსინების შესაძლო მონაწილეობის დადგენის მიზნით დეპრესიის აღნიშნულ მოდელებში ზრდასრულ პერიოდში ვახდენდით ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანული სტრუქტურის ცვლილებების შესწავლას.

ამოცანის შესრულების შედეგად მიღებული შედეგების სტატისტიკურმა დამუშავებამ აჩვენა, რომ ორექსინ-1 და ორექსინ-2 რეცეპტორების სელექციური და კომბინირებული ანტაგონისტების შეყვანას, ადრეული ონტოგენეზის პერიოდში, თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის ანტაგონისტის კანქვეშა ინექციის პარალელურად, ხანგრძლივი ეფექტები, ვირთაგვების ქცევაზე ზრდასრულ პერიოდში, არა აქვს. ექსპერიმენტების ამ სერიაში ზრდასრული ვირთაგვების ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანული სტრუქტურის ცვლილებები არ განსხვავდებოდა იმ ცვლილებებისგან, რომლებიც მიღებულია დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომლებიც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ. ეს ცვლილებები ამოცანა 5.-ის შესრულებისას მიღებულ შედეგებშია აღწერილი.

**ამოცანა 10 ორექსინ1 და ორექსინ2 რეცეპტორების სელექციური და კომბინირებული ანტაგონისტების შეყვანა ზრდასრულ პერიოდში, და მისი ეფექტები ქცევით და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებზე დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ.**

ექსპერიმენტების ამ სერიაში შევისწავლეთ ორექსინ-1 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონისტის, SB 334867-ის (5მგ/კგ, შეყვანა ხდებოდა შიდაპერიტონეალურად), ორექსინ-2 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონისტის JNJ 10397049-ის (10 მგ/კგ, შეყვანა ხდებოდა კანქვეშა) და ამ რეცეპტორების კომბინირებული ანტაგონისტის EMPA-ს (10 მგ/კგ, შეყვანა შიდაპერიტონეალურად) ეფექტები ქცევასა და ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანულ სტრუქტურაზე, დეპრესიის ცხოველური მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ. თითოეული ანტაგონისტის სამ-სამი დოზა იქნა გამოყენებული, დისერტაციაში წარმოდგენილია ყველაზე ეფექტური დოზების გავლენით მიღებული შედეგები.

ამოცანა 10ა ანტაგონისტების ქცევით ეფექტებს შეისწავლიდა. მონაცემების დამუშავებამ ქცევის თითოეული პარამეტრის მიხედვით აჩვენა, რომ SB 334867-ის 5 მგ/კგ

დოზის მოქმედებით, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ, სრულად ითრგუნება ლოკომოტორული აქტივობა. ქექვის სიხშირე ინტაქტური ვირთაგვების ფონურ მონაცემებთან შედარებით 3-ჯერ იზრდება, ხოლო დეპრესიის ცხოველური მოდელების ფონურ მონაცემებთან შედარებით 2.5-ჯერ კლებულობს. ითრგუნება გრუმინგების დამახასიათებელი აქტივობა, რაც მათი სიხშირის მკვეთრ კლებაში ვლინდება დაკვირვების სამივე პერიოდის განმავლობაში. საკვების მიღების სიხშირე და წყლის სმის მოტივაცია მნიშვნელოვნად არ იცვლება.

JNJ 10397049-ის 10 მგ/კგ დოზის მოქმედებით ქვევითი პარამეტრების საპირისპირო ცვლილებები ხდება. მკვეთრად იზრდება ლოკომოციის სიხშირე, ქექვის შემთხვევათა რაოდენობა და ყნოსვის სიხშირე. სტატისტიკურად სარწმუნოდ კლებულობს გრუმინგების, თავის აწევის და ვერტიკალური დგომების სიხშირეები. იზრდება საკვების მიღების სიხშირე და წლის სმის მოტივაცია. ჩვენ მიერ ჩატარებული ექსპერიმენტების ყველა სერიიდან მხოლოდ JNJ 10397049-ის გავლენით მოხდა წყლის სმის მოტივაციის გაზრდა დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში.

ორექსინ-1 და ორექსინ-2 რეცეპტორების კომბინირებული ანტაგონისტის, EMPA-ს ეფექტები დეპრესიის ცხოველური მოდელების ქვევაზე SB 334867-ის და JNJ 10397049-ის შუალედური აღმოჩნდა და ამიტომ დაწვრილებით არ არის აღწერილი.

ამრიგად, ორექსინ-1 და ორექსინ-2 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონიზება ერთმანეთის საპირისპირო ეფექტებს ავლენს დეპრესიის ცხოველური მოდელების ქვევაზე, რაც მიუთითებს ამ რეცეპტორების, და მათი ლიგანდების, განსხვავებულ როლზე ქვევით დარღვევებში, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ.

ამოცანა 10ბ შეისწავლიდა ორექსინების რეცეპტორების ანტაგონისტების ეფექტებს ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანულ სტრუქტურაზე. აღმოჩნდა, რომ SB 334867-ის 5 მგ/კგ-ის ინტრაპერიტონეალური შეყვანის შედეგად მკვეთრად მატულობს დაძინების ფარული პერიოდი. მისი სიდიდე ფონურ მონაცემებს თითქმის 3-ჯერ აჭარბებს.

ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზათა სიხშირის ანალიზმა აჩვენა, რომ აქტიური ღვიძილის დადგომის სიხშირე, SB 334867 მოქმედებით, ფონური მონაცემების ფარგლებში რჩება, ხოლო პასიური ღვიძილის დადგომის სიხშირე თითქმის ორჯერ მატულობს. მკვეთრად იზრდება ზერელე ნელტალღოვანი და ღრმა ნელტალღოვანი ძილის, აგრეთვე პარადოქსული ძილის დადგომის სიხშირეები. მატულობს პარადოქსული ძილის ფრაგმენტაციის ხარისი. იზრდება ამ ფაზის ლატენტური პერიოდი.

მკვეთრი ცვლილებები ხდება ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზათა ტოტალური დროის მიხედვითაც. SB 334867-ის მოქმედების ფონზე, ეგ რეგისტრაციის სამივე პერიოდის მიხედვით, მკვეთრად მცირდება აქტიური ღვიძილის, პასიური ღვიძილის და ზერელე ნელტალღოვანი ძილის ჯამური დროითი მაჩვენებლები. ორექსინ-1 რეცეპტორების დაბლოკვა, რასაც SB 334867-ის შიდაპერიტონეალური შეყვანა ახდენს, მკვეთრად ზრდის ღრმა ნელტალღოვანი და პარადოქსული ძილის ტოტალურ დროს.

ორექსინ-2 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონისტის JNJ 10397049-ის ეფექტები ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანულ სტრუქტურაზე SB 334867-ის ეფექტებისგან მკვეთრად განსხვავებული აღმოჩნდა. JNJ 10397049-ის 10მგ/კგ დოზის მოქმედებით დაახლოებით 4-ჯერ გაიზარდა ძილის ფარული პერიოდი.

ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზათა სიხშირის შესწავლამ აჩვენა, რომ ორექსინ-2 რეცეპტორების დაბლოკვა, JNJ 10397049-ის მოქმედებით, მკვეთრად ზრდის აქტიური ღვიძილის დადგომის სიხშირეს - ძილ-ღვიძილის ციკლის ეგ რეგისტრაციის 5 სთ პერიოდში ეს ფაზა 50-ჯერ ვითარდება, რაც ულტრადიანული სტრუქტურის სრულ მოშლას იწვევს. მცირდება პასიური ღვიძილის, ზერელე და ღრმა ნელტალღოვანი ძილის დადგომის სიხშირეები. პარადოქსული ძილის სრულფასოვანი ფაზა საერთოდ აღარ



ვითარდება. ფონურ მონაცემებთან შედარებით უმნიშვნელოდ არის გაზრდილი პარადოქსულ ძილში გადასვლის მცდელობები (ფრაგმენტების სიხშირე).

JNJ 10397049-ის 10 მგ/კგ დოზის მოქმედებით, ევგ რეგისტრაციის სამივე პერიოდში, მკვეთრად მატულობს აქტიური ღვიძილის ტოტალური დრო, რომლის სიდიდეც, ფონურ მონაცემებთან შედარებით, თითქმის რვაჯერ არის გაზრდილი. ამის საპირისპიროდ, სამჯერ მცირდება პასიური ღვიძილის ტოტალური დრო და თითქმის ნახევრდება ზერელე ნელტალლოვანი ძილის დროითი ხვედრითი წილი. სტატისტიკურად სარწმუნოდ მცირდება აგრეთვე ღრმა ნელტალლოვანი და პარადოქსული ძილის ტოტალური დრო.

ამრიგად, ორექსინ-1 და ორექსინ-2 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონიზება ერთმანეთის საპირისპირო ეფექტებს ავლენს ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანულ სტრუქტურაზე, რაც მიუთითებს ამ რეცეპტორების, და მათი ლიგანდების, განსხვავებულ როლზე ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებში, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში.

**ამოცანა 11. ორექსინA-ს შემცველობის გაზომვა, თავზურგტვინის სითხეში, საკონტროლო ცხოველებში და დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ.**

ექსპერიმენტების მოცემულ სერიაში, როგორც საკონტროლო ცხოველებში, ისე დეპრესიის ცხოველური მოდელებში, ორექსინA-ს შემცველობის ფონური დონეების განსაზღვრის მიზნით, სტერეოტაქსულად, სპეციალური მეთოდით, ვიღებდით თავზურგტვინის სითხეს ცისტერნა მაგნადან. შემდეგ შვეისწავლიდით ორექსინA-ს ეფექტებს, რისთვისაც ამ ნეიროპეპტიდის 10 მკგ/მკლ და 25 მკგ/მლ დოზების შეყვანიდან 1 სთ შემდეგ, როგორც საკონტროლო ცხოველების, ისე დეპრესიის ცხოველური მოდელების ცისტერნა მაგნადან ვიღებდით თავზურგტვინის სითხეს. თითოეული ვირთაგვადან ამოღებული სითხის რაოდენობა 50 მკლ-ს შეადგენდა. სითხე თავსდებოდა ეპენდორვის სპეციალურ სტერილურ პოლიეთილენის ჭურჭელში და ინახებოდა მაცივარში  $-80^{\circ}$  ტემპერატურაზე.

ორექსინA-ს შემცველობის გაზომვა ELISA მეთოდით ხდებოდა, რისთვისაც სპეციალური კიტები გამოიყენებოდა.

აღმოჩნდა, რომ ორექსინA-ს შემცველობა დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ, ინტაქტურ ცხოველებთან შედარებით, გაზრდილია. თავის ტვინის ლატერალურ პარაკუჭში ორექსინA-ს 10 მკგ/მკლ დოზის მიკროინექციიდან 1 სთ შემდეგ ამ ნეიროპეპტიდის შემცველობა თავზურგტვინის სითხეში კიდევ უფრო მნიშვნელოვნად იზრდება, როგორც საკონტროლო ცხოველებში, ისე დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში. ამასთან, ეფექტი უფრო ძლიერია დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში. ორექსინA-ს შემცველობის მატება თავზურგტვინის სითხეში დოზა-დამოკიდებულ ხასიათს ავლენს. კერძოდ, ორექსინA-ს 25 მკგ/მკლ დოზის მოქმედებით, როგორც საკონტროლო ცხოველების, ისე დეპრესიის ცხოველური მოდელების, თავზურგტვინის სითხეში ორექსინA-ს შემცველობის კიდევ უფრო დიდი მატება აღინიშნება.

**ამოცანა 12. ორექსინA-ს შემცველობის გაზომვა თავზურგტვინის სითხეში, საკონტროლო ცხოველებში და დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ.**

ექსპერიმენტების მოცემულ სერიაში, როგორც საკონტროლო ცხოველებში, ისე დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ, თავზურგტვინის სითხეში ორექსინA-ს შემცველობის გაზომვის მეთოდი და პროცედურა ისეთივე იყო, როგორც ეს ამოცანა 11-ში არის აღწერილი.

აღმოჩნდა, რომ ორექსინA-ს შემცველობა თავზურგტვინის სითხეში, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ, ინტაქტურ ცხოველებთან შედარებით, შემცირებულია.

თავის ტვინის ლატერალურ პარაკუჭში ორექსინA-ს 10 მკგ/მლ დოზის მიკროინექციიდან 1 სთ შემდეგ ამ ნეიროპეპტიდის შემცველობა თავზურგტვინის სითხეში მნიშვნელოვნად არის გაზრდილი, როგორც საკონტროლო ცხოველებში, ისე დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში. ამასთან, ეფექტი უფრო ძლიერია დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში. ორექსინA-ს შემცველობის მატება თავზურგტვინის სითხეში დოზა-დამოკიდებულ ხასიათს ავლენს. კერძოდ, ორექსინA-ს 25 მკგ/მლ დოზის მოქმედებით, როგორც საკონტროლო ცხოველებში, ისე დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, თავზურგტვინის სითხეში ორექსინA-ს შემცველობის კიდევ უფრო დიდ მატება აღინიშნება. ორექსინA-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური მიკროინექციის ეფექტები, უფრო ძლიერი, აღმოჩნდა დეპრესიის იმ ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ.

### დასკვნები:

1. ორექსინA-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური მიკროინექციის გავლენით, საკონტროლო ცხოველებში, მკვეთრად იზრდება ლოკომოტორული და კვლევითი ქცევა, მატულობს საკვების მიღების სიხშირე;
2. ორექსინB-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური მიკროინექციის გავლენით, საკონტროლო ცხოველებში, ლოკომოტორული და კვლევითი ქცევის მკვეთრი ცვლილებები არ ხდება, უცვლელი რჩება საკვების მიღების სიხშირე;
3. დეპრესიის ცხოველური მოდელები, რომელთაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ, ქცევის მკვეთრი ცვლილებებით ხასიათდებიან, ისინი ლოკომოტორული და კვლევითი ქცევის ყველა პარამეტრის მკვეთრ შემცირებას აჩვენებენ;
4. დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომლებსაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ, ლოკომოტორული და კვლევითი ქცევის ცვლილებები კიდევ უფრო ძლიერია, თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით გამოყვანილ მოდელებთან შედარებით;
5. საკვების მიღების სიხშირე ორივე ტიპის დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში მცირდება, განსაკუთრებით ინტენსიურად მოდელებში ქოლინერგული სუპერსენსიტიურობით, რაც სიამოვნების განცდის უნარის დაქვეითებაზე მიუთითებს და დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში ანჰედონიის დონის ზრდის ერთ-ერთი პირდაპირი მაჩვენებელია;
6. ორექსინA-ს შემცველობის მატებას თავზურგტვინის სითხეში დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომლებიც თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით მიიღება, ინტაქტურ ცხოველებთან შედარებით, ნაკლებ ინტენსიური ეფექტი აქვს, თუმცა ანტიდეპრესიულ ეფექტს ავლენს, რაც ლოკომოტორული და კვლევითი ქცევის მატებაში ვლინდება.
7. ორექსინB-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური შეყვანა, დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომლებიც თავის ტვინის მონოამინერგული სისტემის მანიპულაციებით მიიღება, უმნიშვნელოდ ზრდის ლოკომოტორულ აქტივობას, ნაკლებინტენსიური ეფექტი აქვს კვლევით ანუ ექსპლორატორულ ქცევაზე და არ მოქმედებს კვებით და წყლის სმის მოტივაციაზე;

8. ორექსინA-ს ეფექტები ლოკომოტორულ და ექსპლორატორულ ქცევაზე უფრო ძლიერია დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ, ვიდრე იმ მოდელებში, რომლებსაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი აქვთ;
9. ორექსინB-ს ეფექტები ლოკომოტორულ და ექსპლორატორულ ქცევაზე ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერ-სენსიტიურობა ახასიათებთ, იმ ქცევითი ეფექტების მსგავსია, რასაც ეს ნეიროპეპტიდი იწვევს დეპრესიის იმ მოდელებში, რომლებსაც თავის ტვინში მონოამინების შემცველობის დეფიციტი ახასიათებთ;
10. ორექსინA-ს ინტრაცერებროვენტრიკულური შეყვანა ზრდის საკვების მიღების სიხშირეს, ორივე ტიპის ცხოველურ მოდელებში, რაც უნიპოლარული დეპრესიის დამახასიათებელი ერთ-ერთი სიმპტომის, ანჰედონიის, შემცირების მაჩვენებელია, ხოლო ორექსინB მსგავს ეფექტს ვერ ავლენს;
11. ორექსინები აძლიერებენ ღვიძილს, რომელიც დათრგუნულია დეპრესიისას, ზრდიან პარადოქსული ძილის ფარულ პერიოდს, რომელიც მკვეთრად მცირდება დეპრესიისას და განდევნიან პარადოქსულ ძილს, რომელიც ჭარბად ვითარდება და ამიტომ განსაღვნიან დეპრესიისას. სწორედ ამ ეფექტებში ვლინდება ორექსინების ანტიდეპრესიული ეფექტი დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელიც გაცილებით ძლიერია ორექსინA-ს მოქმედებით და დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ;
12. ორექსინ-1 და ორექსინ-2 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონიზება ერთმანეთის საპირისპირო ეფექტებს ავლენს ცხოველთა ქცევაზე და ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანულ სტრუქტურაზე, რაც მიუთითებს ამ რეცეპტორების, და მათი ლიგანდების, განსხვავებულ როლზე ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევებში, და მათ პრევენციაში, დეპრესიის სხვადასხვა ცხოველურ მოდელებში;
13. სხვაობა ორექსინA-ს და ორექსინB-ს ეფექტებში, ქცევასა და ძილ-ღვიძილის ციკლის ულტრადიანულ სტრუქტურაზე, საკონტროლო ცხოველებში, ადასტურებს ორექსინA-ს მაღალ ეფექტურობას, ორექსინB-სთან შედარებით;
14. ის ფაქტი, რომ ორექსინA-ს და ორექსინB-ს დონის მატების და ორექსინ-1 და ორექსინ-2 რეცეპტორების სელექციური ანტაგონიზების ეფექტები, უფრო მკვეთრად გამოხატულია დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში, რომელთაც თავის ტვინის მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის სუპერსენსიტიურობა ახასიათებთ, მიუთითებს, რომ აფერენტული და ეფერენტული კავშირების ფუნქციური მოდიფიკაცია, ჰიპოთალამუსის ორექსინერგულ და თავის ტვინის მუსკარინულ ქოლინერგულ სისტემებს შორის, უპირატესი ფაქტორი უნდა იყოს დეპრესიული დაავადების მსგავსი ქცევითი და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევების განვითარებისთვის დეპრესიის ცხოველურ მოდელებში.

#### სტატიები:

1. Nachkebia N., Maglakelidze N., Chijavadze E., Babilodze M., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Dzadzamia Sh., Tsomaia V., Rogava N. Effectiveness of Systemic Delivery of Hypothalamic Neuropeptides, OrexinA and OrexinB, on Sleep-Wakefulness Cycle Ultradian Structure and Food Motivation in Rats. Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences, 2016, 1, 10, 68-73
2. Maglakelidze N., Chijavadze E., Babilodze M., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Dzadzamia Sh., Tsomaia V., Rogava N., Nachkebia N. Systemic Delivery of OrexinA (Hypocretin-1) and OrexinB (Hypocretin-2) Reveals different effectiveness on Behavior and Sleep-Wakefulness Cycle Structure and Total Time in Rats. In the book, Systemic, Cellular and Molecular

Mechanisms of Physiological Functions and Their Disorders (Proceedings of I. Beritashvili Center for Experimental Biomedicine – 2015) Nova Science Publisher Inc, 2015

3. Nachkebia N., Maglakelidze N., Chijavadze E., Chkhartishvili E., Babilodze M. Hypothalamic Orexin System Accelerates Regulation of Sleep Homeostasis and Sleep-Wakefulness Cycle Recovery from Barbiturate Anesthesia-Induced Artificial Sleep. Georgian Med News, 2015, (249):67-73.

#### თეზისები:

1. Maglakelidze N., Mchedlidze O., Chkhartishvili E., Tsomaia V., Rogava N., Nachkebia N. Serial Activations of Lateral and Perifornical Hypothalamic Orexin-Containing Neuronal region Lead to Elevation of CSF OrexinA Content, Shorten Anesthesia Time and Fasten Recovery of Normal Sleep Cycles From Barbiturate Anesthesia Induced Sleep. The 7<sup>th</sup> World Congress of the World Sleep Federation. Abstract Book. 2015, pp.176 (312)
2. Nachkebia N., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Dzadzamia S., Maglakelidze N., Babilodze M., Chijavadze E. Development of Animal Model of Depression by New Approach Intended to Induce Early Postnatal Malfunctioning of Brain Muscarinic Cholinergic system leading to its Lasting Adult Super-Sensitivity. The 7<sup>th</sup> World Congress of the World Sleep Federation. Abstract Book. 2015, pp.177 (310)
3. Nachkebia N., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Dzadzamia S., Maglakelidze N., Babilodze M., Chijavadze E. New Approach to the Development of Animal Model of Depression Characterized by Super-Sensitivity of Brain Muscarinic Cholinergic System. Journal of Sleep Medicine, 2015, Volume 16, Supplement 1, Page S197
4. ნ. მაღლაკელიძე, ე. ჩხარტიშვილი, ე. ჩიჯავაძე, მ. ბაბილოძე, ო. მჭედლიძე, შ. დამაძია, ნ. ნაჭყებია. მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის ფუნქციური მოდიფიკაცია და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევათა ხასიათი. ახალგაზრდა მეცნიერთა კონფერენცია. თეზისების კრებული. 2015. გვ.46
5. Nachkebia N., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Maglakelidze N., Dzadzamia S., Tsomaia V., Babilodze M., Chijavadze E. Repetitive Activations of Lateral and Perifornical Hypothalamic regions Elevate CSF OrexinA Content and fasten Sleep-Wakefulness Recovery from Experimentally Induced Comatose State. Journal of Sleep Research, 2014, Volume 23, Supplement 1, P813, pp256.
6. Maglakelidze N., Chkhartishvili E., Chijavadze E., Dzadzamia S., Babilodze M., Mchedlidze O., Nachkebia N. Repetitive Activations of Lateral and Perifornical Hypothalamic regions Elevate CSF OrexinA Content and fasten Recovery of Normal Sleep Cycles from Deep Anesthesia Induced Sleep. Journal of Sleep Research, 2014, Volume 23, Supplement 1, P815, pp256-257,
7. Maglakelidze N., Mchedlidze O., Chkhartishvili E., Chijavadze E., Babilodze M., Tsomaia V., Nachkebia N. Serial electrical stimulations of hypothalamic orexin-containing neuronal regions shorten anesthesia Time and Fasten Normal Sleep Cycles Recovery from Anesthesia-Induced Sleep. 9<sup>th</sup> FENS Forum of Neuroscience, 2014, P2097, pp. 273
8. Nachkebia N., Chijavadze E., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Dzadzamia S., Maglakelidze N., Babilodze M. Early Postnatal Malfunctioning of Muscarinic Cholinergic system Leads to behavioral and Sleep Disturbances and M2/M4 Cholinoreceptors Up-regulation in Adult Age. 9<sup>th</sup> FENS Forum of Neuroscience, 2014, P2100, pp. 273
9. Maglakelidze N., Chkhartishvili., Chijavadze., Dzadzamia S., Babilodze M., Mchedlidze O., Nachkebia N. Orexin-Containing Neurons Repetitive Activations Fastens Recovery of Anesthesia-Induced Sleep. Neuroplasticity: Nervous Substrate for Health and Disease. New Approaches for research., III International Symposium Abstracts., 2014, pp.34-35

10. Nachkebia N., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Dzadzamia Sh., Maglakelidze N., Chijavadze E. Malfunctioning of Brain Muscarinic Cholinergic System in the Period of Early Postnatal Development Leads to Behavioral and Sleep Disturbances in Adult Age Rats and Changes in Density of M2/M4 Muscarinic Receptors. Journal of Sleep Medicine Volume14, Supplement 1, December 2013, Pages e216,
11. Maglakelidze N., Chkhartishvili E., Dzadzamia S., Chijavadze E., Babilodze M., Nachkebia N. Serial Electrical Stimulations of Hypothalamic Orexin-Containing Neuronal Regions Lead to Elevation of CSF OrexinA Concentration and Fasten the Recovery of Sleep-Wakefulness Cycle from Experimentally Induced Comatose State. Journal of Sleep Medicine, 2013, Volume14, Supplement 1, Pages e194-195,
12. Maglakelidze N., Chkhartishvili E., Chijavadze E., Mchedlidze O., Babilodze M., Dzadzamia Sh., Nachkebia N. Sleep Disturbances Produced by Multiple Administrations of the Antagonists of Brain Muscarinic Cholinergic System. Third National Congress, Georgian I. Beritashvili Society of Physiologists, 2013, pp. 189-190



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

*On the rights of manuscript*

School (Department) of Informatics,  
Mathematics and Natural Sciences

Educational Program - Neuronal Mechanisms of memory

Neli Maglakelidze

**Brain Orexinergic System as an Integral Component of Etiology of Unipolar  
Depression and Behavioral and Sleep-Wakefulness Cycle Disorders  
Accompanying this Pathological State**

Abstract

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

05 Sciences/natural sciences

Branch – 0504 Biology/Life Sciences

Tbilisi

2016

Scientific paper has been performed in the Ivane Beritashvili Center of Experimental Biomedicine and School (Department) of Informatics, Mathematics and Natural Sciences of the St. Andrew the first-called Scientific University of the Georgian Patriarchate. On doctoral program – Neuronal mechanisms of memory

Scientific Supervisor: Nargiz Nachkebia  
Doctor of Biological Sciences,  
Professor

Official Opponents: 1. Elene Abzianidze  
Doctor of Biological Sciences,  
Professor

2. Tamila Bagashvili  
PhD, Associate Professor

Defence of the thesis will be held on 14 July 2016 at 15 o'clock at the St. Andrew the first-called Scientific University of the Georgian Patriarchate, School (Department) of Informatics, Mathematics and Natural Sciences, at the meeting of dissertation committee of Schools (Departments)

Adress: 0162, Tbilisi, #53a Ilia Chavchavadze Ave., II Housing Assembly Hall. Ilia Vekua auditory.

Dissrtation text is available at the St. Andrew the first-called Scientific Universit's Library at the Georgian Patriarchate.

The abstract of the thesis is sent on „14\_\_“ June\_\_\_2016

Secretary of Dissertation Council,  
Doctor in Physics and Mathematics  
Professor Giorgi Makacaria

## **Short Description of the Work**

### **The Subject Actuality**

Depression is one of the serious mental disorders having the growing spread to all over the world. However, the effectiveness of pharmacological agents, used for its treatment until today, is still limited and incomplete knowledge of the mechanisms involved in the pathogenesis of the disease is the main reason for such condition. A comprehensive understanding of the pathogenesis of unipolar depression is the necessary condition for the development of new, more adequate antidepressant drugs. Therefore, it is important to search the new, more adequate, neurochemical targets, involved in the pathogenesis of depression. Our attention was targeted to the brain orexinergic system.

For the clarifying of causal involvement of hypothalamic orexinergic system in the pathogenesis of depression, in the dissertation work, pre-clinical studies were conducted, for the first time, on the two types of animal models of depression developed by different mechanisms and methodical approaches.

We believe that the results obtained on of these animal models of depression will be able to answer the questions raised by us. Consequently it will become possible to transfer preclinical data into real therapeutic potential, develop the new strategy for depression therapy through the use of hypothalamic neuropeptides, OrexinA, OrexinB and/or antagonists for their receptors and to provide theoretical framework considering Orexinergic system as an integral component of systems involved in pathophysiology of unipolar depression.

### **Principal Goals and Tasks of the Research**

The objective of the research was to search the neurophysiological substrate/neurochemical targets involved in pathophysiology of unipolar depression. This implies investigation of the hypothalamic orexin producing neurons as the new, neuroanatomically and neurochemically identified cell populations that would be involved in the development of unipolar depression-like state and/or its' prevention in animal models of depression. There was planned designs of experimental research, which provided functional suppression and /or enhancement of the hypothalamic Orexinergic system in rat pups in early ontogenesis and in adult animal models of depression. The probability for the appearance in animals of behavioral and sleep-wakefulness disorders, alike to unipolar depression, and the ways of their prevention, was studied in these conditions.

Several lines of priority researches planned in the present work, has given us the opportunity for understanding possible causal relationship between Orexinergic system and unipolar depression therefore they are of high importance for clinical terms. Investigations were carried out on two types of animal models of depression. One model, characterized by a deficiency of serotonin levels in the brain, has already been proven in many laboratories, while the other was developed by new method elaborated in the laboratory were the doctoral dissertation was done. This new animal model of depression is characterized by super-sensitivity of muscarinic cholinergic system. Significance of hypothalamic orexin-producing neurons in the pathogenesis of depression and normalization of behavioral and sleep-wakefulness disorders accompanying unipolar depression-like state was studied by us on these two types of animal models for the first time. Project tasks envisage intracerebroventricular microinjections of Orexins (OrexinA and Orexin B) and the antagonists for Orexin receptors (Orexin1 and Orexin2) in the lateral ventricle.



***The Objectives.*** Fulfillment of 12 particular tasks was envisaged in the scientific part of doctoral dissertation:

**Task 1.** Administration of orexinA in rat pumps during the early ontogenesis and its effects on the development of behavioral and sleep-wakefulness cycle disorders, alike to depression, produced by the manipulations of brain monoaminergic system;

**Task 2.** Intracerebroventricular microinjection of orexinA during adult period and its effects on behavioral and sleep-wakefulness cycle disorders, alike to depression, produced by the manipulations of brain monoaminergic system;

**Task 3.** Administration of orexinB in rat pumps during the early ontogenesis and its effects on the development of behavioral and sleep-wakefulness cycle disorders, alike to depression, produced by the manipulations of brain monoaminergic system;

**Task 4.** Intracerebroventricular microinjection of orexinB during adult period and its effects on behavioral and sleep-wakefulness cycle disorders, alike to depression, produced by the manipulations of brain monoaminergic system;

**Task 5.** Elevation of orexinA content in cerebral-spinal fluid (CSF), by intra-cerebral-ventricular (ICV) microinjection, and assessment of its effects on the depression-like behavioral and sleep-wakefulness cycle disorders in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system;

**Task 6.** Elevation of orexinB content in CSF, by ICV microinjection, and assessment of its effects on the depression-like behavioral and sleep-wakefulness cycle disorders in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system;;

**Task 7.** Effects of orexin1 and orexin2 receptors' selective and combined antagonists, injected in early period of postnatal development, in parallel with sub-cutaneous injection of selective serotonin re-uptake inhibitors, on the development of behavioral and Sleep-Wakefulness disorders in adult age;

**Task 8.** Effects of orexin1 and orexin2 receptors' selective and combined antagonists, injected in adult age, on the behavioral and Sleep-Wakefulness disorders in animal models of depression characterized by deficiency of brain monoamine content;

**Task 9.** Effects of orexin1 and orexin2 receptors' selective and combined antagonists, injected in early period of postnatal development in parallel with sub-cutaneous injection of the antagonists of brain muscarinic cholinergic system, on the development of behavioral and Sleep-Wakefulness disorders in adult age;

**Task 10.** Effects of orexin1 and orexin2 receptors' selective and combined antagonists, injected in adult age, on behavioral and Sleep-Wakefulness disorders in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system;

**Task 11** Measurement of orexinA content in CSF, during adult period, in controls and animal models of depression characterized by deficiency of brain monoamine content;

**Task 12.** Measurement of orexinA content in CSF, during adult period, in controls and animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system.

### ***Scientific Novelty and Practical Importance of the Work***

Expected outcomes of the researches, concerning brain Orexinergic system as an integral component of behavioral and sleep wakefulness disorders of unipolar depression-like state in animals, are significant and topical both for theoretical as well as for practical directions. Researches carried out on the two types of animal models of depression has given us the possibility to do a conclusion as to what is more important for orexins as an integral component in the

pathophysiology of depression, the linkage of hypothalamic orexinergic system to the brain monoaminergic or muscarinic cholinergic system, that is of big theoretical importance in the modern neurophysiology. The obtained data will contribute to the understanding of neurophysiological and neurochemical basis of fundamental mechanisms of depression and will promote to elaboration of new, more comprehensive, strategy of unipolar depression therapy by the use of hypothalamic neuropeptides, OrexinA and OrexinB and/or antagonists of their receptors.

There is a potential demand on project outcomes which is expressed in necessity for elaboration of the new, more adequate and effective strategy of depression therapy. Therefore, precise understanding the role of the hypothalamic Orexinergic system in the pathophysiology of unipolar depression will be important for medicine and pharmaceutical industry.

**Publications.** Materials of doctoral thesis are published in 3 papers (see pp. 36-37) and presented at 12 international scientific forums and three colloquiums.

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

- An introduction – the subject actuality, principal goals and tasks of the research, scientific novelty and practical importance of the work;
- Three chapters – review of literature, research methods, results;
- Chapter IV - Discussion;
- Conclusions;
- The list of references.
- 

The thesis contains 220 pages, including 94 figures and references of 141 names.

### 3. Obtained Results

#### **Task 1. Administration of orexinA in rat pups during the early ontogenesis and its effects on the development of behavioral and sleep-wakefulness cycle disorders, alike to depression, produced by the manipulations of brain monoaminergic system**

In this series of experiments OrexinA 10 $\mu$ g/ $\mu$ l and/or 25 $\mu$ g/ $\mu$ l were used per orally in rat pups in the early period of ontogenesis. The procedure was made in rat pups starting from one week after birth with parallel subcutaneous injection of melipramin. Behavioral and sleep-wakefulness disorders were studied in adult period. It appeared that per oral administration of OrexinA in rat pups during the period of early ontogenesis does not produce significant behavioral and sleep-wakefulness changes in adult age. This fact indicates that effectiveness of per oral OrexinA must be too limited.

#### **Task 2. Intracerebroventricular microinjection of orexinA during adult period and its effects on behavioral and sleep-wakefulness cycle disorders, alike to depression, produced by the manipulations of brain monoaminergic system**

The effects of intracerebroventricular microinjection of orexinA were studied in intact control animals and animal models of depression characterized by deficiency of brain monoamine content. It appeared that microinjection of OrexinA in lateral ventricle at 10  $\mu$ g/ $\mu$ l and/or 25  $\mu$ g/ $\mu$ l doses sharply and doze-dependently increases locomotor and exploratory behavior in intact control animals.

Elevation of the level of orexinA in the cerebrospinal fluid by means of its microinjection in the lateral ventricle have a less intense effect in animal models of depression than in controls.

Namely, the rate of all the parameters used for the studying of behavioral changes has grown after this manipulation but with lesser intensity than in intact controls. Locomotor activity increases more intensively than exploratory behavior though exploratory behavior in itself is enhanced with statistical validity under the influence of OrexinA at the doses of 10µg/µl and/or 25µg/µl. The rate of food intake also elevates and this fact indicates to the decrease of the level of anhedony in animal models of depression under the influence of ICV OrexinA. The frequency of water drinking remains unchanged.

Another series of experiments conducted in the terms of task 2 was studied the changes in the sleep-wakefulness cycle ultradian structure in control animals and animal models of depression characterized by deficiency of brain monoamine content. Analysis of sleep-wakefulness cycle ultradian structure and comparison of the data from intact animals and animal models of depression characterized by deficiency of brain monoamines content has allowed to reveal that animal models of depression are characterized by reduction in active wakefulness frequency and total time, enhancement of passive wakefulness and light slow wave sleep frequency and total time, increasing the incidence for deep slow wave sleep and reduction in its total time. These facts are very significant because they indicate that in animal models of depression, alike to the human unipolar depression, active wakefulness is depressed; the quality of deep slow wave sleep is much worsening that is produced by increasing of superficiality, incidence and the rate of deep slow wave sleep interruptions. It appeared that the latency of paradoxical sleep is much shortened in animal models and the incidence and total time of paradoxical sleep significantly rise in animal models of depression.

Intracerebroventricular microinjection of OrexinA, at both doses, raises the incidence of light and deep slow wave sleep and reduces dose-dependently the total time of deep slow wave sleep, in comparison to the data from control animals. The latency of paradoxical sleep rises significantly; incidence and total time of paradoxical sleep reduces substantially.

Described changes of paradoxical sleep parameters are the desirable and attainable effects for the therapy used in depressive patients until today, however, their achievement, in many cases of current treatments, is very difficult yet.

### **Task 3. Administration of orexinB in rat pups during the early ontogenesis and its effects on the development of behavioral and sleep-wakefulness cycle disorders, alike to depression, produced by the manipulations of brain monoaminergic system.**

In this series of experiments orexinB 25µg/µl were used per orally in rat pups in the early period of ontogenesis. The procedure was made in rat pups starting from one week after birth with parallel subcutaneous injection of melipramin. Behavioral and sleep-wakefulness disorders were studied in adult period. It appeared that per oral administration of OrexinA in rat pups during the period of early ontogenesis does not produce significant behavioral and sleep-wakefulness changes in adult age. This fact indicates that effectiveness of per oral OrexinA must be too limited.

It can be believed that ineffectiveness of per oral OrexinB may be linked to the short period of life of this neuropeptide but it appears that the method of per oral administration is not effective for orexin neuropeptides at all because per oral OrexinA is also ineffective despite its longer period of life (Task 1).

### **Task 4. Intracerebroventricular microinjection of orexinB during adult period and its effects on behavioral and sleep-wakefulness cycle disorders, alike to depression, produced by the manipulations of brain monoaminergic system.**

This task was consisted from three sub-tasks. Sub-tasks 4a and 4b envisaged the study of behavioral changes in control animals and animal models of depression characterized by deficiency of brain monoamine content.

It appears that intracerebroventricular microinjection of OrexinB slightly elevated locomotor and exploratory behavior. Microinjection of OrexinB in the lateral ventricle does not change the number of vertical standings and head rising in intact animals. The level of feeding motivation and water intake remains also unchanged.

Elevation of the content of orexinB in cerebrospinal fluid by means of microinjection of this neuropeptide in the lateral ventricle, in animal models of depression developed by manipulations of brain monoaminergic system, insignificantly rises locomotor activity, reveals less intensive effects on exploratory behavior and leaves unchanged both feeding and drinking motivation.

Sub-task 4c planned studies the effects of intracerebroventricular orexinB on the ultradian structure of sleep-wakefulness cycle. It was found that: a) intracerebroventricular injection of orexinB at the doze of 25µg/µl produces prolongation of sleep onset latency, increase of active wakefulness incidence and total time and decrease in the incidence and total time of paradoxical sleep in control rats; b) intracerebroventricular injection of orexinB at the doze of 25µg/µl, in animal models of depression characterized by deficiency of brain monoamine content, significantly prolonges sleep onset latency. In addition it produces increase in active wakefulness total time, while total time for deep slow wave sleep, incidence and total time of paradoxical sleep and the level of fragmentation of deep slow wave sleep are decreased.

**Task 5. Elevation of orexinA content in cerebral-spinal fluid (CSF) by intracerebroventricular (ICV) microinjection and assessment of its effects on the depression-like behavioral and sleep-wakefulness cycle disorders in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system.** The task 5 consisted from the two subtasks. Subtask 5a was studied behavioral changes in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system. We have found in this experiments that these animal models of depression are characterized by a lot of behavioral changes – locomotor activity is rised, the rates of grooming and head rising are decreased, vertical standings are wholly diminished, the rate of daily food intake is decreased two times and water intake is not observed.

The effects of intracerebroventricular microinjection of orexins on the behavior of animal models of depression, characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system, on the behavior in adapted environment, for the long period of time (5h) was studied in this task for the first time. We have found that the effects of intracerebroventricular orexinA on the locomotor and exploratory behavior are stronger in animal models of depression, characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system than in animal models of depression, characterized deficiency of brain monoamine content. Namely, elevation in the content of orexinA in the cerebrospinal fluide, by its microinjection in the lateral ventricle, produces following changes in animal models of depression: sharply increases locomotor activity, depresses searching or exploratory behavior, increases the rate of food intake and does not influence on the drinking motivation

Thus, behavioral changes developed in both types of animal models of depression are similar to the behavioral disorders characteristic for unipolar depression. Comparison between behavioral changes developed in two different types of animal models have shown that the level of behavioral changes is higher in animal models of depression, characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system

Special studies of the rate of daily food intake have shown that this index is reduced in both types of animal models, but especially intensively in animal models of depression, characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system. Motivation of water drinking was wholly diminished during the whole period of exploration in both types of animal models. We believe that decrease in the rate of food intake more probably indicates to the reduction in the ability to

feeling of pleasure which is one of the indicators of rising of anhedony in animal models of depression.

Studies of the changes in sleep-wakefulness cycle of ultradian structure were envisaged by the subtask 5b. Research has shown that animal models of depression are characterized by significant disturbances in comparison with control animals. Namely the incidence and total time of active wakefulness are reduced, the incidence and total time of passive wakefulness and light slow wave sleep are increased, the rate of deep slow wave sleep is also raised but its total time is reduced that indicates to the deterioration of sleep quality. The incidence and total time of paradoxical sleep are sharply increased. These changes are very similar with sleep disorders, characteristic of the unipolar depression and so they can be an indicator of the validity for this type of animal model of depression.

Intracerebroventricular microinjection of OrexinA at the doses of 10 and 25  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  significantly corrects described disturbances in sleep-wakefulness ultradian structure. Under the action of orexinA, in animal models of depression, characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system, sleep onset latency, incidence and total time of active wakefulness became significantly increased, incidence of paradoxical sleep decreases and the latency of paradoxical sleep becomes significantly longer.

**Task 6. Elevation of orexinB content in CSF, by ICV microinjection , and assessment of its effects on the depression-like behavioral and sleep-wakefulness cycle disorders in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system.**

The task 6 consisted from the two subtasks. Subtask 6a was studied behavioral changes in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system.

Analysis of the data obtained in this series of experiments, has showed that in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system the rate of locomotor activity is sharply increased. Intracerebroventricular microinjection of OrexinB at the doses 25  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  reduces the rate of locomotor activity, compared to the baseline data from animal models of depression, while as compared to the data from control animals leaves unchanged.

Incidence of grooming in animal models of depression with super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system is reduced in comparison of control data. This ratio does not change significantly after Intracerebroventricular OrexinB but the rate of grooming behavior in animal models of depression become two times more in comparison to its own baseline data. The rate of sniffing does not changed significantly in animal models of depression and nor the administration of OrexinB reveals any effect. The number of head risings was 7 times lesser in animal models, under the action of OrexinB there was noted its increase but in comparison of control data remained sharply reduced. Vertical standings are not observed in baseline behavior of animal models, under the action of OrexinB its rate starts growing but still is retained at the lower value than in the control data.

Food consumption has been reduced in animal models of depression and not the intracerebroventricular injection of orexinB have changed the rate of daily food intake. Thus, behavioral effects of 25  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  orexinB in animal models of depression characterized by supersensitivity of brain muscarinic cholinergic system are the same as the behavioral effects in animal models of depression characterized by deficiency of brain monoamine content (see.task 4).

Subtask 6a was studied behavioral disturbances in sleep-wakefulness ultradian structures in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system. Analysis of obtained data reveal that sleep onset latency was two times reduced in animal models of depression. Elevation of the level of orexinB in the cerebrospinal fluid significantly (3.5 times) prolonged this value. Analysis of the incidence of particular behavioral states (phases)

shows that the elevation in the contents of orexinB in cerebrospinal fluid increases two times the rate of active wakefulness in comparison to both data from control animals and baseline data of animal models of depression.

One of the most essential component of normal sleep-wakefulness cycle ultradian structure is the incidence of light slow wave sleep, because increases in its rate is an indicator of worsening of sleep quality. Incidence of light slow wave sleep in control animals does not undergo significant changes under the action of 25  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  orexinB. The rate of deep slow wave sleep is increased approximately three times in animal models of depression, under the action of intracerebroventricular orexinB its value decreases 1.5 times though in comparison of control data still remains two times more.

Interesting results were obtained during the quantitative analysis of paradoxical sleep indices. The rate of this phase of sleep in control animals becomes lesser at the background of 25  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  orexinB. Incidence of paradoxical sleep was significantly higher in the baseline ultradian structure of animal models of depression. Intracerebroventricular orexinB at the dose of 25  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  decreases paradoxical sleep incidence almost 2 times. Animal models of depression with super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system are characterized also by sharp increase of paradoxical sleep fragmentation that is by attempts to enter in paradoxical sleep. Under the action of orexinB value of this parameter increases.

The total time of active wakefulness, in control animals, is equally distributed in the first and second 2.5 hour periods of EEG registration. Under the action of OrexinB the total time of wakefulness becomes sharply increased during the first 2.5 h of EEG registration while in the second 2.5 h period becomes sharply reduced. Active wakefulness total time, in baseline sleep-wakefulness cycle of animal models of depression, characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system, remains almost unchanged. 25  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  orexinB significantly elevates the value of this parameter during the first 2.5 h period as well as during the whole 5 h period of EEG registration.

Passive wakefulness total time does not change in control animals under the influence of orexinB. In animal models of depression passive wakefulness total time is slightly increased compared with its baseline data. Under the action of OrexinB the value of this parameter becomes sharply reduced in animal models of depression.

Total time of light slow wave sleep does not undergoes the significant changes under the influence of orexinB in control animals, but in animal models of depression decreases significantly during the whole period of EEG registration. Total time of deep slow wave sleep is distributed equally in the first and second 2.5 hour periods of EEG registration and under the action of orexinB remains unchanged.

In animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system the total time of deep slow wave sleep appeared significantly reduced in comparison with control data. Intracerebroventricular OrexinB at the doze 25  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  in animal models of depression leaves total time of deep slow wave sleep reduced.

Total time of paradoxical sleep becomes 1.5 times lesser under the action of 25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  OrexinB in control animals. Total time of paradoxical sleep is significantly more in animal models of depression. Under the action of 25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  OrexinB this parameter becomes significantly reduced though complete delete of paradoxical sleep does not happen as it was found under the action of OrexinA.

It was noted above that one of the most characteristic disorders of sleep ultradian structure during unipolar depression is the sharp decrease in paradoxical sleep latency. Therefore studies of the possible changes of this parameter in animal models of depression is one of most interesting questions. It turned out that in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system the latency of paradoxical sleep is significantly reduced.

Under the action of Intracerebroventricular OrexinB paradoxical sleep latency becomes longer in both cases in control animals and animal models of depression but increment is more significant in animal models of depression.

**Task 7. Effects of orexin1 and orexin2 receptors' selective and combined antagonists, injected in early period of postnatal development, in parallel with sub-cutaneous injection of selective serotonin re-uptake inhibitors, on the development of behavioral and Sleep-Wakefulness disorders in adult age.**

In this series of experiments, subcutaneous administration of the selective antagonists for orexin-1 and orexin-2 receptors was added to the sub-cutaneous injection melipramin in the rat pups of one week age. Procedure was lasted for two weeks.

As it was described above rat pups receiving only sub-cutaneous injection of melipramin in the period early ontogenesis manifest in adult periods behavioral and of sleep-wakefulness cycle disturbances that are highly similar with behavioral and sleep disorders characteristic for unipolar depression. For the assessment of possible participation of orexins in these disturbances behavioral and sleep changes were studied in adult age. Statistical treatment of obtained results has shown that sub-cutaneous injection of the antagonists of orexin-1 and orexin-2 receptors in the period of early ontogenesis in parallel with sub-cutaneous injection of melipramin have no lasting effects on rat behavior and sleep ultradian structure in adult age. Behavioral and sleep disturbances obtained in this series of experiments does not differ from the disturbances that were obtained in rats receiving only sub-cutaneous injection of melipramin in the period early ontogenesis. These disturbances were described in the task 2.

**Task 8. Effects of orexin1 and orexin2 receptors' selective and combined antagonists, injected in adult age, on the behavioral and Sleep-Wakefulness disorders in animal models of depression characterized by deficiency of brain monoamine content;**

Task 8 envisaged studies of the effects of selective antagonist for orexin-1 receptors, SB 334867 (5mg/kg intraperitoneally) selective antagonist for orexin-2 receptors, JNJ 10397049 (10 mg/kg, sub-cutaneously) and combined antagonist for these receptors, EMPA (10 mg/kg, intarperitonealy) in animal models of depression developed by the manipulations of brain monoaminergic system. Three doses of each antagonists were used here are presented the results obtained by the use of more effective dose. Researches envisaged by Task 8a were focused on the behavioral changes of the antagonists of orexin receptors.

Significant changes of rat's behavior were observed under the action of 5 mg/kg of SB 334867, the rate of locomotor activity becomes wholly suppressed in animal models of depression characterized by deficiency of brain monoamine content in comparison to both control animals and/or baseline data of animal models. Frequency of grooming does not change significantly in comparison to the control data while becomes three times lesser in comparison to the baseline data of animal models. The rates of sniffing, head rising and vertical standings become wholly suppressed. Daily food and water intake remains unchanged under the influence of 5 mg/kg of SB 334867.

The rate of locomotor activity strongly raises at the background of JNJ 10397049, selective antagonist of orexin-2 receptors, in comparison to the control data, though in comparison to the own baseline data is slightly increased. The rate of grooming is raised in comparison to the data of intact animals but is significantly lower than the own background data of animal models. The rate of sniffing is raised and incidence of head raising and vertical standings become sharply reduced under the action of JNJ 10397049.

Daily food intake and drinking motivation is increased at the face of blockade of orexin-2 receptors.

The effects of EMPA, combined antagonist of orexin-1 and orexin-2 receptors, in animal models of depression characterized by deficiency of brain monoamine content, were not significant and therefore they are not discussed here.

Thus, selective antagonizing of orexin-1 and orexin-2 receptors reveals opposite effects on the locomotor and exploratory behavior in animal models of depression that indicates to the different role of these receptors in rats behavior in general and in its disturbances in animal models of depression.

Task 8b envisaged the study of the effects of selective antagonists of orexin receptors on the ultradian structure of sleep-wakefulness cycle. It appeared that sleep onset latency is insignificantly reduced under the action of SB 334867, selective antagonist for orexin-1 receptors. Incidence of active wakefulness remains almost unchanged, but passive wakefulness becomes 1.5 times more. Insignificant changes are observed in the rates of light slow wave and deep slow wave sleep. Incidence for paradoxical sleep increases also insignificantly but number of its fragments rises sharply.

Total time of active wakefulness, passive wakefulness and light slow wave sleep becomes sharply reduced under the action of 5 mg/kg SB 334867. Total time of deep slow wave sleep rises for two times in comparison to the baseline data. Especially prominently increases the total time of paradoxical sleep. Latency of paradoxical sleep rises insignificantly.

Under the action of 10 mg/kg JNJ 10397049, selective antagonist for orexin-2 receptors, sleep onset latency dramatically increases and becomes four times more than the baseline value. Sharp increase is noted also in the incidence of active wakefulness, it precedes baseline value almost 2.5 times. The frequency of passive wakefulness also increases, but the increase is not as sharp as in the case of active wakefulness. Selective blockade of orexin-2 receptors reduces frequency of light slow wave, deep slow wave and paradoxical sleep. Effect is especially stronger in relation of paradoxical sleep incidence; its rate becomes eight times lesser in comparison to the baseline data.

Total time for sleep-wakefulness phases changes significantly under the action of JNJ 10397049. JNJ 10397049 produces sharp increase in active wakefulness total time, whereas total time for passive wakefulness is significantly reduced. Reduction is noted in the total times of light slow wave sleep, but especially strong effects are revealed in relation of deep slow wave and paradoxical sleep; total time of deep slow wave sleep reduces three times, but total time of paradoxical sleep undergoes the 5 times reduction. Latency of paradoxical sleep becomes three times longer than in baseline.

**Task 9. Effects of orexin-1 and orexin-2 receptors' selective and combined antagonists, injected in early period of postnatal development in parallel with sub-cutaneous injection of the antagonists of brain muscarinic cholinergic system, on the development of behavioral and Sleep-Wakefulness disorders in adult age.**

In this series of experiments, subcutaneous administration of the selective antagonists for orexin-1 and orexin-2 receptors was added to the sub-cutaneous injection of scopolamine in the rat pups of one week age. Procedure was lasted for two weeks.

As it was described above rat pups receiving only sub-cutaneous injection of scopolamine in the period early ontogenesis manifest in adult periods behavioral and of sleep-wakefulness cycle disturbances that are highly similar with behavioral and sleep disorders characteristic for unipolar depression. For the assessment of possible participation of orexins in these disturbances behavioral and sleep changes were studied in adult age. Statistical treatment of obtained results has shown that sub-cutaneous injection of the antagonists of orexin-1 and orexin-2 receptors in the period of



early ontogenesis in parallel with sub-cutaneous injection of scopolamine have no lasting effects on rat's behavior and sleep ultradian structure in adult age. Behavioral and sleep disturbances obtained in this series of experiments does not differ from the disturbances that were obtained in rats receiving only sub-cutaneous injection of scopolamine in the period early ontogenesis. These disturbances were described in the task 5.

**Task 10. Effects of orexin1- and orexin-2 receptors' selective and combined antagonists, injected in adult age, on behavioral and Sleep-Wakefulness disorders in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system**

Task 8 envisaged studies of the effects of selective antagonist for orexin-1 receptors, SB 334867 (5mg/kg intraperitoneally) selective antagonist for orexin-2 receptors, JNJ 10397049 (10 mg/kg, sub-cutaneously) and combined antagonist for these receptors, EMPA (10 mg/kg, intraperitoneally) in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system. Three doses of each antagonists were used here are presented the results obtained by the use of more effective dose. Researches envisaged by Task 10a were focused on the behavioral changes of the antagonists of orexin receptors.

The processing of data for each of the behavioral parameters has shown that under the action of 5 mg/kg of SB 334867 locomotor activity becomes entirely suppressed in animal models of depression. Grooming reaction becomes also diminished that is manifested in the sharp decrease of its rate during all the periods of observation. Daily food intake and drinking motivation does not change significantly.

Behavioral disturbances opposite to these happen under the action of JNJ 10397049 selective antagonist for orexin receptor-2. Namely the rate of locomotor activity and sniffing becomes much higher. The rate of grooming, head rising and vertical standings decreases significantly. Daily food intake and drinking motivation increases. From all the series of experiments carried out in the doctoral work drinking motivation was change in animal models of depression only after the action of JNJ 10397049.

The effects of EMPA, combined antagonist of orexin-1 n orexin-2 receptors, in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system, appeared intermediate between behavioral effects of SB 334867 and JNJ 10397049 and therefore are not described in detail here.

Thus selective switch off of orexin-1 and orexin-2 receptors exert opposite influence on the behavior of animal models of depression. This fact indicates to the different role of these receptors and their ligands in behavioral disturbances in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system.

Task 10b envisaged research of the effects of the antagonists for orexin receptors on the ultradian structure of sleep-wakefulness cycle. It appeared that 5 mg/kg of SB 334867 sharply enlarges latent period of sleep onset. Its value is almost 3 times higher than background data.

Analysis of the incidence for the particular behavioral states of sleep-wakefulness cycle have shown that incidence for active wakefulness under the action of SB334867 remains in the range of baseline data, but for passive wakefulness becomes two times increase. Incidence for light and deep slow wave sleep as well as for paradoxical sleep sharply raises. In addition the level of fragmentation of paradoxical sleep significantly elevated. Despite of these disturbances of paradoxical sleep parameters latency for this behavioral state becomes enlarged.

Significant changes in total times for each behavioral state are followed by intra-peritoneal injection of SB 334867. Selective antagonizing of orexin-1 receptors significantly reduces total time for active wakefulness, passive wakefulness and light slow wave sleep. This procedure sharply increases total time of deep slow wave sleep and paradoxical sleep.

The effects of selective antagonist for orexin-2 receptors, JNJ 10397049 on the sleep-wakefulness ultradian structure turned out dramatically different from the effects of SB 334867. Sleep onset latency became four times longer under the action of JNJ 10397049. This procedure sharply increases the incidence of active wakefulness – this behavioral state appeared 50 times during the 5 h of EEG registration that wholly disorganized sleep-wakefulness cycle ultradian structure. The full value state of paradoxical sleep does not develop at all during this period.

Under the action of 10 mg/kg JNJ 10397049 total time of active wakefulness becomes eight times more in comparison to the baseline data. In contrast to this total time of passive waking decreases almost three times, total time of light slow wave sleep is around the half of baseline total time. Statistically significant reduction was noted in the total times of deep slow wave and paradoxical sleep.

Thus, selective blockade of orexin-1 and orexin-2 receptors reveals opposite effects on the sleep-wakefulness ultradian structure in animal models of depression that indicates to the different role of these receptors and their ligands in the disturbances of sleep-wakefulness cycle.

#### **Task 11. Measurement of orexinA content in CSF, during adult period, in controls and animal models of depression characterized by deficiency of brain monoamine content**

In this series of experiments, in order to determine background levels of the content of OrexinA cerebrospinal fluid was delivered from cisterna magna by the special method from both control animals, as well as animal models of depression. Then we studied the effects of Intracerebroventricular orexinA and for this aim 1 hour after this procedure cerebrospinal fluid was delivered from cisterna magna again from both control animals, as well as animal models of depression. Amount of cerebrospinal fluid disposable removed from each animal was 50 micro liters. Cerebrospinal fluid was put in special sterile polyethylene Eppendorf tubes of appropriate size and was maintained at  $-80^{\circ}\text{C}$ .

The level of orexinA content in cerebrospinal fluid was measured By ELISA method and special kits from Phoenix Pharmaceuticals were used for this aim.

1 hour after microinjection of orexinA the content of this neuropeptide in cerebrospinal fluid becomes significantly high both in intact animals and in animal models of depression but effect is more strong in animal models of depression. Elevation of orexinA content in cerebrospinal fluid depends from the dose of orexinA injected in lateral ventricle,  $25\mu\text{g}/\mu\text{l}$  of orexinA elevates its level much more.

#### **Task 12. Measurement of orexinA content in CSF, during adult period, in controls and animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system.**

In this series of experiments the method and procedures for the measurement of the content of OrexinA in the cerebrospinal fluid in control animals and animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system were the same as described in the task 11.

It turned out that the content of OrexinA in cerebrospinal fluid is decreased in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system, in comparison to control data. 1 hour after microinjection of  $10\mu\text{g}/\mu\text{l}$  OrexinA content of this neuropeptide in the cerebrospinal fluid significantly increases both in control animals and animal models of depression. It should be noted that the value of increasing is higher in animal models of depression. The amount of elevation is dose-dependent. It is interesting to note that the effects of Intracerebroventricular microinjection of OrexinA are stronger in animal models of depression with super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system.

## Conclusions:

1. Intracerebroventricular administration of orexinA produces the sharp increase of locomotor and exploratory behavior and elevation of food motivation in control animals;
2. Intracerebroventricular administration of orexinB does not produce significant changes of locomotor and exploratory behavior in control rats, the rate of food intake remains unchanged;
3. Animal models of depression with deficiency of brain monoamine content are characterized by sharp behavioral changes, drastic decreases of all the parameters of locomotor and exploratory behavior;
4. Changes in locomotor and exploratory behavior are the strongest in animal models of depression characterized by super-sensitivity of muscarinic cholinergic system, in comparison to the animal models with deficiency of brain monoamine content;
5. The rate of food intake in both types of animal model of depression is reduced, especially intensively in animal models, characterized by super-sensitivity of muscarinic cholinergic system. This fact indicates to the suppression of the ability to experience pleasure, that is to the enhancement in animal models the level of anhedony;
6. Elevation of the content of OrexinA in cerebrospinal fluid in animal models of depression, developed by manipulations of brain monoaminergic system, has the less intense effect in comparison to the intact animals, though reveals the antidepressant effect expressed in the enhancement of locomotor and exploratory behavior;
7. Intracerebroventricular administration of orexinB in animal models of depression, developed by manipulations of brain monoaminergic system, insignificantly elevates locomotor activity, reveals less intense effect on the exploratory behavior and does not influence on the rates food and water intake;
8. The effects of intracerebroventricular orexinA on the locomotor and exploratory behavior are more intense in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system, than animal models with deficiency of brain monoamine content;
9. The effects of intracerebroventricular orexinB on locomotor and exploratory behavior in animal models of depression characterized by super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system, are similar to the effects obtained in animal models with deficiency of brain monoamine content;
10. Intracerebroventricular administration of orexinA produces in both types of animal models the significant increase in the rate of food intake. This fact is an indicator of the reduction of one of the symptoms of unipolar depression – anhedony, in this condition. Intracerebroventricular OrexinB does not produce similar effect on food intake
11. Orexins enhance and stabilize wakefulness, that is suppressed during depression, increase the latency of paradoxical sleep, which is sharply reduced during depression and remove paradoxical sleep that appears excessively during depression and needs to be deprived. These effects are namely express the anti-depressive effects of elevated orexins in animal models of depression. Effects are especially under the influence of orexinA in animal models of depression characterized by super-sensitivity of muscarinic cholinergic system;
12. Selective antagonizing of orexin receptor-1 and orexin receptor-2 reveals opposite effects on the behavior and ultradian structure of sleep-wakefulness cycle, which indicates to the different roles for these receptors and their ligands in the disorders of sleep-wakefulness cycle and their prevention in various animal models of depression;
13. Differences in the effects of orexinA and orexinB on the behavior and ultradian structure of sleep-wakefulness cycle in control animals supports the high effectiveness of orexinA in comparison to orexinB;

14. The facts that the effects of elevation of the content of OrexinA and OrexinB in cerebrospinal fluid, and selective antagonizing of orexin-1 and orexin-2 receptors, are sharper expressed in animal models of depression with super-sensitivity of brain muscarinic cholinergic system indicates that functional modification of afferent and efferent connections between hypothalamic orexinergic and brain muscarinic cholinergic systems must be the predominant factor for the development in animal models of depression the behavioral and sleep-wakefulness disorders alike to the changes of these indices during unipolar depression.

The list of published papers:

#### Articles:

1. Nachkebia N., Maglakelidze N., Chijavadze E., Babilodze M., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Dzadzamia Sh., Tsomaia V., Rogava N. Effectiveness of Systemic Delivery of Hypothalamic Neuropeptides, OrexinA and OrexinB, on Sleep-Wakefulness Cycle Ultradian Structure and Food Motivation in Rats. Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences, 2016, 1, 10, 68-73
2. Maglakelidze N., Chijavadze E., Babilodze M., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Dzadzamia Sh., Tsomaia V., Rogava N., Nachkebia N. Systemic Delivery of OrexinA (Hypocretin-1) and OrexinB (Hypocretin-2) Reveals different effectiveness on Behavior and Sleep-Wakefulness Cycle Structure and Total Time in Rats. In the book, Systemic, Cellular and Molecular Mechanisms of Physiological Functions and Their Disorders (Proceedings of I. Beritashvili Center for Experimental Biomedicine – 2015) Nova Science Publisher Inc, 2015
3. Nachkebia N., Maglakelidze N., Chijavadze E., Chkhartishvili E., Babilodze M. Hypothalamic Orexin System Accelerates Regulation of Sleep Homeostasis and Sleep-Wakefulness Cycle Recovery from Barbiturate Anesthesia-Induced Artificial Sleep. Georgian Med News, 2015, (249):67-73.

#### Abstracts:

1. Maglakelidze N., Mchedlidze O., Chkhartishvili E., Tsomaia V., Rogava N., Nachkebia N. Serial Activations of Lateral and Perifornical Hypothalamic Orexin-Containing Neuronal region Lead to Elevation of CSF OrexinA Content, Shorten Anesthesia Time and Fasten Recovery of Normal Sleep Cycles From Barbiturate Anesthesia Induced Sleep. The 7<sup>th</sup> World Congress of the World Sleep Federation. Abstract Book. 2015, pp.176 (312)
2. Nachkebia N., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Dzadzamia S., Maglakelidze N., Babilodze M., Chijavadze E. Development of Animal Model of Depression by New Approach Intended to Induce Early Postnatal Malfunctioning of Brain Muscarinic Cholinergic system leading to its Lasting Adult Super-Sensitivity. The 7<sup>th</sup> World Congress of the World Sleep Federation. Abstract Book. 2015, pp.177 (310)
3. Nachkebia N., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Dzadzamia S., Maglakelidze N., Babilodze M., Chijavadze E. New Approach to the Development of Animal Model of Depression Characterized by Super-Sensitivity of Brain Muscarinic Cholinergic System. Journal of Sleep Medicine, 2015, Volume 16, Supplement 1, Page S197
4. ნ. მაღლაკელიძე, ე. ჩხარტიშვილი, ე. ჩიჯავაძე, მ. ბაბილოძე, ო. მჭედლიძე, შ. ძაძამია, ნ. ნაჭყებია. მუსკარინული ქოლინერგული სისტემის ფუნქციური მოდიფიკაცია და ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევათა ხასიათი. ახალგაზრდა მეცნიერთა კონფერენცია. თეზისების კრებული. 2015. გვ46
5. Nachkebia N., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Maglakelidze N., Dzadzamia S., Tsomaia V., Babilodze M., Chijavadze E. Repetitive Activations of Lateral and Perifornical

- Hypothalamic regions Elevate CSF OrexinA Content and fasten Sleep-Wakefulness Recovery from Experimentally Induced Comatose State. *Journal of Sleep Research*, 2014, Volume 23, Supplement 1, P813, pp256.
6. Maglakelidze N., Chkhartishvili E., Chijavadze E., Dzadzamia S., Babilodze M., Mchedlidze O., Nachkebia N. Repetitive Activations of Lateral and Perifornical Hypothalamic regions Elevate CSF OrexinA Content and fasten Recovery of Normal Sleep Cycles from Deep Anesthesia Induced Sleep. *Journal of Sleep Research*, 2014, Volume 23, Supplement 1, P815, pp256-257,
  7. Maglakelidze N., Mchedlidze O., Chkhartishvili E., Chijavadze E., Babilodze M., Tsomaia V., Nachkebia N. Serial electrical stimulations of hypothalamic orexin-containing neuronal regions shorten anesthesia Time and Fasten Normal Sleep Cycles Recovery from Anesthesia-Induced Sleep. 9<sup>th</sup> FENS Forum of Neuroscience, 2014, P2097, pp. 273
  8. Nachkebia N., Chijavadze E., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Dzadzamia S., Maglakelidze N., Babilodze M. Early Postnatal Malfunctioning of Muscarinic Cholinergic system Leads to behavioral and Sleep Disturbances and M2/M4 Cholinoreceptors Up-regulation in Adult Age. 9<sup>th</sup> FENS Forum of Neuroscience, 2014, P2100, pp. 273
  9. Maglakelidze N., Chkhartishvili., Chijavadze., Dzadzamia S., Babilodze M., Mchedlidze O., Nachkebia N. Orexin-Containing Neurons Repetitive Activations Fastens Recovery of Anesthesia-Induced Sleep. *Neuroplasticity: Nervous Substrate for Health and Disease. New Approaches for research.*, III International Symposium Abstracts., 2014, pp.34-35
  10. Nachkebia N., Chkhartishvili E., Mchedlidze O., Dzadzamia Sh., Maglakelidze N., Chijavadze E. Malfunctioning of Brain Muscarinic Cholinergic System in the Period of Early Postnatal Development Leads to Behavioral and Sleep Disturbances in Adult Age Rats and Changes in Density of M2/M4 Muscarinic Receptors. *Journal of Sleep Medicine* Volume14, Supplement 1, December 2013, Pages e216,
  11. Maglakelidze N., Chkhartishvili E., Dzadzamia S., Chijavadze E., Babilodze M., Nachkebia N. Serial Electrical Stimulations of Hypothalamic Orexin-Containing Neuronal Regions Lead to Elevation of CSF OrexinA Concentration and Fasten the Recovery of Sleep-Wakefulness Cycle from Experimentally Induced Comatose State. *Journal of Sleep Medicine*, 2013, Volume14, Supplement 1, Pages e194-195,
  12. Maglakelidze N., Chkhartishvili E., Chijavadze E., Mchedlidze O., Babilodze M., Dzadzamia Sh., Nachkebia N. Sleep Disturbances Produced by Multiple Administrations of the Antagonists of Brain Muscarinic Cholinergic System. Third National Congress, Georgian I. Beritashvili Society of Physiologists, 2013, pp. 189-190