

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

Кваліфікована наукова
праця на правах рукопису

ГОРБАЧЕНКО ВАСИЛЬ АНАТОЛІЙОВИЧ

УДК 612.82:576.54:577.3

ДИСЕРТАЦІЯ

**РОЗРОБКА ТА ВИКОРИСТАННЯ АВТОМАТИЗОВАНОЇ СИСТЕМИ
ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ УМОВНОГО ХАРЧОВОГО РЕФЛЕКСУ
ТА ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ
АГЕНТІВ НА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ЩУРІВ**

Спеціальність 091 – Біологія та біохімія

Галузь знань – 09 Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі Біологія

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Горбаченко В.А. _____

Науковий керівник: **Лук'янець Олена Олександрівна**,
професор, доктор біологічних наук

Київ 2024

АНОТАЦІЯ

***Горбаченко В.А.* Розробка та використання автоматизованої системи для дослідження умовного харчового рефлексу та вивчення впливу фармакологічних агентів на поведінкові реакції щурів.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – біологія та біохімія. – Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ, 2024.

Дисертація присвячена дослідженням хвороби Альцгеймера (ХА), яка стає все більшою проблемою сучасної медицини і суспільства в цілому. Підвищений інтерес до цієї теми пояснюється не лише зростанням кількості пацієнтів з ХА, а й поглибленим розумінням механізмів розвитку цього нейродегенеративного захворювання. Дисертаційна робота становить значний внесок у наукове дослідження хвороби Альцгеймера (ХА) та розробку нових методів вивчення та можливого лікування і діагностики цього захворювання.

Дослідження зосереджене на розробці та апробації автоматизованої системи для реєстрації поведінкових реакцій щурів, спрямованої на оцінку умовного рефлексу та впливу фармакологічних агентів на ці реакції. Система включає програмне забезпечення для мікроконтролера годівниці, програмне забезпечення для комп'ютера, а також можливість відеореєстрації поведінкових реакцій щурів. Реєстрація умовнорефлекторної діяльності та відеореєстрація поведінкових реакцій під час міжстимульних періодів є важливою складовою розробленої системи. Апробація системи показала її працездатність та ефективність використання в автоматизованій кількісній оцінці поведінкових реакцій щурів. Часові параметри умовного рефлексу можуть слугувати прямою оцінкою пам'яті. У контексті експерименту, де досліджуються реакції щурів на умовний рефлекс, часові показники відображають не лише швидкість

виконання рефлексу, а й стійкість цієї реакції у пам'яті тварини. Наприклад, збільшення тривалості часу реакції може свідчити про погіршення пам'яті або затримки в переробці інформації. З іншого боку, скорочення часу реакції може індикувати поліпшення пам'яті або підвищення швидкості переробки інформації. Таким чином, аналіз часових параметрів умовного рефлексу дозволяє отримати пряму оцінку функції пам'яті тварини. Тому, вивчаючи зміни часових параметрів рефлексу під впливом біологічно-активних агентів, можна вивчати їх ефективність впливу на пам'ять і її порушення, які можуть спостерігатися при нейродегенеративних захворюваннях. Аналіз змін у часових показниках рефлексу під впливом різних фармакологічних засобів дозволяє оцінити їхню здатність впливати на процеси пам'яті та когнітивні функції організму. Це має важливе значення для розробки та вдосконалення методів лікування нейродегенеративних захворювань, таких як хвороба Альцгеймера, де порушення пам'яті є одним з основних симптомів. Розуміння впливу біологічно-активних агентів на часові параметри рефлексу допомагає виявляти потенційно ефективні препарати та розробляти нові методи лікування для покращення когнітивних функцій у хворих на нейродегенеративні захворювання.

У проведених експериментах для моделювання хвороби Альцгеймера використовувалися старі тварини. Використання старих тварин у моделях нейродегенеративних захворювань, таких як хвороба Альцгеймера, має велике значення, оскільки старість є одним із головних факторів ризику для розвитку цих захворювань у людей. Старі тварини відтворюють патологічні процеси, які спостерігаються в хронічних нейродегенеративних захворюваннях, таких як погіршення пам'яті, порушення когнітивних функцій та зміни в моторних реакціях. Такий підхід дозволяє досліджувати ефективність біологічно-активних речовин у відновленні функцій мозку та покращенні когнітивних показників в умовах, що максимально наближені до клінічної ситуації. Результати таких експериментів мають важливе значення для розробки та вдосконалення методів лікування хвороби Альцгеймера та інших

нейродегенеративних захворювань. Основні результати досліджень демонструють, що розроблена система дозволила отримати числові параметри оцінки харчового умовного рефлексу щурів, що вносить важливий внесок у розуміння їхньої поведінки та реакцій на різні стимули. Досліджено вплив мемантину на моторні поведінкові реакції у щурів різного віку, а також реакції активного та пасивного уникнення під впливом даного фармакологічного агента. Виявлено, що мемантин має позитивний ефект на моторну активність щурів та може покращувати їхні харчові та навчальні реакції. Також розглянуті ефекти впливу мемантину на різноманітні аспекти поведінки щурів у віці та за умов навчання, що є важливими для розуміння його можливого застосування у клінічній практиці.

У деяких наукових дослідженнях і літературі зазначається, що хвороба Альцгеймера може розглядатися як "діабет мозку" або "діабет третього типу". Це означає, що порушення обробки глюкози або інсулінорезистентність можуть впливати на розвиток цієї нейродегенеративної хвороби. Іншими словами, аномалії, які спостерігаються в метаболізмі глюкози та рівні інсуліну в організмі, можуть мати прямий вплив на функціонування мозку та сприяти розвитку патологічних процесів, характерних для хвороби Альцгеймера. Це дає підстави для вивчення препаратів та стратегій лікування, спрямованих на покращення обробки глюкози та рівня інсуліну в мозку з метою зменшення ризику або сповільнення прогресу хвороби Альцгеймера.

Тому, в дисертації було досліджено також вплив препарату авандамету на умовний харчовий рефлекс у щурів, зокрема, зосереджено увагу на взаємозв'язку між цим препаратом та розвитком хвороби Альцгеймера. Авандамет – це комбінований препарат, який містить дві діючі речовини: метформін та розиглітазон. Метформін відноситься до групи препаратів, які застосовуються для лікування цукрового діабету типу 2, зменшуючи рівень цукру в крові. Розиглітазон є лікарським засобом, що належить до класу тiazолідіндіонів, і використовується для зниження рівня цукру в крові шляхом підвищення чутливості тканин до інсуліну. Комбінований прийом цих

препаратів може сприяти кращому контролю рівня цукру в крові у пацієнтів з цукровим діабетом типу 2. У вищезгаданому контексті, застосування авандамету досліджувалося з метою вивчення його впливу на пам'ять та інші когнітивні функції в експериментальних моделях хвороби Альцгеймера.

Аналіз показав, що авандамет сприяє збільшенню моторної активності та успішності виконання умовних рефлексів у щурів, що може мати важливе значення для подальших досліджень у галузі лікування нейродегенеративних захворювань. Отже, ці дослідження мають велике значення для розвитку методів оцінки поведінкових реакцій тварин, а також для вивчення можливостей фармакологічного впливу на ці реакції у контексті різних патологічних станів, зокрема хвороби Альцгеймера.

В цілому, результати дослідження відкривають нові перспективи для подальшої розробки методів лікування та діагностики хвороби Альцгеймера. Вони підкреслюють важливість подальших наукових зусиль у цій області і наголошують на необхідності пошуку нових терапевтичних підходів для боротьби з цією нейродегенеративною хворобою.

Ключові слова: Авандамет; активне уникнення; мемантин; моторна поведінка; мозок; навчання; нейропатологія; пам'ять; пасивне уникнення; PPAR; харчовий рефлекс; розиглітазон; умовний рефлекс; мозок; нейропатологія; нейродегенерація; щури; хвороба Альцгеймера

SUMMARY

***Gorbachenko V.A.* Development and use of an automated system for studying conditioned food reflex and investigating the influence of pharmacological agents on the behavioral reactions of rats.** – A manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in Biology and Biochemistry. Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2024.

The dissertation is devoted to the study of Alzheimer's disease (AD), which is becoming an increasingly significant problem in modern medicine and society as a whole. The increased interest in this topic is explained not only by the growing number of AD patients but also by a deepened understanding of the mechanisms underlying the development of this neurodegenerative disease. The dissertation represents a significant contribution to the scientific research of Alzheimer's disease (AD) and the development of new methods for studying and potential treatment and diagnosis of this condition.

The research focuses on the development and testing of an automated system for recording the behavioral reactions of rats aimed at assessing conditioned reflex and the influence of pharmacological agents on these reactions. The system includes software for the feeder microcontroller, computer software, and the ability to video record the behavioral reactions of rats. Registration of conditioned reflex activity and video recording of behavioral reactions during interstimulus periods are important components of the developed system. The system's validation demonstrated its functionality and effectiveness in the automated quantitative assessment of rat behavioral reactions.

The temporal parameters of the conditioned reflex can serve as a direct assessment of memory. In the context of an experiment where rat reactions to a conditioned reflex are studied, temporal indicators reflect not only the speed of reflex

execution but also the stability of this reaction in the animal's memory. For example, an increase in the reaction time may indicate impaired memory or delays in information processing. On the other hand, a decrease in reaction time may indicate improved memory or increased information processing speed. Thus, analyzing the temporal parameters of the conditioned reflex allows for a direct assessment of the animal's memory function. Therefore, by studying changes in the temporal parameters of the reflex under the influence of biologically active agents, their effectiveness in influencing memory and its impairments, which may be observed in neurodegenerative diseases, can be investigated.

Analyzing changes in temporal reflex parameters under the influence of various pharmacological agents allows for an assessment of their ability to affect memory processes and cognitive functions in the body. This is crucial for the development and improvement of treatment methods for neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease, where memory impairment is one of the main symptoms. Understanding the impact of biologically active agents on reflex temporal parameters helps identify potentially effective drugs and develop new treatment methods to improve cognitive functions in patients with neurodegenerative diseases. In experiments aimed at modeling Alzheimer's disease, old animals were used. The use of aged animals in models of neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease, is of great significance, as aging is one of the main risk factors for the development of these diseases in humans. Aged animals reproduce pathological processes observed in chronic neurodegenerative diseases, such as memory impairment, cognitive dysfunction, and changes in motor reactions. This approach allows for studying the effectiveness of biologically active substances in restoring brain function and improving cognitive performance under conditions that closely resemble the clinical situation. The results of such experiments are of paramount importance for the development and improvement of treatment methods for Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders.

The main results of the research demonstrate that the developed system allowed obtaining numerical parameters for assessing the food conditioned reflex of

rats, which constitutes an important contribution to understanding their behavior and reactions to various stimuli. The impact of memantine on motor behavioral phenomena in rats of different ages was investigated, as well as active and passive avoidance reactions under the influence of this pharmacological agent. It was found that memantine has a positive effect on the motor activity of rats and can improve their feeding and learning reactions. Also discussed are the effects of memantine on various aspects of rat behavior at different ages and under learning conditions, which are important for understanding its potential application in clinical practice.

Some scientific studies and literature suggest that Alzheimer's disease can be considered as "brain diabetes" or "type 3 diabetes." This means that abnormalities in glucose processing or insulin resistance may affect the development of this neurodegenerative disease. In other words, anomalies observed in glucose metabolism and insulin levels in the body may directly influence brain function and contribute to the development of pathological processes characteristic of Alzheimer's disease. This provides grounds for studying drugs and treatment strategies aimed at improving glucose processing and insulin levels in the brain to reduce the risk or slow the progression of Alzheimer's disease.

Therefore, the dissertation also investigated the effect of the drug Avandamet on the conditioned food reflex in rats, focusing on the relationship between this drug and the development of Alzheimer's disease. Avandamet is a combination drug that contains two active ingredients: metformin and rosiglitazone. Metformin belongs to the group of drugs used to treat type 2 diabetes by reducing blood sugar levels. Rosiglitazone is a medication belonging to the thiazolidinedione class and is used to lower blood sugar levels by increasing tissue sensitivity to insulin. Combined administration of these drugs may contribute to better control of blood sugar levels in patients with type 2 diabetes. In the context mentioned above, the use of Avandamet was studied to investigate its impact on memory and other cognitive functions in experimental models of Alzheimer's disease.

The analysis showed that Avandamet contributes to increased motor activity and the successful execution of conditioned reflexes in rats, which may be of

significant importance for further research in the field of neurodegenerative disease treatment. Thus, these studies are of great importance for the development of methods for assessing animal behavioral reactions, as well as for studying the possibilities of pharmacological influence on these reactions in the context of various pathological conditions, including Alzheimer's disease.

Overall, the research results open up new perspectives for further development of treatment and diagnosis methods for Alzheimer's disease. They emphasize the importance of further scientific efforts in this area and emphasize the need to search for new therapeutic approaches to combat this neurodegenerative disease.

Keywords: Avandamet; active avoidance; brain; memantine; motor behavior; learning; memory; passive avoidance; PPAR; food reflex; rosiglitazone; conditioned reflex; video recording; rats; Alzheimer's disease; neuropathology

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Zh. A. Kruchenko, **V. A. Gorbachenko**, I. S. Chereda, and E. A. Lukyanetz
Effect of Memantine on Motor Behavioral Phenomena in Rats of Different Ages. *Neurophysiology*, Vol. 45, No. 5, 2014 p. 448-451
Автором виконано моделювання моторної поведінки тварин, проведення поведінкових, обробка відеоматеріалів поведінкових тестів опрацювання отриманих результатів.
2. **V.A. Gorbachenko**, E.A. Lukyanetz. Effects of memantine on the passive avoidance test in young rats. *Fiziol. Zh.* 2020; 66(5): 3-10.
Автором виконано моделювання моторної поведінки тварин, проведення поведінкових, обробка відеоматеріалів поведінкових тестів опрацювання отриманих результатів.
3. **V.A. Gorbachenko**, Zh.O. Kruchenko, E.A. Lukyanetz. Effect of avandamet on conditioned food reflex in rats of different age groups. *Fiziol. Zh.* 2020; 66(6): 41-48.
Автором виконано моделювання моторної поведінки тварин, проведення поведінкових, обробка відеоматеріалів поведінкових тестів опрацювання отриманих результатів.
4. Y Tyschenko, **V Gorbachenko**, E Lukyanetz. Memantine and active avoidance reactions in rats. *The scientific heritage (Hungary)*, 2021, 2 (74), 8-10. DOI: 10.24412/9215-0365-2021-74-2-8-10
Автором виконано моделювання моторної поведінки тварин, проведення поведінкових, обробка відеоматеріалів поведінкових тестів опрацювання отриманих результатів.

Які засвідчують апробацію матеріалів дисертаційного дослідження:

Інші статті:

1. **V. Gorbachenko**, I. Chereda, S. Vrublevsky, J. Kruchenko, O. Lukyanetz
Development and testing of the experimental system for registration of food

reflex in rats. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Радіофізика та електроніка. – 2014. - Вип. 1-2. - С. 31-33.

Автором виконано розробку системи для вимірювання часових параметрів умовного харчового рефлексу у щурів, електромонтаж системи та випробування в експериментальних умовах.

2. **V. Gorbachenko**, I. Chereda, J. Kruchenko, E.A. Lukyanetz Measurements of the time parameters of conditioned food reflex in rats under memantine treatment with using of automatic registration system. Вісн. Київ. нац. ун-ту. Сер. Радіофізика та електроніка. – 2015. - Вип. 1 (23). - С. 23-36.

Автором виконано моделювання моторної поведінки тварин, проведення поведінкових дослідів, обробка відеоматеріалів поведінкових тестів опрацювання отриманих результатів.

Патент на корисну модель:

3. **Gorbachenko V.A.**; Chereda I. S. ; Vrublevsky S.V .; Lukyanets O. O. Patent № 106590. Device for determining the temporal parameters of the food conditioned reflex. Application number: u 2015 11913, (22) Date of application: 02.12.2015, (24) Date of validity of the right to utility model: 04/25/2016, (46) Publication of information about the issuance of a patent: 04/25/2016, Byul No. 8

Автором виконано розробку системи для вимірювання часових параметрів умовного харчового рефлексу у щурів, електромонтаж системи, підготовка креслень системи.

Тези доповідей:

4. **Gorbachenko VA**, Chereda I.S., Kruchenko Zh.O., Lukyanetz O.O. Estimation of horizontal and vertical activity of rats using the method of software analysis of video recording Fiziol. zh, 2014, 60, 3, Appendix, 33
5. **Gorbachenko V.**, Chereda V., Vrublevsky S., Kruchenko Zh., Lukyanetz O. Development and experimental testing of the system of registration of behavioral food response of rats. Book of Abstracts. IV International Conference

- “Medical physics – the current status, problems, ways of development, Innovation technologies”, October 23-24, Kyiv, Ukraine. 2014 p. 8
6. **Gorbachenko V.A.**, J.O. Kruchenko, Chereda I.S., Lukyanetz E.A. Investigation of changes in time parameters of conditioned reflex by automatic system of registration under influence of memantin Proceedings of IX International Conference “Electronics and applied physics”, October 21 – 24, 2015, Kyiv, Ukraine C. 121-122.
 7. **Gorbachenko VA**, Tishchenko Yu. M., Kruchenko Zh.O., Lukyanets O.O. Investigation of the effect of memantine on behavioral reactions of rats. Materials of the scientific-practical conference with the participation of international specialists, dedicated to the day of science. "Medical science at the intersection of specialties: present and future." Kharkiv, May 19, 2017 43.
 8. **Gorbachenko VA**, Tishchenko Yu. M., Kruchenko Zh.O., Lukyanets O.O. The Effect of Memantine on Rat's Behavioral Reactions. Materials of the VIII Congress of the Ukrainian Society of Neurosciences, June 7-11, 2017 Kyiv, Ukraine, p.81
 9. **Vasyl Gorbachenko**, Zhanna Kruchenko, Yuliya Tyschenko, Sergij Vrublevsky, Elena A Lukyanetz. Effects of memantine on time parameters of behavior responses in different age groups of rats. Abstract book. 11th FENS Forum of Neuroscience, 7-11 July 2018, Berlin, Germany. C037.
 10. Lukyanetz E.A., **Gorbachenko V.A.**. Platon Kostyuk – founder of Ukrainian school of neuroscientists. Poster abstracts. History Corner at FENS Forum 2018. 11th FENS Forum of Neuroscience, 7-11 July 2018, Berlin, Germany. p.8.
 11. **Gorbachenko V.A.**, Kruchenko Zh., Y.M. Tyshchenko, Vrublevsky S.V., Lukyanetz E.A. Memantine action on time characteristics of sensory-motor responses in rats. Abstract book. The Inaugural Workshop of UNESCO/UNITWIN Network on PhD Education and Research in Biophysics, Biotechnology and Environmental Health. August 6 – Yerevan, Armenia, 2018, August 7-8, Garni, Armenia. P. 14.

12. **Gorbachenko V.A.**, Kruchenko Zh., Tyshchenko Y.M., Vrublevsky S.V., Lukyanetz E.A. Action of memantine on time characteristics of sensory-motor responses in rats. Materials of Thematic 7th Congress of the Ukrainian Biophysical Society. 2018, October 29-31, Kyiv, Ukraine.
13. **V.A. Gorbachenko**, Zh. Kruchenko, E.A. Lukyanetz. Using of time characteristics of sensory-motor responses for estimation of memantine effect in rats. Abstracts of the XXth Congress of the P.G. Kostyuk Ukrainian Physiological Society with international participation dedicated to the 95th birthday of Academician PG Kostyuk, Kyiv, Fiziol. Zh. 2019; 65(3S), p.53.
14. **Gorbachenko V.A.**, Kruchenko Zh.O., Lukyanetz E.A. Memantine action on time characteristics of sensory-motor responses in rats. VIII congress of Ukrainian biophysical Society, Kyiv-Lutsk, 12-15 November, 2019.
15. **Vasyl Gorbachenko**, Elena Lukyanetz. Effect of Avandamet on the behavior of different age rats. Book of abstracts 5th HBP Student Conference on Interdisciplinary Brain Research 1–4 February 2021 | Virtual Conference. P. 193-196.
https://www.frontiersin.org/books/5th_HBP_Student_Conference_on_Interdisciplinary_Brain_Research/4325.
16. Tyshchenko Y, **Gorbachenko V**, Lukyanetz E. Effect of memantine on behavioral reactions of rats in the active avoidance test. Book of Abstracts. Virtual FENS Regional Meeting 2021. Krakow, Poland, 25-27 August 2021, P. 291-292.
17. **V.A. Gorbachenko**, E.A. Lukyanetz. The use of temporal parameters of the conditioned food reflex to study the effect of memantine on behavioral responses in rats. Ukrainian conference on Neuroscience, July 25-27, 2022, Kyiv dedicated to the 90th birthday of academician Vladimir Skok. Fiziol. Zh., 2022, 68(3S), p. 23.
18. **Gorbachenko V.A.**, Lukyanetz E.A. Studying memantine's impact on rat behavior using temporal food reflex parameters. Abstract Book, IX CONGRESS

OF THE UKRAINIAN BIOPHYSICAL SOCIETY, OCTOBER 30 –
NOVEMBER 2, 2023, Kyiv.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	23
ВСТУП.....	25
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	28
1.1. Нейродегенеративні захворювання	28
1.2. Хвороба Альцгеймера	29
1.2.1. Причини виникнення хвороби Альцгеймера	31
1.2.2. Механізми розвитку хвороби Альцгеймера	35
1.2.3. Молекулярні механізми	36
1.2.4. Медикаментозне лікування хвороби Альцгеймера	38
1.2.5. Використання біологічно активних сполук при лікуванні хвороби Альцгеймера.....	40
1.2.5.1. Мемантін.....	42
1.2.5.2. Росіглітазон	44
1.3. Експериментальні дослідження хвороб мозку	47
1.3.1. Тваринні моделі	48
1.3.2. Експериментальні дослідження захворювань головного мозку на моделях тварин	51
1.3.3. Експериментальні дослідження пам'яті на моделях тварин	52
1.3.4. Основні методи дослідження поведінки тварин для дослідження пам'яті	54
1.3.5. Дослідження тест відкрите поле	55
1.3.6. Дослідження умовного рефлексу	57
1.3.6.1. Дослідження умовного харчового рефлексу.....	58
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	60
2.1. Експериментальні тварини	60
2.2. Поведінкові тести.....	60
2.2.1. Тест відкритого поля.....	60
2.2.2. Тест на харчовий рефлекс	61
2.2.3. Тести пасивного та активного уникнення	63
2.3. Методи статистичного аналізу	65
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	65
3.1. Створення системи харчового рефлексу	65

3.1.1. Схема електронної годівниці	66
3.1.2. Програмне забезпечення для мікроконтролера годівниці	72
3.1.3. Програмне забезпечення для комп'ютера	74
3.2. Реєстрація умовнорефлекторної діяльності	78
3.3. Відеореєстрація поведінкових реакцій	78
3.1. Експериментальна апробація системи	81
3.2. Відеореєстрація поведінкових реакцій під час міжстимульних періодів	83
3.3. Вплив мемантину на часові характеристики харчового умовного рефлексу	87
3.4. Вплив мемантину на моторні поведінкові явища у щурів різного віку	92
3.5. Мемантин та Реакції Активного Уникнення у Щурів	99
3.6. Вплив мемантину на тест пасивного уникнення	104
3.7. Вплив авандамету на умовний харчовий рефлекс у щурів	115
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	121
4.1. Застосування часових характеристик для вивчення впливу біологічно активних речовин	121
4.2. Зв'язок часових характеристик умовного рефлексу з мозковою діяльністю	122
4.3. Вплив мемантину на часові характеристики харчового рефлексу	123
4.4. Вплив мемантину на часові характеристики харчового умовного рефлексу	124
4.5. Вплив мемантину на реакції активного уникнення у щурів	127
4.6. Вплив мемантину на тест пасивного уникнення	128
4.7. Вплив авандамету на умовний харчовий рефлекс у щурів	129
ВИСНОВКИ	130
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	133
Додаток 1	144
Додаток 2	145
Додаток 3	149
Додаток 4	150

ХАРАКТЕРИСТИКИ РОБОТИ

Актуальність. Актуальність роботи полягає в тому, що дослідження механізмів та прогресування нейродегенеративних захворювань відіграють важливу роль в сучасних біомедичних науках. Ці захворювання викликають зміни у широкому спектрі показників функції мозку, таких як поведінкові, сенсорні, нейромоторні та когнітивні, що включає навчання та пам'ять. Розробка та впровадження автоматизованої системи для вивчення умовного харчового рефлексу в щурів надає унікальну можливість дослідити взаємозв'язки між навколишнім середовищем, поведінкою та когнітивними функціями.

Вивчення впливу мемантину та розиглітазону на поведінкові реакції відкриває перспективи для розуміння та вдосконалення фармакологічних методів корекції когнітивних порушень при хворобі Альцгеймера та інших нейродегенеративних станах. Оцінка умовного рефлексу як індикатора діяльності мозку може слугувати важливим інструментом для діагностики та моніторингу прогресування захворювань, а також для оцінки ефективності лікувальних втручань.

У контексті сучасного суспільства, де кількість людей, що страждають на нейродегенеративні захворювання, зростає, існує гостра потреба в розробці нових методів, що дозволять покращити якість життя пацієнтів та їх доглядальників. Таким чином, дана робота вносить важливий вклад у вирішення цієї актуальної проблеми.

Ключові слова: Авандамет; активне уникнення; мемантин; моторна поведінка; мозок; навчання; нейропатологія; пам'ять; пасивне уникнення; PPAR; харчовий рефлекс; розиглітазон; умовний рефлекс; мозок; нейропатологія; нейродегенерація; щури; хвороба Альцгеймера

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках наукової програми відділу біофізики іонних каналів Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України. Дисертаційна робота виконана згідно плану науково-дослідної тематики відділу

біофізики іонних каналів Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України (номер державної реєстрації 0118U007344 та інших програм, що виконуються відділом 0116U004470 та 0120U001281).

Мета дослідження. Метою даної дисертаційної роботи є розробка та апробація автоматизованої системи для детального дослідження харчового умовного рефлексу у щурів, яка дозволить вивчати вплив мемантину та розиглітазону на поведінкові реакції цих тварин. Крім технічного аспекту, мета роботи також охоплює аналіз отриманих даних для визначення механізмів впливу цих медикаментів на когнітивні функції тварин, що може мати важливе значення для розуміння патогенезу та розробки нових підходів до лікування хвороби Альцгеймера.

Завдання дослідження:

1. Розробити автоматизовану систему для дослідження умовного харчового рефлексу у щурів.
2. Дослідити вплив мемантину на часові характеристики умовного харчового рефлексу у щурів.
3. Дослідити вплив авандамету (росіглітазону) на часові характеристики умовного харчового рефлексу у щурів.
4. Дослідити вплив мемантину на поведінкові реакції пасивного та активного уникнення у щурів.
5. Дослідити вплив мемантину на локомоторну активність щурів.

Методи дослідження. Розробка системи реєстрації часових параметрів умовного рефлексу. Експериментальне моделювання поведінкових реакцій харчового рефлексу, оцінка часових параметрів поведінкових феноменів у тварин (умовний харчовий рефлекс, локомоторна активність, тривожність, емоційна збудливість, умовні реакції), оцінка впливів фармакологічних агентів, статистична обробка результатів.

Об'єкт дослідження. Процеси автоматизації систем реєстрації умовного харчового рефлексу та поведінкові феномени у щурів.

Предмет дослідження. Система вимірювання часових параметрів умовного харчового рефлексу та зміни у поведінкових реакціях дослідних щурів.

Наукова новизна одержаних результатів. Наукова новизна вказаних досліджень полягає у ряді ключових аспектах. Перш за все, вперше розроблена автоматична система, яка дозволяє вимірювати часові параметри умовного харчового рефлексу. Ці часові параметри є критично важливими, оскільки вони відображають ефективність роботи мозку та слугують параметрами для кількісної оцінки пам'яті у цифровому вигляді. Ця інноваційна система відкриває нові можливості для тестування ефективності лікарських препаратів та речовин на процеси пам'яті, що є важливим у контексті дослідження стану пам'яті при нейродегенеративних захворюваннях, таких як деменція, хвороба Альцгеймера та інші.

Дослідження також вносить значний вклад у розуміння механізмів умовного рефлексу, розширюючи знання про внутрішні процеси, які відбуваються в мозку. Це дає можливість для поглибленого аналізу поведінкових реакцій у тварин і їх кореляції з функціонуванням мозку. Мультидисциплінарний характер дослідження, яке інтегрує підходи з психології, неврології та аналізу поведінки, робить його значущим для широкого спектру наукових досліджень і практичних застосувань.

Таким чином, це дослідження відкриває нові шляхи для подальших досліджень у галузі біомедицини, психології та неврології, пропонуючи інноваційні методи для вивчення та лікування нейродегенеративних захворювань.

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів. Дисертація має значне теоретичне та практичне значення в контексті досліджень хвороби Альцгеймера (ХА) та розвитку методів її лікування та діагностики.

Теоретичне значення роботи полягає в глибокому аналізі механізмів розвитку нейродегенеративних захворювань, зокрема хвороби Альцгеймера. Розробка автоматизованої системи для оцінки умовного харчового рефлексу та впливу фармакологічних агентів на поведінкові реакції щурів дозволяє відкрити нові аспекти розуміння біохімічних та фізіологічних процесів, що лежать в основі когнітивних функцій і пам'яті, а також їх змін при ХА. Аналіз часових параметрів умовного рефлексу надає інструмент для прямої оцінки функції пам'яті, що є критично важливим для розуміння процесів, які відбуваються при ХА.

Практичне значення дослідження виявляється в розробці та апробації ефективної системи для детального вивчення поведінкових реакцій щурів, що може бути застосована для оцінки ефективності лікарських засобів, спрямованих на корекцію когнітивних порушень при ХА та інших нейродегенеративних захворюваннях. Результати, отримані за допомогою цієї системи, забезпечують цінну інформацію для розробки нових фармакологічних препаратів та стратегій лікування, особливо в контексті "діабету мозку" або "діабету третього типу", де порушення метаболізму глюкози та інсулінорезистентність відіграють ключову роль у патогенезі ХА. Використання старих тварин у дослідженнях надає можливість моделювати хронічні нейродегенеративні процеси, що наближає експериментальні умови до клінічної ситуації і підвищує значення отриманих результатів для медичної науки та практики.

У цілому, дослідження представляє важливий крок у напрямку розширення наших знань про хворобу Альцгеймера, розробки нових діагностичних інструментів та методів лікування.

Особистий внесок здобувача. Опрацювання літературних джерел, постановка експериментів та інтерпретація отриманих результатів проводилась здобувачем особисто за участі керівника наукової роботи. Розробка та оцінка автоматичної системи дослідження харчового умовного рефлексу у щурів. Це включає проектування та впровадження системи, тестування системи, а також

обговорення та аналіз результатів які проводились здобувачем із співробітниками та керівником. Поведінкові тести, кількісна обробка даних, підготовка наукової роботи до друку та написання всіх розділів дисертації проводились здобувачем особисто.

Апробація результатів дисертації. Результати дослідження були представлені на 20-му з'їзді Українського фізіологічного товариства (Київ, 2019); VII з'їзді Українського біофізичного товариства, (Київ, 2018); Міжнародному симпозиумі «Фізіологія гладеньких м'язів, біофізика та фармакологія» (Київ, 2018); VII міжнародному конгресі українського товариства нейронаук (Київ, 2017); Науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів, присвячена дню науки. «Медична наука на перетині спеціальностей: сьогодення і майбутнє». (Харків, 19 травня 2017); VIII міжнародному конгресі українського товариства нейронаук (Київ, 7-11 червня 2017); 11-му Форумі FENS з нейронауки (Берлін, 7-11 липня 2018); Відкритій робочій нараді Мережі ЮНЕСКО / UNITWIN з навчання та досліджень у біофізиці, біотехнології та охорони здоров'я довкілля.(Вірменія. 6 серпня – Єреван, Вірменія, 2018 року, 7-8 серпня, Гарні, Вірменія); Тематичному 7-му конгресі Українського біофізичного товариства. (Київ, 29-31 жовтня 2018); XX-му Конгресі Українського фізіологічного товариства імені П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 95-річчю академіка П.Г. Костюка, (Київ, 2019); VIII конгресі Українського біофізичного товариства, (Київ-Луцьк, 12-15 листопада, 2019); 5-тій Студентській конференції з міждисциплінарних досліджень мозку НВР (Віртуальна конференція, 1–4 лютого 2021 року); Віртуальній регіональній зустрічі FENS 2021.(Польща, Краків, 25–27 серпня 2021); Українській конференції з нейронаук присвяченій 90-й річниці академіка Володимира Скока, (Київ, 25-27 липня 2022); IX з'їзді українського біофізичного товариства (Київ, 30 жовтня – 2 листопада 2023).

Публікації. За результатами роботи було опубліковано три статті у фахових наукових журналах, затверджених МОН України, одна стаття у міжнародному виданні, ще дві статті по спеціальності «радіофізика та

електроніка», крім того один патент на корисну модель, та 14 тез доповідей на конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, викладення результатів досліджень, обговорення результатів, висновків та списку використаних джерел з 200 найменувань. Робота містить 4 таблиці, 47 рисунків. Загальний обсяг дисертації становить 152 сторінки.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АВД	авандамет
APP	амілоїдного попередника білка
A β	амілоїд-бета
БАР	біологічно активні речовини
БР	безумовний рефлекс
ЦД2Т	цукровий діабет 2-го типу
ЛКД	легкий когнітивний дефіцит
ППАР	пероксисомні проліфератор-активовані рецептори.
СМР	сенсомоторна реакція
КПТ	когнітивно-поведінкова терапія
ПФК	префронтальний кортекс
ТАУ білок τ - білок	
УР	умовний рефлекс
УРАУ	умовний рефлекс активного уникнення
УРПУ	умовний рефлекс пасивного уникнення
ХА	хвороба Альцгеймера
ЦНС	центральна нервова система
ЧМТ	черепно-мозкової травми
AChEI	ацетилхолінестераза
AFM	атомно-силова мікроскопія
BACE-1	β -секретаза
CDK5	циклінзалежна кіназа 5
cryoEM	криогенна електронна мікроскопія ()
IL-1 β	інтерлейкін-1 β
FDA	управління з харчових продуктів і медикаментів США
NFT	нейрофібрилярні клубки
NMDA	N-метіл-D-аспартат
PGC-1 α	ППАР- γ коактиватора-1 альфа

PPRE	елементами відповіді ППАР
PS	пресенілін
RXR	рецептором ретиноїду
ssNMR	твердотільний ядерний магнітний резонанс
TEM	трансмісійна електронна мікроскопія в темному полі
TNF- α	фактор некрозу пухлини- α

ВСТУП

Дослідження молекулярних механізмів пам'яті є важливим для розуміння того, як спогади формуються, консолідуються та згадуються. Це може допомогти зрозуміти неврологічні розлади, які спричиняють втрату пам'яті, наприклад хворобу Альцгеймера. Розуміння молекулярної основи пам'яті також може допомогти визначити потенційні цілі препаратів для лікування дефіциту пам'яті. Розуміючи молекулярні механізми пам'яті, дослідники можуть отримати уявлення про те, як певні гени та білки впливають на формування та зберігання спогадів. Ці знання можуть допомогти інформувати майбутніх терапевтів про механізми хвороб. Крім того, розуміння ролі, яку певні молекули та метаболічні шляхи відіграють у регулюванні формування пам'яті, консолідації та пригадування, дозволить дослідникам краще зрозуміти, як старіння та хвороби, зміни навколишнього середовища впливають на пам'ять. Це може надати нові стратегії для збереження когнітивних функцій.

Крім того, дослідження молекулярних механізмів пам'яті дозволяє дослідникам краще зрозуміти основні причини порушення пам'яті при різних неврологічних розладах. Наприклад, хвороба Альцгеймера характеризується прогресуючим погіршенням пам'яті, і дослідження показали, що це може бути спричинено накопиченням бляшок і клубків у мозку (Guo et al., 2020; Penke et al., 2019; Zhang et al., 2021). Подальше з'ясовуючи роль, яку певні молекули та шляхи відіграють у формуванні пам'яті, дослідники сподіваються краще зрозуміти основну причину хвороби Альцгеймера та розробити терапію, спрямовану на її першопричину. Загалом, дослідження молекулярних механізмів пам'яті є важливим як для покращення нашого розуміння формування пам'яті, так і для розробки цільової терапії різних неврологічних розладів (Paroni et al., 2019; Reddy and Oliver, 2019).

Нейрональні механізми пам'яті стосуються способів взаємодії нейронів у мозку, що формують та зберігають спогади. Пам'ять – це не просто окрема подія, а скоріше складний процес, який включає скоординовану діяльність

багатьох нервових шляхів. Нейрони в мозку спілкуються один з одним за допомогою електричних і хімічних сигналів, і цей зв'язок допомагає зберігати та відтворювати спогади (Joshi et al., 2019). Першим кроком у нейронних механізмах пам'яті є сенсорне сприйняття. Сенсорні дані кодуються нейронами та зберігаються як короткочасна пам'ять. Потім ця пам'ять перетворюється на довгострокову пам'ять за допомогою процесу, який називається консолідацією. Під час консолідації нейрони розвивають нові шляхи та зміцнюють існуючі для зберігання інформації (Mujawar et al., 2021). Під час цього процесу залучені нейрони також вивільняють нейромедіатори, які можуть модулювати силу пам'яті. Другим кроком у нейронних механізмах пам'яті є пошук. Під час відновлення активуються нейрони, які беруть участь у процесах пам'яті, що дозволяє відновити пам'ять. Інформація, що зберігається в пам'яті, отримується шляхом активації нейронів ретикулярної формації, яка є мережею нейронів, розташованих у стовбурі мозку (Lv and Zenisek, 2014; Tanaka et al., 2014; Yiu et al., 2014).

Ця мережа відповідає за регулювання міцності пам'яті, а також за швидкість виклику. Третім кроком у нейронних механізмах пам'яті є консолідація. Під час консолідації спогади додатково кодуються та організовуються в мозку для зберігання. Це досягається шляхом зміцнення зв'язків між нейронами, завдяки чому спогади стають міцнішими та легшими для пригадування. Це причина, чому спогади можуть зникати з часом, оскільки зв'язки між нейронами стають слабкішими. Четвертий крок у нейронних механізмах пам'яті - повторна консолідація (Bermúdez-Rattoni and McGaugh, 2017; Reyes-Resina et al., 2021). Під час повторної консолідації наявні спогади можна оновити або змінити. Це відбувається шляхом перенесення інформації з короткочасної пам'яті в довготривалу. Повторна консолідація дозволяє спогадам залишатися в актуальному стані, а також дозволяє організму дізнаватися нове (Besnard et al., 2012). Нарешті, нейронні механізми пам'яті також включають забування. Спогади можуть зникати з часом через різні фактори, наприклад погане кодування, слабкі зв'язки між нейронами або

втручання нових спогадів (Frank and Benington, 2006). Забування також може відбуватися через те, що спогади постійно реорганізуються та оновлюються.

Таким чином, можна зазначити, що нейронні механізми пам'яті включають складний процес сенсорного сприйняття, пошуку інформації, консолідації, повторної консолідації та забування. Цей процес забезпечується нейронами, які взаємодіють один з одним за допомогою електричних і хімічних сигналів, щоб зберігати та відтворювати різні типи спогадів.

Дослідження тваринних моделей для вивчення пам'яті має важливе значення для розвитку галузі медицини. Моделі на тваринах дозволяють вченим досліджувати, як структура та фізіологія мозку сприяє формуванню та підтримці пам'яті. Проводячи експерименти на тваринних моделях, дослідники можуть отримати уявлення про механізми, що лежать в основі пам'яті, і на основі цього розробляти ефективні методи лікування захворювань і станів, які включають дефіцит пам'яті, наприклад, хвороба Альцгеймера (Mota et al., 2019). Наприклад, дослідження, проведене (Panoz-Brown et al., 2018) використовували щурів для дослідження впливу старіння на залежне від гіпокампу просторове навчання та пам'ять. Отримані дані показали, що пов'язане з віком зниження пам'яті, залежне від гіпокампу, пов'язане зі зниженням виробництва нових нейронів у гіпокампі (Asok et al., 2019; Tzilivaki et al., 2023). Ці результати пропонують потенційні стратегії лікування вікового погіршення пам'яті.

Таким чином, дослідження пам'яті на тваринних моделях має важливе значення для покращення розуміння та лікування когнітивних розладів, а також для покращення здатності керувати різними неврологічними та психологічними станами (Goto, 2022; Ortega-de San Luis and Ryan, 2022). Крім того, знання, отримані на тваринних моделях, можуть допомогти скерувати медичне лікування та дати розуміння біологічних і молекулярних механізмів, що лежать в основі формування пам'яті та навчання.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Нейродегенеративні захворювання

Нейродегенеративні захворювання – це група станів, які спричиняють прогресуючу дегенерацію та втрату нейронів у головному та спинному мозку. Ці захворювання можуть призвести до різноманітних симптомів, включаючи втрату фізичних або когнітивних функцій, зміни в поведінці та зниження якості життя (Wareham et al., 2022). Нейродегенеративні захворювання можна розділити на три основні категорії: спадкові, спорадичні та набуті. Спадкові захворювання спричинені генетичними мутаціями, що передаються від батьків до дитини, тоді як спорадичні захворювання спорадично виникають у популяції без будь-якої відомої причини. Набуті захворювання можуть бути наслідком факторів навколишнього середовища або способу життя, таких як вплив токсинів, травма голови або вірусів (Ruffini et al., 2020).

Найпоширенішими нейродегенеративними захворюваннями є хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, бічний аміотрофічний склероз (ХАС) і хвороба Хантінгтона. Хвороба Альцгеймера характеризується поступовим погіршенням пам'яті та когнітивних здібностей, тоді як хвороба Паркінсона характеризується руховими аномаліями, такими як тремтіння та порушення рівноваги (Lamprey et al., 2022; Wareham et al., 2022). ХАС характеризується прогресуючою м'язовою слабкістю та паралічем, а хвороба Хантінгтона характеризується аномальними рухами, зниженням когнітивних функцій і змінами особистості та поведінки. Ці нейродегенеративні захворювання можуть мати руйнівний вплив на людей та їхні родини та можуть значно знизити якість життя. Рання діагностика важлива для уповільнення прогресування захворювання та покращення стану. Також важливо розуміти причини та фактори ризику цих захворювань, щоб краще їх запобігати та лікувати.

Лікування нейродегенеративних захворювань зазвичай передбачає прийняття ліків, терапії та зміни способу життя. Ліки можуть допомогти зменшити симптоми та сповільнити прогресування захворювання (Ruz et al.,

2020; Temple, 2023). Терапія, наприклад фізична, професійна та спілкування, може допомогти покращити фізичні та когнітивні здібності та якість життя. Зміна способу життя, наприклад здорове харчування та фізичні вправи, також можуть допомогти покращити фізичне та психічне здоров'я. Дослідження нейродегенеративних захворювань тривають, і розробляються нові методи лікування та терапії, щоб допомогти людям впоратися зі своїми симптомами та покращити якість життя (Shao et al., 2017; Xiao et al., 2021). Останні досягнення в розумінні причин і механізмів цих захворювань призвели до розробки нових методів лікування, таких як генна терапія та терапія стовбуровими клітинами (Chi et al., 2018; Hill, 2019).

Підсумовуючи можна сказати, що нейродегенеративні захворювання — це група захворювань, що характеризуються прогресуючою втратою структури та функції нервових клітин головного та спинного мозку. Рання діагностика та розуміння причин і факторів ризику важливі для кращої профілактики та лікування цих захворювань.

1.2. Хвороба Альцгеймера

Хвороба Альцгеймера — це прогресуючий і дегенеративний неврологічний розлад, який впливає на пам'ять, поведінку та когнітивні здібності людини. Це найпоширеніша причина деменції, яка пов'язана з віком (Logsdon et al., 2010). За оцінками, 5 мільйонів людей у Сполучених Штатах страждають від хвороби Альцгеймера, і очікується, що це число зросте до 13,8 мільйонів людей до 2050 року (2023; Grundman et al., 2004). Існують дані, що ризик розвитку цього захворювання зростає з кожним роком після 60 років. За прогнозами вчених, старіння населення нашої планети відбувається дуже швидко, рис. 1.1.

Світовий вплив хвороби Альцгеймера виявляється в зростаючій поширеності, інцидентності та рівнях смертності. Легкий когнітивний дефіцит (ЛКД) через хворобу Альцгеймера може перейти в деменцію Альцгеймера, при цьому оцінки вказують, що від 40% до 75% випадків ЛКД, залежно від вивченої

популяції та діагностичних методів, можуть призвести до деменції Альцгеймера. Для пацієнтів з накопиченням амілоїд-бета та нейродегенерацією довічний ризик розвитку деменції Альцгеймера оцінюється в 41,9% для жінок та 33,6% для чоловіків. Використання біомаркерів разом з нейрокогнітивними тестами стає важливою частиною клінічної практики, особливо з появою нових модифікуючих захворювання терапій (2021; Tahami Monfared et al., 2022).

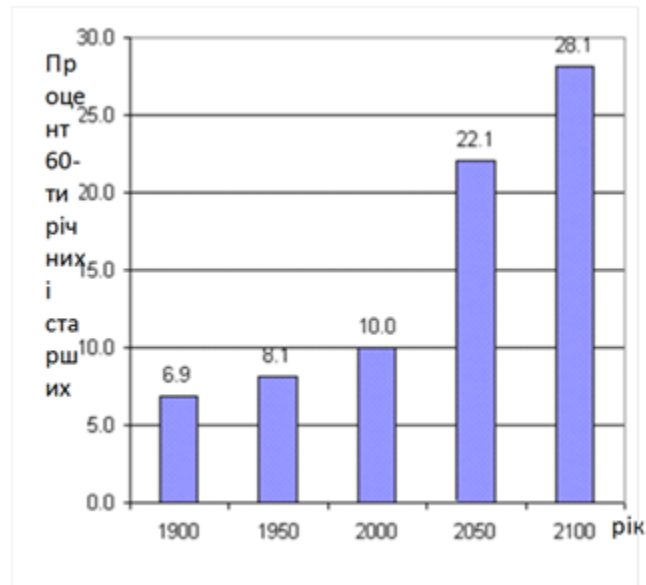


Рис. 1.1. Світова популяція старіння.

Причина хвороби Альцгеймера до кінця не вивчена, але поєднання генетичних факторів, способу життя та екологічних факторів може відігравати певну роль. "Що викликає хворобу Альцгеймера?" від Національного інституту з питань старіння надає всебічний огляд потенційних причин та факторів ризику хвороби Альцгеймера, включаючи вікові зміни в мозку, генетичні впливи та спосіб життя (Aging, 2024). У статті підкреслюється, що хвороба Альцгеймера є прогресуючим захворюванням мозку, характеризується амілоїдними бляшками та нейрофібрилярними вузлами, що призводить до втрати нейронів та когнітивного спаду (Armstrong, 2013). Цінним ресурсом є веб-сайт Асоціації хвороби Альцгеймера, який надає уявлення про причини та фактори ризику хвороби Альцгеймера. У їхній статті повторюється, що хвороба Альцгеймера, ймовірно, розвивається з комбінації генетичних, способу життя

та екологічних факторів. В статті підкреслюється, що хоча деякі фактори ризику, такі як вік, сімейна історія та генетика, не можуть бути змінені, можуть бути інші фактори, які можуть вплинути, щоб потенційно знизити ризик виникнення цього захворювання. Вважається, що накопичення білків та інших речовин у мозку викликає пошкодження нервових клітин і порушує зв'язок між ними. Це призводить до втрати когнітивних функцій, таких як пам'ять і здатність вирішувати проблеми. Симптоми хвороби Альцгеймера відрізняються від людини до людини і можуть включати втрату пам'яті, труднощі з розумінням мови, труднощі з абстрактним мисленням, сплутаність свідомості, дезорієнтацію та зміни в поведінці. Прогресування захворювання зазвичай відбувається поступово і може тривати від 3 до 20 років. Наразі не існує ліків від хвороби Альцгеймера, але доступні варіанти лікування, які дозволяють впоратися з симптомами та уповільнити прогресування захворювання. До них належать ліки для покращення когнітивних функцій і зменшення поведінкових симптомів, а також зміни способу життя, такі як фізичні вправи та дієта (Association, 2024).

Хвороба Альцгеймера має значний вплив на окремих людей, їхні родини та суспільство в цілому. Це впливає на якість життя та може бути фінансовим тягарем через витрати на лікування та втрату заробітної плати. Важливо мати хорошу систему підтримки, щоб допомогти окремим особам і сім'ям впоратися з наслідками хвороби Альцгеймера (Aranda et al., 2021). Підсумовуючи, хвороба Альцгеймера є прогресуючим і дегенеративним неврологічним розладом, який впливає на пам'ять і когнітивні функції. Це провідна причина деменції та має величезний вплив на людей, їхні родини та суспільство. Незважаючи на відсутність ліків, доступні варіанти лікування, які дозволяють контролювати симптоми та уповільнювати прогресування захворювання.

1.2.1. Причини виникнення хвороби Альцгеймера

Точна причина ХА ще невідома, однак вважається, що вона пов'язана з кількома взаємодіючими патологічними процесами, які відбуваються в мозку

(Eschweiler, 2017)(Kumar et al., 2015). Вважається, що ці процеси включають накопичення бета-амілоїдних бляшок і нейрофібрилярних клубків, запалення, окислювальне пошкодження та смерть нейронів (Abeysinghe et al., 2020; Logsdon et al., 2010; Vu et al., 2022; Yarns et al., 2022). Накопичення бета-амілоїдних бляшок є однією з головних ознак ХА і вважається ранньою подією в процесі захворювання (Selkoe, 2002). Амілоїд-бета — це невеликий білковий фрагмент, який утворюється шляхом розщеплення білка-попередника амілоїду (APP) (Eschweiler, 2017). Зазвичай APP розщеплюється на нормальну форму бета-амілоїду, яка швидко виводиться з організму.

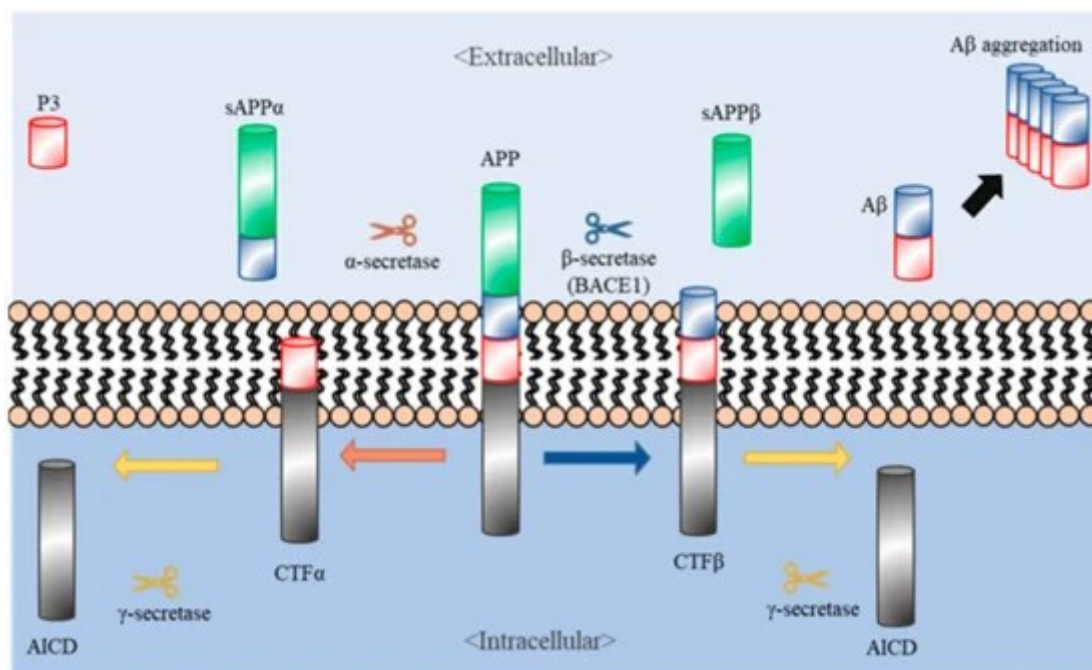


Рис. 1.2. Попередники амілоїдного білка (APP) та хвороба Альцгеймера (ХА). Ліва та права частини рисунку зображують неамілоїдогенний та амілоїдогенний процеси обробки APP (в центрі) відповідно. APP розщеплюється секретазами α - та γ , утворюючи продукти sAPP α , P3 та AICD (ліва сторона). Крім того, APP може бути розщеплений секретазами β - (BACE1) та γ , що призводить до утворення продуктів sAPP β , AICD та A β (права сторона). Симптоми ХА виникають через надмірну агрегацію A β s (праворуч). Із (Lee et al., 2021).

Однак у людей з ХА АРР виробляється надмірно та розщеплюється на аномально високу кількість бета-амілоїду, що призводить до накопичення бляшок у мозку (Logsdon et al., 2020). Нейрофібрилярні клубки є ще однією ознакою ХА і складаються з гіперфосфорильованого білка тау (Selkoe, 2002). Тау зазвичай зв'язується з мікротрубочками і допомагає їх стабілізувати; однак при ХА тау стає аномально фосфорильованим, що призводить до його від'єднання від мікротрубочок і подальшої агрегації гіперфосфорильованих білків тау, утворюючи нейрофібрилярні клубки (Eschweiler, 2017), Рис. 1.3. На додаток до бета-амілоїдних бляшок і нейрофібрилярних клубків, вважається, що запалення відіграє важливу роль у розвитку ХА (Logsdon et al., 2020). Вважається, що це запалення спричинене наявністю бета-амілоїдних бляшок і, як вважають, сприяє подальшому пошкодженню нейронів і, як наслідок, погіршенню когнітивних функцій (Grundman, 2004).

Окислювальне пошкодження також було залучено до розвитку ХА (Logsdon et al., 2020). При ХА спостерігається підвищення рівня активних форм кисню та інших прооксидантних молекул, що може призвести до пошкодження та руйнування нейронної тканини (Lobo & Barone, 2019). Ці патологічні процеси зрештою призводять до загибелі нейронів, що додатково сприяє прогресуючому зниженню ХА (Eschweiler, 2017). Загибель нейронів спричинена накопиченням бета-амілоїдних бляшок і нейрофібрилярних клубків, запаленням і окисним стресом (Logsdon et al., 2020).

Підсумовуючи, ХА є складним неврологічним розладом із кількома взаємодіючими механізмами. Вважається, що бета-амілоїдні бляшки та нейрофібрилярні клубки є ранніми явищами захворювання, тоді як запалення та окисне пошкодження, ймовірно, сприяють подальшому пошкодженню нейронів і зниженню когнітивних функцій. На жаль, наразі не існує ліків від ХА, але лікування може допомогти уповільнити прогресування захворювання (Ansari et al., 2023; Maciejewska et al., 2021; Selkoe, 2001; Sharma et al., 2024; Sun and Alkon, 2024).

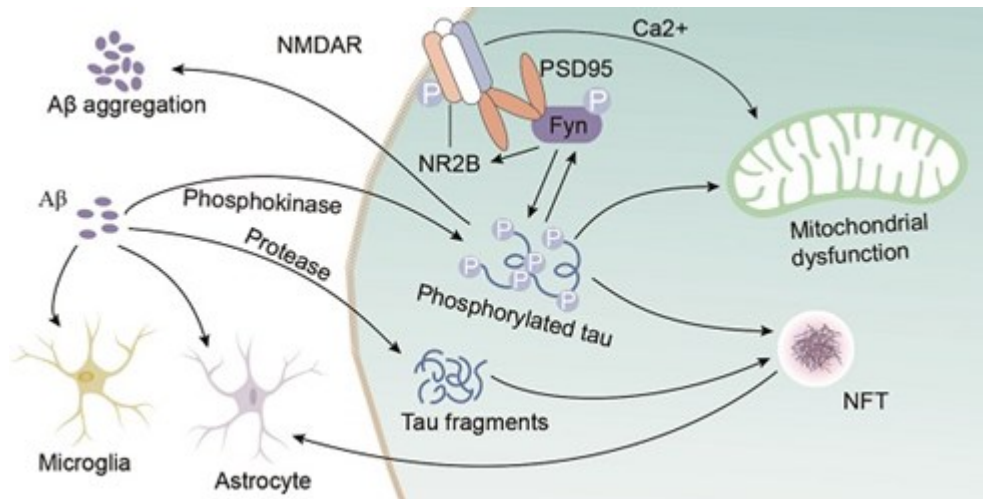


Рис. 1.3. Екстрацелюлярні нейритні бляшки, що складаються з білка амілоїд-бета ($A\beta$), та внутрішньоклітинні нейрофібрилярні вузли, що містять фосфорильований білок тау, є двома ключовими білками хвороби Альцгеймера (ХА), і окрема нейротоксичність цих білків у ХА була широко досліджена. Однак інтервенції, спрямовані на $A\beta$ або тау окремо, не принесли суттєвих проривів. Інтерес до взаємодії між $A\beta$ та тау при ХА зростає, але пов'язані з цим дослідження лікарських препаратів лише на початковому етапі. У цьому огляді обговорюється, як $A\beta$ прискорює фосфорилування тау та можливі механізми та шляхи, за допомогою яких тау виступає посередником у токсичності $A\beta$. Також описується можливий синергетичний вплив між $A\beta$ та тау на мікрогліальні клітини та астроцити, Рис. 1.4. Дослідження свідчать, що співіснування бляшок $A\beta$ та фосфорильованого тау пов'язане з механізмом, за допомогою якого $A\beta$ сприяє розповсюдженню агрегації тау в нейритних бляшках. Взаємодія між $A\beta$ та тау сприяє когнітивним дисфункціям у пацієнтів з ХА. Підсумовуючи, цей огляд підсумовує останні дані про взаємодію між $A\beta$ та тау для кращого розуміння ролей цих білків у патологічному процесі ХА та надає нові перспективи інтервенцій проти ХА. Із (Zhang et al., 2021).

1.2.2. Механізми розвитку хвороби Альцгеймера

Хвороба Альцгеймера (ХА) характеризується накопиченням бета-амілоїдних (А β) бляшок і нейрофібрилярних клубків (NFT) у мозку, що призводить до зниження когнітивних функцій і втрати пам'яті. Патогенез ХА є багатофакторним і включає складну взаємодію між генетичними факторами, факторами навколишнього середовища та способом життя.

Однією з характерних ознак ХА є накопичення бляшок А β у мозку. А β походить від білка-попередника амілоїду (APP), який обробляється двома ферментами, β -секретазою та γ -секретазою. Розщеплення APP β -секретазою продукує розчинний фрагмент, sAPP β , і пов'язаний з мембраною фрагмент, C99. Потім C99 розщеплюється γ -секретазою з утворенням А β . Вважається, що агрегація А β у нерозчинні бляшки викликає каскад подій, які призводять до нейрональної дисфункції та смерті.

Іншою характерною особливістю ХА є утворення NFT, які складаються з гіперфосфорильованого білка тау. Тау - це асоційований з мікротрубочками білок, який стабілізує мікротрубочки в нейронах. При ХА тау стає аномально гіперфосфорильованим і агрегує в NFT, які порушують мережу мікротрубочок і порушують функцію нейронів.

На додаток до А β -бляшок і NFT, ХА також пов'язаний із хронічним запаленням у мозку. Мікроглія, резидентні імунні клітини в мозку, активуються у відповідь на А β і вивільняють запальні цитокіни та хемокіни. Хронічне запалення в мозку може посилити пошкодження нейронів і сприяти зниженню когнітивних функцій.

Є також докази того, що окислювальний стрес відіграє певну роль у розвитку ХА. Окислювальний стрес виникає, коли існує дисбаланс між виробництвом активних форм кисню (АФК) і здатністю клітин детоксикувати їх. АФК можуть пошкоджувати клітинні компоненти, включаючи ліпіди, білки та ДНК, і сприяти нейрональній дисфункції та смерті. Дослідження показали, що окисне пошкодження посилюється в мозку пацієнтів з ХА (4).

Генетичні фактори також відіграють певну роль у розвитку ХА. Мутації в генах, що кодують APP і пресенілін-1 і -2 (компоненти γ -секретази), пов'язані з раннім початком сімейного ХА. Крім того, поліморфізм гена аполіпопротеїну Е (APOE) пов'язаний із підвищеним ризиком спорадичного ХА з пізнім початком. APOE бере участь у транспорті та метаболізмі ліпідів і холестерину, і його зв'язок з ХА може бути пов'язаний з його роллю в метаболізмі та кліренсі А β (Al-Hilaly et al., 2013).

Підсумовуючи, хвороба Альцгеймера є складним і багатофакторним розладом, який включає накопичення А β -бляшок і NFT, хронічне запалення, окислювальний стрес і генетичні фактори. Розуміння механізмів, що лежать в основі розвитку ХА, має вирішальне значення для розробки ефективних методів лікування та запобігання цьому руйнівному захворюванню.

1.2.3. Молекулярні механізми

Хвороба Альцгеймера (ХА) характеризується накопиченням бета-амілоїдних (А β) бляшок, нейрофібрилярних клубків (НФТ) і втратою нейронів у мозку. Молекулярні механізми, що лежать в основі розвитку ХА, різноманітні та включають зміни на клітинному та молекулярному рівнях. Іч А β утворюється з білка-попередника амілоїду (APP) шляхом послідовного протеолітичного розщеплення β -секретазою та γ -секретазою. Мутації в генах APP і пресеніліну (PS), які кодують γ -секретазу, пов'язані з сімейними формами ХА. Отримані пептиди А β мають тенденцію до агрегації в розчинні олігомери та нерозчинні фібрили, які відкладаються у вигляді бляшок А β у мозку. Бляшки А β можуть активувати мікроглію, резидентні імунні клітини в мозку, які вивільняють прозапальні цитокіни та хемокіни, сприяючи хронічному запаленню, що спостерігається при ХА (Wyss-Coray, 2006).

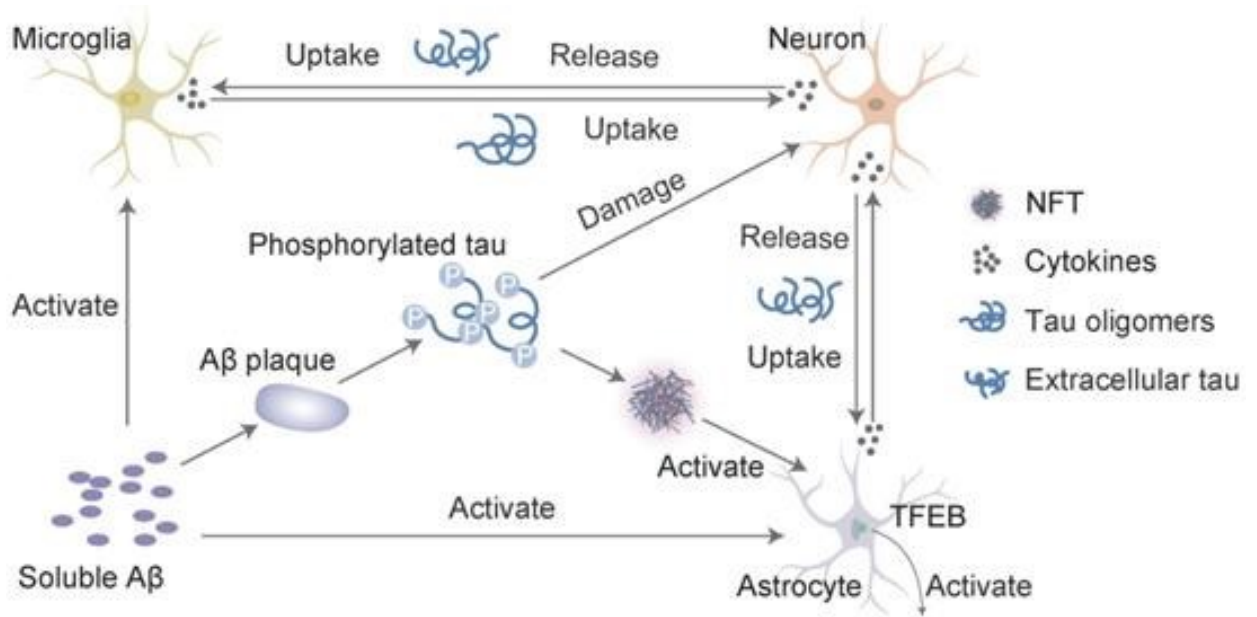


Рис. 1.4. Взаємодія Aβ і тау з астроцитами при хворобі Альцгеймера.

Із (Zhang et al., 2021).

NFT є ще однією ознакою ХА і утворюються шляхом агрегації гіперфосфорильованого білка тау. Тау – це білок, асоційований з мікротрубочками, який сприяє збиранню та стабілізації мікротрубочок у нейронах. При ХА тау стає гіперфосфорильованим, що призводить до його від'єднання від мікротрубочок і утворення нерозчинних NFT. Це викликає дестабілізацію цитоскелету та пошкодження нейронів, що призводить до зниження когнітивних функцій (Mandelkow and Mandelkow, 2012).

Втрата нейронів при ХА також пов'язана з аномальною активацією циклінзалежної кінази 5 (CDK5). CDK5 – серин/треонін-кіназа, яка регулює міграцію нейронів, формування синапсів і пластичність під час розвитку. При ХА CDK5 аномально активується і фосфорилує тау, що призводить до утворення NFT. CDK5 також фосфорилує інші субстрати, такі як білки нейрофіламентів і рецептор NMDA, що призводить до пошкодження нейронів і смерті (Latina et al., 2023).

Мітохондріальна дисфункція також бере участь у розвитку ХА. Мітохондрії - це органели, які відіграють ключову роль в енергетичному обміні та гомеостазі кальцію в нейронах. При ХА функція мітохондрій порушується,

що призводить до окислювального стресу, енергетичної недостатності та активації апоптотичних шляхів. Накопичення $A\beta$ у мітохондріях також призводить до мітохондріальної дисфункції та пошкодження нейронів (Klemmensen et al., 2024).

Запалення є загальною ознакою ХА, і кілька запальних молекул були причетні до патогенезу захворювання. Прозапальні цитокіни інтерлейкін-1 β (IL-1 β) і фактор некрозу пухлини- α (TNF- α) підвищуються в мозку пацієнтів з ХА. Ці цитокіни можуть сприяти накопиченню $A\beta$ та активації мікроглії та астроцитів, що призводить до пошкодження нейронів (Wyss-Coray, 2006).

Підсумовуючи, розвиток ХА включає численні молекулярні механізми, включаючи накопичення бляшок $A\beta$, утворення NFT, аберрантну активацію CDK5, мітохондріальну дисфункцію та хронічне запалення. Розуміння цих молекулярних механізмів має вирішальне значення для розробки ефективної терапії для запобігання та лікування ХА (Patrick et al., 1999).

1.2.4. Медикаментозне лікування хвороби Альцгеймера

Основою лікування хвороби Альцгеймера є препарати, призначені для уповільнення прогресування захворювання та полегшення симптомів. Інгібітори ацетилхолінестерази (AChEI) є найбільш часто призначеними ліками для лікування хвороби Альцгеймера. Ці ліки блокують фермент, відповідальний за розщеплення ацетилхоліну, нейромедіатора, який допомагає підтримувати пам'ять і когнітивні функції. Приклади AChEI включають донепезил, галантамін і ривастигмін. Крім того, мемантин – це препарат, який використовується для лікування середнього та важкого ступеня хвороби Альцгеймера. Він блокує глутамат, інший нейромедіатор, щоб зменшити наслідки надмірної стимуляції.

У деяких випадках немедикаментозне лікування також може бути корисним. Когнітивно-поведінкова терапія (КПТ) — це підхід до консультування, що ґрунтується на фактичних даних, який можна використовувати, щоб допомогти людям краще розуміти симптоми хвороби

Альцгеймера та керувати ними. Крім того, також можуть бути корисними зміни способу життя, такі як фізичні вправи, зменшення стресу та правильне харчування.

Важливо пам'ятати, що жодне лікування не може вилікувати хворобу Альцгеймера, але мета лікування – уповільнити прогресування захворювання, покращити симптоми та покращити якість життя людей із хворобою Альцгеймера. Хоча не існує єдиного лікування, ідеального для всіх, важливо співпрацювати з лікарем, щоб знайти найкращий варіант лікування для конкретної людини.

Фармакологічні методи лікування ХА зосереджені на лікуванні його основних симптомів, включаючи втрату пам'яті, проблеми з мовою та поведінкою, дезорієнтацію та зміни настрою. У Сполучених Штатах Управління з харчових продуктів і медикаментів (FDA) схвалило п'ять препаратів для лікування ХА: донепезил (Aricept), галантамін (Razadyne), мемантин (Namenda), ривастигмін (Exelon) і такрин (Cognex). Ці препарати є інгібіторами холінестерази, які запобігають розпаду ацетилхоліну, нейромедіатора, важливого для навчання та пам'яті.

Донепезил наразі є найпоширенішим препаратом для лікування ХА у Сполучених Штатах (Doody et al., 2012). Загалом він ефективний у зменшенні поведінкових симптомів, покращенні повсякденної діяльності та забезпеченні когнітивних переваг, таких як покращення пам'яті, уваги та організації (Atri et al., 2015). Його основні побічні ефекти включають нудоту, блювоту та діарею, хоча вони зазвичай покращуються через кілька тижнів.

Мемантин зазвичай використовується в поєднанні з інгібітором холінестерази, таким як донепезил, для контролю більш серйозних форм поведінки, таких як агресія та збудження (Cummins et al., 2006). Його не слід застосовувати окремо, оскільки він не впливає на когнітивні функції чи загальне функціонування так само, як інгібітор холінестерази. Поширеними побічними ефектами мемантину є запаморочення, головний біль, сплутаність свідомості та втома.

На додаток до цих ліків можуть застосовуватися немедикаментозні втручання, щоб допомогти мінімізувати симптоми ХА і підтримувати якість життя людини. Такі стратегії, як когнітивне навчання, освіта та модифікація способу життя, можуть бути корисними для лікування ХА (Posis et al., 2024).

Незважаючи на те, що фармакологічні та немедикаментозні методи лікування не можуть зупинити прогресування хвороби Альцгеймера, вони можуть допомогти продовжити період самостійного функціонування та можуть бути корисними для покращення настрою та якості життя. Тому дуже важливо, щоб люди з ХА та їхні сім'ї отримували постійну підтримку та освіту щодо сучасних варіантів лікування, щоб клінічні рішення могли прийматися на основі науково обґрунтованої практики та індивідуальних потреб.

1.2.5. Використання біологічно активних сполук при лікуванні хвороби Альцгеймера

Біологічно активні сполуки досліджувалися як потенційний засіб лікування хвороби Альцгеймера. Ці сполуки є речовинами, які можуть взаємодіяти з певними мішенями в організмі, щоб викликати бажаний ефект.

Одним із класів сполук, які досліджуються для лікування ХА, є інгібітори ацетилхолінестерази. Ці сполуки пригнічують фермент ацетилхолінестеразу, який руйнує нейромедіатор ацетилхолін. Запобігаючи деградації ацетилхоліну, ці сполуки можуть підвищити його рівень у мозку, що може покращити когнітивні функції.

Ще один клас сполук, що вивчаються, — нейропротекторні засоби. Вважається, що ці агенти захищають нейрони від пошкодження та смерті, що є загальною ознакою ХА. Приклади нейропротекторних засобів включають антиоксиданти та протизапальні засоби.

Також є ряд біологічно-активних сполук, які включають полісахариди, білки, ліпіди, терпеноїди, феноли та різні інші біологічно активні речовини (Li et al., 2023). Фіторечовини із рослин та натуральних джерел (Iqbal et al., 2021; Islam et al., 2022).

Інші типи біологічно активних сполук, які досліджуються для лікування хвороби Альцгеймера, включають антагоністи рецепторів NMDA, інгібітори бета-амілоїду та інгібітори моноаміноксидази. Вважається, що антагоністи рецепторів NMDA блокують дію нейромедіатора глутамату, а інгібітори бета-амілоїду зменшують накопичення бета-амілоїдних бляшок у мозку.

Біологічно активні сполуки також вивчаються для лікування симптомів хвороби Альцгеймера. Наприклад, було показано, що сполуки, відомі як інгібітори холінестерази, покращують пам'ять і когнітивні функції у пацієнтів з легким або помірним ХА (Wang et al., 2022). Крім того, такі сполуки, як мемантин, вивчаються для лікування ажитації та агресії у пацієнтів з ХА (Tyshchenko and Lukyanetz, 2017b). Вважається, що мемантин діє на глутаматергічну систему, яка, як відомо, бере участь у регуляції емоційної поведінки. Нарешті, такі сполуки, як гінкго білоба, були вивчені на їх потенціал для зменшення симптомів ХА, таких як дефіцит пам'яті та сплутаність свідомості. Вважається, що гінкго білоба покращує приплив крові до мозку, що може допомогти покращити когнітивні функції у пацієнтів з ХА.

Таким чином, біологічно активні сполуки досліджуються як потенційний засіб лікування хвороби Альцгеймера. Ці сполуки включають інгібітори ацетилхолінестерази, нейропротекторні засоби, антагоністи рецепторів NMDA, інгібітори бета-амілоїду, інгібітори моноаміноксидази та інгібітори холінестерази, серед інших. Ці сполуки вивчаються на предмет їх потенціалу для зменшення симптомів ХА, таких як дефіцит пам'яті та сплутаність свідомості. Крім того, такі сполуки, як мемантин, гінкго білоба і куркума вивчаються на предмет їх потенціалу для покращення емоційної поведінки та когнітивного функціонування у пацієнтів з ХА (Canevelli et al., 2014; Kumar et al., 2023).

1.2.5.1. Мемантін

Жоден з наявних на сьогоднішній день фармакологічних препаратів не може уповільнити або зупинити пошкодження та руйнування нейронів, що призводить до смерті при нейродегенеративних захворюваннях, таких як хвороба Альцгеймера (Lukyanetz 2021). Відомо, що хвороба Альцгеймера характеризується втратою пам'яті та змінами у структурі мозку, у якому відбувається накопичення бета-амілоїду у вигляді бляшок (Kravenska et al., 2016; Kravenska et al., 2020; Rozumna et al., 2020; Tyshchenko Yu and Lukyanetz, 2020).

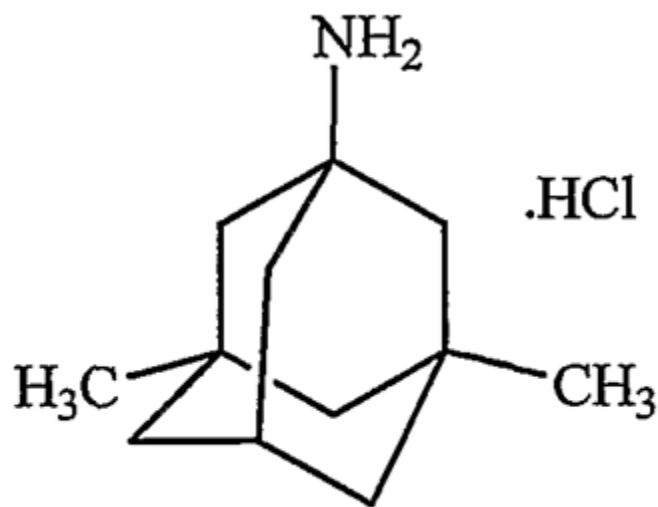


Рис. 1.5. Хімічна формула мемантину. Мемантин є антагоністом рецепторів NMDA (N-метил-D-аспартат), який діє, блокуючи рецептори NMDA в мозку. Він блокує надмірну активність глутамату, але все ще дозволяє нормальну активацію цих рецепторів.

Розлади глутамінергічних нейромедіаторів відіграють істотну роль у симптомах та прогресуванні нейродегенеративної деменції, особливо з участю NMDA (N-метил-D-аспартатних) рецепторів. Мемантин є потенціал-залежним, середньої сили неконкурентним антагоністом NMDA рецепторів (Robinson and Keating 2006), Рис. 1.5. Мемантин блокує ефекти патологічно підвищених рівнів глутамату, які можуть призвести до нейронної дисфункції. Мемантин є відомим нейропротективним препаратом, який показав антиамнестичні ефекти

у фармакологічних моделях хвороби Альцгеймера у мишей (Couly et al., 2021), Рис. 1.6. Також було показано, що мемантин покращує когнітивну функцію та змінює протеом гіпокампу та кортикальної області в триплічній трансгенній моделі миші з хворобою Альцгеймера (Zhou et al., 2019).

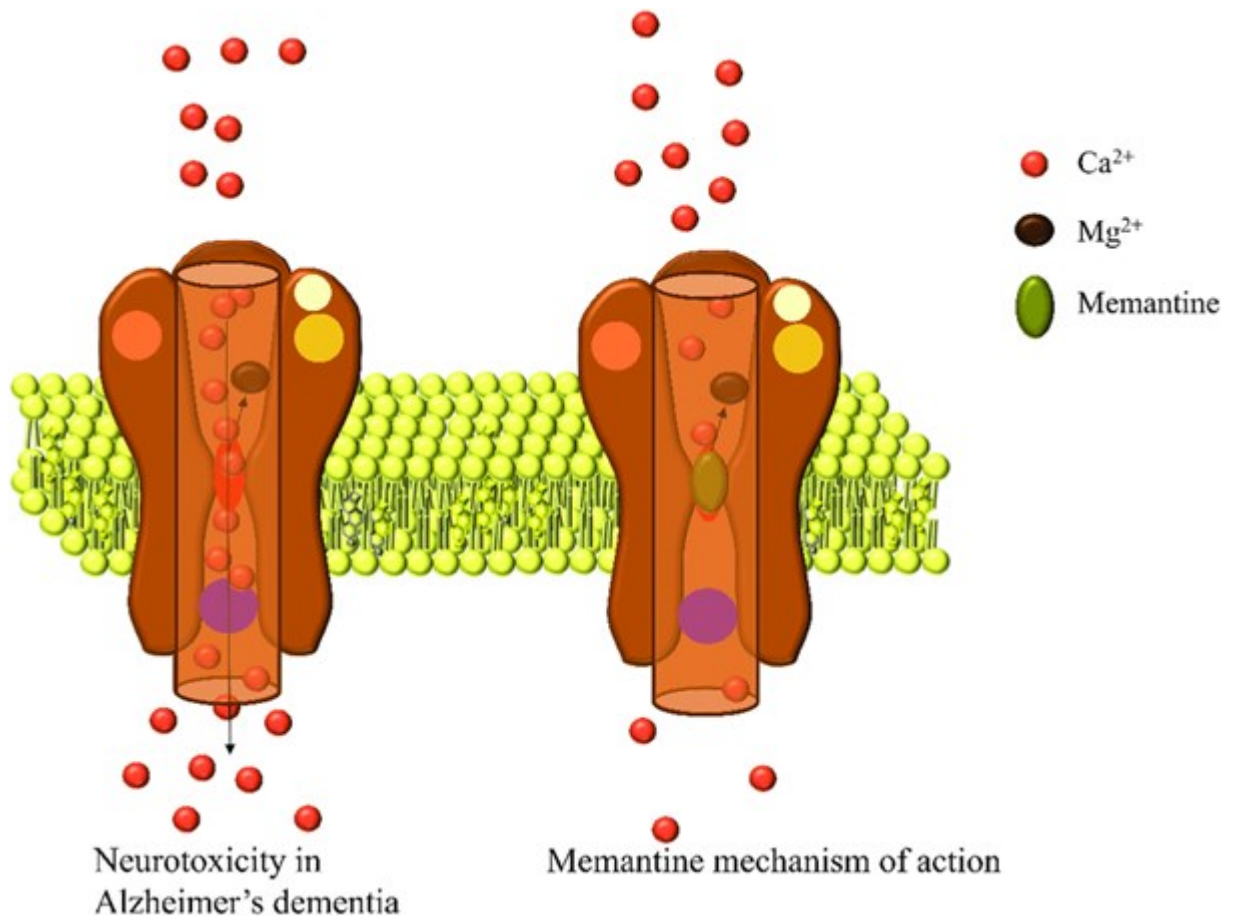


Рис. 1.6. Гіперстимуляція рецепторів NMDA при хворобі Альцгеймера та механізм дії мемантину. Із (Strac et al., 2021).

Мемантин поліпшує феномени порушення навчання та пам'яті, а також поведінкові та психологічні симптоми деменції у мишей з дефіцитом тіаміну (Makino et al., 2019). Терапевтична доза мемантину покращує результати щурів у завданні активного уникнення місця (Wesierska et al., 2019). Ми раніше вивчали вплив цього препарату на процеси пам'яті (Gorbachenko and Lukyanetz, 2020; Kruchenko et al., 2014; Shkryl et al., 2021; Tyshchenko and Lukyanetz, 2017a). Ми також вивчали впливи на поведінкові реакції інших лікарських препаратів, таких як Авандамет (Gorbachenko et al., 2020).

1.2.5.2. Розіглітазон

Відомо, що хвороба Альцгеймера (ХА) є невиліковним захворюванням, при якому відбувається загибель мозкових клітин та порушення нейронних зв'язків. Останнє призводить до деградації функцій мозку, і особливо це стосується втрати пам'яті. У цьому випадку медикаментозна терапія пом'якшує прояви симптомів та зменшує темп негативних змін. Однак, наразі неможливо вилікувати пацієнтів з ХА.

Нещодавно було описано позитивний вплив лікарських засобів, які використовуються для лікування цукрового діабету 2-го типу (ЦД2Т), на пацієнтів з хворобою Альцгеймера (ХА) (Akter et al., 2011; McIntyre et al., 2006). Також було повідомлено, що пацієнти з ЦД2Т мають підвищений ризик ХА (Janson et al., 2004). Була також вивчена порівняльна ефективність та прийнятність антидіабетичних засобів для ХА та легкого когнітивного розладу (Сао et al., 2018). Ці висновки вказували на про-когнітивний ефект антидіабетичних засобів у ХА. У кількох лабораторіях вивчалися ефекти протиглікемічних лікарських засобів на моделях хвороби у гризунів. Так, був вивчений нейропротекторний потенціал антигіперглікемічного препарату метформіну в моделі щурів зі спорадичною ХА, індукованою стрептозоцином (Piliipenko et al., 2020). Результати цих авторів показали, що метформін у моделі-щурах ХА відновлював порушення просторового навчання/пам'яті та соціальності. У інших експериментах було показано, що інсулін-розщеплювальний фермент сприяє патології в змішаній моделі ЦД2Т та ХА (Li et al., 2018). Останнім часом з'явилося багато даних, які стосуються проблеми взаємозв'язку між ХА та ЦД2Т (Akter et al., 2011; Caberlotto et al., 2019; Chatterjee and Mudher, 2018; de Nazareth, 2017; Kamal et al., 2014; Mittal and Katara, 2016; Tumminia et al., 2018).

Серед таких протидіабетичних препаратів, які були протестовані в експериментах з ХА, виявився розіглітазон, Рис. 1.7. Так, нещодавно був досліджений нейропротекторний потенціал системи наноносіїв з розіглітазоном на моделі мишей з ХА, індукованої стрептозоцином (Sarathlal et al., 2021). На

основі своїх результатів автори зробили висновок, що наноформування розіглітазону забезпечує сильний нейропротекторний ефект шляхом підвищення мРНК експресії факторів росту та інгібування оксидативного стресу, нейрозапалення та, в кінцевому підсумку, запобігає нейронній травмі в ХА. Також було показано, що розіглітазон поліпшує залежне від гіпокампу пізнання в моделі миші з ХА (Denner et al., 2012). Крім того, розіглітазон запобігає дефіцитам пам'яті, індукованим олігомерами амілоїд-бета (Xu et al., 2014).

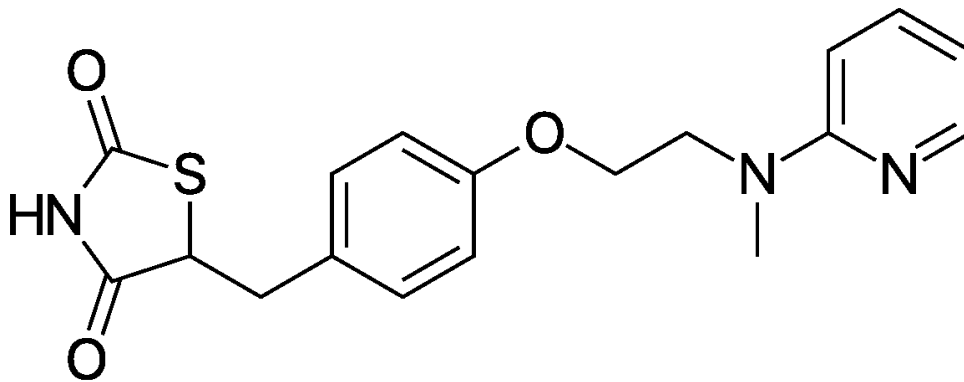


Рис. 1.7. Росіглітазон — лікарський засіб, гіпоглікемічний препарат з групи тiazолідіндіонів, підвищує чутливість тканин до інсуліну, застосовується при цукровому діабеті другого типу.

В останній час, також з'являються дані, що ППАР може бути залучений не тільки в процеси пов'язані з інсулінорезистентністю, а також приймає участь безпосередньо в нервовій системі, шляхом залучення у метаболічні шляхи глутамату, Рис. 1.8. Пероксисомний проліфератор активований рецептор альфа (ППАР- α) належить до сім'ї ліганд-регульованих ядерних рецепторів (ППАР). Ці рецептори після гетеродимеризації з рецептором ретиноїду X (RXR) зв'язуються в промоторі цільових генів з елементами відповіді ППАР (PPRE) та діють як потужні фактори транскрипції. ППАР- α та інші рецептори цієї сім'ї, такі як ППАР- β/δ та ППАР- γ , експресуються в мозку та інших органах і

відіграють значну роль у оксидативному стресі, гомеостазі енергії, метаболізмі мітохондріальних жирних кислот та запаленні.

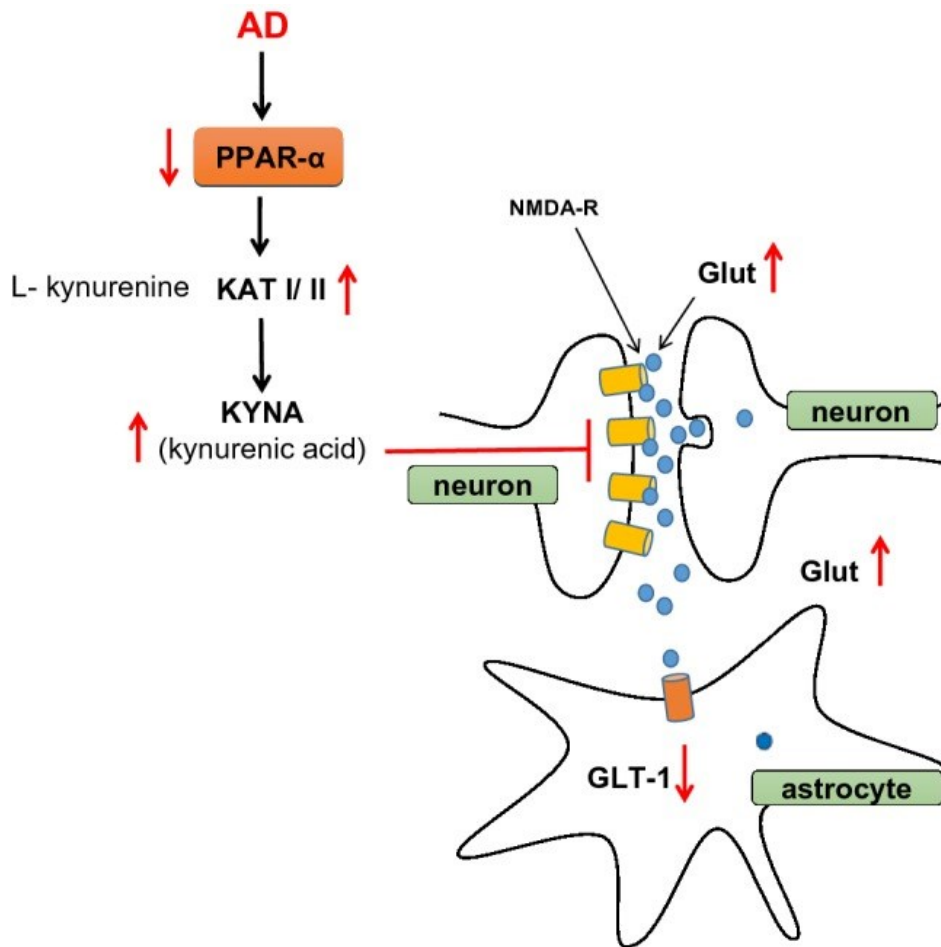


Рис. 1.8. ППАР- α та його участь у глутаматергічній нейротрансмісії та в гомеостазі глутамату. Із (Wójtowicz et al., 2020).

ППАР- α бере участь у регуляції генів, що кодують білки, залучені до гомеостазу глутамату та холінергічної/допамінергічної сигналізації в мозку. Більше того, ППАР- α регулює експресію генів, що кодують ферменти, залучені до метаболізму амілоїдного передбічника білка (APP). Він активує ген кодування α -секретази, яка відповідає за неамілоїдний шлях деградації APP. Він також знижує регуляцію β -секретази (BACE-1), основного ферменту, відповідального за вивільнення пептиду бета-амілоїду ($A\beta$) при хворобі Альцгеймера. У мозку при ХА значно знижена експресія генів ППАР- α та ППАР- γ коактиватора-1 альфа (PGC-1 α). ППАР змінені не тільки при ХА, але й у інших нейродегенеративних/нейроорозвиткових та психіатричних розладах.

Зниження регуляції ППАР- α може зменшити антиоксидантні та протизапальні процеси та може бути відповідальним за зміну транспорту жирних кислот, метаболізму ліпідів та порушення функції мітохондрій у мозку пацієнтів з ХА. Специфічні активатори ППАР- α можуть бути важливими для покращення метаболізму клітин мозку та когнітивної функції при нейродегенеративних та нейророзвиткових розладах.

1.3. Експериментальні дослідження хвороб мозку

Експериментальні дослідження захворювань мозку є областю інтенсивних досліджень протягом десятиліть. Неврологи, медичні дослідники та інші вчені постійно прагнуть краще зрозуміти різноманітні неврологічні розлади та наслідки нових методів лікування та терапії. В останні роки було проведено низку творчих експериментальних досліджень, щоб отримати уявлення про роботу мозку та його вплив на різні захворювання. Так для досліджень різних форм β -амілоїду використовуються такі методи як твердотільний ядерний магнітний резонанс (ssNMR), трансмісійна електронна мікроскопія в темному полі (ТЕМ), атомно-силова мікроскопія (AFM), криогенна електронна мікроскопія (cryoEM) та інші (Thurber et al., 2024).

Одне з таких досліджень було проведено дослідниками з Каліфорнійського університету в Лос-Анджелесі (UCLA) і Гарвардської медичної школи. Дослідження включало вивчення того, як мозок обробляє інформацію у пацієнтів з хворобою Паркінсона (Arribarat et al., 2020). Дослідники використовували комбінацію методів візуалізації, включаючи МРТ і ПЕТ-сканування, щоб дослідити вплив ліків на діяльність мозку. Результати дослідження показали, що ліки покращили здатність мозку обробляти інформацію, тим самим зменшивши симптоми, пов'язані з хворобою Паркінсона (Arribarat et al., 2020; Golan et al., 2022).

Інше експериментальне дослідження розглядало використання стовбурових клітин для лікування однієї з форм раку мозку. Дослідники з Каліфорнійського університету в Сан-Франциско (UCSF) використовували

стовбурові клітини мишей, щоб створити систему, яка дозволяла їм вводити їх безпосередньо в пухлину. Потім вони спостерігали за впливом стовбурових клітин на пухлину протягом кількох тижнів. Результати дослідження показали, що стовбурові клітини змогли зменшити розміри пухлини, а також зменшити кількість ракових клітин (Portnow et al., 2017).

Інші експериментальні дослідження захворювань мозку були зосереджені на хворобі Альцгеймера. Команда дослідників з Університету Пенсільванії вивчила вплив певного класу ліків, які називаються інгібіторами холінергази, на пам'ять і когнітивні функції у пацієнтів з хворобою Альцгеймера. Серед препаратів були розглянуті у тому числі такрин, донепезил, ривастигмін, галантамін та інші. Ці інгібітори призначені для посилення холінергічної передачі шляхом інгібування ферменту ацетилхолінергази, який гідролізує ацетилхолін. В огляді обговорюється, як інгібітори холінергази потенційно покращують пам'ять і когнітивні функції у пацієнтів із хворобою Альцгеймера (Anand and Singh, 2013).

Окрім експериментальних досліджень захворювань головного мозку, було також проведено низку клінічних випробувань для вивчення ефективності різних методів лікування. В одному з таких досліджень розглядався вплив препарату під назвою мемантин на пацієнтів із хворобою Альцгеймера. Випробування показало, що ліки здатні покращити когнітивні функції пацієнтів і зменшити прогресування захворювання (Farlow et al., 2008).

Загалом, експериментальні дослідження захворювань мозку дали багато інформації про різні розлади та лікування. Ці дослідження допомогли медичним дослідникам краще зрозуміти процес захворювання та наслідки різних методів лікування. У міру того, як дослідження тривають, напевно будуть знайдені більш ефективні методи лікування та терапії.

1.3.1. Тваринні моделі

Моделі на тваринах широко використовуються в експериментальних дослідженнях захворювань мозку через схожість між тваринами та людьми з

точки зору базової фізіології та анатомії. Наприклад, неврологічні структури та шляхи розвитку мозку гризунів дуже схожі на структури мозку людини. Використовуючи моделі тварин, дослідники можуть досліджувати розвиток і прогресування неврологічних захворювань, таких як хвороба Альцгеймера та Паркінсона, а також вплив потенційних методів лікування (Dawson et al., 2018).

Моделі на тваринах особливо цінні для вивчення захворювань центральної нервової системи (ЦНС) через труднощі вивчення цих захворювань у людей. Моделі хвороб мозку на тваринах використовувалися для розробки цілеспрямованих методів лікування та розуміння біологічних процесів, що лежать в основі розвитку різних неврологічних захворювань. Наприклад, мишей використовували для вивчення прогресування хвороби Альцгеймера, що може допомогти дослідникам визначити потенційні методи лікування та втручання. Крім того, щурів використовували для вивчення хвороби Паркінсона, що може допомогти дослідникам розробити цільову терапію. Одним із підходів до боротьби з цим є створення генетично модифікованих тваринних моделей нейродегенеративних розладів для вивчення патогенезу, прогнозу, діагностики, лікування та профілактики. Завдяки генетичній, анатомічній, фізіологічній, патологічній та неврологічній подібності між свинями та людьми, генетично модифіковані моделі нейродегенеративних розладів у свиней були привабливими моделями великих тварин для подолання розриву доклінічних досліджень між гризунами та людьми (Holm et al., 2016). Також використовуються клітинні моделі нейродегенеративних захворювань. Так, було досягнуто значного прогресу в розумінні нейропатології, генетичного походження та епідеміології нейродегенеративних захворювань, включаючи хворобу Альцгеймера; тауопатії, такі як лобно-скронева деменція; α -синуклеинопатии, такі як хвороба Паркінсона або деменція з тільцями Леві; хвороба Гентінгтона; і бічний аміотрофічний склероз з деменцією, а також пріонові захворювання. Останні дані вказують на те, що дендритна дисфункція спінів є важливим субстратом патогенезу деменції при цих розладах. Дендритні шипики — це спеціалізовані

структури, що відходять від нейронних відростків, на яких утворюються збуджуючі синаптичні контакти, і втрата дендритних шипів корелює з втратою синаптичної функції (Herms and Dorostkar, 2016).

Використовуючи моделі тварин, дослідники також можуть вивчати вплив різних екологічних і генетичних факторів на розвиток неврологічних захворювань. Наприклад, дослідження на мишах і щурах показали, що певні токсини навколишнього середовища, такі як свинець і ртуть, можуть збільшити ризик розвитку неврологічних розладів. Крім того, дослідники можуть вивчати вплив генетики на розвиток неврологічних захворювань, таких як хвороба Гентінгтона та Паркінсона, шляхом розведення тварин із певними генетичними мутаціями (Chesselet and Carmichael, 2012).

На додаток до надання інформації про розвиток і прогресування неврологічних захворювань, тваринні моделі також можна використовувати для тестування потенційних методів лікування. Наприклад, препарати, розроблені для лікування хвороб Альцгеймера та Паркінсона, були випробувані на тваринних моделях, щоб визначити їхню ефективність і безпеку перед тестуванням на людях (Shah et al., 2010). Крім того, тваринні моделі використовувалися для вивчення впливу різних екологічних і дієтичних втручань, таких як омега-3 жирні кислоти, на прогресування неврологічних захворювань.

Загалом моделі на тваринах є безцінними для вивчення неврологічних захворювань і розробки методів лікування. Вони дають дослідникам уявлення про біологічні процеси, що лежать в основі розвитку неврологічних захворювань, і можуть бути використані для тестування потенційних методів лікування до того, як вони будуть випробувані на людях.

1.3.2. Експериментальні дослідження захворювань головного мозку на моделях тварин

Моделі на тваринах часто використовуються для вивчення та розуміння захворювань, що вражають мозок. Вони відіграють важливу роль у забезпеченні розуміння механізмів та лікування нейродегенеративних захворювань, таких як хвороба Альцгеймера та Паркінсона. Вивчаючи тварин, дослідники можуть краще зрозуміти, як прогресують ці захворювання, а також перевірити потенційні методи лікування перед використанням їх на людях.

В одному дослідженні використовували модель щурів, щоб дослідити вплив черепно-мозкової травми (ЧМТ) на гіпокамп, область мозку, важливу для пам'яті, емоцій і поведінки. ЧМТ є основною причиною смерті та інвалідності серед молодих людей і людей похилого віку. Дослідження показало, що ЧМТ викликає довготривале погіршення пам'яті, а також клітинні та молекулярні зміни в гіпокампі. Результати підтвердили ідею, що ЧМТ може пошкодити гіпокамп і викликати дефіцит пам'яті (Zheng et al., 2020).

Інше дослідження використовувало мишачу модель для вивчення механізмів хвороби Паркінсона. Хвороба Паркінсона — це виснажливий нейродегенеративний розлад, який впливає на рухливість і спричинений втратою нейронів, що виробляють дофамін. Дослідження показало, що специфічний білок, відомий як альфа-синуклеїн, накопичувався в мозку мишей і був токсичним для дофамінових нейронів. Це свідчить про те, що накопичення альфа-синуклеїну є ключовим фактором у розвитку хвороби Паркінсона (Uemura et al., 2021).

Третє дослідження використовувало модель щурів, щоб дослідити вплив хронічного стресу на гіпокамп. Стрес асоціюється з підвищеним ризиком депресії, тривоги та зниження когнітивних функцій. Дослідження показало, що стрес викликає зміни в структурі та функціях мозку, включаючи зменшення кількості нейронів у гіпокампі. Результати підтвердили ідею про те, що хронічний стрес може призвести до структурних змін у мозку та погіршити когнітивні здібності (Lee et al., 2009).

Нарешті, інше дослідження використовувало модель риби даніо для вивчення впливу нікотину на мозок. Нікотин викликає сильну залежність і може мати як короткостроковий, так і довготривалий вплив на мозок. Дослідження показало, що нікотин викликає зміни в структурі та функції мозку риби, включаючи зміни в щільності нейронів і зміни в структурі синапсів. Результати показали, що нікотин може мати довготривалий вплив на мозок навіть у низьких концентраціях (Stewart et al., 2015).

Підсумовуючи, тваринні моделі відіграють важливу роль у вивченні захворювань мозку та розумінні їх механізмів і потенційних методів лікування. Вивчаючи моделі на тваринах, дослідники можуть отримати інформацію, яка може допомогти в розробці методів лікування нейродегенеративних захворювань.

1.3.3. Експериментальні дослідження пам'яті на моделях тварин

Пам'ять широко вивчали на тваринних моделях, що дало цінну інформацію про основні когнітивні процеси та їхні нейронні кореляти. Для з'ясування механізмів формування та відновлення пам'яті було використано різноманітні експериментальні методи (Crystal, 2016). Павловські експерименти з кондиціонування використовувалися для вивчення ролі асоціативного навчання у формуванні пам'яті, тоді як просторове навчання та асоціативні завдання використовувалися для оцінки ролі залежної від гіпокампу пам'яті (de Sousa Fernandes et al., 2020; Wu et al., 2019). Крім того, використання трансгенних моделей дозволило дослідникам продовжити дослідження різних компонентів пам'яті, таких як робоча пам'ять і довготривала пам'ять.

Використання павлівського кондиціонування на тваринних моделях дозволило дослідникам вивчити асоціативне навчання між умовним стимулом і безумовним стимулом. Наприклад, у дослідженні (Michalscheck et al., 2021), щурів навчили пов'язувати тон із аверсивним шоком. Після кількох випробувань щури продемонстрували посилену реакцію лякання, коли їм було подано сигнал, що свідчить про те, що вони успішно засвоїли асоціацію. Це

обумовлення Павлова виявило важливе розуміння основних когнітивних механізмів асоціативного навчання та формування пам'яті (Gewirtz and Davis, 2000).

Для оцінки ролі гіпокампу у формуванні пам'яті використовувалися просторове навчання та асоціативні завдання, такі як водний лабіринт Морріса. У водному лабіринті Морріса учасники повинні знайти приховану платформу за допомогою візуальних підказок. У дослідженні (Anderson et al., 2013), щурів протестували у водному лабіринті Морріса, щоб з'ясувати, чи покращилася їх продуктивність після повторних тренувань. Результати показали, що щури змогли знайти приховану платформу швидше і точніше за допомогою повторних тренувань, демонструючи роль гіпокампу в просторовому навчанні та формуванні пам'яті.

Використання моделей трансгенних тварин дозволило дослідникам вивчити нейронауку пам'яті. Трансгенних тварин використовували для вивчення ролі специфічних генів у формуванні та відновленні пам'яті. Трансгенез включає додавання тваринам чужорідної генетичної інформації та специфічне пригнічення експресії ендогенних генів. Нещодавно моделі на тваринах дали нове розуміння та значно покращили наше розуміння виникнення та збереження хвороб людини. Крім того, вони є безцінним інструментом для виявлення цілей, перевірки та виробництва терапевтичних білків. Однак, незважаючи на створення кількох трансгенних і нокаутних моделей, отримання відповідних моделей все ще стикається з кількома теоретичними та технічними проблемами. Дійсно, цікаві гени не завжди доступні, а додавання або інактивація генів іноді не дозволяє зробити чіткі висновки через внутрішню складність живих організмів або надмірність деяких метаболічних шляхів. Окрім гомологічної рекомбінації, ендогенну експресію генів можна специфічно інгібувати за допомогою кількох механізмів, таких як РНК-інтерференція. В огляді описано деякі моделі тварин, щоб проілюструвати їхню важливість у біомедичних дослідженнях (Houdebine, 2007).

Загалом моделі на тваринах дали цінну інформацію про когнітивні процеси, що лежать в основі формування та відновлення пам'яті. Використовуючи різноманітні експериментальні методи, такі як павлівське обумовлення, завдання просторового навчання та трансгенні моделі, дослідники змогли відкрити важливе розуміння нейронних механізмів пам'яті.

1.3.4. Основні методи дослідження поведінки тварин для дослідження пам'яті

Дослідження пам'яті на тваринах зазвичай використовують різноманітні поведінкові методи для вивчення впливу пам'яті та того, як вона працює. Одним із основних використовуваних підходів є класичне кондиціонування, яке передбачає навчання тварини певній реакції на певний стимул. Наприклад, тварину можна навчити пов'язувати певний звук із певною винагородою, наприклад їжею. Іншим методом є оперантне кондиціонування, за якого тварина вчиться виконувати певні дії, щоб отримати винагороду, наприклад частування (Vinauger et al., 2013). Нарешті, ще один поширений метод відомий як звикання, який передбачає повторне пред'явлення тварині одних і тих самих подразників, щоб викликати поступове зниження її реакції.

Одним із ключових методів вивчення пам'яті у тварин є використання парадигм кондиціонування. За допомогою цих парадигм тварин навчають реагувати на певний стимул або стимули, такі як звук або світло, а потім пізніше їх перевіряють, щоб визначити, чи вони все ще пам'ятають відповідь, яку вони спочатку навчили. Цей тип дослідження може допомогти пролити світло на природу пам'яті та її функціонування (Bouton, 1993).

Інший метод, який використовується для вивчення пам'яті у тварин, відомий як завдання відкладеного невідповідності зразку (DNMS). Виконуючи це завдання, тваринам пред'являють зразок стимулу, а потім через кілька секунд їм пред'являють другий стимул. Потім тварину перевіряють, чи може вона запам'ятати зразок стимулу та вибрати інший стимул. Цей тип

дослідження може допомогти дослідити природу навчання та пам'яті у тварин (Nakamura et al., 2018).

На додаток до цих методів дослідники також можуть вивчати пам'ять у тварин за допомогою нейробіологічних методів. Такі методи включають запис електричної активності нейронів у мозку, використання оптогенетики для стимуляції нейронів і використання технологій нейровізуалізації, таких як функціональна магнітно-резонансна томографія (фМРТ) (Ehmann and Pauls, 2020; Kim et al., 2023). Ці методи можуть дати розуміння нейробіологічної основи пам'яті та того, як вона працює. Нарешті, ще один тип досліджень, який використовується для вивчення пам'яті у тварин, відомий як когнітивна нейронаука. Цей тип дослідження використовує різноманітні методи для дослідження когнітивних процесів, пов'язаних із пам'яттю, таких як увага, прийняття рішень і вирішення проблем. Вивчаючи мозок таким чином, дослідники можуть краще зрозуміти, як працює пам'ять (Brosch et al., 2013; Nichols and Newsome, 1999; Posner et al., 2022; Uddin, 2021).

Загалом існує безліч різних поведінкових і нейробіологічних методів, які використовуються для вивчення пам'яті у тварин. Використовуючи ці методи, дослідники можуть отримати краще розуміння природи пам'яті та того, як вона працює.

1.3.5. Дослідження тест відкрите поле

Тестування відкрите поле – це експериментальний метод, який використовується для вивчення пам'яті та інших аспектів поведінки тварин. Цей метод тестування передбачає розміщення тестової тварини у відкритому полі, як правило, у квадратній або прямокутній зоні зі стінами, де тварина може вільно досліджувати навколишнє середовище. Під час тестування дослідники спостерігають за поведінкою тварини та вимірюють різні параметри, такі як час, проведений у центрі поля, кількість перетнутих ліній, кількість задніх кутів, опускання голови та поведінку в догляді. Тестування «відкрите поле» використовувалося для вивчення різноманітних форм поведінки тварин,

включаючи пам'ять, навчання, тривогу та соціальну поведінку (Kraeuter et al., 2019; Zhang et al., 2020).

Тестування у відкритому полі було популярним методом вивчення пам'яті у тварин з 1950-х років. У цих дослідженнях його іноді використовують як спосіб оцінки просторової пам'яті, тобто здатності запам'ятовувати розташування об'єктів і подій (Justel et al., 2021). Тестування у відкритому полі використовується для вимірювання пам'яті тварини про попередні події в цій місцевості. Наприклад, якщо харчовий продукт помістити в центр поля, тварина може запам'ятати місцезнаходження харчового продукту та повернутися туди навіть через деякий час. Така поведінка може вказувати на те, що тварина має просторову пам'ять про харчовий продукт. Тестування у відкритому полі також використовується для вивчення консолідації пам'яті, яка є процесом, за допомогою якого інформація зберігається в довготривалій пам'яті (Kohara et al., 2015; Popović et al., 2016). У тестуванні відкрите поле тварини піддаються впливу різних подразників, таких як зміна середовища або надання нових об'єктів, а потім перевіряють, чи запам'ятовують вони подразники. Це може допомогти дослідникам зрозуміти, як формуються, зберігаються та відновлюються спогади.

Тестування відкрите поле також використовувалося для вивчення тривоги у тварин. У цих дослідженнях тварин поміщають у відкрите поле та спостерігають за їх поведінкою. Тварини з вищим рівнем тривожності, як правило, більш активні і їм потрібно більше часу, щоб досліджувати навколишнє середовище. Вони також можуть проводити більше часу в кутах поля, а не в центрі. Також тестування відкрите поле використовується для вивчення певних ділянок мозку. Так наприклад, були проведені дослідження. Що вивчали вплив селективного пошкодження гіпокампу на просторову пам'ять у мавп резусів за допомогою тестування у відкритому полі. Дослідження показало роль гіпокампу у формуванні просторової пам'яті. (Hampton et al., 2004).

Тестування відкрите поле також використовується для вивчення соціальної поведінки тварин. У цих дослідженнях двох тварин поміщають в одне відкрите поле та спостерігають за їх взаємодією. Це може допомогти дослідникам зрозуміти, як тварини взаємодіють з іншими, зокрема, як вони встановлюють домінування, утворюють союзи та проявляють агресивну поведінку (Nakamoto et al., 2020; Ni et al., 2020).

Загалом, тестування у відкритому полі є цінним інструментом для дослідження пам'яті та іншої поведінки тварин. Цей метод надає дослідникам простий і відносно економічно ефективний спосіб спостереження та вимірювання поведінки тварин. Це також корисний інструмент для дослідження впливу різних подразників на пам'ять та іншу поведінку.

1.3.6. Дослідження умовного рефлексу

Умовний рефлекс є важливим об'єктом дослідження для вивчення механізмів пам'яті у щурів. Цей рефлекс є набутих і формується в результаті повторення певної послідовності подразників. Одним із найбільш відомих умовних рефлексів є харчовий рефлекс, який проявляється у відповідь на певний звуковий сигнал, що передуює введенню щурів у стан голоду. Дослідження пам'яті у щурів за допомогою умовних рефлексів може бути проведено за допомогою методу двохфазного навчання. Цей метод полягає у поступовому навчанні щурів реагувати на певний звуковий сигнал, що передуює появі їжі, та вимірюванні тривалості та точності реакції. Причому в першій фазі навчання щурів навчають відрізняти звуковий сигнал від інших звуків, а в другій фазі - реагувати на звуковий сигнал (Fan et al., 2005; Lee et al., 2015; Sharma and Kulkarni, 1992; Zhai et al., 2007).

Для вимірювання параметрів умовного рефлексу використовують різні методи. Наприклад, для вимірювання тривалості реакції можна використовувати реакційний час, який зареєстрований за допомогою реакційного датчика. Точність реакції можна оцінити за допомогою кількості правильних та неправильних реакцій на звуковий сигнал. Часові

характеристики умовного рефлексу включають час затримки між звуковим сигналом та появою їжі, час виконання реакції на звуковий сигнал та тривалість реакції. Крім того, можна вивчати час навчання щурів, який залежить від індивідуальної особливості тварини. Також вимірюється реакція щурів на харчовий рефлекс у різних умовах, таких як зміна температури, наявність або відсутність інших стимулів, вплив ліків або хімічних субстанцій, та ступінь голоду. Це дозволяє дослідникам з'ясувати, які фактори впливають на умовний рефлекс і пам'ять щурів (Gambarian et al., 1981; Mulder and van Maanen, 2013; Ruumala and Sirviö, 1998; Reinagel, 2013; Shevinsky and Reinagel, 2019).

Дослідження умовного рефлексу щурів відіграє важливу роль у вивченні механізмів пам'яті та розумінні різних захворювань, пов'язаних зі зниженням функцій пам'яті, таких як деменція та хвороба Альцгеймера (Breijyeh and Karaman, 2020a; Breijyeh and Karaman, 2020b). Наприклад, дослідження умовного рефлексу може допомогти вивчити ефективність нових лікарських засобів, які призначені для поліпшення функцій пам'яті. Крім того, вивчення умовного рефлексу у щурів допомагає у налагодженні зв'язку між нейробіологією та психологією, що є важливим для розуміння того, як механізми в мозку пов'язані зі складними психологічними феноменами, такими як пам'ять, навчання та поведінка (Kumar et al., 2024; Skaper et al., 2017).

Отже, дослідження умовного рефлексу у щурів є важливою складовою вивчення механізмів пам'яті та розумінні різних психологічних та нейрологічних захворювань. Здобуті знання можуть бути використані для розробки нових лікувальних методів та засобів, що допоможуть підвищити якість життя людей, що страждають від цих захворювань.

References

1.3.6.1. Дослідження умовного харчового рефлексу

Дослідження харчової рефлексної пам'яті – це тип експерименту, який використовується для вимірювання пам'яті у людей. Ці дослідження зазвичай передбачають надання учаснику продукту харчування (наприклад, печива чи

шоколаду), а потім надання того самого або іншого продукту через певний період часу. Мета полягає в тому, щоб виміряти пам'ять учасника та визначити, чи пам'ятає він перший елемент. Ці дослідження можуть бути використані для перевірки ефективності різних стратегій, таких як повторення та час, щодо пригадування пам'яті (Rehman et al., 2024; Robinson et al., 2013).

Одне з перших досліджень харчової рефлексорної пам'яті було проведено Бадделі і Хітчем у 1974 році (Baddeley and Hitch, 1974). У цьому дослідженні учасників попросили визначити закуску, яку їм дали, а потім попросили згадати її через деякий час. Результати дослідження показали, що учасники краще запам'ятовували, коли ту саму закуску подавали обидва рази, на відміну від різних закусок. Цей висновок був відтворений у кількох інших дослідженнях і його часто називають «ефектом харчового рефлексу».

Нещодавнє дослідження харчової рефлексорної пам'яті було проведено Айхом і Шактером у 2011 році. У цьому дослідженні учасників попросили впізнати печиво через деякий час. Результати дослідження показали, що учасники краще запам'ятовували, коли обидва рази подавали одне і те ж печиво. Крім того, дослідження показало, що учасники краще запам'ятовували, коли файл cookie подавали в певному порядку, наприклад, зліва направо або зверху вниз.

Загалом дослідження харчової рефлексорної пам'яті використовувалися для вимірювання пам'яті у людей. Цей тип експерименту зазвичай передбачає надання учаснику продукту харчування, а потім надання того самого або іншого продукту через певний період часу. Дослідження показали, що учасники краще запам'ятовують, коли однакові страви подають обидва рази, а також коли продукти подаються в певному порядку.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Експериментальні тварини

Для експериментів були вибрані самці щурів лінії Вістар. Вони утримувалися у віварії Інституту Фізіології ім. О. О. Богомольця та мали вільний доступ до їжі та води. Усі протоколи досліджень й проведені експерименти супроводжувалися відповідно до положень Конвенції з біоетики Ради Європи (1997 року), Гельсінської декларації Всесвітньої Медичної Асоціації (1996 року), Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних й інших наукових цілей (Страсбург, 1986), загальних етичних принципів наукових досліджень, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006 року) та інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі, що було підтверджено Комітетом Біомедичної Етики Інституту Фізіології ім. О. О. Богомольця. Для експерименту було обрано різні вікові групи щурів в залежності від типу експериментів.

2.2. Поведінкові тести

2.2.1. Тест відкритого поля

У тесті локомоторної активності "відкрите поле" гризунів розміщують у відкритій коробці, де вимірюють загальну активність, окремі рухи, пройдену відстань та стояння на задніх лапах та інше.

Вимірювання різних компонентів горизонтальної, вертикальної та стереотипної поведінки використовуються для виявлення впливу ліків, генетичних маніпуляцій тощо на моторну функцію. Тест чутливий до пошкодження гіпокампу та базальних гангліїв, а також до дисфункції задніх кінцівок.



Рис. 2.1. Схематичне зображення парадигми тесту відурите поле.

2.2.2. Тест на харчовий рефлекс

Метод вивчення умовного харчового рефлексу базується на класичних принципах кондиціонування, які були вперше описані Іваном Павловим на початку 20-го століття. Умовний рефлекс формується, коли нейтральний стимул (який спочатку не викликає автоматичної реакції) повторно подається разом з безумовним стимулом (який викликає автоматичну реакцію), поки нейтральний стимул сам не починає викликати цю реакцію.

У контексті харчового умовного рефлексу, експеримент може бути наступним:

Вибір Стимулів: Нейтральний стимул (наприклад, звуковий сигнал) вибирається та подається тварині або людині. Безумовний стимул буде їжею, що природно викликає реакцію, таку як слиновиділення у тварин або почуття голоду в людей.

Кондиціонування: Нейтральний стимул повторно подається разом з безумовним стимулом до того, поки тварина отримує їжу. Після декількох повторень, організм починає асоціювати нейтральний стимул з їжею.

Тестування Реакції: Після фази кондиціонування, нейтральний стимул подається самостійно, без безумовного стимулу. Якщо умовний рефлекс сформувався, учасник або тварина відповість на нейтральний стимул (тепер умовний стимул), як на безумовний стимул (наприклад, почне слиновиділення в очікуванні їжі).

Змінні та Вимірювання: Дослідження може вимірювати різні аспекти реакції, такі як латентний період (час між подачею умовного стимулу та реакцією), частоту і силу реакції, а також тривалість реакції після припинення стимулу.

Екстинкція та Спонтанне Відновлення: Умовний рефлекс може слабшати або зникати, якщо умовний стимул подається без наступного безумовного стимулу. Цей процес називається екстинкцією. Проте, умовний рефлекс може спонтанно відновитися після певного часу без подальшого кондиціонування.

Застосування: Такі дослідження можуть бути використані для вивчення основ пам'яті, поведінкових відповідей на харчування, розладів харчової поведінки, а також для розробки інтервенцій у галузі здорового харчування та лікування ожиріння.

Дослідження умовного харчового рефлексу можуть також включати складніші форми навчання, такі як оперантне кондиціонування, де винагороди і покарання використовуються для формування поведінки. У людей ці методи можуть включати більш складні когнітивні завдання, такі як асоціації між певними смаками або запахами та емоційними відповідями.

Харчове рефлекторне обумовлення - це класична форма навчання та дослідження пам'яті, при якій тварина формує зв'язок між подією та стимулом. У щурів харчове рефлекторне кондиціонування передбачає поєднання стимулу (наприклад, світла чи звуку) з харчовою винагородою. Завдяки цьому сполученню тварина вчиться пов'язувати стимул із винагородою, і поведінка тварини змінюється. Цей тип кондиціонування використовувався для вивчення пам'яті у щурів різними способами.

Харчовий рефлексорний кондиціонування також можна використовувати для вивчення впливу ліків на формування пам'яті. У цьому типі завдання тваринам дають препарат перед сеансом кондиціонування, а потім оцінюють вплив препарату на поведінку тварини. Завдання такого типу можна використати, щоб визначити, чи впливає препарат на формування пам'яті.

Нарешті, кондиціонування харчових рефлексів можна використовувати для вивчення консолідації пам'яті. У цьому завданні тварин навчають виконувати завдання, а потім завдання повторюють через певний період часу. Цей тип завдання можна використовувати для оцінки впливу ліків на консолідацію пам'яті та визначення, чи є якісь зміни в пам'яті тварини щодо завдання.

Підсумовуючи, кондиціонування харчового рефлексу є важливим інструментом для вивчення формування пам'яті та впливу ліків на формування пам'яті у щурів. Цей тип завдань широко використовується в дослідженнях формування пам'яті та впливу ліків на формування пам'яті. В нашій роботі ми розробили спеціальну систему для числової оцінки харчового умовного рефлексу, що детально описано в розділі «Результати».

2.2.3. Тести пасивного та активного уникнення

Пасивне уникнення – це тип тесту пам'яті, який використовується для вивчення навчання та пам'яті. Як правило, суб'єкта поміщають у ситуацію чи середовище, у якому вони повинні зробити вибір між двома реакціями чи відповідями; вибір між двома реакціями зазвичай базується на попередньому досвіді спілкування з навколишнім середовищем. При пасивному уникненні суб'єкту пред'являється аверсивний стимул, наприклад гучний звук або неприємний запах. Потім суб'єкт повинен вибрати або активно уникати стимулу, віддаляючись від нього, або пасивно уникати його, не рухаючись, Рис. 2.2. Реакція на подразник потім вимірюється та використовується для оцінки пам'яті суб'єкта про навколишнє середовище.



Рис. 2.2. Схематичне зображення парадигми тесту пасивного уникнення. Із (Ghafari Moghadam et al., 2022)

Активне уникнення – це ще один тип тесту пам'яті, який використовується для вивчення навчання та пам'яті. Цей тип тесту передбачає, що суб'єкта поміщають у ситуацію чи середовище, у якому він має зробити вибір між двома реакціями чи відповідями; вибір між двома реакціями зазвичай базується на попередньому досвіді спілкування з навколишнім середовищем. Однак при активному уникненні суб'єкт отримує винагороду, таку як їжа або приємні стимули, і він повинен вибрати або активно шукати винагороду, або активно її уникати. Реакція на винагороду потім вимірюється та використовується для оцінки пам'яті суб'єкта про навколишнє середовище.

Shuttle Box Active Avoidance

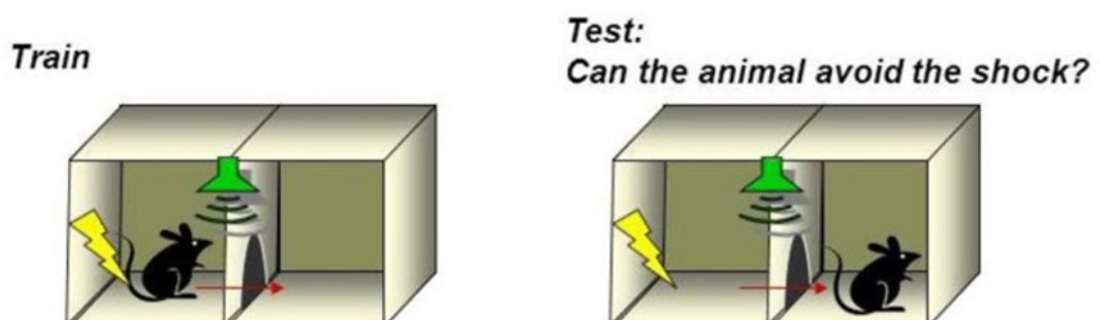


Рис. 2.3. Схематичне зображення парадигми тесту активного уникнення. Цей малюнок взято зі статті, опублікованої (Ghafarimoghadam et al., 2022).

І при пасивному, і при активному уникненні реакції на стимули або винагороди вимірюються та використовуються для оцінки пам'яті суб'єкта про оточення. Ці типи тестів пам'яті часто використовуються в дослідженнях для вимірювання впливу різних методів тренування та навчання на пам'ять.

Пасивне та активне уникнення є корисними методами вимірювання пам'яті та навчання. Вони допомагають дослідникам отримати уявлення про те, як піддослідні реагують на різні типи стимулів і винагород, що може бути використано для розробки нових методів і стратегій викладання та навчання.

2.3. Методи статистичного аналізу

Для обробки та аналізу даних використано наступні програми Origin 8 (OriginLab, США) та GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, США). Оцінка нормальності розподілу даних здійснювалась за допомогою тесту Шапіро-Вілка, а результати представлено у формі середнього значення \pm відхилення середнього. Для порівняння груп між собою використано дисперсійний аналіз з подальшим аналізом post-hoc та Тьюкі тестом. Якщо дані не відповідали критерію нормальності, для їх аналізу застосовували дисперсійний аналіз з повторними вимірюваннями та аналіз post-hoc з Дана тестом. Результати вважались значущими, якщо $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Створення системи харчового рефлексу

Цей розділ досліджень присвячений створенню унікальної системи харчового рефлексу, основною метою якої є дослідження механізмів пам'яті та аналіз впливу фармакологічних агентів на неї. Розробка такої системи дозволяє не лише глибше зрозуміти фундаментальні принципи формування та

відтворення пам'яті в організмі, але й виявити потенціал нових фармакологічних препаратів у корекції порушень когнітивних функцій. Використання харчового рефлексу як моделі надає можливість ефективного вивчення цих процесів, враховуючи його відносну простоту для аналізу та високу адаптивність до експериментальних умов. Таким чином, цей підхід відкриває широкі перспективи для дослідження пам'яті та пошуку ефективних методів лікування когнітивних розладів.

3.1.1. Схема електронної годівниці

Для реєстрації часових характеристик умовного харчового рефлексу була розроблена схема електронної годівниці, схема якої показана на рисунку (Рис. 3.1), вона складається з наступних зон:

- 1) Зона електроніки та блоку живлення.
- 2) Зона крокового двигуна.
- 3) Зона тарілочки з комірками для їжі.
- 4) Зона камери з отвором, в якій перебуває шур.

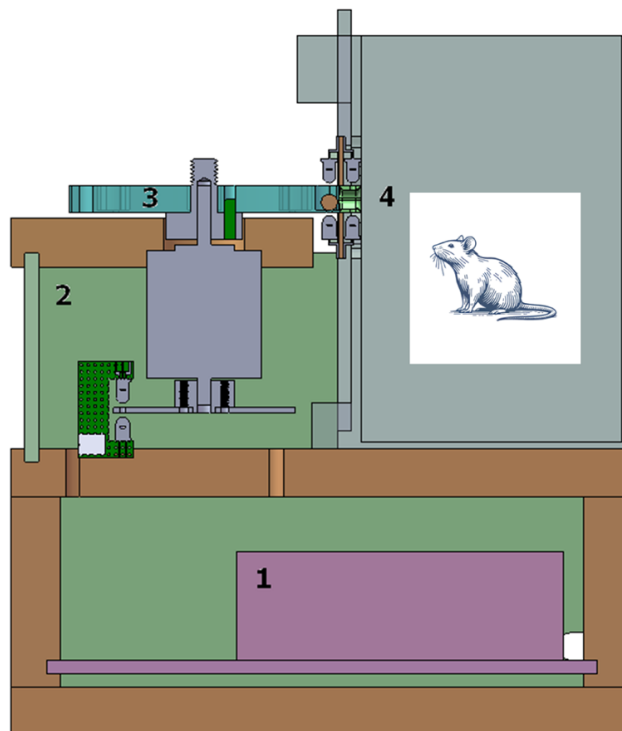


Рис. 3.1. Зони годівниці

Зона електроніки та блоку живлення (1) складається з двох блоків живлення (DC 5В 2А та DC 24В 2А), контролера крокового двигуна та плати керування автоматичною подачею їжі, в основі якої лежить мікроконтролер ATMEGA8A фірми ATMEL.

Зона крокового двигуна складається з двигуна (2), ротор якого наскрізь проходить через статор. До однієї сторони ротора (знизу) прикріплений диск з однією дірочкою. Ця дірочка разом з парою інфрачервоного світло діода та інфрачервоного транзистора відповідають за «RESET» тарілочку, тобто виведення тарілочку в положення «0». З іншої сторони ротора прикріплена тарілочка, яка має 8 отворів, 7 з яких використовується для подачі їжі.

Зона тарілочку з комірками для подання їжі (3) має наступний вигляд (Рис. 3.2.):

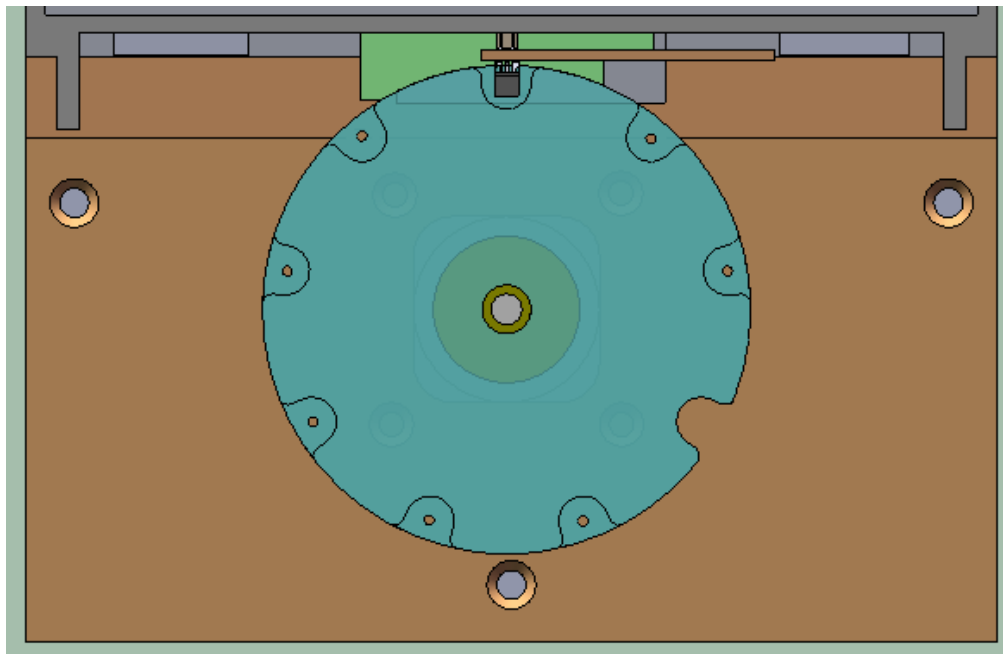


Рис. 3.2. Вид тарілочку зверху

На рисунку вище показано, що над коміркою з їжею встановлений датчик, який реєструє присутність чи відсутність їжі («EAT1» – їжа знаходиться, «EAT0» – їжа відсутня).

Зона камери з отвором, в якій перебуває щур (4) має один отвір, через який автоматично подається їжа за допомогою тарілочки(3). В цьому отворі є також датчик, який може реагувати на появлення лапки в отворі («PAW1» – є лапка, «PAW2» – немає лапки).

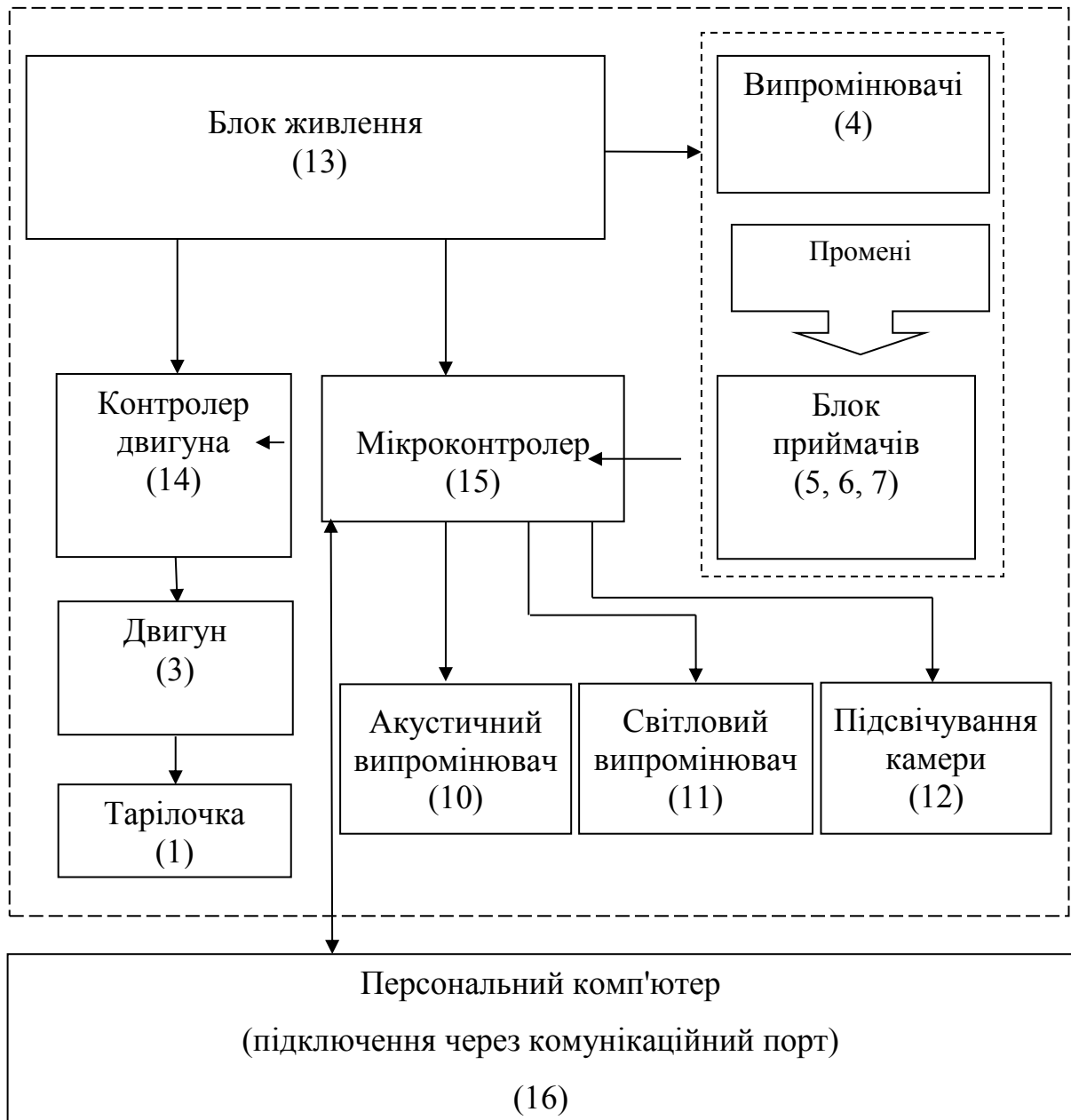


Рис. 3.3. Принципова схема приладу для визначення часових параметрів харчового умовного рефлексу

В камері, також, реалізовано світловий подразник у вигляді світлодіоду та підсвічування камери в якій знаходиться щур за допомогою світлодіоду. Закриття шторки реалізовано за допомогою переміщення тарілочки в

положення між комітками для їжі. Загальна схема керування системою представлена на рис. 3.3.

На рис.3.3. представлена блок-схема приладу, який складається з блоку живлення для двигуна (13) та його контролеру (14), мікроконтролера (15) та блоку світлодіодів та приймачів (4, 5, 6, 7). Контролер двигуна (14) підключений до джерела живлення (13) та керується мікроконтролером (15). Мікроконтролер (15) забезпечує взаємодію між комп'ютером (16), контролером двигуна (14), приймачами (5, 6, 7) і звуковим (10) та світловим (11) випромінювачами. Блок приймачів (5, 6, 7) дозволяє визначати положення "нульового" положення тарілочки (приймач 5); положення комірок тарілочки відносно позиції віконця для забирання їжі і наявності їжі в комірці (приймач 6) та наявності кінцівки піддослідного у віконці для забирання їжі (приймач 7). Двигун (3) керує положенням тарілочки шляхом обертання (1) відносно віконця для забирання їжі (9).

Пара датчику (4-5) розміщена таким чином, щоб можна було визначити стартове положення тарілочки (1). Визначення стартового положення тарілочки (1) здійснюється на початку експерименту наступним чином. Двигун (3) обертає пусту тарілочку (без корму) до тих пір, доки на приймачі (5) не з'явиться сигнал з випромінювача (4), що відбувається коли отвір диску (8) співпаде з віссю пари датчику (4-5). Це положення вважається нульовим або стартовим положенням. В той же час, також здійснюється визначення розташування комірок відносно харчового віконця наступним чином. Пара датчику (4-6) кріпиться на стінці біля харчового віконця таким чином, що між парою проходить край тарілочки в області комірок з просвітом (2) під час обертання тарілочки (1). Цей датчик (4-6) визначає положення кожної комірки при співпадинні просвіту комірки з віссю між цією парою датчику, а мікроконтролер (15) відраховує, скільки кроків двигуна здійснюється для переміщення тарілочки (1) від стартової позиції до просвіту кожної наступної комірки. Ці значення положення комірок у стані «відкрито» відносно харчового

віконця записуються у масив даних мікроконтролером – таким чином, визначається положення комірок (2) в системі відліку двигуна (3). Після завантаження комірок кормом (харчові кульки) пара датчику (4-6) визначає наявність корму в комірці шляхом наявності або відсутності просвіту комірки, який закривається при наявності корму. При відсутності корму двигун (3) повертає наступну комірку у «відкрите» положення відносно до харчового віконця після подачі звукового (10) та/або світлового (11) сигналу. Пара датчику (4-7) розташована на стінці з віконцем таким чином, що вісь між парою датчику перетинає харчове віконце (9) і реагує на перетин віконця піддослідним. Таким чином, цей датчик реєструє спробу піддослідного дістати їжу із комірки.

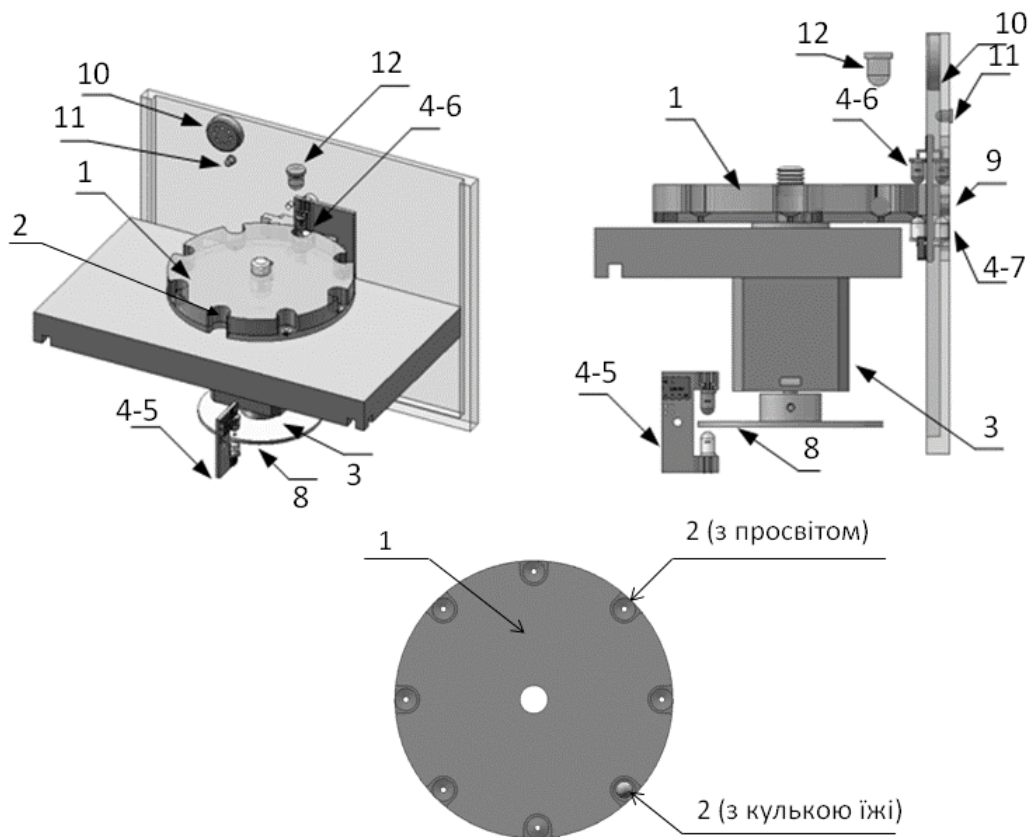


Рис. 3.4. Основні компоненти пристрою

Прилад працює таким чином. Блок живлення (13) живить двигун (3), контролер двигуна (14), випромінювачі (4), приймачі (5, 6, 7), акустичні випромінювачі (10), світлові випромінювачі (11) та мікроконтролер (15). Двигун (3) керує положенням тарілочки (1), відповідає за подачу їжі шляхом повороту тарілочки для співпадіння комірки з кулькою їжі з віконцем для подачі їжі (9), що забезпечує положення тарілочки у стані «відкрито» або «закрито» коли сторона тарілочки між комірками знаходиться напроти віконця. Блок випромінювачів (4), які разом з блоком приймачів (5, 6, 7) складають три пари «світлодіод-фототранзистор» для реєстрації положення тарілочки (датчик 4-5), визначення положення комірок або наявності їжі в комірці тарілочки (датчик 4-6) та наявності кінцівки піддослідного у віконці для забирання їжі (датчик 4-7). В залежності від отриманих даних з приймачів, мікроконтролер (15) дає команду для повороту тарілочки, часу затримки між подачами їжі та увімкнення звукових (10) та/або світлових (11) випромінювачів. Також можливе керування випромінювачами (4) чи двигуном (3) за допомогою персонального комп'ютера (16), який також використовується для запису отриманих даних.

Прилад описаний вище, дозволяє автоматизувати експеримент з піддослідним з мінімальною участю оператора, отримати числові параметри умовного рефлексу та автоматизувати запис отриманих даних до комп'ютера з подальшою обробкою. Таким чином, винахід дає можливість проводити медико-біологічні експерименти по оцінці набутого харчового рефлексу піддослідних, що забезпечує отримання часових параметрів функціонування центральної нервової системи.

Прилад пояснюється функціональною схемою приладу представленою на рис. 3.4. Тарілочка (1) із комірками (2) для харчових кульок кріпиться до валу двигуна (3), який зафіксований на платформі. Кожна комірка (2) має у дні маленький просвіт. Система забезпечена датчиками (4-5, 4-6, 4-7). Пара датчику (4-5) використовуються для визначення початкового "нульового" положення тарілочки (1) розташована біля нижньої частини двигуна, між якою

обертається диск із отвором (8). Датчик (4-6) для визначення положення комірок та наявності в них їжі. Пара датчику (4-7) використовується для виявлення наявності кінцівки піддослідного у віконці для забирання їжі (9) і розташована на стінці з віконцем для їжі (9). Тарілочка (1) та диск (8) кріпляться відповідно до верхньої та нижньої частини валу двигуна (3) та обертаються навколо осі двигуна (3). Положення тарілочки (1) та диску (8) суміщене таким чином, щоб просвіт першої комірки тарілочки (1) співпадав з отвором диску (8). В приладі, на стінці біля тарілочки, відповідним чином, також розташовані звуковий (10) та світловий (11) випромінювачі, які використовуються в якості подразників. Освітлення приладу відбувається за допомогою окремого освітлювача (12).

3.1.2. Програмне забезпечення для мікроконтролера годівниці

Програмне забезпечення для мікроконтролера написано за допомогою середовища IDE AVRStudio 4. Це програмне забезпечує роботу годівниці, а саме: керує позиціонуванням тарілочки та реєстрацію подій, таких як: присутність чи відсутність їжі, присутність чи відсутність лапки в отворі для їжі, тарілочка досягла положення «RESET», тарілочка знаходиться в положенні «Закрита шторка», тарілочка знаходиться в положенні подачі їжі.

В програмному забезпеченні реалізована послідовна передача даних з комп'ютером. Прийняття даних від комп'ютера відбувається за допомогою переривань.

Перелік реалізованих методів в програмі для MCU:

`void USART_SendByte(uint8_t u8Data)` – метод передає байт по послідовному порту.

`void Motor_ENA(int status)` – встановлення ENA на контролері крокового двигуна.

`void MOTOR_AlwaysON(int s)` – встановлюємо флаг, який забезпечує постійне тримання ENA на платі крокового двигуна в положенні «1».

`void Com_SendStr(char *st)` – метод передає масив символів по послідовному порту.

`void Set_ExperimentMode(int v)` – встановлення режиму експерименту (0 – в режимі експерименту, 0 – не в режимі експерименту).

`void Com_SendInt(long a)` – метод реалізує передачу числа по послідовному порту.

`void Com_EXECUTE_COMMAND(char *cmd)` – метод реалізує виконання команди, яка прийшла з комп'ютера по послідовному порту.

`ISR(USART_RXC_vect)` – метод оброблює переривання по приходу даних по послідовному порту.

`void USART_Init(void)` – метод ініціалізує послідовний порт.

`uint8_t USART_ReceiveByte()` – метод оброблює прийнятий байт прийнятий по послідовному порту.

`void delka(int time_ms)` – метод реалізує затримку в мілісекундах.

`void Stop_at_paw_detect()` – метод реалізує аварійну зупинку двигуна, при наявності лапки в отворі для їжі при русі тарілочки.

`int EAT_IS_PRESENT()` – метод перевіряє наявність їжі в комірці для їжі.

`int PAW_IS_PRESENT()` – метод перевіряє наявність лапки в отворі для їжі.

`void POD_LED(int status)` – метод реалізує керування світловим подразником.

`void Motor_DoStep(int n)` – метод реалізує виконання n-ної кількості кроків кроковим двигуном.

`void Motor_GOTO_POS(int pos)` – метод реалізує переміщення тарілочки на конкретну встановлену позицію pos.

`int Motor_OnReset()` – метод перевіряє, чи знаходиться тарілочка в положенні «RESET».

`void Motor_FindReset()` – метод реалізує встановлення тарілочки в положення «RESET».

`void Motor_GOTO_NEXT()` – метод реалізує подачу їжі.

`void Motor_GOTO_lock()` – метод реалізує «закриття шторки».

`int Motor_OnEatCell()` – метод перевіряє чи знаходиться тарілочка в положенні подачі їжі.

`void X_getprofile(void)` – метод виконує встановлення профіля тарілочки, тобто визначає координати комірок з їжою в тарілочці.

`void Pins_init()` – метод виконує ініціалізацію пінів.

`int main(void)` – головний метод.

3.1.3. Програмне забезпечення для комп'ютера

Програмне забезпечення для комп'ютера написано за допомогою середовища Borland C++ Builder 6. Обмін даними через послідовний порт(або в режимі емуляції через USB) реалізовано за допомогою WINAPI.

Програмне забезпечення має назву «KORMUSE» та складається з п'яти форм, кожна з яких виконує свої функції.

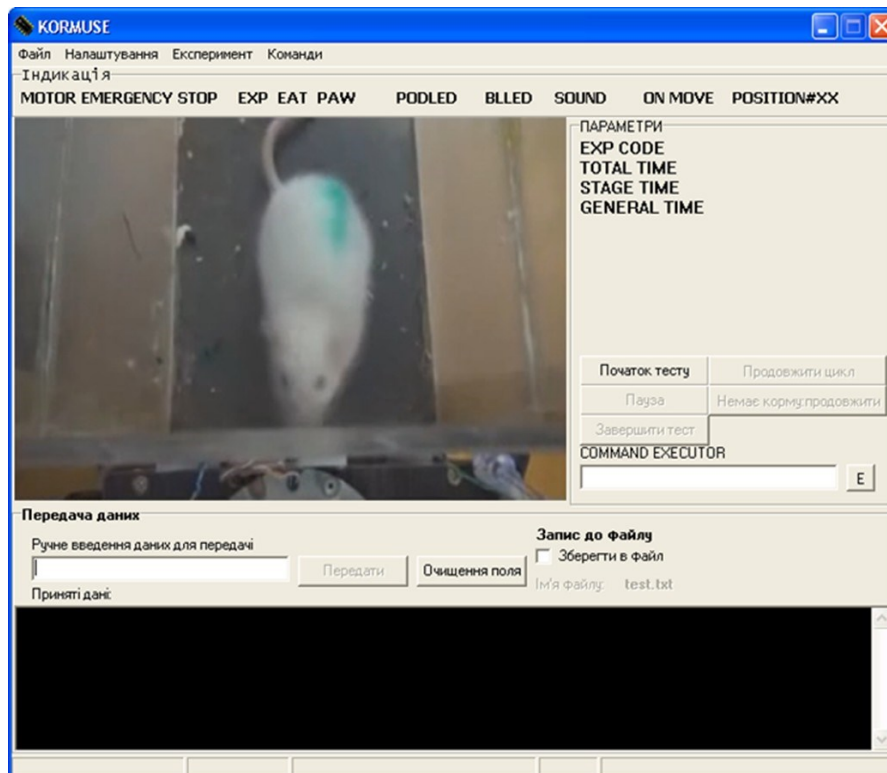


Рис. 3.5. Головне вікно програми (Form1)

Form1 – це головна форма програми (3.5). В ній знаходиться головне меню, індикатори, параметри та керування експериментом і лог обміну даними між MCU та ПК за допомогою послідовного порта.

Form2 – це вікно налаштування послідовного порта (Рис. 3.6.). В ньому можна встановити номер послідовного порта та швидкість обміну даними.

Form3 – експериментальні дані, лог подій (Рис. 3.7.). В цьому вікні записуються всі події, зареєстровані системою.

Form4 – налаштування експерименту (Рис 3.8.). В цьому вікні можна встановити різні налаштування експерименту, часові затримки та вибір звукового подразника.

Form5 – експериментальні дані, статистика (Рис. 3.9.). В цьому вікні виконується статистична обробка даних експерименту.

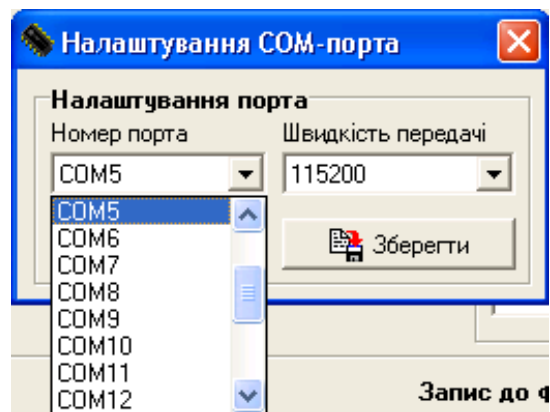


Рис. 3.6. Налаштування послідовного порта(Form2)

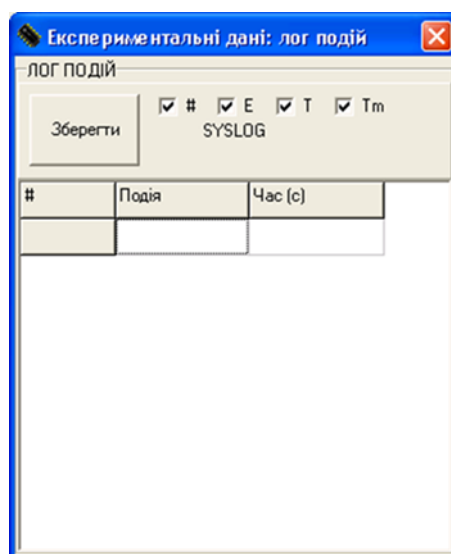


Рис. 3.7. Експериментальні дані, лог подій (Form3)

Налаштування експерименту

Загальні параметри експерименту

Час проведення експерименту (с)
600

Часова затримка до відкриття шторки (с)
3

Міжімпульсний період (с)
80

Освітлення (LED) Автопродовження після завершення циклу Режим тестування

Світловий сигнал

Світловий подразник Тривалість світлового сигналу (ms) 4000 Інтенсивність світлового сигналу 20

Звуковий сигнал

Звуковий подразник

Завантажити [▶] [⏸] [⏹] [Progress Bar]

Файл: sounds\galil_boltpull.wav

Рис. 3.8. Налаштування експерименту (Form4)

Експериментальні дані: статистика

Зберегти Все в мілісекундах STAT

#	rt	RD	TRr	RN	RT	MI	

Рис. 3.9. Експериментальні дані, статистика (Form5)

Звуковий подразник реалізовано в самій програмі. Він виконується через звуковий вихід звукової карти комп'ютера(Sound Blaster).

Меню має наступний вигляд:

- 1) Файл
 - a. Вихід
- 2) Нашалтування
 - a. Налаштування СОМ-порта
 - b. Налаштування експерименту
- 3) Експеримент
 - a. Показати таблицю подій
 - b. Очистити таблиць подій
 - c. Показати таблицю статистики
 - d. Очистити таблицю статистики
- 4) Команди
 - a. Ідентифікаційні
 - i. HELLO
 - b. Мотор
 - i. NEXT
 - ii. LOCK
 - iii. RESET
 - c. Експеримент
 - i. EXP
 - ii. EAT
 - iii. PAW
 - iv. RESTORE
 - d. Подразники
 - i. PODLED1
 - ii. PODLED0
 - e. Додаткові можливості
 - i. BLLED1

- ii. BLLEDO
- f. Тарілочка
 - i. PROFILE
- g. PING
- h. PLAY WIN SOUND

3.2. Реєстрація умовнорефлекторної діяльності

Досліди проведено на 5-ти місячних щурах лінії WISTAR. Вивчали динаміку умовнорефлекторної діяльності та загальноповедінкових рухових реакцій в експериментальній камері при виробленні та відтворенні умовного харчового рефлексу „рукості”: у відповідь на клацання (звуковий стимул 4 мс, 60 дБ) здійснювати підкріплювані їжею пошукові рухи кінцівкою у годівничці.

Умовний рефлекс виробляли наступним чином. Всі щури утримувалися на харчовій депривації 1,5 дні. Спершу щурів розміщували в камеру на 5 хв і вчили брати харчову кульку з годівниці ротом або лапою. Потім, щурів вчили брати харчову кульку з годівниці лапою. Далі, для щурів, що беруть харчові кульки, ввели сигнал «звук 400 Гц». Після подачі звукового сигналу проводилося харчове підкріплення.

Умовний рефлекс оцінювали за кількісними показниками здійснення пошукових рухів у відповідь на умовний подразник. Одночасно у міжстимульний період реєстрували загальнорухові та поведінкові реакції: дослідницьку та локомоторну активність, наявність стійок, завмирання та грумінг, міжсигнальні рухи кінцівкою у годівничці, обнюхування годівнички без пошукових рухів.

3.3. Відеореєстрація поведінкових реакцій

Кількісна оцінка окремих поведінкових актів має важливе значення для визначення ступеня нервово-психічного стану тварин, який може бути спричинений різними факторами. У поєднанні із природньою орієнтовно-дослідницькою активністю вони використовуються для діагностики функціонального стану нервової системи при різних експериментальних

втручаннях. Візуальне спостереження за поведінкою тварини (метод «Відкритого поля» та ін.) дає можливість оцінити тільки деякі прості параметри рухової активності. Нами використовувався метод відеореєстрації поведінки щура, що знаходиться у окремому боксі, з одночасною реєстрацією кількісних показників окремих поведінкових актів, притаманним щурам: горизонтальна рухова активність, вертикальна (стійки), стан нерухомості, грумінг, чухальні рухи та інші. Схема методу представлена на рис. 3.10.

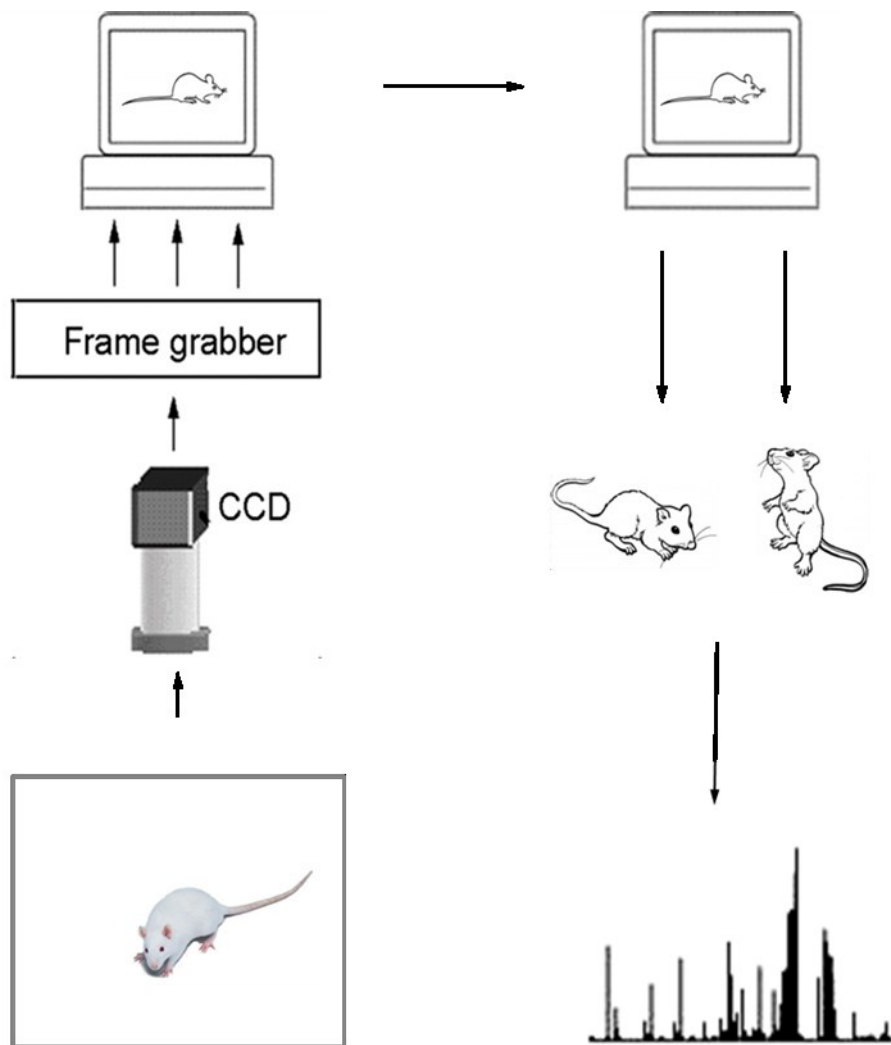


Рис. 3.10. Схематичне представлення експерименту

У незнайомому оточенні щури демонструють орієнтовно-дослідницьку поведінку, у тому числі характерне завмирання, що пов'язують із необхідністю оцінки твариною ступеня ризику. Цей тест розглядають як можливу модель, яка базується на конфлікті двох мотивацій: інстинктивної тенденції до дослідження

нового оточення та здатністю мінімалізувати можливу загрозу, пов'язану з новизною. Стійки вважаються індексом дослідницької активності, чутливим до рівня тривожності та дії різних зовнішніх та внутрішніх чинників. Цінну інформацію дає реєстрація грумінгу із одночасним аналізом його кількості (частоти) та тривалості, що характеризує різний функціональний стан щура. Цей метод має ряд переваг: характеризується гнучкістю – можливістю підбирати та застосовувати багато параметрів в залежності від конкретної задачі. Відзначається високою інформативністю – дозволяє кількісно оцінювати параметри рухової активності залежно від цілей та задач експерименту. Метод забезпечує можливість автономності – в ході експерименту немає потреби у присутності експериментатора, що знижує вірогідність впливу сторонніх факторів на поведінку тварини.

Система забезпечує цілий набір загальних і специфічних реєстрованих і обчислюваних показників: Моменти стійок; Сумарна діаграма часу знаходження у виділених станах; Час початку і закінчення окремого стану; Число окремих станів; Середній час знаходження в конкретному стані; Розподіл стану по осі часу.

Статистичну обробку результатів проведено за допомогою програмного забезпечення OriginPro 8.0.

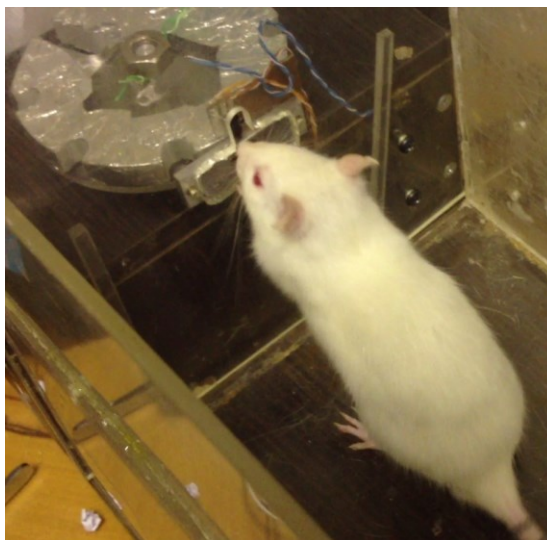


Рис. 3.11. Зображення експериментальної системи зі щуром, у якого вироблявся харчовий рефлекс

3.1. Експериментальна апробація системи

Дані дослідження проводили в якості тестування створеної системи. В якості апробації були використані щури самці лінії Вістар віком 5 місяців. Вивчалась динаміка умовнорефлекторної діяльності в експериментальній камері при виробленні та відтворенні умовного харчового рефлексу “рукості” у відповідь на звуковий стимул. На 3.11 представлено зображення експериментальної системи та щура, у якого був вироблений харчовий умовний рефлекс.

Після подання звукового сигналу, щур підходив до годівниці та доставав харчову кульку ротом або лапою. Реєстрацію часових процесів діставання їжі проводили за допомогою створеної системи. Схематичне зображення ходу експерименту показано на Рис. 3.12.

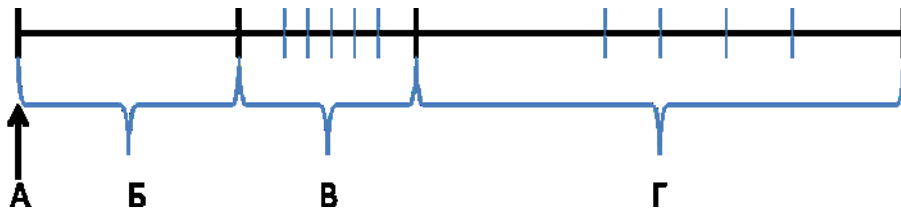


Рис. 3.12. Схематичне зображення ходу експерименту.

А – Звуковий або світловий подразник, що запускає реєстрацію;

Б – латентний період (час до нового пошукового руху в годівниці - перетин променя світла, реєстрація фотоелемента);

В – кількість перетинів (пошукові рухи і час, витрачений на діставання корму);

Г – Рухова активність в межіпмпульсний період (60-80 сек) – час пересування по камері і кількість пошукових рухів в годівниці.

Для реєстрації подій використовували наступні параметри r - діставання з порожньої годівниці; p -годівниця заряджена кулькою їжі; $r+p$ -діставання із зарядженої годівниці; стрілками позначена зарядка годівниці експериментатором і діставання кульки твариною; RD -тривалість діставання; TRr - інтервал між реакціями діставання; RN - кількість спроб. необхідних для

діставання кульки; RT - час між першою спробою і до остаточного вилучення кульки. Схема реєстрації подій представлена на Рис. 3.13.

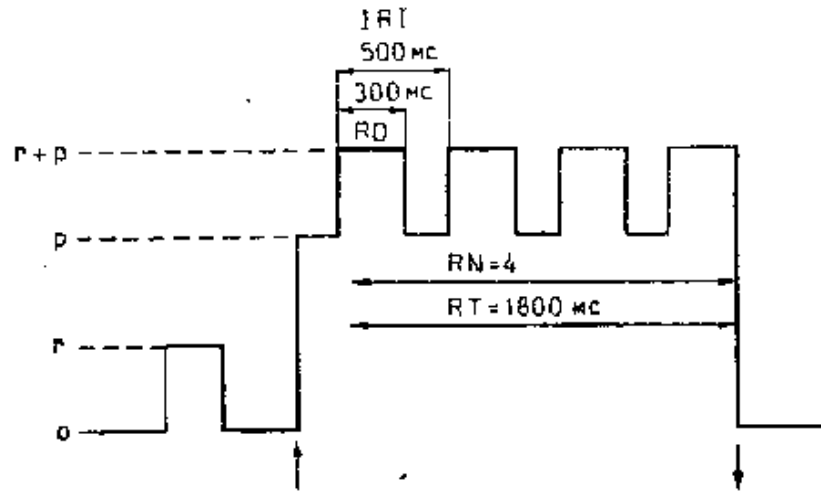


Рис. 3.13. Фотоелектрична реєстрація діставання їжі

В ході досліджень були отримані наступні дані

Таблиця 3.1. Числові характеристики умовного рефлексу щура

Параметр/ спроба	RN	TRr	RT	RD	r+p
1	46	1750	0	1	11
2	79	-	0	1	29
3	-	1969	251	5	10
4	78	875	0	1	10
5	62	-	0	0	0
Середнє значення	70 ± 20	1500 ± 600	50 ± 110	2 ± 1	20 ± 10

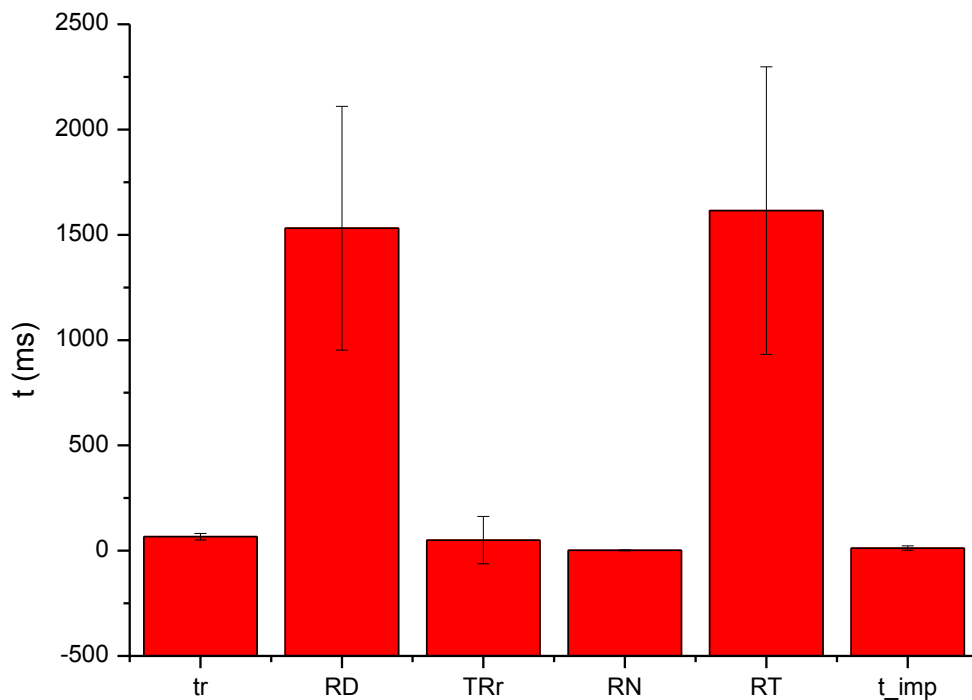


Рис. 3.14. Графічне представлення отриманих результатів роботи системи

Проведені дослідження підтвердили ефективність застосування методу програмного аналізу відеозапису поведінки щурів.

3.2. Відеореєстрація поведінкових реакцій під час міжстимульних періодів

В якості апробації методики були проведені також експериментальні дослідження особливостей поведінки щурів самиць різних вікових груп: 2, 5 та 13-місячних в міжстимульний період. Даний вид досліджень відноситься до різновидностей методу «Відкрите поле». Досліди проводили на щурах трьох вікових груп – 2-, 5- та 13 місячних щурів. Щури що знаходились в експериментальній камері їх поведінка реєструвалась за допомогою відеозапису. Схема експерименту представлена в розділі «Методи». Після здійснення відео реєстрації поведінки тварин протягом 760 сек проводився її аналіз. В ході аналізу реєструвались наступні параметри поведінки - –

вертикальна стійка (stading), грумінг (grooming), завмирання (fading), рух (movement). Ці типи поведінки можуть слугувати як оціночні фактори нервової системи тварин. Так, вертикальна стійка у щурів – вертикальна показник вертикальної рухової активності ; грумінг - (косметична поведінка) щурів є важливою характеристикою рівню комфортності тварини та є компонентом дослідницької діяльності; завмирання - використовується як на індикатор стану стресу, великої напруги, страх та побоювання нового простору; рухливість – показник горизонтальної рухливості.

В таблиці 3.2 представлені усереднені дані поведінкових реакцій щурів різних вікових груп. По осі ординат представлена кількість подій N , по осі абсцис – тип поведінкової реакції. Вимірювання проводилися на 2-ух, 5-ти, та 13-ти місячних щурах, в кожній групі по 5 тварин. Відрізок часу вимірювань складав 760 сек. Дані представлені як середнє значення \pm SD. Аналіз порівняння середнього значення між групами проводився за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу One-Way ANOVA (OriginPro 8) OriginLab Corporation, США.

Таблиця 3.2. Числові усереднені дані поведінкових реакцій щурів різних вікових груп

Показник/ вік щурів	Кількість подій		
	Середнє значення \pm SD		
	2 місяці	5 місяців	13 місяців
Стійка	60 \pm 28,61	24,67 \pm 10,69	35,5 \pm 24,90
Грумінг	194 \pm 24,87	124 \pm 65,64	79,75 \pm 73,17
Завмирання	42,67 \pm 31,47	231 \pm 62,02	165,5 \pm 30,85
Рухливість	185,33 \pm 54,37	128,33 \pm 40,53	49,5 \pm 12,79

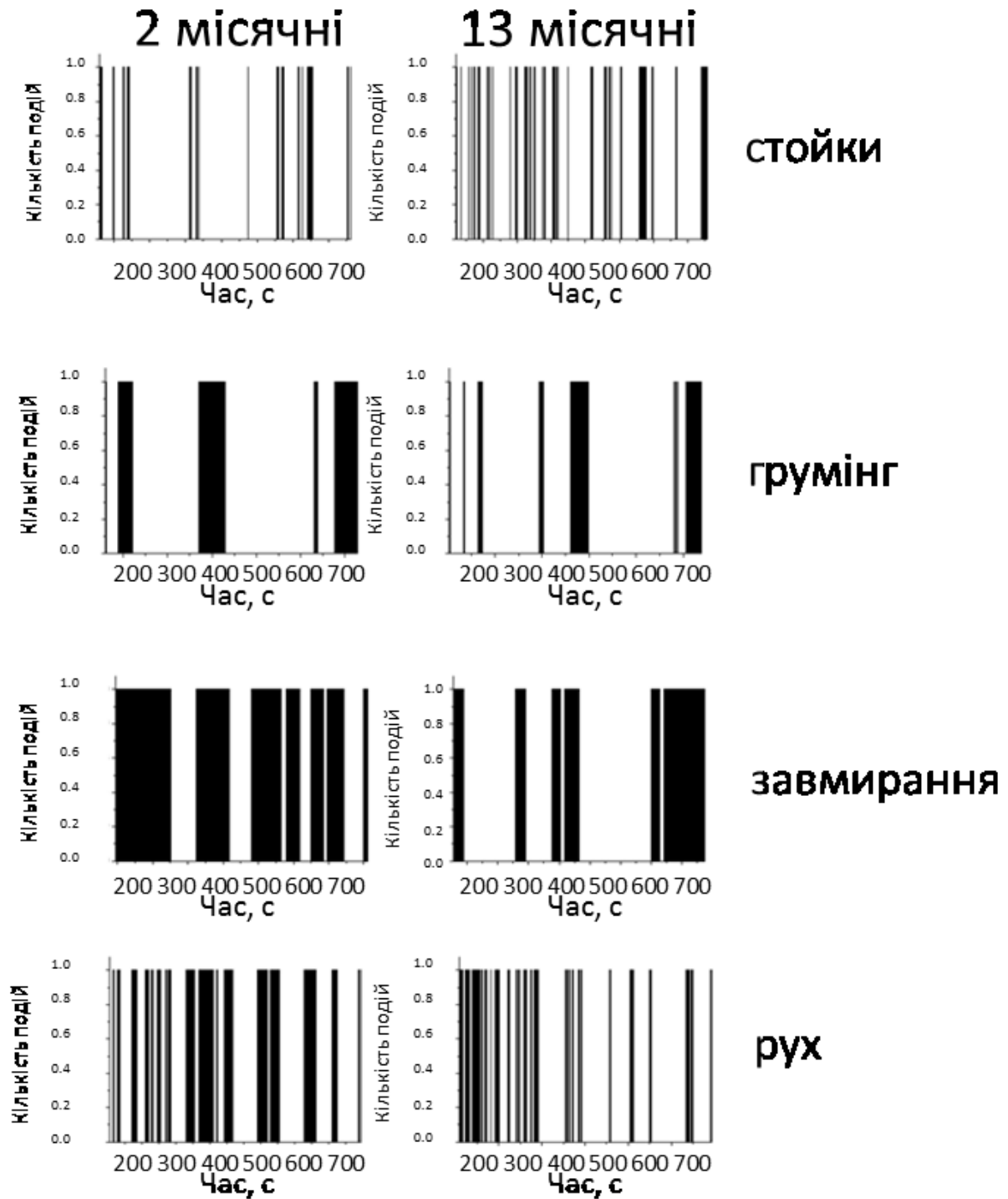


Рис. 3.15. Приклади реєстраційних записів індивідуальних поведінкових актів у часі щурів різних вікових груп 2 місячних (ліва колонка) та 13 місячних (права колонка). Представлені поведінкові реакції – стійка (stading, перший ряд), грумінг (grooming, другий ряд 2 місячних (ліва колонка) та 13 місячних (права колонка). Представлені поведінкові реакції – стійка (stading, перший ряд), грумінг (grooming,

другий ряд), завмирання (fading, третій ряд), рух (movement, четвертий ряд).

Отримані значення також представлені у графічному вигляді, Рис. 3.16. Із отриманих даних видно, що найбільш комфортно почували під час експерименту «відкрите поле» молоді щурі (2 місяці) у них були найвищі показники грумінгу та горизонтальної рухливості, тоді як найстарші щурі (13 місяців) були найменше рухливими. Слід зазначити, що щурі середнього віку були найбільш в тривожному стані, в порівнянні із іншими групами.

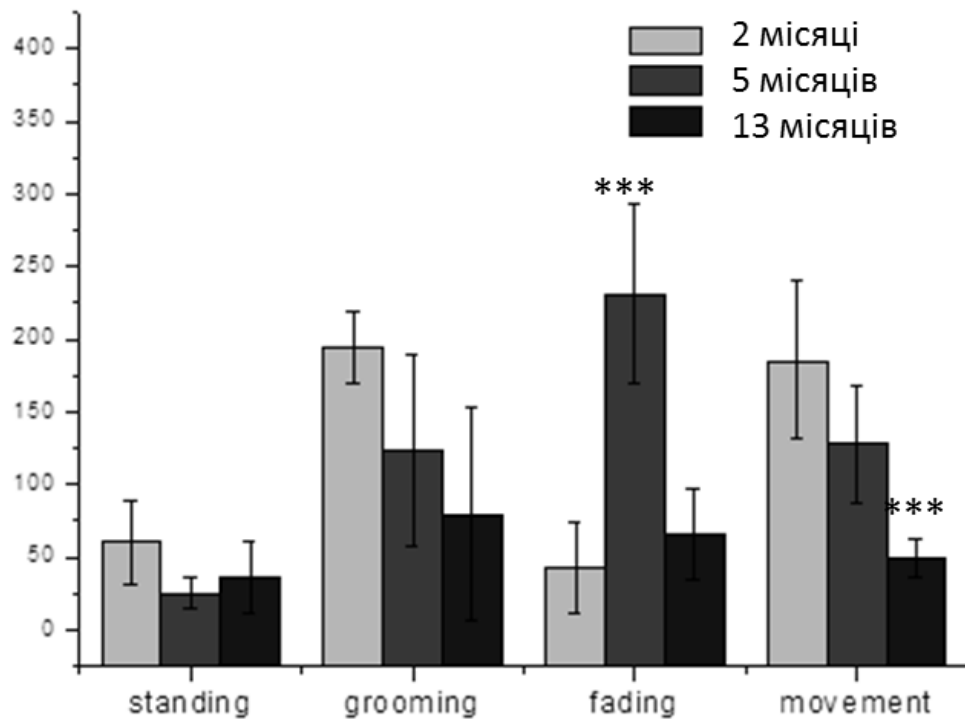


Рис. 3.16. Порівняння поведінкових реакцій щурів різних вікових груп

Представлені дані по поведінковим реакціям – стійка (standing), грумінг (grooming), завмирання (fading), рух (movement). По осі ординат – кількість подій (N). В кожній віковій групі тестувалися по 5 щурів. Дані представлені як середнє значення \pm SD.

3.3. Вплив мемантину на часові характеристики харчового умовного рефлексу

Інструментальний рефлекс отримання їжі формувався гірше у старих тварин, ніж у молодих, і характеризувався нестабільністю проявів (рис. 3.17). У контрольній групі рівень успішності проявів умовного рефлексу у молодих щурів був вищим (90%), ніж у старших (74%), (Рис. 3.18). У групі старих спостерігалася більша варіативність цього показника, що може бути обумовлено двома факторами. Одним з них можуть бути вікові труднощі у вилученні інформації з ЦНС про умовні стимули як сигнали, асоційовані з їжею, а іншим - індивідуальні характеристики тварин.

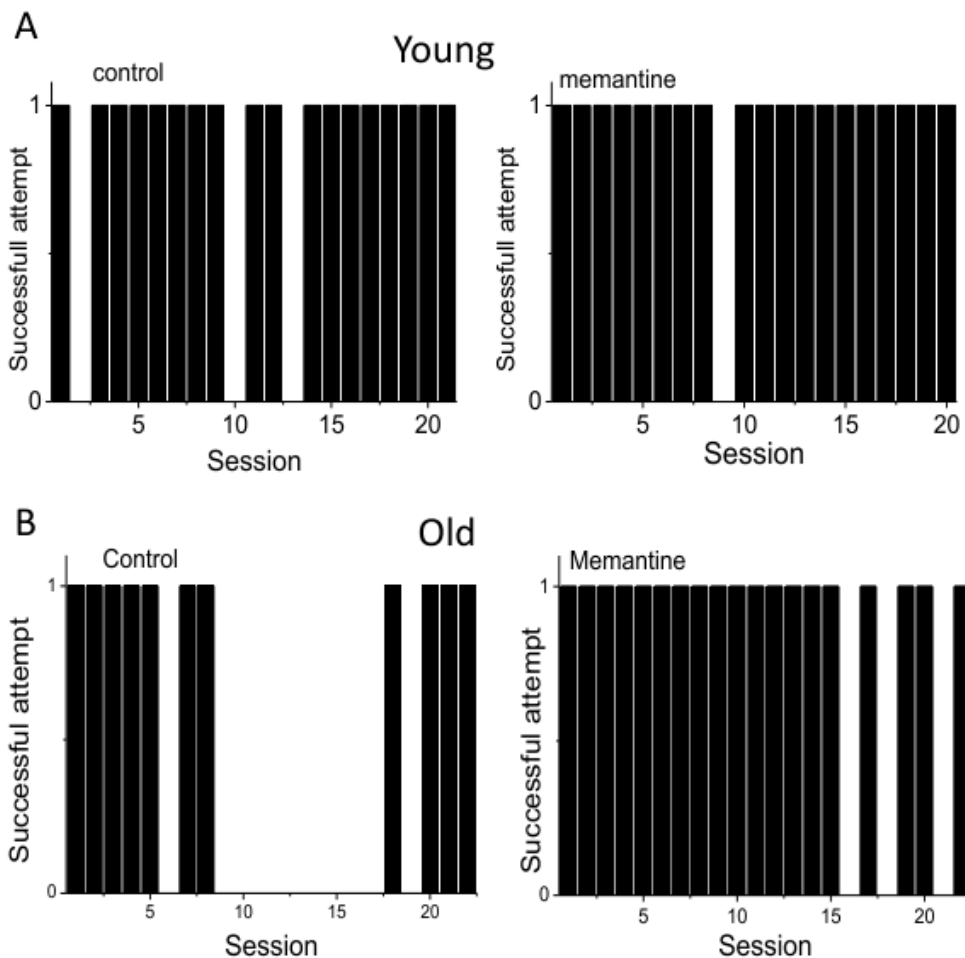


Рис. 3.17. Приклад реєстрації успішності умовного харчового рефлексу (отримання щуром корму після звуку) виміряного в контрольних умовах (ліворуч) та після впливу препарату мемантин (праворуч). Тести проведені на молодих (A) та старих (B) щурах.

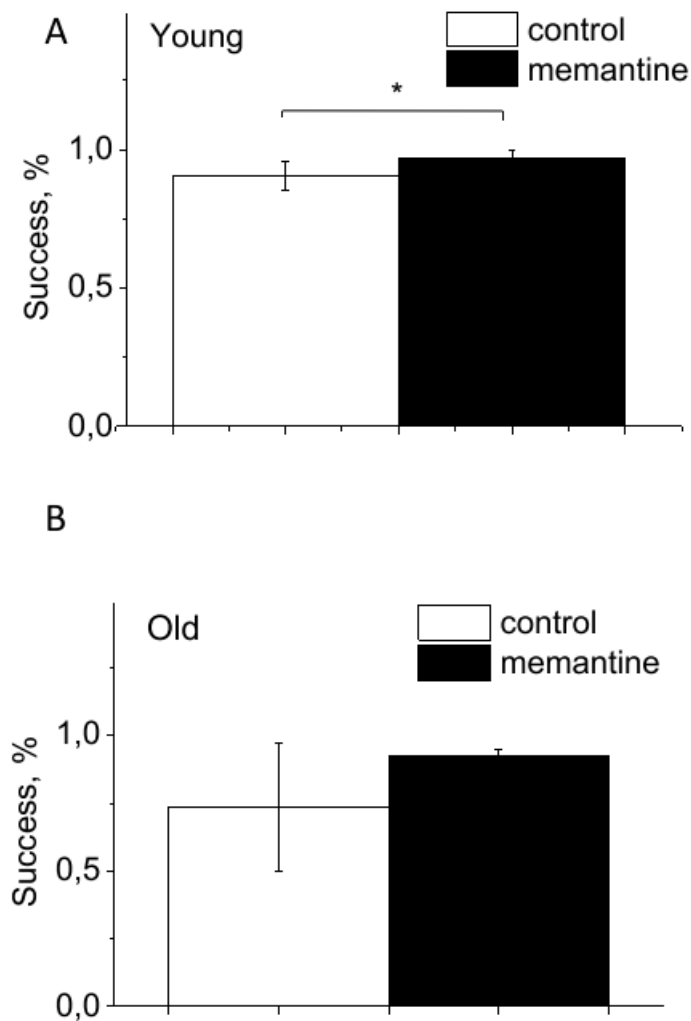


Рис.3.18. Середні значення реєстрації успішності умовного харчового рефлексу (отримання щуром корму після звуку) виміряні в контрольних умовах (біле) та у щурів, які споживали мемантин (чорне). Тести виконані на молодих (А) та старих (В) щурах.

Мемантин істотно збільшив успішність проявів умовного рефлексу у всіх старих щурів до рівня показника молодій групі, зареєстрованого у контролі (92%), Рис. 3.17. В той же час цей параметр досяг 97% у молодих щурів після лікування мемантином, Рис. 3.18. Таким чином, очевидно, мемантин значно покращив успішність проявів умовного рефлексу у обох вікових групах.

З іншого боку, отримані експериментальні дані не виявили значних відмінностей у латентному періоді рухового умовного рефлексу, викликаного звуковим сигналом в контрольних умовах у молодих та старих тварин: $t_l = 3,020 \pm 0,162$ с, $n=408$ (Рис. 3.19А) та $3,15 \pm 0,331$ с, $n=125$ (Рис. 3.20А) відповідно. Це може вказувати на те, що сигнал, який викликає моторну відповідь, обробляється центральними структурами мозку з однаковою швидкістю. Лікування мемантином не змінило ці значення значно: $t_l = 2,90 \pm 0,265$ с, $n=149$ та $t_l=3,109 \pm 0,429$, $n=53$ для молодих та старих тварин відповідно.

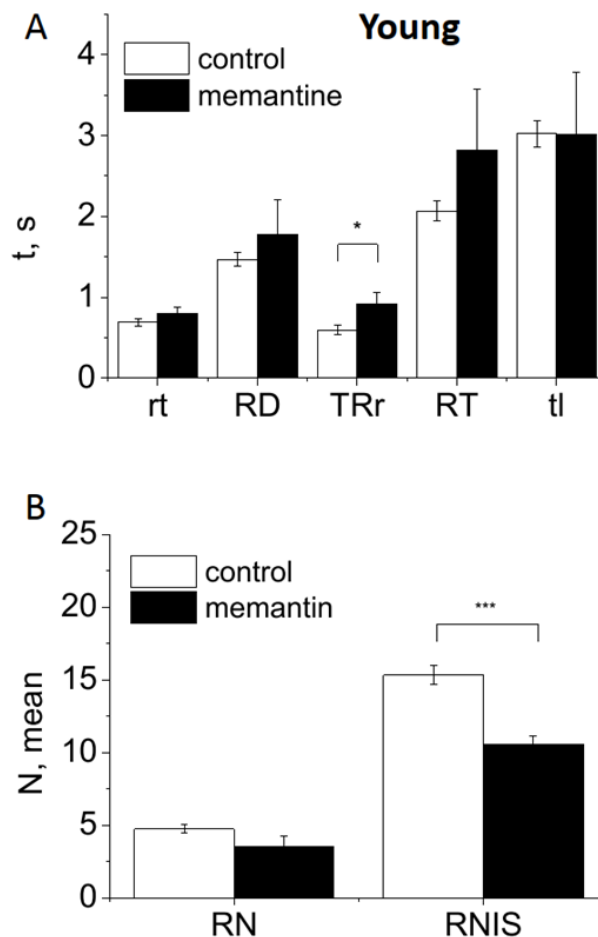


Рис. 3.19. А, середні значення часових характеристик (позначення у тексті) харчового рефлексу щурів, зафіксовані у контролі та під час застосування мемантину у молодих щурів. В, середні значення кількісних характеристик харчового рефлексу щурів, отримані в

контрольних умовах та під дією мемантину у молодих щурів. Статистична значимість різниць при $P < 0,05$, $< 0,01$ та $< 0,001$ позначена однією, двома та трьома зірочками відповідно.

Однак, молоді тварини витрачали більше часу на пошукові рухи в порожньому кормовому живильнику, який відкриває доступ до їжі ($rt = 0,689 \pm 0,043$ с, $n=408$), ніж старі тварини ($rt = 0,507 \pm 0,047$ с, $n=125$). Мемантин незначно вплинув на ці значення, які склали $rt = 0,795 \pm 0,076$ с, $n=149$ та $rt = 0,395 \pm 0,053$ с, $n=53$ відповідно для вікових груп. Були вікові відмінності в часових записах вилучення їжі з вікна годівниці.

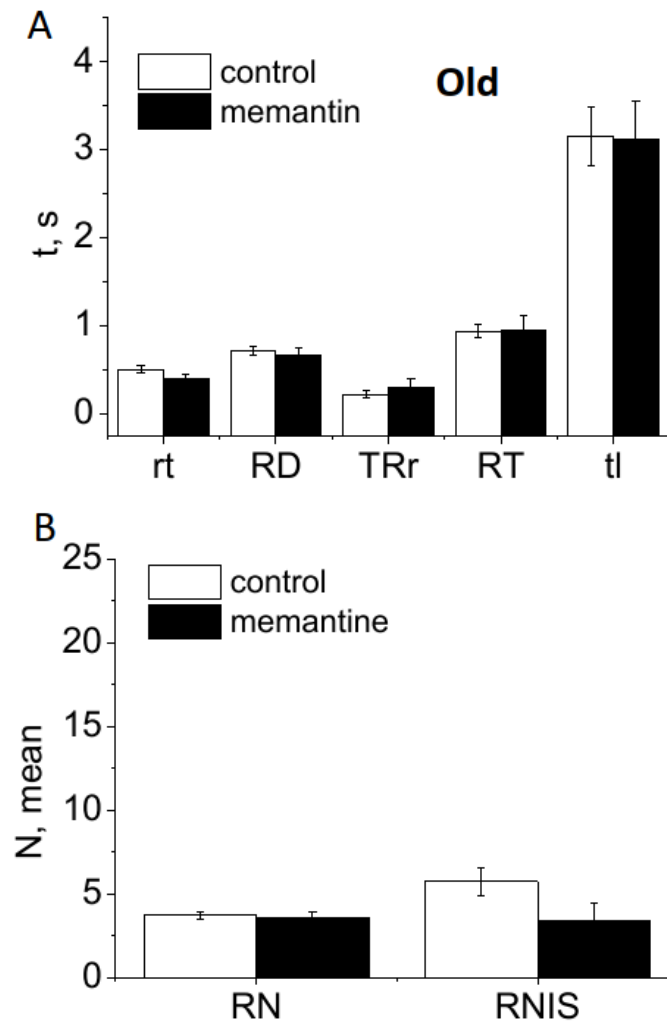


Рис. 3.20. А, середні значення часових характеристик (позначки в тексті) харчового рефлексу щурів, зареєстровані в контролі та після

лікування мемантином у старих щурів. В, середні значення кількісних характеристик харчового рефлексу щурів, записані в контролі та при застосуванні медикаменту мемантин у старих щурів. Статистична значущість різниць при $P < 0,05$, $< 0,01$ та $< 0,001$ позначена однією, двома і трьома зірочками відповідно.

Контрольні молоді щури потребували вдвічі більше часу для спроби отримати їжу ($RD = 1,468 \pm 0,082$ с, $n=408$), ніж старі ($RD = 0,715 \pm 0,046$ с, $n=125$). Це можна пояснити вищою збудливістю ЦНС у молодих щурів порівняно зі старими тваринами. Кількість рухів у порожньому живильнику під час міжстимульного періоду це підтверджує. Так, у молодих щурів $RNIS = 15,32 \pm 0,63$, $n=408$ (Рис. 3.19 В), що втричі більше, ніж у старих тварин $RNIS = 5,70 \pm 0,82$, $n=125$ (Рис. 3.20 В). Цю поведінку не можна було пов'язати з різними ступенями рівня харчової мотивації, оскільки перед експериментом щурів обох вікових груп піддавали 24-годинному голодуванню. Мемантин знизив рівень харчової мотивації у обох вікових групах, оскільки показники кількості міжстимульних рухів ($RNIS$) були нижчими, ніж у контрольних тварин на 31% та 40% відповідно ($RNIS = 10,56 \pm 7,01$, $n=149$ та $3,42 \pm 0,99$, $n=53$ відповідно), Рис. 3.19В та 3.20В.

Мемантин збільшив час вилучення їжі (RT) у молодих щурів за рахунок подовження інтервалів між спробами. Так, молоді щури показали $TRr = 0,596 \pm 0,059$ с, $n=408$ в контролі, а після лікування мемантином - $TRr = 0,914 \pm 0,145$ с ($n=149$), Рис. 3.19А. У старих тварин ці значення зросли не значно: $0,221 \pm 0,038$ с, $n=125$ та $0,294 \pm 0,106$ с, $n=53$ відповідно, Рис. 3.20.А. Очевидно, мемантин має нейропротективний вплив на процеси в ЦНС, які пов'язані з інформативністю умовного сигналу, що забезпечує досягнення позитивного результату - а саме, задоволення мотиваційної потреби, навіть якщо це вимагає більше часу.

3.4. Вплив мемантину на моторні поведінкові явища у щурів різного віку

Хвороба Альцгеймера є нейродегенеративним захворюванням, що характеризується значним погіршенням пам'яті, порушеннями у емоційній сфері та втратою когнітивних і моторних функцій. Агоністи рецепторів NMDA використовуються як потенційні терапевтичні агенти для корекції вищевказаних порушень, і мемантин є одним з таких препаратів. Цей агент сповільнює прогресивний розвиток нейродегенеративних процесів. Він продемонстрував нейромодуляторну дію на моторні поведінкові явища у 2- та 13-місячних щурів, розміщених у нових умовах вільної поведінки; оцінка проводилася до та після перорального введення 10 мг/кг мемантину. У експериментах використовувалося відеозапис поведінки тварин з подальшим аналізом записів. Згідно з отриманими даними, мемантин загалом знижував моторну активність щурів, збільшував тривалість епізодів їхнього спокійного нерухомого стану та одночасно дещо збільшував інтенсивність дослідницьких явищ. Ці результати показують, що мемантин послаблює стан страху та тривожності, пов'язаних з потенційними небезпеками у незнайомому оточенні, сприяє проявам дослідницького рефлексу та прискорює адаптацію щурів до нових умов.

Хвороба Альцгеймера (ХА) — це нейродегенеративне захворювання, що характеризується поступовим розвитком дегенерації у різних структурах мозку, пов'язаних з масовою загибеллю нейронів та гліальних клітин. Це призводить до значного погіршення пам'яті, порушень у емоційній сфері та втрати когнітивних та моторних функцій (Yakhno et al., 2013). Серед гіпотез щодо патогенезу ХА найбільш широко прийнята наступна. Розлади протеїногенезу, що призводять до вироблення патологічної форми амілоїдного білка та агрегації останнього, що проявляється у вигляді накопичень амілоїду β -42, інтерпретуються як вирішальний фактор, що визначає розвиток ХА. Цей білок є нейротоксичним фактором, і збільшення екситотоксичності екситаторних нейромедіаторних амінокислот, глутамату та аспартату, є одним з відповідних механізмів (Mota et al., 2014; Rothman and Olney, 1995; Wang et al., 2013).

Вважається, що аномальні ефекти глутамату, зокрема, на рецептори NMDA є важливими факторами, що беруть участь у патогенезі ХА.

З огляду на це, пошук антагоністів рецепторів NMDA є доцільним у спробах знайти засоби для ефективного лікування гострих та хронічних нейродегенеративних захворювань. Було виявлено, що мемантин, неконкурентний антагоніст низької афінності вищезазначених рецепторів, є одним з таких препаратів. У декількох доклінічних дослідженнях на моделях нейродегенерації було виявлено, що мемантин демонструє захисний ефект щодо пошкодження клітин гіпокампу, викликаного β -амілоїдом; гіпокамп є структурою, яка безпосередньо бере участь у процесах формування пам'яті та навчання (Reus et al., 2010; Wenk et al., 1994).

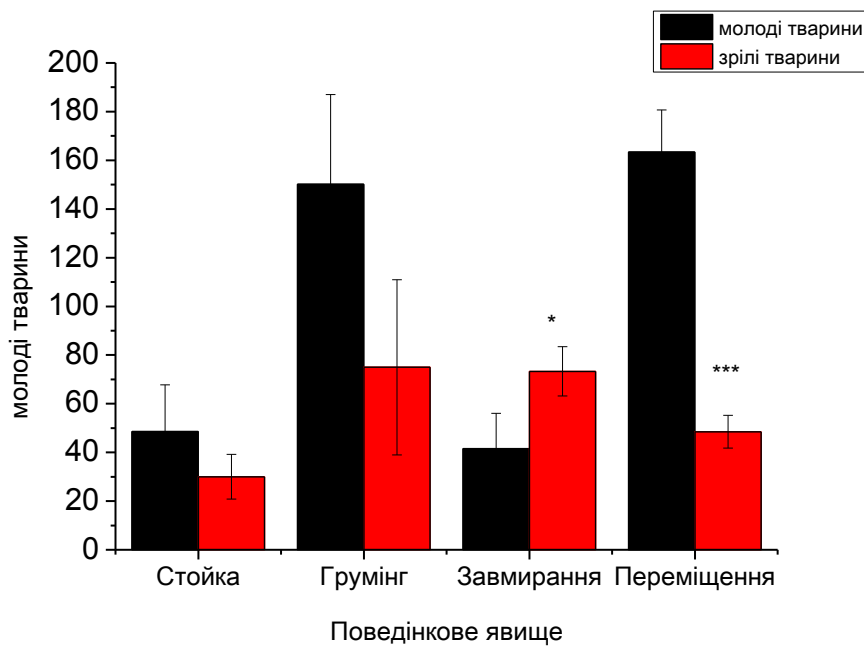


Рис. 3.21. Поведінкові явища у молодих і старих щурів.

Хвороба Альцгеймера супроводжується психопатичними явищами (емоційні розлади, підвищена тривожність, збудлива поведінка, депресія, дезорієнтація, апатія щодо навколишнього світу, проблеми з моторною активністю, втрата здатності до самостійного мислення). З огляду на це, використання експериментальних ситуацій з вимірюванням відповідних індексів може бути доцільним методом для розробки ефективних засобів

корекції явищ, пов'язаних з нейродегенерацією. Як було виявлено, вірець моторної активності та інших поведінкових явищ, продемонстрованих щурами, розміщеними у незнайомому оточенні, у значній мірі визначається їхнім психоемоційним станом (Bureš et al., 1983).

Відповідні тести можуть бути використані для оцінки ефективності різних фармакологічних агентів щодо окремих форм психоемоційних розладів. У наших експериментах ми досліджували особливості впливу мемантину на основні форми моторної та дослідницької поведінки, продемонстровані щурами різного віку.

Експерименти проводилися на самках щурів породи Вістар (вік 2 або 13 місяців, середня маса тіла 200 та 300 г відповідно). Двомісячних тварин класифікували як молодих, тоді як 13-місячних щурів вважали дорослими. Тварин утримували у стандартних умовах віваріуму, по п'ять щурів у клітці, з вільним доступом до їжі та води. Тестування поведінкових явищ проводилося шляхом розміщення тварин у коробці з непрозорими стінами та освітленням зверху. Різні поведінкові явища записувалися за допомогою відеокамери, розташованої над коробкою. Метод відеозапису, використаний у наших тестах, в деяких аспектах є аналогом широко використовуваного тесту відкритого поля. Такий підхід дозволяє дослідникам фіксувати та аналізувати кількісні показники окремих поведінкових актів, характерних для щурів, горизонтальної моторної активності (переміщення), вертикальної активності (стояння), періодів нерухомості, епізодів вичищення, та інших форм поведінки. Безпосереднє спостереження за поведінкою тварини дослідником допомагає підвищити об'єктивність отриманих результатів та зменшити вплив сторонніх факторів на цю поведінку. Відеозображення аналізувалися за допомогою програми «SitAndWait» (P. Szabo та J. Kis, Угорщина). Програма дозволяє проводити комп'ютерний аналіз параметрів поведінкових проявів. Тестування починалося з розміщення щура у центрі коробки; відеозапис проводився протягом 10,4 хвилин (624 сек). Кількість кожного поведінкового прояву (стояння, епізоди вичищення, нерухомість та переміщення) та їх тривалість вимірювалися

протягом усього періоду спостереження. Дво- та 13-місячні щури, які вперше були поміщені у коробку та не піддавалися особливим впливам, служили контролем. Тваринам основної групи попередньо перорально давали акатинол мемантин (10 мг/кг; Merz Pharma, Німеччина); запис поведінкових актів у тестовій коробці розпочинався через 60 хвилин. Числові дані оброблялися за допомогою програми «Original Pro 8.0»

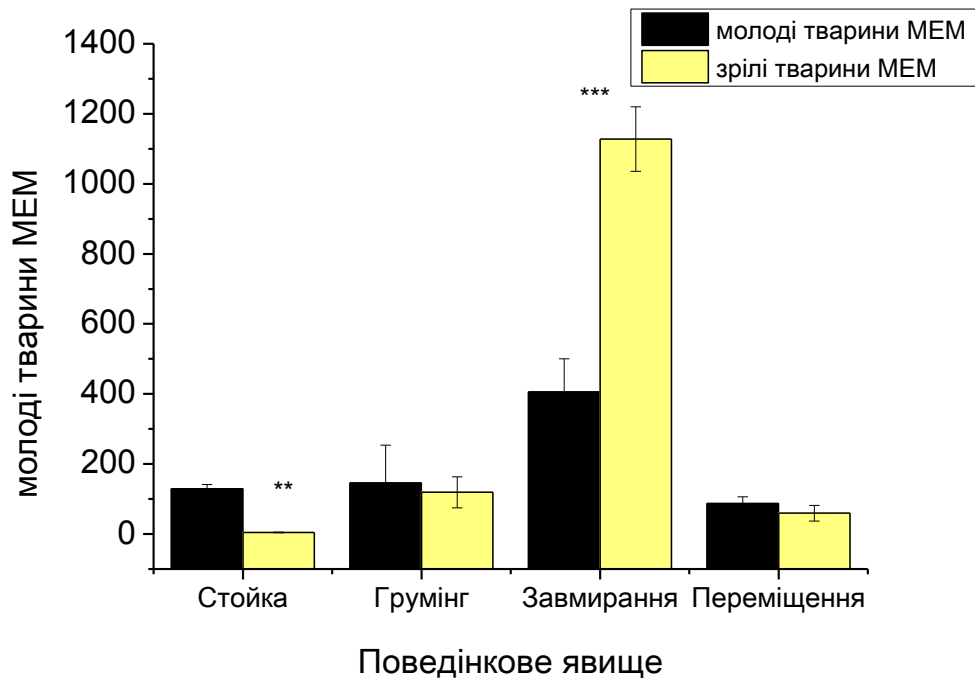


Рис. 3.22. Поведінкові явища у молодих та старих щурів, що приймали мемантин (MEM).

Контрольні щури двох різних вікових груп демонструють певну специфіку окремих поведінкових явищ, Рис. 3.21. Молоді щури були більш рухливими, ніж 13-місячні (Таблиця 3.3); інтенсивність їхньої локомоторної активності перевищувала відповідний показник дорослих щурів приблизно в три рази ($P < 0.05$). Молоді тварини виконували дещо більше стоянь, тоді як їхнє перебування у стані нерухомості протягом періоду спостереження було удвічі коротшим, ніж у дорослих щурів. Кількість епізодів вичищення у молодих щурів була близько 200% від тієї, що у старших тварин. Проте слід зазначити, що різниці в останніх трьох типах поведінки не досягли рівня значущості (що, ймовірно, було пов'язано з високою міжіндивідуальною

варіабельністю показників). Тварини зрілого віку характеризувалися відносно короткотривалою локомоторною активністю, перерivanoю рідкісними, але тривалими епізодами нерухомості.

Мемантин, в основному, мав розслаблюючий вплив на поведінку щурів обох вікових груп; збільшення тривалості епізодів нерухомості підтверджує це твердження, Рис. 3.22. Кількість нерухомостей у молодих та зрілих щурів основної групи була приблизно в 10 та 15 разів більшою, ніж у контролі, Рис. 3.23. Водночас кількість стоянь у молодих щурів групи мемантину була приблизно 260% від тієї, що у контрольних тварин. Останні поведінкові явища вважаються індексом дослідницької активності, чутливим до рівня тривожності (Bruhwyler et al., 1995).

ТАБЛИЦЯ 3.3. Вплив мемантину на поведінкові явища у щурів.*

Поведінкове явище	Кількість поведінкових подій даного типу протягом періоду спостереження			
	контроль (n = 10)		після лікування мемантином (n = 10)	
	молоді тварини (n = 5)	зрілі тварини (n = 5)	молоді тварини (n = 5)	зрілі тварини (n = 5)
Стойка	48.6±19.2	30±9.2*	129±12.7 ⁺⁺	4.4±0.9 ^{***+++}
Грумінг	150.2±36.8	75.0±36.0	145.7±107.7	119±44.2
Завмирання	41.6±14.4*	73.3±10.1*	405.7±94.4 ⁺⁺⁺	1128±92.3 ^{***+++}
Переміщення	163.4±17.3	48.5±6.7 ^{**}	86.7±19.2 ⁺	59.6±22.4*

*Примітки: показано середні значення ± стандартне відхилення. Зірочки та хрести позначають випадки значущих відмінностей між значеннями у групах молодих та зрілих щурів та у контрольній групі проти відповідної групи, що лікувалася мемантином. Один, два та три символи показують $P < 0.05$, $P < 0.01$ та $P < 0.001$ відповідно.

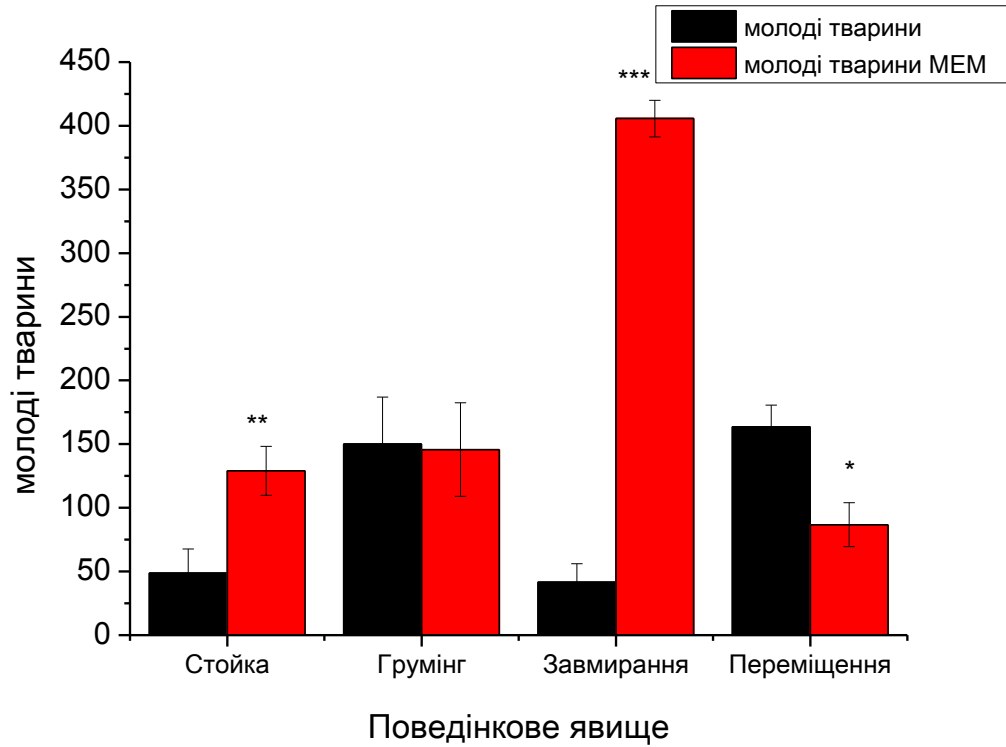


Рис. 3.23. Поведінкові явища у молодих тварин в контрольній групі та у групі, що приймала мемантін (MEM)

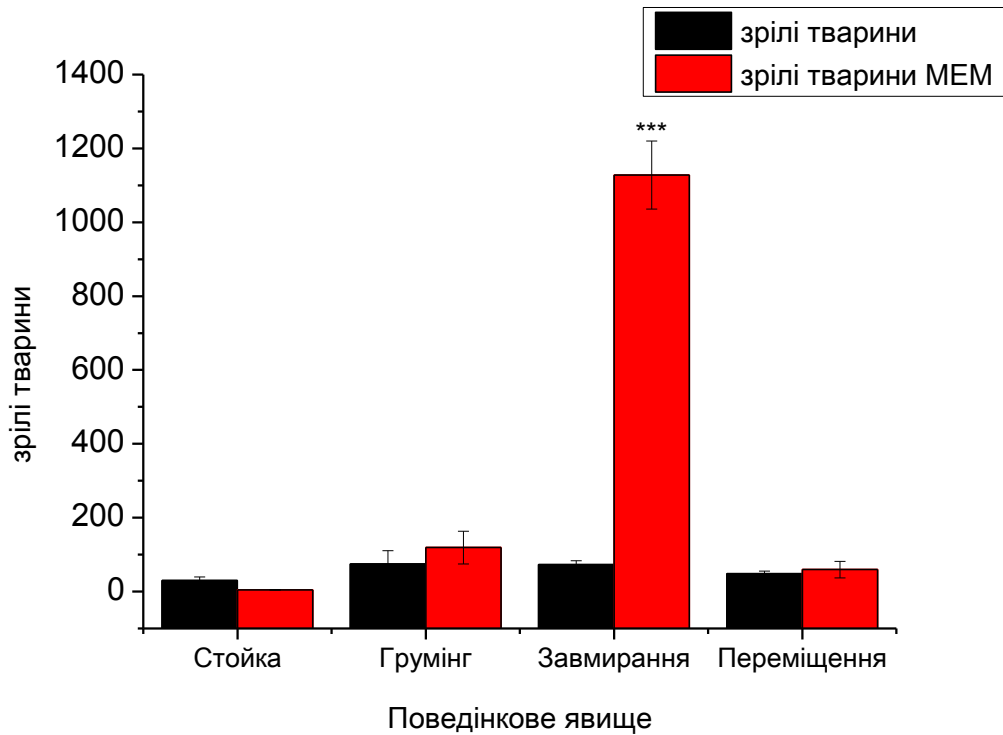


Рис. 3.24. Поведінкові явища у старих тварин, контрольна група та та, що приймала мемантін (MEM)

Напрямок змін цього індексу у зрілих щурів під впливом мемантину був протилежним; кількість стоянь різко зменшилася (до приблизно 15%). Якісні характеристики вичищення змінилися на тлі дії мемантину, Рис. 3.24. У контрольній групі ці події переважно були короткотривалими та переривчастими; це інтерпретується як індекс збудженого стану тварини, прояв стану напруження та/або конфлікту дослідницької мотивації і страху. Тривалі вичищення, що переважають у цій віковій групі на тлі мемантину, зазвичай інтерпретуються як елементи комфортної поведінки (Samokhvalov, 1993; van Egri et al., 1994). Було виявлено, що відповідні різниці цього індексу були статистично незначущими з кількісної точки зору, що також було пов'язано з великою індивідуальною варіабельністю цього типу поведінки. У тварин старшої вікової групи мемантин значно пригнічував вертикальну моторну активність. Після короткотривалого періоду інтенсифікації дослідницької поведінки на початковому етапі після того, як їх помістили у коробку, тварини у пізніші періоди переважно перебували у спокійному сидячому стані аж до кінця експерименту. Згідно з результатами експериментів з примусовим плаванням та тими, що були показані у класичному тесті відкритого поля (Miguel-Hidalgo et al., 2002; Rogoz et al., 2002; Skuza and Rogoz, 2003), мемантин також демонстрував ефекти, які можна було б кваліфікувати як антидепресивні.

Таким чином, збільшення часу перебування щурів обох вікових груп у спокійному нерухомому стані та модифікації інших поведінкових явищ під впливом мемантину показують, що рівні страху та тривожності в таких тваринах знижуються. Цей ефект сприяє їхній більш швидкій адаптації до нових умов. Отже, протестований неконкурентний антагоніст рецепторів NMDA досить значно впливає на моторно- та емоційно-залежні поведінкові явища у щурів.

3.5. Мемантин та Реакції Активного Уникнення у Щурів

Навчання активного уникнення є фундаментальним поведінковим феноменом, теоретичні та практичні аспекти якого продовжують привертати значну увагу нейрофізіологів. Як і в інших варіантах інструментального умовлювання, тварин навчають контролювати використання безумовного сигналу (UCS) за допомогою відповідних реакцій на попередні умовні сигнали (CS). Перший етап навчання, як правило, полягає у реакції втечі, яка припиняє дію UCS. Після продовженого навчання, попереджувальні реакції дозволяють тварині повністю уникнути UCS (Kasenov et al., 2016).

Класичним варіантом експериментальної моделі реакції уникнення є камера-шатл (Wadenberg, 2010). «Камера-шатл» - це коробка, розділена на дві частини перегородкою з отвором посередині. Камера також має електрифіковану підлогу, на яку подається напруга після подання CS. Електрична напруга вимикається, коли щур переходить в протилежний відсік камери. Коли процедуру тренування кілька разів повторюють у камері, у щура розвивається умовлений рефлекс уникнення, що означає, що тварина навчається переходити на протилежний бік камери після подання CS. Як CS використовується світловий та звуковий імпульс на частотах, характерних для слухового аналізатора гризунів (2-4 кГц). Згідно з літературою, високочастотні сигнали служать сигналом тривоги у тварин, що співпадає з природою застосування експериментальної установки, мотивуючи тварину ефективно виконувати тестові завдання (Nemets et al., 2018).

Реакції переходу є генетично визначеною формою відповіді у щурів, тому можливо виміряти здатність до навчання на основі поведінкових характеристик. Експериментальне дослідження проводилося на 10 самцях щурів породи Вістар, віком 1 місяць, вагою від 81 до 119 г. Джерело та місцезнаходження лабораторних тварин - віваріум Інституту Фізіології ім. О.О. Богомольця (температура повітря - 23-25°C, освітлення - у приміщенні 100 люкс, у клітці - 20-40 люкс). Термін акліматизації тварин становив 1 тиждень.

Тварин розділили на 2 групи - контрольну та експериментальну, по 5 тварин в кожній групі. Тварини першої групи отримували водний розчин цукру, а другої - водний розчин гідрохлориду мемантину (торгова назва Метох 20, виробник Acino, Швейцарія) у дозі 20 мг/кг перорально за годину до експерименту. Ми оцінювали вплив препарату на поведінку тварини, порівнюючи експериментальну групу з контрольною.

Обладнання: використовувалася прямокутна камера (45 × 22 × 22 см) з прозорими стінами та електрифікованою підлогою. Вона була розділена стіною з проходом на два відсіки. В кожному відсіку були встановлені червоні лампи потужністю 20 ватт, вмонтовані у стелю. Як додаткове джерело світла використовувалася розжарювальна лампа потужністю 100 Вт, встановлена на відстані 50 см від експериментального устаткування.

Експеримент проводився за стандартною процедурою (Bureš and others 1983). Тварині дозволяли оглянути камеру протягом 5 хвилин, вільно переміщаючись між відсіками. Далі в відсіку тварини вмикався світло, і на 2 секунди подавався звуковий сигнал (CS). Через 5 сек після CS на решітку підлоги освітленого відсіку подавалася електрична розрядка (UCS). Параметри струму - 0,5 мА, тривалість кожного електродермального стимулу 4 с. Після інтервалу сигналу (30 секунд) процедуру повторювали. Кожна тварина виконувала 20 циклів на день. Тестування проводилося протягом 5 днів, а потім один раз на тиждень протягом 4 тижнів. Перехід щура до іншого відсіку під час або відразу після звукового сигналу вважався успішним уникненням, а після застосування електродермального стимулу - втечею. Завмирання тварини на місці вважалось помилковою реакцією.

Таблиця 3.4

Показники реакції активного уникнення у контрольній та експериментальній групах

Дні	Контрольна група			Експериментальна група		
	Кількість	Кількість	Кількість	Кількість	Кількість	Кількість

	активних уникнень	втеч	ПОМИЛКОВИХ реакцій	активних уникнень	втеч	ПОМИЛКОВИХ реакцій
1	3.2±0.7	3.0±0.4	13.8±0.8	3.0±1.1	2.6±0.6	14.4±1.6
2	14.6±1.0	1.2±0.4	4.2±1.0	11.0±2.4	2.0±0.9	7.0±1.8
3	17.0±0.7	1.0±0.9	2.0±0.5	16.0±1.3	1.2±0.7	2.8±0.7
4	16.4±1.7	1.0±0.7	2.6±1.2	15.2±1.4	1.6±0.8	3.2±1.3
5	3.0±1.3	2.8±1.3	14.2±2.2	14.6±2.2	1.0±0.5	4.4±2.0
11	9.2±3.9	0.6±0.3	10.2±3.9	12.2±1.7	1.0±0.6	6.8±1.4
19	0.6±0.7	0.4±0.4	19.0±1.1	4.0±3.4	0.4±0.4	15.6±3.9
25	3.0±2.6	0.6±0.4	16.4±3.0	10.2±4.0	1.0±0.6	8.8±4.3
32	2.0±1.1	0.6±0.7	17.4±1.6	7.2±3.9	1.8±0.7	11.0±4.3

Показано середні значення та стандартні помилки

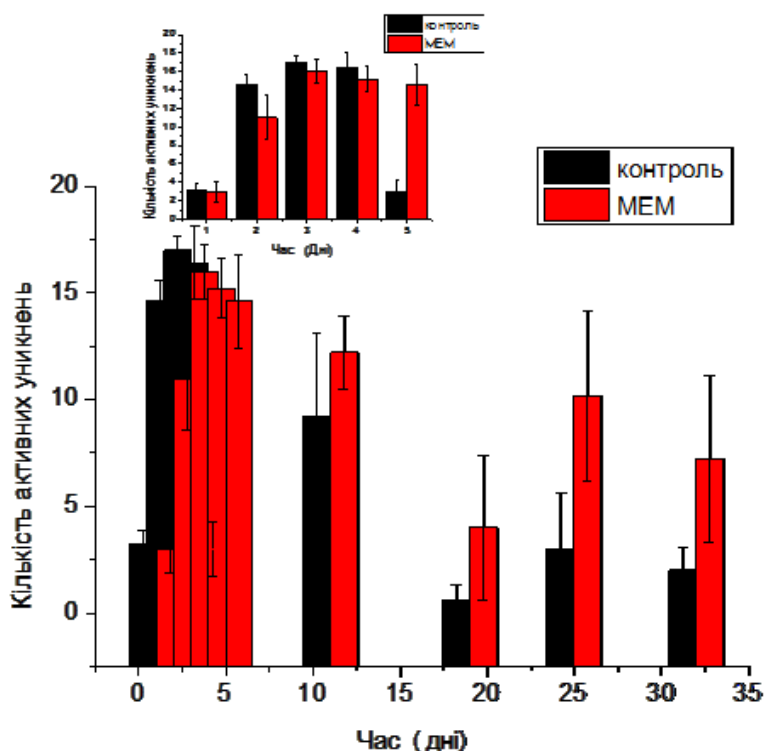


Рис. 3.25. Вплив мемантину на активні уникнення. Вставка – дані за перших 5 днів експерименту

Під час експериментів стало очевидним, що у обох групах, контрольній та експериментальній, щури по-різному проявляли реакцію страху на дію

умовного стимулу (електрична дія). Деякі з них краще навчалися, а деякі у більшості тестів проявляли реакцію завмирання протягом усього періоду. У перші чотири дні у контрольній групі щури були незначно, але в середньому успішніші в активному уникненні та проявляли менше помилкових реакцій завмирання на умовні та безумовні стимули.

Однак, вже на п'ятий день експерименту щури, що отримували мемантин, значно перевершили показники контрольної групи. Кількість помилкових реакцій у щурів, які отримували мемантин, значно знизилася, а реакції уникнення значно перевищили контрольну групу. Середня кількість активних уникнень у них була в 4.8 рази вища (Рис. 3.25), а кількість помилкових реакцій у 3.2 рази нижча, див. Таблицю 3.4. Така ж тенденція зберігалася при визначенні тривалості виробленого безумовного рефлексу активного уникнення (URAA) з інтервалами в один тиждень (). У середньому через один тиждень після останнього тесту п'ятиденного циклу (11-й день експерименту), щури контрольної групи показали кількість активних уникнень лише в 2.8 рази більше, ніж у перший день та в 1.3 рази менше, ніж попередні щури, які отримували мемантин. Тварини в експериментальній групі на 11-й день експерименту в середньому показували активне уникнення в 4 рази частіше, ніж у перший день. Кількість помилкових реакцій у контрольній групі на 11-й день була в 1.5 рази більша, ніж у експериментальній групі, див. Таблицю 1.

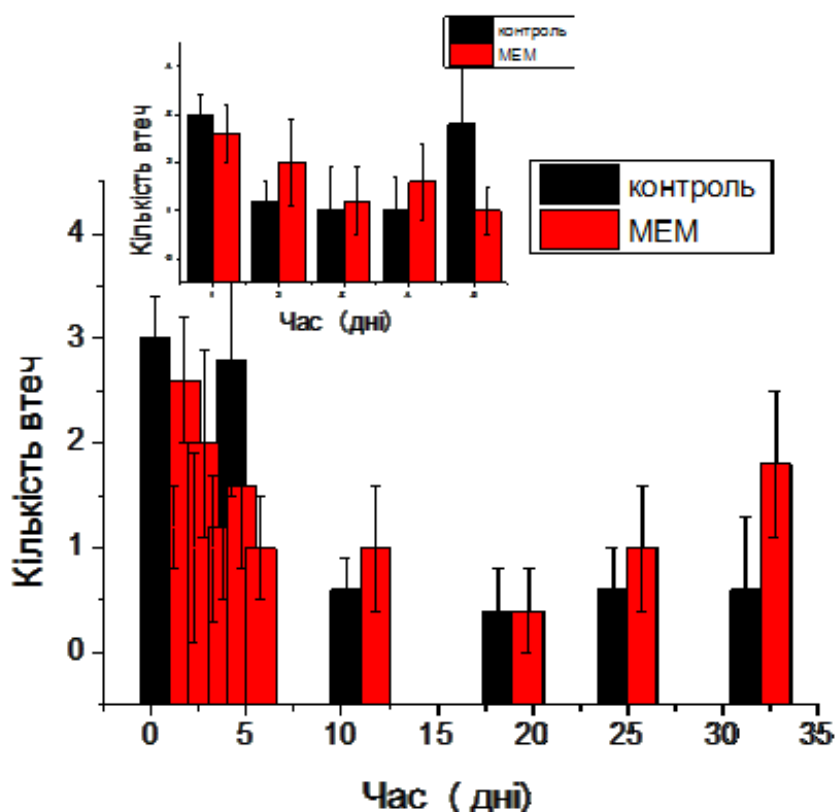


Рис. 3.26. Вплив мемантину на кількість втеч. На вставці показано дані за перших 5 днів.

Загалом, експеримент показав, що тварини, які споживали мемантин, виконували активне уникнення в 1,3 рази частіше, ніж тварини в контрольній групі (Рис. 3.26), а кількість помилкових реакцій у них також була на 1,3 рази меншою, ніж у контролі (Рис. 3.27).

Одним з найефективніших способів оцінки когнітивних здібностей гризунів під стресом є метод активного уникнення в камері-шатл (Bureš et al., 1983). Тест активного уникнення є поведінковим завданням, широко використовуваним у нейробіології для оцінки різних форм набутих умінь уникнення у гризунів. Він базується на здатності тварин адаптувати свою поведінку в залежності від попереднього досвіду. Реакція уникнення є генетично обумовленою формою відповіді на стимули. Її формування залежить від багатьох факторів та має різну вираженість у різних індивідів.

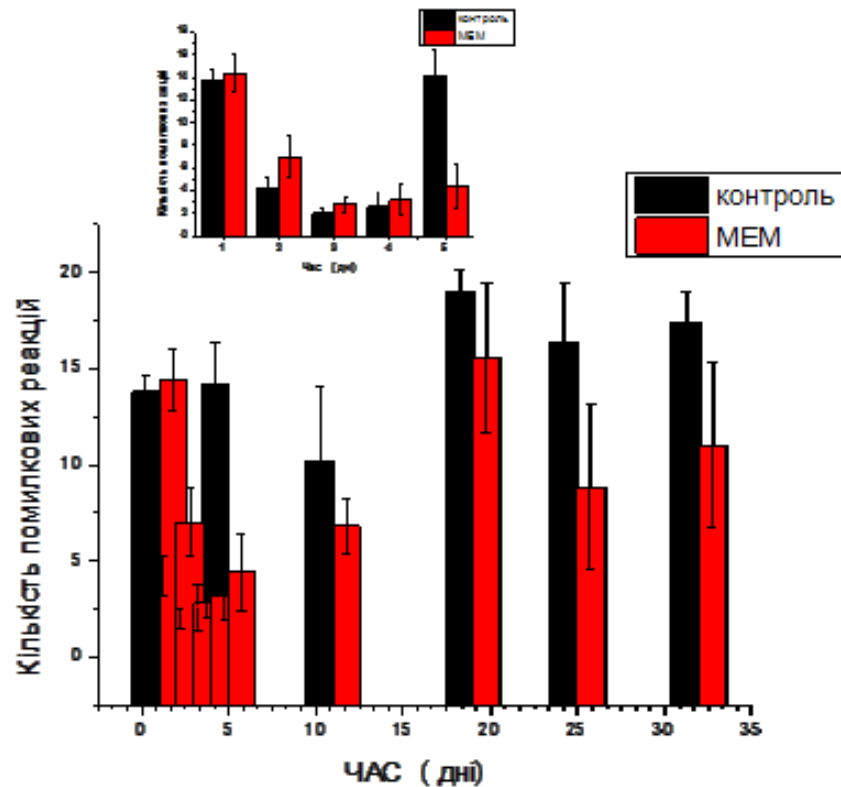


Рис. 3.27. Вплив мемантину на кількість помилкових реакцій. На вставці показані дані перших 5 днів.

Незважаючи на попередню гіршу, порівняно з тваринами контрольної групи, здатність до навчання, яка була помітною у перші дні експерименту, тварини експериментальної групи під впливом мемантину сформували більш стійкий рефлекс уникнення. Ми також спостерігали виражений кумулятивний ефект препарату. Мемантин добре переноситься, покращує здатність до навчання та мотиваційні характеристики поведінки, знижує тривожність і страх, що в цілому можна описати як адаптивно-стимулюючий ефект.

3.6. Вплив мемантину на тест пасивного уникнення

Відомо, що хвороба Альцгеймера є тривалим прогресуючим нейродегенеративним захворюванням, яке погіршує пам'ять і когнітивні функції та часто ускладнюється дезорієнтацією та іншими психіатричними синдромами. Це найбільш поширена причина деменції (2020). Наразі існує кілька гіпотез, пов'язаних з етіологією цього захворювання. Найвідомішими з

них є амілоїдна, ацетилхолінова, кальцієва, мітохондріальна та інші (Hascup et al., 2020). У наших попередніх експериментах ми показали роль мітохондрій у дії амілоїду- β на нервові та гліальні клітини при моделюванні ХА (Kravenska et al., 2016; Kravenska et al., 2020). Ми також тестували медичний препарат мемантин, який використовується у лікуванні ХА, на поведінкові реакції щурів різного віку (Gorbachenko et al., 2014; Kruchenko et al., 2014; Tyshchenko and Lukyanetz, 2017a). Також проводилися експерименти, які показали залучення іонів кальцію та каналів кальцію нейронної мембрани в механізми дії амілоїду- β (Korol et al., 2009; Kostiuk et al., 2010).

На сьогодні для лікування ХА використовується кілька препаратів, і серед них мемантин використовується для поліпшення стану пацієнтів з ХА. Цікаво, що мемантин є єдиним препаратом, схваленим FDA для лікування ХА, який не є інгібітором ацетилхолінестерази (Yiannopoulou and Parageorgiou, 2020). Цей препарат є неконкурентним, з низькою до середньої афінністю антагоністом рецепторів NMDA глутамату в мозку. Основним механізмом дії мемантину вважається блокування потоку іонів Ca^{2+} через пори іонних каналів, які керуються рецептором NMDA, зменшуючи ефекти екситотоксичного викиду глутамату. Мемантин має вищу афінність, ніж іони Mg^{2+} на рецепторі NMDA, тим самим блокуючи тривалий притік Ca^{2+} , але зберігаючи транзиторну фізіологічну активацію іонних каналів активністю, залежною від синаптично вивільненого глутамату (McShane et al., 2019).

Мемантин також є антагоністом серотонінового рецептора типу 3 (5-HT₃) і антагоністом нікотинного ацетилхолінового рецептора з низькою афінністю, але не зв'язується з іншими рецепторами нейрологічних або психіатричних препаратів, такими як адренергічні, бензодіазепінові, дофамінові, ГАМК-рецептори або напругозалежні кальцієві, натрієві або калієві канали (Kuns et al., 2020). Тому, згідно з механізмом його дії, дія мемантину може бути віднесена до запобігання екситотоксичності глутамату та, в кінцевому підсумку, до кальцієвої гіпотези. Відомо, що пам'ять найбільше вражається у пацієнтів з ХА. Тому, щоб визначити ефективність дії мемантину, логічно використовувати

спеціалізовані поведінкові тести на пам'ять та навчання у тварин. Серед інших тестів використовується пасивний тест на уникнення "Спуск" (Krupotos et al., 2015; Ogren, 2015; Zavvari and Karimzadeh, 2017), який є тестом, що підсилює страх, використовується для оцінки навчання та пам'яті у гризунів, моделях порушень ЦНС. У цьому тесті тварини вчаться уникати середовища, в якому раніше був доставлений негативний стимул (наприклад, електричний шок). Цей тест широко використовується для доведення ефективності препаратів (Krupotos et al., 2015) або інших впливів, таких як гіпоксія тощо (Vataeva et al., 2004).

Раніше було показано, що мемантин має індивідуальний терапевтичний ефект на пацієнтів. Деякі з них підтвердили його ефективність, інші заперечували її (Dementia-Australia, 2016). Тому метою цих експериментів було випробування впливу мемантину на процеси пам'яті у молодих щурів, щоб визначити, чи справді мемантин впливає на процеси пам'яті, чи його дія спрямована на інші супутні процеси.

Експерименти проводилися на самцях щурів породи Вістар віком від 1 до 3 місяців, вагою від 80 до 280 г. Щурів утримували в стандартних умовах віварію (температура 23–25°C). Тварини були поділені на контрольну та експериментальну групи (по 5 особин у кожній). Використовувався мемантин (офіційна форма Акатинол Мемантин). Водний розчин мемантину вводили в дозі 20 мг/кг перорально за 1 годину до експерименту.

Ми використовували стандартний протокол, тест пасивного уникнення "Step-down" (PAT), який детально був описаний раніше (Buresh, 1991). Ми використовували коробку для експериментів "step-down" (15×25×25 см) з піднятою пластиковою платформою. Тест пасивного уникнення використовується для оцінки функції пам'яті на основі асоціації, що формується між певним середовищем, якого тварина навчається уникати, та негативним стимулом у вигляді слабкого електричного удару до лап. Суть методу полягає в тому, що коли щура поміщають на підняту платформу в центрі прямокутного простору, майже відразу він починає спускатися на підлогу, щоб досліджувати

простір і підходити до стін. Час, який тварина витрачає на спуск, використовується для кількісної оцінки цього процесу. Як тільки тварина потрапляє на електрифіковану сітчасту підлогу, надається сильний електричний удар до лап. Здатність гризуна пам'ятати цей факт перевіряється шляхом повторного поміщення тварини на платформу. Тварина змінює свою поведінку, щоб уникнути електричного удару; це проявляється у збільшенні тривалості періоду зволікання або відмові спускатися. Латентність використовується для оцінки пам'яті. Збільшення або зменшення латентності дозволяє отримати оцінку поліпшення або погіршення пам'яті та процесів навчання. Дані представлені як середні значення \pm стандартна помилка (SE). Статистична значущість різниць між значеннями в контрольній і обробленій групах оцінювалася за допомогою t-критерію Стьюдента; випадки з $P < 0,05$ вважалися статистично значущими.

В наших експериментах пластиковий диск діаметром 15 см і висотою 5 см був прикріплений у центрі камери з ґратчастою підлогою і був рухомим. Критичним моментом було розміщення тварини на платформі. Ми не розміщували щура безпосередньо на платформі, оскільки бажання уникнути контакту з рукою експериментатора може скоротити період латентності відкликання. Крім того, час відпускання тварини від контакту з руками є досить неточним; також вплив експериментатора може вплинути на час. Щоб подолати ці труднощі, ми розміщували тварину в скляній циліндричній ємності, що закривала пластикову платформу. Порожній скляний циліндр висотою 30 см і діаметром 20 см легко надівся на цю круглу платформу. Піддослідного щура розміщували в циліндрі на платформі (Рис. 3.28). І тварину відпускали через 10 с, швидко піднімаючи циліндр. Після підняття циліндра з твариною на платформі починався відлік латентного часу.



Рис. 3.28. Платформа, з якої щур зіходить. Також показаний циліндр, що обмежує її. Стрілка вказує на те, що циліндр піднятий.

Першою фазою було "знайомство", яке полягало у розміщенні тварини на платформі, як описано вище. Потім вимірювали час латентності відкриття (t_l). Період латентності вимірювали з моменту, коли тварина зійшла на підлогу, до моменту, коли вона зняла всі чотири лапи з платформи. Після цього тварину розміщували у житлову клітку. Цю процедуру повторювали 3 рази з інтервалом у 30 хвилин. Можна бачити, що t_l зменшувався з кожним досвідом, оскільки тварина звикала до нового середовища. Великі первісні затримки зі спуску тварини з платформи асоціювалися з коливаннями у прийнятті рішень. Під час другого та третього випробувань середні значення латентного періоду спуску зменшувалися. Це пов'язано з набутим досвідом спуску з платформи. Експерименти показали дві групи щурів, які відрізнялися за часом, протягом якого вони залишали платформу (t_l), див. Рис. 29, А. Деякі тварини виконували свій спуск швидше, інші повільніше. Відомо, що поведінка щурів має багатонаправлений характер: активні щури мають виражену орієнтаційно-дослідницьку реакцію на незнайоме середовище, в результаті чого вони швидко

приймають рішення та є ініціативними (щур 1, 3, 5 у нашому випадку, Рис. 29, А). Тварини з переважанням пасивно-захисної реакції на нові ситуаційні умови (відзначається виражена вегетативна складова) приймають рішення повільніше (щур 2 і 4 на Рис. 29, А). На рисунку 29, Б показані середні значення t_l , які склали 20.88 ± 7.83 , 9.05 ± 3.44 та 6.19 ± 2.04 с для 1, 2 та 3 послідовних випробувань відповідно.

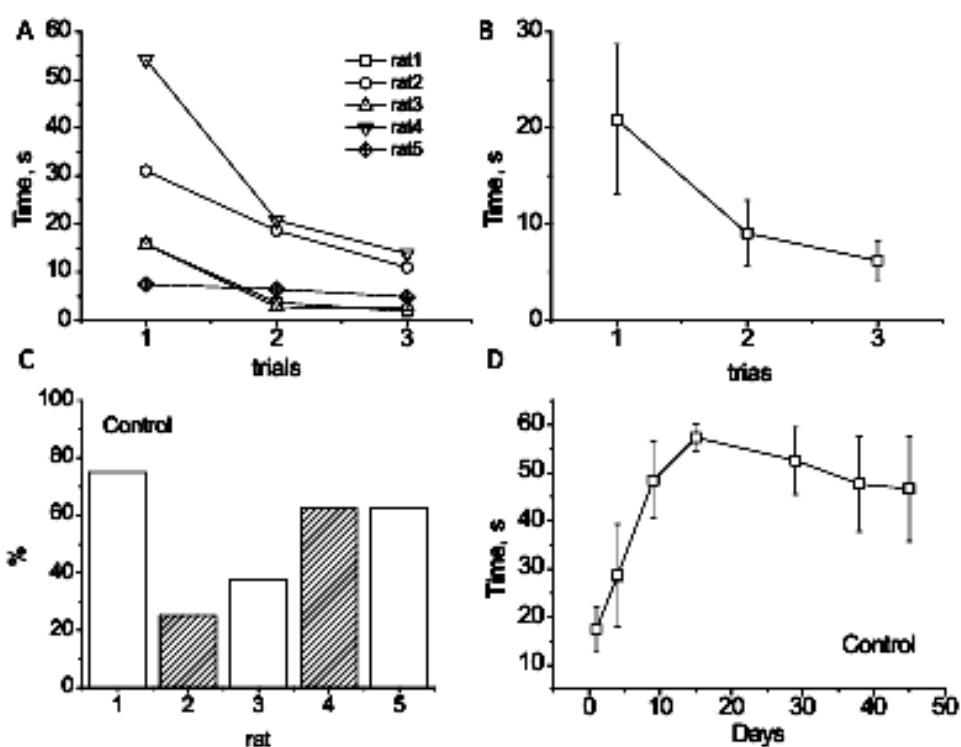


Рис. 3.29. Реакції контрольної групи щурів на тест пасивного уникнення "Спуск". А, етап експерименту "ознайомлення". Представлено латентний час спуску (t_l) для кожної спроби (1, 2, 3) для кожного тестованого щура. Б, середній латентний час спуску. В, успіх виконання тесту кожним щуром (перебування на платформі більше 1 хвилини). Стовпці з візерунком вказують на групу з пасивним фенотипом. Г, Зміни середнього значення латентного часу спуску (t_l) за тривалий період.

У наступних експериментах ми провели етап "тренування". Як тільки щур зійшов з платформи у третьому випробуванні, на сітчасту підлогу протягом 1 секунди подавалася струм (50 Гц, 0,4 мА), після чого тварин повертали до житлової клітки. Важливим моментом є таймінг електричного струму. Струм не подавався при першому контакті тварини з підлогою, оскільки легкий дотик передніми лапами не забезпечує потрібної інтенсивності електричного шоку. Тому струм увімкнули, коли тварина стояла на сітчастій підлозі, усіма чотирма лапами. Електричний шок, застосований відразу після третього спуску, викликав виражену реакцію страху, що характеризувалася затуханням, падінням на підлогу, стрибками, роздуванням хутра та важким диханням. Коли щур знаходив платформу, він залишався на ній нерухомим або робив дослідження та стрибки у вертикальному напрямку (вставав на задні лапи, нюхав), але уникав спуску на сітчасту підлогу. У більшості тварин латентний період спуску перевищував 1 хвилину. Хоча деякі тварини бігали навколо, не розуміючи, що їм потрібно піднятися на платформу.

Наступним етапом був етап "відтворення" рефлексу. Через 24 години щурів знову розміщували на платформі, і вимірювали латентний період спуску. Тестування завершувалося, коли тварина спускалася або залишалася на платформі більше 1 хвилини. Єдиним вимірюваним параметром була затримка спуску. Ці "відтворювальні" експерименти повторювали приблизно раз на тиждень. Експерименти показали, що виконання тесту щурами є досить індивідуальним. Відображення відсотка успішних тестів ($y\%$) від усіх спроб для кожного щура показано на Рис. 29, С. На рисунку показано індивідуальне виконання тесту на уникнення. Можна побачити, що більш успішним був щур 1, а більше невдач мав щур 2. Як видно, виконання цього тесту не корелювало з тим, чи належить тварина до активного або пасивного фенотипу (Рис. 29, А).

Затінені стовпці відповідають пасивному фенотипу. На рисунку 29, D представлені середні значення t_l , отримані від контрольної групи протягом семи тижнів. Як видно, середні значення t_l у контрольній групі на початку були маленькими ($17,45 \pm 4,78$ с), потім поступово збільшувалися, досягаючи

максимуму ($57,33 \pm 2,67$ с) протягом двох тижнів, потім злегка знизилися ($46,69 \pm 10,94$ с). Відзначалося помітне розсіювання даних через індивідуальні особливості тварин (Рис. 29, С). У наступних експериментах ми тестували групу з мемантином. Використовувався той самий експериментальний протокол, і вимірювання проводилися в ті ж дні, що і в контрольній групі. На першому етапі, "ознайомлення", було доведено, що щури також поділяються на дві групи, що відрізняються за фенотипом, Рис. 30, А. На рисунку показано, що 1-й і 2-й щури належали до активного фенотипу, а 3, 4 і 5 - до пасивного. Однак усі групи демонстрували менший час покидання платформи, ніж контрольна група. Ми виявили, що середні значення t_l для всіх трьох спроб були близькими за значенням і мало відрізнялися одне від одного на відміну від контрольної групи, в якій послідовні значення зменшувалися експоненційно (Рис. 29, Б). Їхні значення становили 9.8 ± 3.61 , 8.35 ± 2.63 і 8.5 ± 3.46 с відповідно для 1-го, 2-го та 3-го спроб, Рис. 30, А.

Зазначимо, що час першої спроби значно коротший, ніж у контрольній групі, і відрізняється більш ніж удвічі, Рис. 31, А. Можна побачити, що середні значення t_l майже однакові для всіх трьох тестів (Рис. 30, Б). У групі з мемантином тварини також були представлені активними та пасивними (Рис. 30, А). Як і в контрольній групі, виявилось, що фенотип не корелює з успіхом тварин у тесті на пасивне уникнення (Рис. 30, С). На Рис. 30, С показано індивідуальний успіх у виконанні тесту у щурів. Можна побачити, що успіх окремих тварин значно варіювався; найуспішнішим був щур 3, менш успішним - щур 4. Однак слід зазначити, що час затримки на виході з платформи значно зменшився у всій групі (Рис. 30, Б). Особливо це стосувалося першої спроби на етапі "ознайомлення". Середній час затримки зменшився вдвічі і становив 9.8 с (Рис. 31, А). Це явище можна пояснити тим, що щури стали більш рішучими і менш боязкими перед невідомим середовищем під впливом мемантину. Середні значення затримки протягом тривалого періоду вимірювань представлені на Рис. 30, Д. Можна побачити, що середній час, проведений щурами на платформі, збільшується, досягаючи

середнього значення для всіх тварин 50 с, що вказує на консолідацію рефлексу пасивного уникнення у часі.

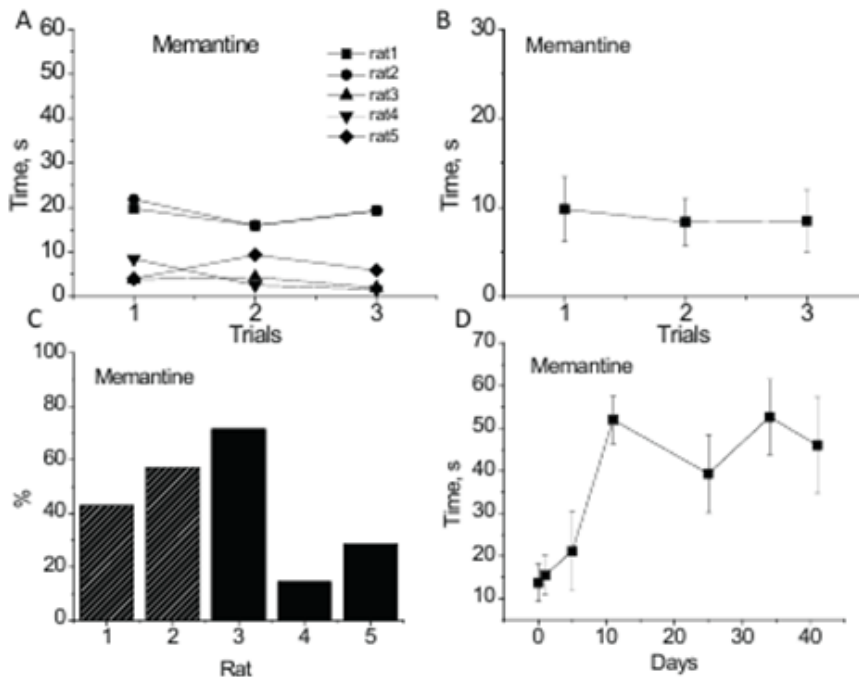


Рис. 3.30. Реакції групи щурів, які отримували мемантин, на тест пасивного уникнення "Спуск". Опис такий самий, як на Рис. 29, лише з групою щурів, які отримували мемантин.

Узагальнені дані про успіх тесту на пасивне уникнення шляхом спуску з платформи представлені на Рис. 31, Б. На Рис. 31, С показано, що успіх щурів групи з мемантином нижчий, ніж у контрольної групи. Зменшення часу затримки у щурів, які отримували мемантин, можна пояснити впливом цього препарату на їхню емоційність. Таким чином, тварини з групи мемантину добре запам'ятали, що не слід спускатися на підлогу з платформи. Однак, замість того, щоб сидіти нерухомо на платформі, вони були надзвичайно активними у уникненні перебування в експериментальній камері. Вони ставали на задні лапи і постійно стрибали, намагаючись вискочити з експериментальної камери. Під час цих стрибків вони опинялися за межами платформи. В результаті були зафіксовані показники латентного часу, які мали менші значення. Останнє також вплинуло на оцінку успіху тесту.

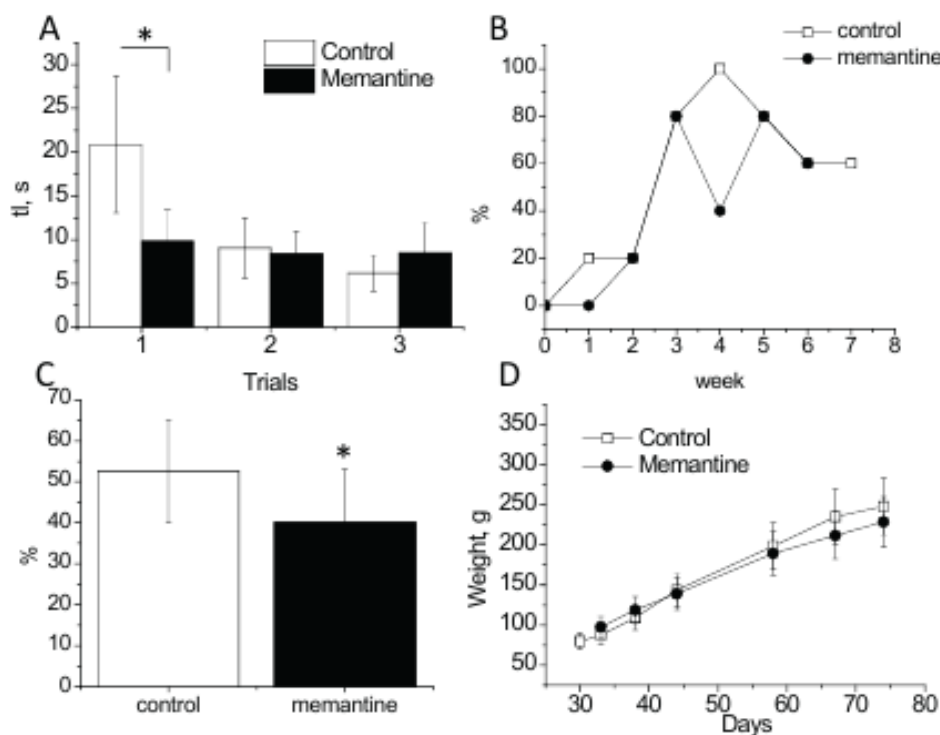
Слід зазначити, що мемантин не суттєво впливав на зміни в наборі ваги тварин (Рис. 31, Д), хоча і мав тенденцію до уповільнення приросту ваги. Останнє може бути пов'язане з більшою емоційністю цієї групи. Підсумовуючи отримані дані, можна зробити висновок, що мемантин впливає на поведінку молодих щурів. Перш за все, він вплинув на емоційність щурів, спричиняючи їхню мобільність, пошукову активність, паніку тощо. Також помітно, що мемантин мав індивідуальний вплив на тест пасивного уникнення. Деякі щури стали дуже емоційними, і в очікуванні електричного удару вони поводитися панічно, намагаючись вискочити з експериментальної камери. У контрольній групі ми цього не спостерігали.

Цікаво, що ефект мемантину також може бути індивідуальним у людей. Так, деякі пацієнти відзначали поліпшення свого стану при використанні мемантину, інші не помічали ефекту (Dementia-Australia, 2016). Рандомізовані контрольовані випробування мемантину у пацієнтів з Альцгеймерівською хворобою (ХА) показують дуже різні результати. З певною обережністю можна зробити висновок, що можливі ефекти більші у пацієнтів з помірною до важкою ХА, ніж у пацієнтів з легкою до помірною ХА (van Marum, 2009). Таким чином, виявлено важливі відмінності в ефективності мемантину при легкій ХА у порівнянні з помірною або важкою ХА. Є невелика клінічна користь від мемантину у людей з помірною або важкою ХА, яка виникає незалежно від того, чи отримують вони також інші лікування, але немає користі у людей з легкою ХА (McShane et al., 2019).

Мемантин є одним з небагатьох препаратів, які наразі схвалені для лікування Альцгеймерівської хвороби (ХА). Вважається, що клінічні ефекти мемантину пов'язані з інгібуванням рецепторів NMDA. Дивно, але інші блокатори рецепторів NMDA мають неприйнятні побічні ефекти, що перешкоджають їх використанню для лікування ХА. Один з механізмів, запропонованих для пояснення терапевтичних переваг мемантину, включає переважне зниження збудливого імпульсу до інгібіторних нейронів у кортикальних ланцюгах та наступні зміни у балансі між збудженням та

інгібуванням. Дослідження Повишевої та Джонсона виявили новий механізм дії мемантину, пов'язаний зі зсувом цього балансу від інгібування в неокортикальній мережі (Povyshева and Johnson, 2016). Це може пояснити наші результати, коли група щурів з мемантином стала більш емоційною, зсуваючись у бік більшої збудливості.

Рис. 3.31. Порівняння параметрів контрольної та тестової груп щурів, які отримували мемантин. А, середні значення успішного



виконання тесту на уникнення спуску (перебування на платформі більше 1 хвилини) було записано протягом декількох тижнів. Б, показані середні значення успішного виконання тесту на уникнення спуску для всіх тестів. В, показані середні значення латентного часу (tl) на етапі "ознайомлення" експерименту в контрольній та групі з мемантином. Г, показані середні значення змін ваги тіла контрольної та групи з мемантином. Світлі символи – контрольна група, темні – група з мемантином. Значущість різниці при $P < 0.05$ позначено зірочкою.

3.7. Вплив авандамету на умовний харчовий рефлекс у щурів

Всі експериментальні процедури були проведені відповідно до Директиви Європейської Комісії (86/609/ЕЕС) та етичних настанов Міжнародної Асоціації для Вивчення Болю і були затверджені місцевою Етичною Комісією з Питань Тварин О.О. Богомольця Інституту Фізіології (Київ, Україна). Були вжиті всі заходи для мінімізації кількості та страждань використовуваних тварин. Експерименти проводились на самках щурів породи Вістар віком 3 та 15 місяців, вагою 180-220 г. Щурів утримували в стандартних умовах віваріуму (температура 23-25°C). Тварин розділили на контрольну та експериментальну групи молодих і старих (по 5 особин у кожній).

Використовувалась АВД (Розіглітазону Малеат та Метформіну Гідрохлорид) від Glaxo Smith Kline, Іспанія. Водний розчин АВД вводили дозою 4 мг/кг перорально за 1 годину до експерименту.

Умовний харчовий рефлекс формувався у автоматизованій експериментальній камері (автоматизований пристрій), яка складалася з основного (30 × 25 × 25 см) та харчового (15 × 25 × 25 см) відсіків, між якими була прозора стінка з отвором, що закривався для доступу до обертового автоматичного кормушки з кульками їжі. На передній стінці основного відсіку зверху знаходився джерело умовного звукового сигналу (60 Дб). Після трьох днів адаптації (звикання тварини до експериментальної камери) на четвертий день тварин поміщали в основний відсік. Після включення умовного сигналу вікно харчового відсіку відкривалося на 5 секунд, і тварині дозволялося вільно пересуватися. У разі підходу до кормушки з сигналом, щур отримував їжу. Один експеримент включав 10 проб, розділених інтервалами в 60 секунд. Під час тестування оцінювали кількість правильних відповідей (рівень диференціації), тривалість реакції на здобування їжі та її компоненти.

Ми використовували автоматизований пристрій та програмне забезпечення, розроблене нами (Gorbachenko et al., 2014; Gorbachenko et al., 2015) для реєстрації окремих компонентів сенсомоторної реакції (СМР). Принцип

реєстрації поведінки базувався на роботі інфрачервоних датчиків, які реєстрували рух лапи щура у отворі кормушки.

У щурів, розміщених у головній коробці, була розвинена навичка, у відповідь на короткий звук, робити пошукові рухи лапою в порожній кормушці, яка після 2 секунд посилювалася годуванням. Інтервал між окремими презентаціями звуку становив 30 секунд. Реєструвався часовий перебіг експерименту та відповідні часові показники. Використовуючи цю систему та програмне забезпечення, ми реєстрували та аналізували наступні показники СМР: t_l - латентний період, час до першої спроби отримання їжі після звукового стимулу; t_r - перебування лапи у вікні з їжею перед подачею їжі; RD - середній час перебування лапи у кормовій клітці під час окремої спроби отримання їжі; TRr - середній час між спробами отримання їжі; RN - кількість необхідних спроб для отримання їжі; RT - середній час для моторної відповіді на отримання їжі: загальний час отримання їжі з кормушки. Крім цих показників, була зафіксована кількість успішних відповідей, виражена у відсотках від загальної кількості звукових стимулів та $RNIS$ - кількість підходів до позиції вікна з їжею між звуковими сигналами під час міжстимульного періоду (ISP).

Ці часові параметри характеризують швидкість обробки інформації в ЦНС, рівень мотивації та загальну збудливість тварини. Дані представлені у вигляді середніх значень \pm стандартна помилка (с.п.). Статистична значимість різниць між значеннями в контрольній та обробленій групах була оцінена за допомогою t-критерію Ст'юдента; випадки з $P < 0,05$ вважалися статистично значущими.

Наші дослідження мали на меті вивчити ефект протидіабетичного препарату розіглітазону у формі лікарського засобу Авандамет (АВД) на процеси пам'яті у молодих та старих щурів. Старі щури були використані як модель ХА у наших експериментах. Ми проводили аналіз часових характеристик умовного харчового рефлексу у щурів, оскільки ці характеристики відображають ефективність мозкової активності.

Під час тестування рефлексу отримання їжі ми виявили, що успіх у отриманні їжі був кращим у молодих щурів. У контрольній групі успіх проявів умовного рефлексу у молодих щурів був вищий (91.6%; Рис. 32 А), ніж у старших (84.27%; Рис. 32 Б). У групі старших щурів ми спостерігали більшу варіативність цього показника, що може бути пов'язано з віковими труднощами у вилученні інформації про умовні стимули. АВД збільшив успіх проявів умовного рефлексу у старих щурів до показників молодогої групи, зареєстрованих у контролі (96.67%) Рис. 32Б.

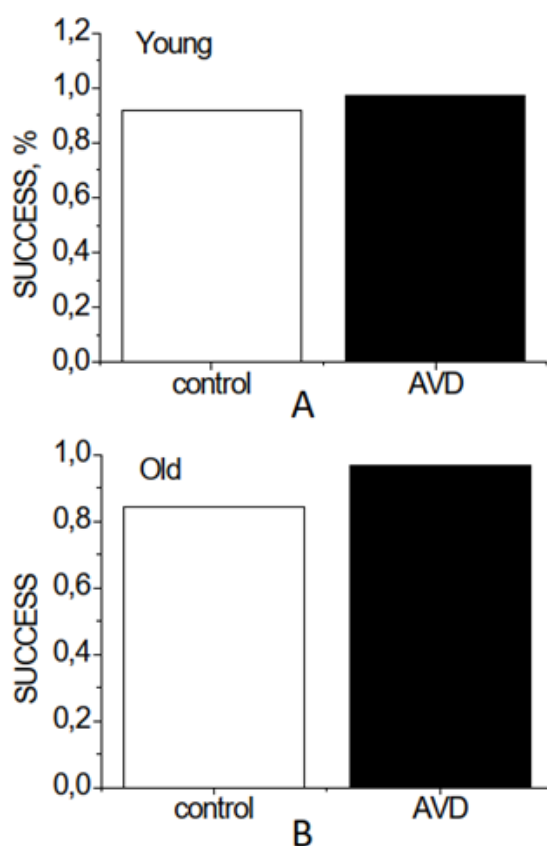


Рис. 3.32. Середні дані реєстрації успішності умовного харчового рефлексу (отримання щуром корму після звуку) виміряні в контрольних умовах (біле) та у щурів, які споживали АВД (чорне). Тести проводились на молодих (А) та старих (Б) щурах.

У той же час цей параметр досягнув 97.28% у молодих щурів після лікування АВД, Рис. 32А. Таким чином, АВД значно покращив успіх проявів умовного рефлексу у обох вікових групах. Високий рівень успіху рефлексу

(понад 90%) може бути результатом кількох факторів: з одного боку - досить сильного зв'язку між репрезентаціями сенсорної та моторної зон у ЦНС, з іншого - високої мотивації до їжі. Але, як вже було зазначено, оскільки всі тварини перебували в однакових умовах депривації їжі, ріст збудливого процесу був спричинений дією АВД.

Ми визначили, що хоча АВД не впливав на кількість спроб витягнути їжу з вікна кормушки (RN), цей препарат значно збільшив кількість підходів до

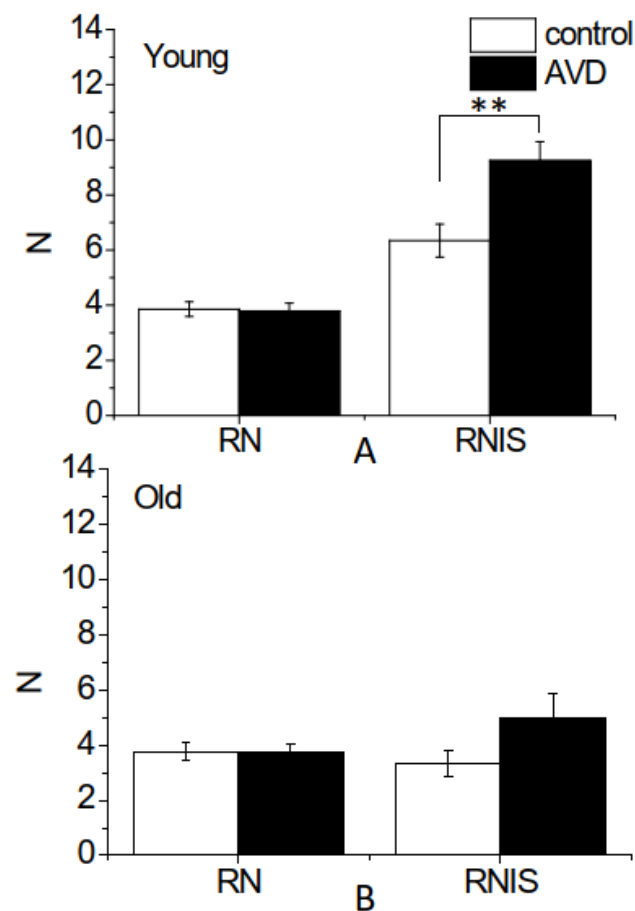


Рис. 3.33. Представлені середні значення кількісних характеристик харчового рефлексу щурів, зафіксовані в контролі та під час лікування АВД у молодих (А) та старих щурів (Б). Значеннями є RN - кількість необхідних спроб для отримання їжі та RNIS - кількість підходів до позиції вікна з їжею між звуковими сигналами під час міжстимульного періоду. Значущість різниць з $P < 0,01$ позначена двома зірочками.

вікна кормушки (RNIS) у обох групах щурів (Рис. 33). Таким чином, АВД збільшив показник RNIS – кількість підходів тварин до вікна з їжею між звуковими сигналами під час міжстимульного періоду. RNIS збільшився на 68,63% у молодих (Рис. 33 А) та на 49,56% у старих тварин (Рис. 33 Б). У молодих тварин ці значення статистично значно відрізнялися. Слід зазначити, що показник RNIS був значно вищий у молодих щурів, ніж у старих у контрольних умовах. Так, у старих щурів RNIS становив 4.96, тоді як у молодих майже вдвічі більше - 9.24. Ці експерименти показали, що АВД посилює збудливий процес у ЦНС, як це свідчить збільшення кількості міжстимульних реакцій як у молодих, так і у старих щурів.

Тестування часових характеристик умовного рефлексу показало, що в контрольних експериментах у молодих тварин час пошукових рухів (rt) у порожній кормушці після умовного звукового сигналу був удвічі довшим, ніж у старих (Рис. 34). Останнє можна пояснити більш високим ступенем збудливості ЦНС, характерним для раннього віку, а не високим ступенем мотивації до їжі, оскільки щури обох вікових груп раніше перебували на 24-годинному голодуванні. АВД.

АВД не впливав на часові характеристики rt у двох групах тварин (Рис. 35 А, Б).

Після лікування АВД час між окремими рухами з вилучення їжі (TRr) та загальний час, витрачений на вилучення кульок з їжею з кормушки (RT), зменшився (Рис. 34). Таким чином, у молодих щурів значення TRr зменшилося в середньому на 248 мс, а у старих - на 96 мс, що становило 34,24 та 15,95% ($n = 143$) відповідно до контрольних значень. Варто відзначити, що зміни значень були статистично значущими у молодих тварин.

Щодо значення RT, виявилось, що це значення було вищим у молодих щурів, ніж у старих, у контрольних умовах. Це прояв можна пояснити тим фактом, що низький рівень збудження ЦНС у старих щурів порівняно з молодими сприяє більш точній моторній відповіді як у контролі (1592 мс у

старих, 2040 мс у молодих), так і під впливом АВД (1363 мс у літніх, 1741 мс у молодих) і не є наслідком високого рівня мотивації до їжі. Час RT зменшився у молодих щурів під впливом АВД в середньому на 299 мс, у старих - на 229 мс, що становило 14,7% та 14,4% ($n = 143$) від контрольного значення відповідно (Рис. 34 А,Б).

Латентний період сенсомоторної відповіді (tl) на умовний звуковий стимул у контролі був довшим у старих тварин, ніж у молодих групах (Рис. 34 А, Б). Однак АВД збільшив швидкість обробки аудіоінформації у молодих тварин в середньому на 243 мс ($n = 143$, 10,2% від контролю). У старих щурів це не змінилося під впливом АВД (Рис. 34 Б).

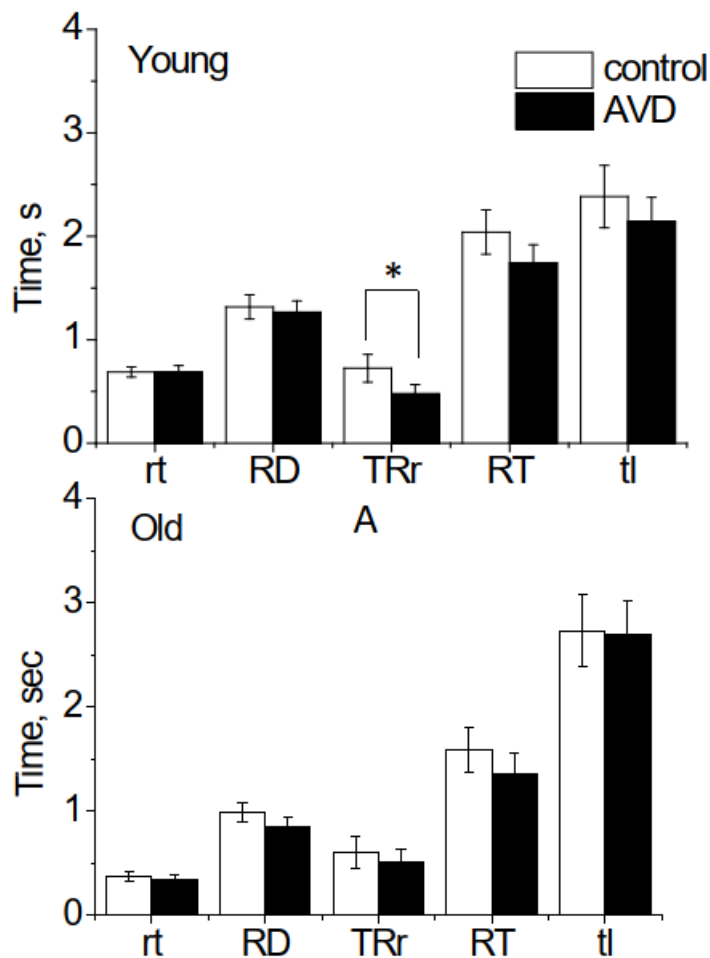


Рис. 3.34. Середні значення часових характеристик харчового рефлексу щурів, зафіксовані в контролі та після лікування АВД у молодих (А) та старих (Б) щурів. Значеннями є *rt* - перебування кінцівки у вікні з їжею перед подачею їжі, *RD* - середній час

перебування кінцівки у клітці з їжею під час окремої спроби отримання їжі, TRr - середній час між спробами отримання їжі, RT - загальний час отримання їжі з кормушки, t_l - латентний період, час до першої спроби отримання їжі після звукового стимулу. Значущість різниць з $P < 0,05$ позначена однією зірочкою.

РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

4.1. Застосування часових характеристик для вивчення впливу біологічно активних речовин

За часовими характеристиками умовних рефлексів можна вивчати вплив біологічноактивних речовин (БАР) на мозок. Умовні рефлекси — це тип навчання, при якому поведінка викликається подразником, який раніше був пов'язаний з безумовним подразником. Вивчаючи часові характеристики умовних рефлексів, дослідники можуть вивчити вплив речовин на мозок і його здатність до навчання (Shippenberg et al., 1996). Умовні рефлекси виникають протягом певного часу і включають умовні подразники, безумовні подразники та поведінкові реакції. Безумовний стимул — це зовнішній стимул, який викликає поведінку до того, як відбулося будь-яке навчання. Умовний стимул — це засвоєний зв'язок між безумовним стимулом і поведінковою реакцією; коли присутній умовний подразник, викликається поведінкова реакція. Вивчаючи часові характеристики умовних рефлексів, можна зрозуміти, як речовини взаємодіють з мозком (Smotherman, 2002).

Так, використовуючи часові характеристики умовних рефлексів вивчався вплив канабіноїдів на мозок. Це дослідження показало, що канабіноїди мають гальмівну дію на умовний рефлекс, припускаючи, що вони можуть відігравати роль у модулюванні процесів навчання в мозку. Це свідчить про те, що канабіноїди можуть відігравати певну роль у модулюванні відповідей мозку на зовнішні подразники.

В іншому дослідженні вчені використовували часові характеристики умовних рефлексів для вивчення впливу психостимуляторів на мозок. Це дослідження показало, що психостимулятори індукують посилення умовного рефлексу, припускаючи, що вони можуть відігравати роль в активації та підтримці поведінкової реакції. Це свідчить про те, що психостимулятори можуть відігравати певну роль у стимулюванні реакції мозку на зовнішні подразники (Abush and Akirav, 2010; Ratano et al., 2017).

Таким чином, вивчаючи часові характеристики умовних рефлексів, можна зрозуміти, як речовини взаємодіють з мозком. Ці знання можна використовувати для розробки методів лікування неврологічних розладів, таких як шизофренія та депресія, а також для розуміння того, як ліки діють на мозок .

На закінчення можна сказати, що часові характеристики умовних рефлексів можуть бути використані для вивчення впливу речовин на мозок. Вивчаючи часові характеристики умовних рефлексів, дослідники можуть зрозуміти, як речовини взаємодіють з мозком і його здатністю до навчання. Ці знання можна використовувати для розробки методів лікування неврологічних розладів і для розуміння того, як ліки діють на мозок.

4.2. Зв'язок часових характеристик умовного рефлексу з мозковою діяльністю

Часові характеристики умовного рефлексу можна розглядати як здатність організму «навчатися» за короткий проміжок часу за рахунок змін діяльності мозку. Зрештою, це навчання можна розглядати як результат синаптичної пластичності, процесу, у якому нові зв'язки та шляхи формуються в мозку завдяки досвіду (Takeuchi et al., 2014). Зокрема, умовні рефлекси пов'язані з утворенням зв'язків між гіпокампом і корою головного мозку (Leonardo et al., 2009). Гіпокамп – це ділянка мозку, яка бере участь у формуванні пам'яті, зокрема у формуванні довгострокових спогадів. Також було встановлено, що він є невід'ємною частиною формування умовних рефлексів, при цьому нейрони в гіпокампі відповідають за первинне утворення нових зв'язків, важливих для умовного рефлексу (Antonov et al., 2001).

Наступним етапом формування умовного рефлексу є утворення зв'язків між гіпокампом і корою головного мозку (Lisman, 1999). Він розташований у префронтальній корі головного мозку і відповідає за багато функцій вищого порядку, таких як прийняття рішень, вирішення проблем і складна поведінка. Зокрема, зв'язки, що утворюються між гіпокампом і префронтальною корою, допомагають визначити, як суб'єкт реагує на певні подразники. Іншими словами, це дозволяє організму змінювати свою поведінку на основі наявності певних подразників.

Часові характеристики умовного рефлексу додатково визначаються активацією певних нейромедіаторів у мозку (Bourne and Nicoll, 1993). Дофамін, наприклад, виявилося надзвичайно важливим для формування умовних рефлексів (Seitz et al., 2021; Siju et al., 2021). Цей нейромедіатор виділяється в префронтальній корі головного мозку і бере участь у модуляції та інтеграції сенсорних сигналів від різних областей мозку (Bogacz, 2020). Нарешті, часові характеристики умовного рефлексу визначаються також силою зв'язку між гіпокампом і корою головного мозку (Kim and Cho, 2017). Дослідження виявили, що чим більше зв'язків між цими областями, тим швидше організм здатний навчатися та реагувати на подразники. Цей зв'язок зміцнюється шляхом повторення і досвіду, в кінцевому підсумку формуючи умовний рефлекс (R. Wolpaw and McFarland, 2009).

Підсумовуючи, часові характеристики умовного рефлексу в першу чергу визначаються формуванням зв'язків у мозку. Зокрема, зв'язок між гіпокампом і префронтальною корою, а також активація певних нейромедіаторів є невід'ємною частиною формування і сили умовного рефлексу

4.3. Вплив мемантину на часові характеристики харчового рефлексу

Вивчалися часові характеристики та виконання умовного харчового рефлексу у щурів - отримання їжі з кормушки у відповідь на звуковий сигнал. За допомогою розробленого нами пристрою та програмного забезпечення для реєстрації індивідуальних компонентів сенсомоторних реакцій вимірювалися

латентний період, час моторної реакції на отримання їжі, кількість спроб, необхідних для цього, та інші таймінги. Ці показники характеризують швидкість обробки інформації в центральній нервовій системі (ЦНС) та загальний рівень збудливості та мотивації тварин. Метою наших досліджень було визначення впливу мемантину, який використовується для лікування хвороби Альцгеймера, на ці параметри. Ми виявили, що мемантин підвищував продуктивність умовно-рефлекторного рефлексу у молодих та старих щурів. Він сповільнював моторні реакції у молодих щурів та не впливав на них у старих щурів. Таким чином, можна зробити висновок, що часові характеристики окремих ланок сенсомоторних відповідей є інформативними показниками функціонального стану ЦНС та можуть бути використані для оцінки стану мозкової діяльності або фармакологічних впливів на її функції.

4.4. Вплив мемантину на часові характеристики харчового умовного рефлексу

Існує кілька способів оцінки функціонального стану ЦНС. Найпростіший метод базується на вимірюванні об'єктивних параметрів для оцінки ефективності реалізації сенсорно-моторної реакції (СМР). Часові характеристики окремих елементів сенсомоторних відповідей є інформативними індикаторами функціонального стану ЦНС. Аналіз часових характеристик СМР у нормальних та експериментальних тварин дає можливість оцінити зміни у функціональних станах ЦНС, залежно від віку або порушень роботи мозку.

У наших експериментах ми оцінили кілька часових параметрів умовного рефлексу, які були автоматично виміряні за допомогою розробленого нами пристрою. Отримані дані показали, що мемантин вплинув на успішність отримання їжі та кількість спроб отримати їжу між звуковими сигналами під час міжстимульного періоду в обох вікових групах. Він збільшив успішність та зменшив кількість спроб у міжстимульний період. Мемантин не вплинув на

такі параметри, як латентний період (tl) та час перебування лапи у вікні годівниці (rt) в обох вікових групах.

Варто зазначити, що мемантин не вплинув на часові характеристики умовного рефлексу у старих щурів, але вплинув на них у молодих тварин. Цей препарат подовжив кілька часових параметрів у молодих щурів. Так, час перебування кінцівки у кормовій комірці під час отримання їжі (RD), загальний час спроб отримати їжу з годівниці (RT) схилилися до збільшення в цій групі. Загальний час між реакціями отримання їжі (TRr) був збільшений статистично значуще. Лише кількість необхідних спроб для отримання їжі (RN) зменшилась у молодих щурів.

Отже, наші експерименти показали, що мемантин значно збільшив успішність проявів умовного харчового рефлексу у старих щурів до рівня показника молодій групі, зареєстрованого в контролі. Цей параметр досяг дуже високого рівня також у молодих щурів. Можливо, це не стільки відображало вікове погіршення консолідації пам'яті, скільки послаблення процесу її вилучення. Дійсно, нещодавні дослідження показали позитивний вплив мемантину в лікуванні різних підтипів деменції. Можна припустити, що помітне поліпшення аналітичної та синтетичної активності старих щурів після приймання мемантину, яке було відмічено в наших експериментах, може бути пов'язане з потенціюванням кортико-гіпокампальних шляхів. Дійсно, було показано співактивацію кори та гіпокампа в процесі формування пам'яті.

Часові характеристики умовного рефлексу, пов'язані з часом реакції, підлягають аналізу за двома параметрами: премоторним, головним чином асоційованим з сприйняттям та аналізом вхідної стимуляції, і моторним, асоційованим з реалізацією руху, Рис 4.1. Варіація функціональних станів ЦНС спричиняє значну динаміку премоторної складової, але залишає моторний параметр незмінним. Точність відповіді відображає ефективність процесів диференціації сенсорних сигналів та варіантів моторної відповіді .

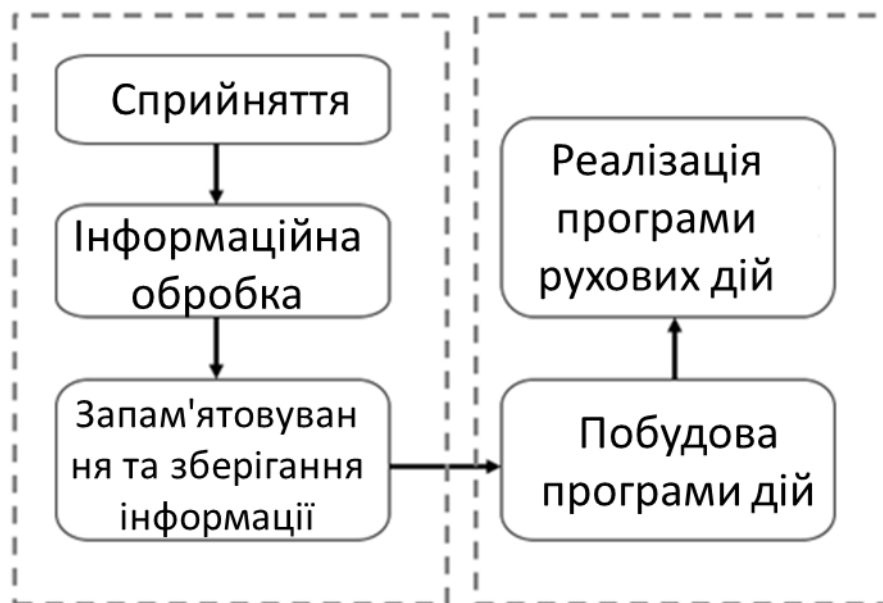


Рис. 4.1. Приблизна послідовність подій під час СМР.

Вважається, що різні частини мозку відповідають за різні компоненти СМР. Так, асоціативні зони префронтального кортексу беруть участь у часі реакції, тоді як премоторний кортекс відповідає за якість виконання (Рис. 4.2). Отже, можна припустити, що мемантин впливає головним чином на компоненти премоторного кортексу у старих та молодих щурів.

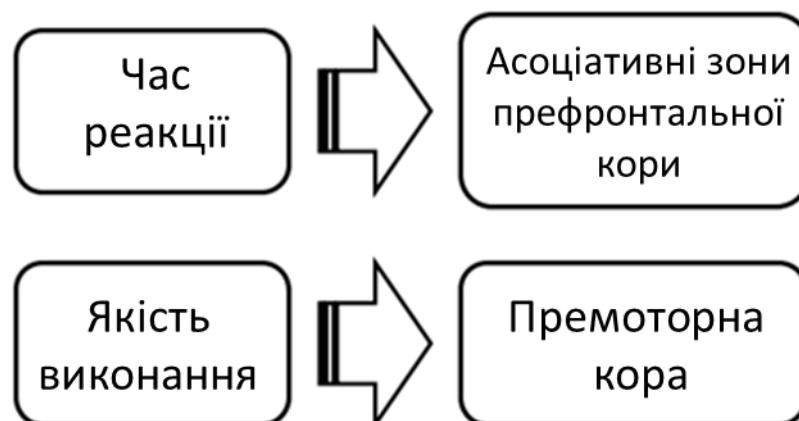


Рис. 4.2. Відповідальність регіонів ЦНС за компоненти СМР

Відомо, що асоціативні зони префронтального кортексу (ПФК) функціонують як інтеграційний центр для численних соматосенсорних входів. ПФК бере участь у формуванні пам'яті, плануванні, виконанні, обробці інформації вищого порядку та придушенні небажаних поведінкових реакцій. Дорсолатеральна частина ПФК залучена до пам'яті, навчання, когнітивної функції та уваги. Еферентні проєкції ПФК до лімбічних зон контролюють виконання цілеспрямованих поведінкових актів. ПФК надсилає глутаматергічні виходи до гіпокампу, які модулюють активність ядра аккუმбенс. Таким чином, мемантин, блокатор глутаматних рецепторів, може впливати на ці проєкції. Відмінності в часових показниках можуть вказувати на різний початковий рівень збудливості ЦНС молодих та старих тварин, як це підтверджується кількістю міжстимульних реакцій.

У наших дослідженнях інших розділів ми виявили, що мемантин послаблює страх та тривогу у старих щурів, що сприяло швидкій адаптації тварин до нового середовища. У цих даних ми демонструємо, що мемантин також впливає на деякі часові характеристики умовного рефлексу молодих щурів і підвищує продуктивність рефлексу в обох вікових групах. Отримані дані також вказують на те, що зміни в часових параметрах СМР вилучення їжі під впливом мемантину мають односпрямований вектор до їх збільшення в обох групах.

Використовуючи такий підхід з визначенням часових параметрів оперантного умовного рефлексу за допомогою розробленого пристрою та програмного забезпечення для реєстрації окремих компонентів СМР, ми показуємо, що вимірювання його компонентів може бути дуже корисним у дослідженнях різних типів патологій мозку та при верифікації ефективності різних фармакологічних агентів.

4.5. Вплив мемантину на реакції активного уникнення у щурів

Розлади глутамінергічних нейромедіаторів відіграють суттєву роль у проявах симптомів і прогресуванні нейродегенеративної деменції, особливо з участю

рецепторів NMDA. Мемантин є антагоністом рецепторів NMDA, який блокує ефекти аномально підвищеного рівня глутамату, що може призвести до нейронної дисфункції та нейродегенерації. Мемантин широко використовується у лікуванні хвороби Альцгеймера. Також експерименти показали захисний ефект мемантину при пошкодженні клітин гіпокампу β -амілоїдом. Метою цього дослідження було дослідити можливий прямий позитивний вплив мемантину на процеси навчання та пам'яті у молодих щурів. У експериментах ми використовували поведінкові реакції молодих щурів у тесті активного уникнення. Ми виявили, що мемантин добре переноситься, покращує здатність до навчання та мотиваційні характеристики поведінки, знижує тривожність і страх, що в цілому можна описати як адаптивно-стимулюючий ефект.

4.6. Вплив мемантину на тест пасивного уникнення

Хвороба Альцгеймера (ХА) – це тривале прогресуюче нейродегенеративне захворювання, що руйнує пам'ять та когнітивну функцію та часто ускладнюється дезорієнтацією та іншими психіатричними синдромами. На сьогоднішній день для поліпшення стану пацієнтів з ХА для їх лікування використовують препарат мемантин. Цей препарат є неконкурентним антагоністом NMDA глутаматних рецепторів у мозку. Проведені експерименти мали на меті перевірити вплив мемантину на процеси пам'яті у щурів. Ми використовували тест пасивного уникнення «Step-down». Останній використовується для оцінки функції пам'яті на основі асоціації, що формується між певним середовищем, якого тварина навчається уникати, та негативним стимулом у вигляді слабкого електричного удару до лап. Ми виявили, що мемантин істотно, вдвічі, знизив час латентності кроку вниз з платформи у щурів під час їх ознайомлення з камерою. Щури стали більш рішучими та менш боязкими перед невідомим середовищем під впливом мемантину. Мемантин істотно вплинув на емоційність молодих щурів, що призводить до помилок у

тесті пасивного уникнення. Однак це не погіршило пам'ять. Можна зробити висновок, що мемантин викликає зміщення в бік більшої збудливості у щурів.

4.7. Вплив авандамету на умовний харчовий рефлекс у щурів

Поширеність хвороби Альцгеймера (ХА) зростає за відсутності дійсно ефективних методів лікування. Недавно виявлений причинний зв'язок між ХА і цукровим діабетом типу 2 (ЦДТ2) (неінсулінозалежний цукровий діабет) вказує на те, що збільшення резистентності інсулінових рецепторів може впливати на старіння мозку та сприяти розвитку ХА. У наших експериментах ми тестували препарат Авандамет (АВД), антидіабетичний засіб, який використовується для лікування ЦДТ2, на часові показники умовного рефлексу на їжу у щурів. Ми вимірювали окремі компоненти сенсорно-моторної реакції (СМР) щурів, які відображають функціональний стан ЦНС. Важливою є те, що розиглітазон є основним компонентом АВД. Він діє шляхом активації ядерного рецептора активованого пероксисомами типу гамма (ППАР). Наші дані показали, що цей препарат впливає на функцію мозку як у молодих, так і у старих щурів. Доведено, що АВД впливає на ЦНС щурів, збільшуючи їх збудливість. Враховуючи отримані дані з точки зору ХА, параметр часу, який більш значно змінився у старих щурів, відповідав за аналіз ситуації та швидкість реакції. Під впливом АВД старі щури стали більш рухливими та мали збільшену моторну активність, а також збільшилася успішність їхнього виконання умовного рефлексу. Таким чином, препарат АВД та його активний компонент розиглітазон можуть бути перспективними для тестування в лікуванні ХА.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі відповідно до поставлених завдань зроблено наступні висновки:

1. Була створена автоматизована система реєстрації поведінкових реакцій щурів, аналогів якої не існує. Отриманий патент на корисну модель. Апробація системи показала її працездатність та ефективність використання в автоматизованій кількісній оцінці поведінкових реакцій щурів. За допомогою розробленої системи були отримані числові параметри оцінки харчового умовного рефлексу щурів. Була показана ефективність застосування методу програмного аналізу відеозапису поведінки щурів під час міжстимульних періодів роботи системи.
2. Досліджено вплив мемантіну на часові характеристики умовного харчового рефлексу. Оцінювались такі параметри, як латентний період, час моторної реакції на отримання їжі, кількість спроб, необхідних для цього, та інші часові показники, які характеризують швидкість обробки інформації ЦНС та загальний рівень збудливості та мотивації тварин. Встановлено, що мемантин покращує ефективність умовного рефлексу як у молодих, так і у старих щурів. Він сповільнював моторні реакції у молодих щурів і не впливав на них у старих. Таким чином, можна зробити висновок, що часові характеристики окремих ланок сенсомоторних відповідей є інформативними індикаторами функціонального стану ЦНС і можуть бути використані для оцінки стану мозкової активності або фармакологічного впливу на її функції.
3. Досліджено вплив авандамету (росіглітазону) на часові характеристики умовного харчового рефлексу. У експериментах з використанням препарату Авандамет (АВД), що використовується для лікування ЦДТ2, виявлено його вплив на часові показники умовного харчового рефлексу у щурів. Встановлено, що активний компонент АВД, розиглітазон, впливає на функцію мозку як у молодих, так і у старих щурів, збільшуючи їх

збудливість. Під впливом АД старі щури проявляли більшу рухливість та моторну активність, а також виявляли більшу успішність у виконанні умовного рефлексу. Отже, препарат АД та його активний компонент розиглітазон можуть бути перспективними для подальшого вивчення та використання у лікуванні хвороби Альцгеймера.

4. Досліджено вплив мемантину на поведінкові реакції пасивного та активного уникнення. Експерименти з щурами мали на меті вивчити вплив мемантину на процеси пам'яті. Результати експериментів свідчать про те, що мемантин покращує здатність до навчання та мотиваційні характеристики поведінки щурів у тесті активного уникнення. Крім того, він знижує рівень тривожності та страху, що в цілому можна описати як адаптивно-стимулюючий ефект. Виявлено, що мемантин значно скоротив час, необхідний щурам для спуску з платформи у тесті, та зробив їх більш рішучими і менш боязкими перед невідомим середовищем. Це свідчить про зміщення щурів в бік більшої збудливості під впливом мемантину. Хоча мемантин істотно вплинув на емоційність щурів, але це не призвело до погіршення пам'яті, що свідчить про те, що мемантин позитивно впливає на когнітивні функції. Отже, можна зробити висновок, що мемантин має потенціал як лікарський засіб для поліпшення емоційної стійкості та зменшення тривожності у пацієнтів з хворобою Альцгеймера, не втрачаючи при цьому ефективності у відновленні пам'яті.
5. Дослідження впливу мемантину на локомоторну активність щурів показало, що мемантин демонструє нейромодуляторну дію на моторні поведінкові явища у щурів, сприяючи зниженню моторної активності та збільшенню тривалості періодів спокою. Результати дослідження свідчать про те, що мемантин може послаблювати стан страху та тривожності у щурів, а також сприяти їхній адаптації до нових умов. Мемантин також показав певну спроможність сприяти проявам дослідницького рефлексу у щурів, що може вказувати на покращення їхньої когнітивної функції. Отже, дослідження підтверджує потенційну ефективність мемантину у

лікуванні хвороби Альцгеймера та його можливий позитивний вплив на моторні та когнітивні функції.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. 2020. 2020 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.*
2. 2021. 2021 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 17, 327-406.
3. 2023. 2023 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 19, 1598-1695.
4. Abeysinghe, A., Deshapriya, R., Udawatte, C., 2020. Alzheimer's disease; a review of the pathophysiological basis and therapeutic interventions. *Life Sci.* 256, 117996.
5. Abush, H., Akirav, I., 2010. Cannabinoids Modulate Hippocampal Memory and Plasticity. *Hippocampus.* 20, 1126-38.
6. Aging, t.N.I.o., 2024. Vol., ed.^eds., <https://www.nia.nih.gov/>.
7. Akter, K., Lanza, E.A., Martin, S.A., Myronyuk, N., Rua, M., Raffa, R.B., 2011. Diabetes mellitus and Alzheimer's disease: shared pathology and treatment? *British journal of clinical pharmacology.* 71, 365-376.
8. Al-Hilaly, Y.K., Williams, T.L., Stewart-Parker, M., Ford, L., Skaria, E., Cole, M., Bucher, W.G., Morris, K.L., Sada, A.A., Thorpe, J.R., Serpell, L.C., 2013. A central role for dityrosine crosslinking of Amyloid- β in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun.* 1, 83.
9. Anand, P., Singh, B., 2013. A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Archives of Pharmacal Research.* 36, 375-399.
10. Anderson, E.M., Moenk, M.D., Barbaro, L., Clarke, D.A., Matuszewich, L., 2013. Effects of pretraining and water temperature on female rats' performance in the Morris water maze. *Physiol Behav.* 122, 216-21.
11. Ansari, M.A., Rao, M.S., Al-Jarallah, A., 2023. Insights into early pathogenesis of sporadic Alzheimer's disease: role of oxidative stress and loss of synaptic proteins. *Front Neurosci.* 17, 1273626.
12. Antonov, I., Antonova, I., Kandel, E.R., Hawkins, R.D., 2001. The contribution of activity-dependent synaptic plasticity to classical conditioning in *Aplysia*. *J Neurosci.* 21, 6413-22.
13. Aranda, M.P., Kremer, I.N., Hinton, L., Zissimopoulos, J., Whitmer, R.A., Hummel, C.H., Trejo, L., Fabius, C., 2021. Impact of dementia: Health disparities, population trends, care interventions, and economic costs. *J Am Geriatr Soc.* 69, 1774-1783.
14. Armstrong, R.A., 2013. What causes alzheimer's disease? *Folia Neuropathol.* 51, 169-88.
15. Arribarat, G., De Barros, A., Péran, P., 2020. Modern Brainstem MRI Techniques for the Diagnosis of Parkinson's Disease and Parkinsonisms. *Front Neurol.* 11, 791.
16. Asok, A., Leroy, F., Rayman, J.B., Kandel, E.R., 2019. Molecular Mechanisms of the Memory Trace. *Trends Neurosci.* 42, 14-22.
17. Association, t.A.s., 2024. Vol., ed.^eds.
18. Atri, A., Hendrix, S.B., Pejović, V., Hofbauer, R.K., Edwards, J., Molinuevo, J.L., Graham, S.M., 2015. Cumulative, additive benefits of memantine-donepezil combination over component monotherapies in moderate to severe Alzheimer's dementia: a pooled area under the curve analysis. *Alzheimers Res Ther.* 7, 28.
19. Baddeley, A., Hitch, G., 1974. Working memory. In *The Psychology of Learning and Motivation.* Vol., G. Bower, ed.^eds. Academic Press, pp. 47-89.
20. Bermúdez-Rattoni, F., McGaugh, J.L., 2017. Memory reconsolidation and memory updating: Two sides of the same coin? *Neurobiol Learn Mem.* 142, 1-3.
21. Besnard, A., Caboche, J., Laroche, S., 2012. Reconsolidation of memory: a decade of debate. *Prog Neurobiol.* 99, 61-80.
22. Bogacz, R., 2020. Dopamine role in learning and action inference. *Elife.* 9.
23. Bourne, H.R., Nicoll, R., 1993. Molecular machines integrate coincident synaptic signals. *Cell.* 72, 65-75.

24. Bouton, M.E., 1993. Context, time, and memory retrieval in the interference paradigms of Pavlovian learning. *Psychol Bull.* 114, 80-99.
25. Breijyeh, Z., Karaman, R., 2020a. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules.* 25.
26. Breijyeh, Z., Karaman, R., 2020b. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. 25.
27. Brosch, T., Scherer, K.R., Grandjean, D., Sander, D., 2013. The impact of emotion on perception, attention, memory, and decision-making. *Swiss Med Wkly.* 143, w13786.
28. Bruhwyler, J., Liegeois, J.F., Lejeune, C., Rogister, F., Delarge, J., Geczy, J., 1995. New dibenzazepine derivatives with disinhibitory and/or antidepressant potential: neurochemical and behavioural study in the open-field and forced swimming tests. *Behav.Pharmacol.* 6, 830-838.
29. Bureš, J., Burešová, O., Huston, J., 1983. *Techniques and Basic Experiments for the Study of Brain and Behavior.* Vol., Elsevier Science Publishers B.V, Amsterdam - New York.
30. Buresh, J.B., O.;Houston,J.P., 1991. *Methods and basic experiments in brain and behavior studies.* Vol., High School, Moscow.
31. Caberlotto, L., Nguyen, T.P., Lauria, M., Priami, C., Rimondini, R., Maioli, S., Cedazo-Minguez, A., Sita, G., Morroni, F., Corsi, M., Carboni, L., 2019. Cross-disease analysis of Alzheimer's disease and type-2 Diabetes highlights the role of autophagy in the pathophysiology of two highly comorbid diseases. *Scientific Reports.* 9, 3965.
32. Canevelli, M., Adali, N., Kelaiditi, E., Cantet, C., Ousset, P.J., Cesari, M., 2014. Effects of Gingko biloba supplementation in Alzheimer's disease patients receiving cholinesterase inhibitors: data from the ICTUS study. *Phytomedicine.* 21, 888-92.
33. Cao, B., Rosenblat, J.D., Brietzke, E., Park, C., Lee, Y., Musial, N., Pan, Z., Mansur, R.B., McIntyre, R.S., 2018. Comparative efficacy and acceptability of antidiabetic agents for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: A systematic review and network meta-analysis. *Diabetes Obes Metab.* 20, 2467-2471.
34. Chatterjee, S., Mudher, A., 2018. Alzheimer's Disease and Type 2 Diabetes: A Critical Assessment of the Shared Pathological Traits. *Frontiers in Neuroscience.* 12, 383.
35. Chesselet, M.F., Carmichael, S.T., 2012. Animal models of neurological disorders. *Neurotherapeutics.* 9, 241-4.
36. Chi, H., Chang, H.Y., Sang, T.K., 2018. Neuronal Cell Death Mechanisms in Major Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci.* 19.
37. Couly, S., Denus, M., Bouchet, M., Rubinstenn, G., Maurice, T., 2021. Anti-Amnesic and Neuroprotective Effects of Fluoroethylnormemantine in a Pharmacological Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Int J Neuropsychopharmacol.* 24, 142-157.
38. Crystal, J.D., 2016. Animal models of source memory. *J Exp Anal Behav.* 105, 56-67.
39. Cummings, J.L., Schneider, E., Tariot, P.N., Graham, S.M., 2006. Behavioral effects of memantine in Alzheimer disease patients receiving donepezil treatment. *Neurology.* 67, 57-63.
40. Dawson, T.M., Golde, T.E., Lagier-Tourenne, C., 2018. Animal models of neurodegenerative diseases. *Nat Neurosci.* 21, 1370-1379.
41. de Nazareth, A.M., 2017. Type 2 diabetes mellitus in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Dementia & neuropsychologia.* 11, 105-113.
42. de Sousa Fernandes, M.S., Ordônio, T.F., Santos, G.C.J., Santos, L.E.R., Calazans, C.T., Gomes, D.A., Santos, T.M., 2020. Effects of Physical Exercise on Neuroplasticity and Brain Function: A Systematic Review in Human and Animal Studies. *Neural Plast.* 2020, 8856621.
43. Dementia-Australia, 2016. Drug treatments for Alzheimer's disease: Memantine. Vol., ed.^eds. dementia.org.au, https://www.dementia.org.au/sites/default/files/helpsheets/Helpsheet-DementiaQandA03-Memantine_english.pdf.

44. Denner, L.A., Rodriguez-Rivera, J., Haidacher, S.J., Jahrling, J.B., Carmical, J.R., Hernandez, C.M., Zhao, Y., Sadygov, R.G., Starkey, J.M., Spratt, H., Luxon, B.A., Wood, T.G., Dineley, K.T., 2012. Cognitive enhancement with rosiglitazone links the hippocampal PPAR γ and ERK MAPK signaling pathways. *J Neurosci.* 32, 16725-35a.
45. Doody, R.S., Cummings, J.L., Farlow, M.R., 2012. Reviewing the role of donepezil in the treatment of Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res.* 9, 773-81.
46. Ehmann, N., Pauls, D., 2020. Optogenetics: Illuminating neuronal circuits of memory formation. *J Neurogenet.* 34, 47-54.
47. Fan, Y., Hu, J., Li, J., Yang, Z., Xin, X., Wang, J., Ding, J., Geng, M., 2005. Effect of acidic oligosaccharide sugar chain on scopolamine-induced memory impairment in rats and its related mechanisms. *Neurosci Lett.* 374, 222-6.
48. Farlow, M.R., Graham, S.M., Alva, G., 2008. Memantine for the treatment of Alzheimer's disease: tolerability and safety data from clinical trials. *Drug Saf.* 31, 577-85.
49. Frank, M.G., Benington, J.H., 2006. The role of sleep in memory consolidation and brain plasticity: dream or reality? *Neuroscientist.* 12, 477-88.
50. Gambarian, L.S., Sarkisian Zh, S., Garibian, A.A., Koval, I.N., Madatova, I.R., 1981. [Effect of damage to the substantia nigra on conditioned reflex activity in animals]. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova.* 31, 1247-54.
51. Gewirtz, J.C., Davis, M., 2000. Using pavlovian higher-order conditioning paradigms to investigate the neural substrates of emotional learning and memory. *Learn Mem.* 7, 257-66.
52. Ghafarimoghadam, M., Mashayekh, R., Gholami, M., Fereydani, P., Shelley-Tremblay, J., Kandezi, N., Sabouri, E., Motaghinejad, M., 2022. A review of behavioral methods for the evaluation of cognitive performance in animal models: Current techniques and links to human cognition. *Physiology & Behavior.* 244, 113652.
53. Golan, H., Volkov, O., Shalom, E., 2022. Nuclear imaging in Parkinson's disease: The past, the present, and the future. *J Neurol Sci.* 436, 120220.
54. Gorbachenko, V., Chereda, I., Vrublevsky, S., Kruchenko, J., Lukyanetz, E., 2014. Development and testing of the experimental system for registration of food reflex in rats. *Bull Taras Shevchenko Natl Univ Kyiv Ser: Radiophysics and Electronics.* 1/2, 31-33.
55. Gorbachenko, V.A., Kruchenko, J.O., Chereda, I.S., Lukyanetz, E.A., 2015. Measurements of the time parameters of conditioned food reflex in rats under memantin treatment with using of automatic registration system. *Bull Taras Shevchenko Natl Univ KyivSer: Radiophysics and Electronics.* 1, 23-26.
56. Gorbachenko, V.A., Kruchenko Zh, O., Lukyanetz, E.A., 2020. Effect of avandamet on conditioned food reflex in rats of different age groups. *Fiziologichnyi Zhurnal.* 66, 41-48.
57. Gorbachenko, V.A., Lukyanetz, E.A., 2020. Effects of memantine on the passive avoidance test in young rats. *Fiziologichnyi Zhurnal.* 66, 3-10.
58. Goto, A., 2022. Synaptic plasticity during systems memory consolidation. *Neurosci Res.* 183, 1-6.
59. Grundman, M., Petersen, R.C., Ferris, S.H., Thomas, R.G., Aisen, P.S., Bennett, D.A., Foster, N.L., Jack, C.R., Jr., Galasko, D.R., Doody, R., Kaye, J., Sano, M., Mohs, R., Gauthier, S., Kim, H.T., Jin, S., Schultz, A.N., Schafer, K., Mulnard, R., van Dyck, C.H., Mintzer, J., Zamrini, E.Y., Cahn-Weiner, D., Thal, L.J., 2004. Mild cognitive impairment can be distinguished from Alzheimer disease and normal aging for clinical trials. *Arch Neurol.* 61, 59-66.
60. Guo, T., Zhang, D., Zeng, Y., Huang, T.Y., Xu, H., Zhao, Y., 2020. Molecular and cellular mechanisms underlying the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration.* 15, 40.
61. Hampton, R.R., Hampstead, B.M., Murray, E.A., 2004. Selective hippocampal damage in rhesus monkeys impairs spatial memory in an open-field test. *Hippocampus.* 14, 808-18.
62. Hascup, K.N., Findley, C.A., Sime, L.N., Hascup, E.R., 2020. Hippocampal alterations in glutamatergic signaling during amyloid progression in A β PP/PS1 mice. *Sci Rep.* 10, 14503.

63. Herms, J., Dorostkar, M.M., 2016. Dendritic Spine Pathology in Neurodegenerative Diseases. *Annu Rev Pathol.* 11, 221-50.
64. Hill, A.F., 2019. Extracellular Vesicles and Neurodegenerative Diseases. *J Neurosci.* 39, 9269-9273.
65. Holm, I.E., Alstrup, A.K., Luo, Y., 2016. Genetically modified pig models for neurodegenerative disorders. *J Pathol.* 238, 267-87.
66. Houdebine, L.M., 2007. Transgenic animal models in biomedical research. *Methods Mol Biol.* 360, 163-202.
67. Iqbal, A., Rahman, S.O., Ahmed, M., Bansal, P., Haider, M.R., Iqbal, M.K., Najmi, A.K., Pottoo, F.H., Haque, S.E., 2021. Current Quest in Natural Bioactive Compounds for Alzheimer's Disease: Multi-Targeted-Designed-Ligand Based Approach with Preclinical and Clinical Based Evidence. *Curr Drug Targets.* 22, 685-720.
68. Islam, F., Khadija, J.F., Harun-Or-Rashid, M., Rahaman, M.S., Nafady, M.H., Islam, M.R., Akter, A., Emran, T.B., Wilairatana, P., Mubarak, M.S., 2022. Bioactive Compounds and Their Derivatives: An Insight into Prospective Phytotherapeutic Approach against Alzheimer's Disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2022, 5100904.
69. Janson, J., Laedtke, T., Parisi, J.E., O'Brien, P., Petersen, R.C., Butler, P.C., 2004. Increased Risk of Type 2 Diabetes in Alzheimer Disease. *Diabetes.* 53, 474.
70. Joshi, V.V., Patel, N.D., Rehan, M.A., Kuppa, A., 2019. Mysterious Mechanisms of Memory Formation: Are the Answers Hidden in Synapses? *Cureus.* 11, e5795.
71. Justel, N., Salguero, A., Marengo, L., Psyrdellis, M., Pautassi, R.M., 2021. Open field exposure facilitates the expression of a spatial, recognition memory. *Neurosci Lett.* 757, 135997.
72. Kamal, M.A., Priyamvada, S., Anbazhagan, A.N., Jabir, N.R., Tabrez, S., Greig, N.H., 2014. Linking Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus via aberrant insulin signaling and inflammation. *CNS & neurological disorders drug targets.* 13, 338-346.
73. Kasenov, B., Balabekova, M., Akhmedshina, D., Trubachev, V., 2016. Learning ability in rats with lead and cadmium poisoning. *Modern problems of science and education.* 2.
74. Kim, S., Moon, H.S., Vo, T.T., Kim, C.H., Im, G.H., Lee, S., Choi, M., Kim, S.G., 2023. Whole-brain mapping of effective connectivity by fMRI with cortex-wide patterned optogenetics. *Neuron.* 111, 1732-1747.e6.
75. Kim, W.B., Cho, J.H., 2017. Synaptic Targeting of Double-Projecting Ventral CA1 Hippocampal Neurons to the Medial Prefrontal Cortex and Basal Amygdala. *J Neurosci.* 37, 4868-4882.
76. Klemmensen, M.M., Borrowman, S.H., Pearce, C., Pyles, B., Chandra, B., 2024. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative disorders. *Neurotherapeutics.* 21, e00292.
77. Kohara, Y., Kawaguchi, S., Kuwahara, R., Uchida, Y., Oku, Y., Yamashita, K., 2015. Genistein improves spatial learning and memory in male rats with elevated glucose level during memory consolidation. *Physiol Behav.* 140, 15-22.
78. Korol, T., Kostiuk, O.P., Kostiuk, P.H., 2009. [Effect of beta-amyloid protein on calcium channels in plasma membranes of cultured hippocampal neurons]. *Fiziol Zh (1994).* 55, 10-6.
79. Kostiuk, O.P., Korol, T., Korol, S.V., Romanenko, S.V., Pinchenko, V.O., Kostiuk, P.H., 2010. Alteration of calcium signaling as one of the mechanisms of Alzheimer's disease and diabetic polyneuropathy. *Fiziol Zh.* 56, 130-8.
80. Kraeuter, A.K., Guest, P.C., Sarnyai, Z., 2019. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *Methods Mol Biol.* 1916, 99-103.
81. Kravenska, E.V., Ganzha, V.V., Yavorskaya, E.N., Lukyanetz, E.A., 2016. Effect of Cyclosporin A on the Viability of Hippocampal Cells Cultured under Conditions of Modeling of Alzheimer's Disease. *Neurophysiology.* 48, 246-251.
82. Kravenska, Y., Nieznanska, H., Nieznanski, K., Lukyanetz, E., Szweczyk, A., Koprowski, P., 2020. The monomers, oligomers, and fibrils of amyloid- β inhibit the activity of

- mitoBK(Ca) channels by a membrane-mediated mechanism. *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 1862, 183337.
83. Kruchenko, Z.A., Gorbachenko, V.A., Chereda, I.S., Lukyanetz, E.A., 2014. Effect of Memantine on Motor Behavioral Phenomena in Rats of Different Ages. *Neurophysiology.* 46, 448-451.
 84. Kryptos, A.M., Effting, M., Kindt, M., Beckers, T., 2015. Avoidance learning: a review of theoretical models and recent developments. *Front Behav Neurosci.* 9, 189.
 85. Kumar, A., Singh, A., Ekavali, 2015. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacol Rep.* 67, 195-203.
 86. Kumar, A., Sidhu, J., Goyal, A., Tsao, J.W., 2024. Alzheimer Disease. In *StatPearls*. Vol., ed.^eds. StatPearls Publishing
 87. Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC., Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Jaskirat Sidhu declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Amandeep Goyal declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Jack Tsao declares no relevant financial relationships with ineligible companies.
 88. Kumar, P., Singh, A., Kumar, A., Kumar, R., Pal, R., Sachan, A.K., Dixit, R.K., Nath, R., 2023. Effect of Curcumin and Coenzyme Q10 Alone and in Combination on Learning and Memory in an Animal Model of Alzheimer's Disease. *Biomedicines.* 11.
 89. Kuns, B., Rosani, A., Varghese, D., 2020. Memantine. In *StatPearls*. Vol., ed.^eds. StatPearls Publishing, Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC., Treasure Island (FL).
 90. Lamptey, R.N.L., Chaulagain, B., Trivedi, R., Gothwal, A., Layek, B., Singh, J., 2022. A Review of the Common Neurodegenerative Disorders: Current Therapeutic Approaches and the Potential Role of Nanotherapeutics. *Int J Mol Sci.* 23.
 91. Latina, V., De Intron, M., Caligiuri, C., Loviglio, A., Florio, R., La Regina, F., Pignataro, A., Ammassari-Teule, M., Calissano, P., Amadoro, G., 2023. Immunotherapy with Cleavage-Specific 12A12mAb Reduces the Tau Cleavage in Visual Cortex and Improves Visuo-Spatial Recognition Memory in Tg2576 AD Mouse Model. *Pharmaceutics.* 15.
 92. Lee, H.J., Haberman, R.P., Roquet, R.F., Monfils, M.H., 2015. Extinction and Retrieval + Extinction of Conditioned Fear Differentially Activate Medial Prefrontal Cortex and Amygdala in Rats. *Front Behav Neurosci.* 9, 369.
 93. Lee, J.-H., Ahn, N.-H., Choi, S.-B., Kwon, Y., Yang, S.-H., 2021. Natural Products Targeting Amyloid Beta in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences.* 22, 2341.
 94. Lee, T., Jarome, T., Li, S.J., Kim, J.J., Helmstetter, F.J., 2009. Chronic stress selectively reduces hippocampal volume in rats: a longitudinal magnetic resonance imaging study. *Neuroreport.* 20, 1554-8.
 95. Leonardo, R., Gisella, V., Bruno, B., Martine, A.-T., 2009. The Formation of Recent and Remote Memory Is Associated with Time-Dependent Formation of Dendritic Spines in the Hippocampus and Anterior Cingulate Cortex. *The Journal of Neuroscience.* 29, 8206.
 96. Li, H., Wu, J., Zhu, L., Sha, L., Yang, S., Wei, J., Ji, L., Tang, X., Mao, K., Cao, L., Wei, N., Xie, W., Yang, Z., 2018. Insulin degrading enzyme contributes to the pathology in a mixed model of Type 2 diabetes and Alzheimer's disease: possible mechanisms of IDE in T2D and AD. *Biosci Rep.* 38.
 97. Li, N., Li, H., Liu, Z., Feng, G., Shi, C., Wu, Y., 2023. Unveiling the Therapeutic Potentials of Mushroom Bioactive Compounds in Alzheimer's Disease. *Foods.* 12.
 98. Lisman, J.E., 1999. Relating Hippocampal Circuitry to Function: Recall of Memory Sequences by Reciprocal Dentate–CA3 Interactions. *Neuron.* 22, 233-242.
 99. Logsdon, R.G., Pike, K.C., McCurry, S.M., Hunter, P., Maher, J., Snyder, L., Teri, L., 2010. Early-stage memory loss support groups: outcomes from a randomized controlled clinical trial. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci.* 65, 691-7.

100. Lv, C., Zenisek, D., 2014. Big minis from hair cells: mechanism and function. *Neuron*. 83, 1229-31.
101. Maciejewska, K., Czarnecka, K., Szymański, P., 2021. A review of the mechanisms underlying selected comorbidities in Alzheimer's disease. *Pharmacol Rep*. 73, 1565-1581.
102. Makino, M., Takahashi-Ito, K., Murasawa, H., Pawlak, A., Kashimoto, Y., Kitano, Y., 2019. Memantine ameliorates learning and memory disturbance and the behavioral and psychological symptoms of dementia in thiamine-deficient mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 183, 6-13.
103. Mandelkow, E.M., Mandelkow, E., 2012. Biochemistry and cell biology of tau protein in neurofibrillary degeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2, a006247.
104. McIntyre, R.S., Soczynska, J.K., Lewis, G.F., MacQueen, G.M., Konarski, J.Z., Kennedy, S.H., 2006. Managing psychiatric disorders with antidiabetic agents: translational research and treatment opportunities. *Expert Opin Pharmacother*. 7, 1305-21.
105. McShane, R., Westby, M.J., Roberts, E., Minakaran, N., Schneider, L., Farrimond, L.E., Maayan, N., Ware, J., Debarros, J., 2019. Memantine for dementia. *Cochrane Database Syst Rev*. 3, Cd003154.
106. Michalscheck, R.M.L., Leidl, D.M., Westbrook, R.F., Holmes, N.M., 2021. The Opioid Receptor Antagonist Naloxone Enhances First-Order Fear Conditioning, Second-Order Fear Conditioning and Sensory Preconditioning in Rats. *Front Behav Neurosci*. 15, 771767.
107. Miguel-Hidalgo, J.J., Alvarez, X.A., Cacabelos, R., Quack, G., 2002. Neuroprotection by memantine against neurodegeneration induced by beta-amyloid(1-40). *Brain Res*. 958, 210-221.
108. Mittal, K., Katare, D.P., 2016. Shared links between type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease: A review. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 10, S144-S149.
109. Mota, C., Taipa, R., das Neves, S.P., Monteiro-Martins, S., Monteiro, S., Palha, J.A., Sousa, N., Sousa, J.C., Cerqueira, J.J., 2019. Structural and molecular correlates of cognitive aging in the rat. *Sci Rep*. 9, 2005.
110. Mota, S.I., Ferreira, I.L., Rego, A.C., 2014. Dysfunctional synapse in Alzheimer's disease - A focus on NMDA receptors. *Neuropharmacology*. 76 Pt A, 16-26.
111. Mujawar, S., Patil, J., Chaudhari, B., Saldanha, D., 2021. Memory: Neurobiological mechanisms and assessment. *Ind Psychiatry J*. 30, S311-s314.
112. Mulder, M.J., van Maanen, L., 2013. Are accuracy and reaction time affected via different processes? *PLoS One*. 8, e80222.
113. Nakamoto, C., Kawamura, M., Nakatsukasa, E., Natsume, R., Takao, K., Watanabe, M., Abe, M., Takeuchi, T., Sakimura, K., 2020. GluD1 knockout mice with a pure C57BL/6N background show impaired fear memory, social interaction, and enhanced depressive-like behavior. *PLoS One*. 15, e0229288.
114. Nakamura, K., Koba, R., Miwa, M., Yamaguchi, C., Suzuki, H., Takemoto, A., 2018. A Method to Train Marmosets in Visual Working Memory Task and Their Performance. *Front Behav Neurosci*. 12, 46.
115. Nemets, V., AI, N., AB, P., BE, S., 2018. New modification of the "Shuttle camera" apparatus. *Laboratory Animals for Science*. 92-9.
116. Ni, R.J., Tian, Y., Dai, X.Y., Zhao, L.S., Wei, J.X., Zhou, J.N., Ma, X.H., Li, T., 2020. Social avoidance behavior in male tree shrews and prosocial behavior in male mice toward unfamiliar conspecifics in the laboratory. *Zool Res*. 41, 258-272.
117. Nichols, M.J., Newsome, W.T., 1999. The neurobiology of cognition. *Nature*. 402, C35-C38.
118. Ogren, S.O., 2015. Passive avoidance. In *Encyclopedia of Psychopharmacology*. Vol., I.P. Stolerman, L.H. Price, ed.^eds. Springer, pp. 1220-1227.

119. Ortega-de San Luis, C., Ryan, T.J., 2022. Understanding the physical basis of memory: Molecular mechanisms of the engram. *J Biol Chem.* 298, 101866.
120. Panoz-Brown, D., Iyer, V., Carey, L.M., Sluka, C.M., Rajic, G., Kestenman, J., Gentry, M., Brothridge, S., Somekh, I., Corbin, H.E., Tucker, K.G., Almeida, B., Hex, S.B., Garcia, K.D., Hohmann, A.G., Crystal, J.D., 2018. Replay of Episodic Memories in the Rat. *Curr Biol.* 28, 1628-1634.e7.
121. Paroni, G., Bisceglia, P., Seripa, D., 2019. Understanding the Amyloid Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease.* 68, 493-510.
122. Patrick, G.N., Zukerberg, L., Nikolic, M., de la Monte, S., Dikkes, P., Tsai, L.H., 1999. Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. *Nature.* 402, 615-22.
123. Penke, B., Bogár, F., Paragi, G., Gera, J., Fülöp, L., 2019. Key Peptides and Proteins in Alzheimer's Disease. *Curr Protein Pept Sci.* 20, 577-599.
124. Pilipenko, V., Narbute, K., Pupure, J., Langrate, I.K., Muceniece, R., Kluša, V., 2020. Neuroprotective potential of antihyperglycemic drug metformin in streptozocin-induced rat model of sporadic Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol.* 881, 173290.
125. Popović, N., Giménez de Béjar, V., Caballero-Bleda, M., Popović, M., 2016. Verapamil Parameter- and Dose-Dependently Impairs Memory Consolidation in Open Field Habituation Task in Rats. *Front Pharmacol.* 7, 539.
126. Portnow, J., Synold, T.W., Badie, B., Tirughana, R., Lacey, S.F., D'Apuzzo, M., Metz, M.Z., Najbauer, J., Bedell, V., Vo, T., Gutova, M., Frankel, P., Chen, M., Aboody, K.S., 2017. Neural Stem Cell-Based Anticancer Gene Therapy: A First-in-Human Study in Recurrent High-Grade Glioma Patients. *Clin Cancer Res.* 23, 2951-2960.
127. Posis, A.I.B., Shadyab, A.H., Parada, H., Alcaraz, J.E., Kremen, W.S., McEvoy, L.K., 2024. Multimorbidity, Social Engagement, and Age-Related Cognitive Decline in Older Adults from the Rancho Bernardo Study of Healthy Aging. *J Alzheimers Dis.* 97, 1689-1702.
128. Posner, M.I., Weible, A.P., Voelker, P., Rothbart, M.K., Niell, C.M., 2022. Decision Making as a Learned Skill in Mice and Humans. *Front Neurosci.* 16, 834701.
129. Povysheva, N.V., Johnson, J.W., 2016. Effects of memantine on the excitation-inhibition balance in prefrontal cortex. *Neurobiol Dis.* 96, 75-83.
130. Puumala, T., Sirviö, J., 1998. Changes in activities of dopamine and serotonin systems in the frontal cortex underlie poor choice accuracy and impulsivity of rats in an attention task. *Neuroscience.* 83, 489-99.
131. R. Wolpaw, J., McFarland, D.J., 2009. Conditioned Reflexes. In *Encyclopedia of Neuroscience.* Vol., M.D. Binder, N. Hirokawa, U. Windhorst, ed.^eds. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 849-853.
132. Ratano, P., Palmery, M., Trezza, V., Campolongo, P., 2017. Cannabinoid Modulation of Memory Consolidation in Rats: Beyond the Role of Cannabinoid Receptor Subtype 1. *Front Pharmacol.* 8, 200.
133. Reddy, P.H., Oliver, D.M., 2019. Amyloid Beta and Phosphorylated Tau-Induced Defective Autophagy and Mitophagy in Alzheimer's Disease. *Cells.* 8, 488.
134. Rehman, I., Mahabadi, N., Sanvictores, T., Rehman, C.I., 2024. Classical Conditioning. In *StatPearls.* Vol., ed.^eds. StatPearls Publishing
135. Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC., Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Navid Mahabadi declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Terrence Sanvictores declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Chaudhry Rehman declares no relevant financial relationships with ineligible companies.
136. Reinagel, P., 2013. Speed and accuracy of visual image discrimination by rats. *Frontiers in Neural Circuits.* 7.

137. Reus, G.Z., Stringari, R.B., Kirsch, T.R., Fries, G.R., Kapczinski, F., Roesler, R., Quevedo, J., 2010. Neurochemical and behavioural effects of acute and chronic memantine administration in rats: Further support for NMDA as a new pharmacological target for the treatment of depression? *Brain Res. Bull.* 81, 585-589.
138. Reyes-Resina, I., Samer, S., Kreutz, M.R., Oelschlegel, A.M., 2021. Molecular Mechanisms of Memory Consolidation That Operate During Sleep. *Front Mol Neurosci.* 14, 767384.
139. Robinson, E., Aveyard, P., Daley, A., Jolly, K., Lewis, A., Lycett, D., Higgs, S., 2013. Eating attentively: a systematic review and meta-analysis of the effect of food intake memory and awareness on eating. *Am J Clin Nutr.* 97, 728-42.
140. Rogoz, Z., Skuza, G., Maj, J., Danysz, W., 2002. Synergistic effect of uncompetitive NMDA receptor antagonists and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats. *Neuropharmacology.* 42, 1024-1030.
141. Rothman, S.M., Olney, J.W., 1995. Excitotoxicity and the NMDA receptor--still lethal after eight years. *Trends Neurosci.* 18, 57-58.
142. Rozumna, N.M., Shkryl, V.M., Ganzha, V.V., Lukyanetz, E.A., 2020. Effects of Modeling of Hypercalcemia and β -Amyloid on Cultured Hippocampal Neurons of Rats. *Neurophysiology.* 52, 348-357.
143. Ruffini, N., Klingenberg, S., Schweiger, S., Gerber, S., 2020. Common Factors in Neurodegeneration: A Meta-Study Revealing Shared Patterns on a Multi-Omics Scale. *Cells.* 9.
144. Ruz, C., Alcantud, J.L., Vives Montero, F., Duran, R., Bandres-Ciga, S., 2020. Proteotoxicity and Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci.* 21.
145. Samokhvalov, V.P., 1993. *Evolutionary Psychiatry. Vol., IMIS NPF "Movement", Moscow.*
146. Sarathlal, K.C., Kakoty, V., Marathe, S., Chitkara, D., Taliyan, R., 2021. Exploring the Neuroprotective Potential of Rosiglitazone Embedded Nanocarrier System on Streptozotocin Induced Mice Model of Alzheimer's Disease. *Neurotox Res.* 39, 240-255.
147. Seitz, B.M., Blaisdell, A.P., Sharpe, M.J., 2021. Higher-Order Conditioning and Dopamine: Charting a Path Forward. *Frontiers in Behavioral Neuroscience.* 15.
148. Selkoe, D.J., 2001. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev.* 81, 741-66.
149. Shah, A., Garzon-Muvdi, T., Mahajan, R., Duenas, V.J., Quiñones-Hinojosa, A., 2010. Animal models of neurological disease. *Adv Exp Med Biol.* 671, 23-40.
150. Shao, L., Yu, S., Ji, W., Li, H., Gao, Y., 2017. The Contribution of Necroptosis in Neurodegenerative Diseases. *Neurochem Res.* 42, 2117-2126.
151. Sharma, A.C., Kulkarni, S.K., 1992. Evaluation of learning and memory mechanisms employing elevated plus-maze in rats and mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 16, 117-25.
152. Sharma, M., Pal, P., Gupta, S.K., 2024. The neurotransmitter puzzle of Alzheimer's: Dissecting mechanisms and exploring therapeutic horizons. *Brain Res.* 1829, 148797.
153. Shevinsky, C.A., Reinagel, P., 2019. The Interaction Between Elapsed Time and Decision Accuracy Differs Between Humans and Rats. *Front Neurosci.* 13, 1211.
154. Shippenberg, T.S., Heidbreder, C., Lefevour, A., 1996. Sensitization to the conditioned rewarding effects of morphine: pharmacology and temporal characteristics. *Eur J Pharmacol.* 299, 33-9.
155. Shkryl, V.M., Ganzha, V.V., Lukyanetz, E.A., 2021. Effect of memantine on calcium signaling in hippocampal neurons cultured with γ -amyloid. *Fiziologichnyi Zhurnal.* 67, 3-10.
156. Siju, K.P., De Backer, J.F., Grunwald Kadow, I.C., 2021. Dopamine modulation of sensory processing and adaptive behavior in flies. *Cell Tissue Res.* 383, 207-225.

157. Skaper, S.D., Facci, L., Zusso, M., Giusti, P., 2017. Synaptic Plasticity, Dementia and Alzheimer Disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 16, 220-233.
158. Skuza, G., Rogoz, Z., 2003. Sigma1 receptor antagonists attenuate antidepressant-like effect induced by co-administration of 1,3 di-o-tolylguanidine (DTG) and memantine in the forced swimming test in rats. *Pol.J.Pharmacol.* 55, 1149-1152.
159. Smotherman, W.P., 2002. Classical conditioning in the rat fetus: temporal characteristics and behavioral correlates of the conditioned response. *Dev Psychobiol.* 40, 116-30.
160. Stewart, A.M., Grossman, L., Collier, A.D., Echevarria, D.J., Kalueff, A.V., 2015. Anxiogenic-like effects of chronic nicotine exposure in zebrafish. *Pharmacol Biochem Behav.* 139 Pt B, 112-20.
161. Strac, D., S., Konjevod, Sagud, M., Perkovic, M.N., Erjavec, G.N., Vuic, B., Simic, G., Mimica, N., Pivac, N., 2021. Personalizing the Care and Treatment of Alzheimer's Disease: An Overview. *Pharmgenomics Pers Med.* 14, 631-653.
162. Sun, M.K., Alkon, D.L., 2024. Alzheimer's therapeutic development: shifting neurodegeneration to neuroregeneration. *Trends Pharmacol Sci.*
163. Tahami Monfared, A.A., Byrnes, M.J., White, L.A., Zhang, Q., 2022. Alzheimer's Disease: Epidemiology and Clinical Progression. *Neurol Ther.* 11, 553-569.
164. Takeuchi, T., Duzskiewicz, A.J., Morris, R.G., 2014. The synaptic plasticity and memory hypothesis: encoding, storage and persistence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 369, 20130288.
165. Tanaka, K.Z., Pevzner, A., Hamidi, A.B., Nakazawa, Y., Graham, J., Wiltgen, B.J., 2014. Cortical representations are reinstated by the hippocampus during memory retrieval. *Neuron.* 84, 347-54.
166. Temple, S., 2023. Advancing cell therapy for neurodegenerative diseases. *Cell Stem Cell.* 30, 512-529.
167. Thurber, K.R., Yau, W.M., Tycko, R., 2024. Structure of Amyloid Peptide Ribbons Characterized by Electron Microscopy, Atomic Force Microscopy, and Solid-State Nuclear Magnetic Resonance.
168. Tumminia, A., Vinciguerra, F., Parisi, M., Frittitta, L., 2018. Type 2 Diabetes Mellitus and Alzheimer's Disease: Role of Insulin Signalling and Therapeutic Implications. *International journal of molecular sciences.* 19, 3306.
169. Tyshchenko, Y.M., Lukyanetz, E.A., 2017a. Effects of Memantine on Behavioral Indices of Rats in the Open Field. *Neurophysiology.* 49, 453+.
170. Tyshchenko, Y.M., Lukyanetz, E.A., 2017b. Effects of Memantine on Behavioral Indices of Rats in the Open Field. *Neurophysiology.* 49, 453-457.
171. Tyshchenko Yu, N., Lukyanetz, E.A., 2020. THE ROLE OF BETA-AMYLOID IN NORM AND AT ALZHEIMER'S DISEASE. *Fiziologichnyi Zhurnal.* 66, 88-96.
172. Tzilivaki, A., Tukker, J.J., Maier, N., Poirazi, P., Sammons, R.P., Schmitz, D., 2023. Hippocampal GABAergic interneurons and memory. *Neuron.* 111, 3154-3175.
173. Uddin, L.Q., 2021. Cognitive and behavioural flexibility: neural mechanisms and clinical considerations. *Nat Rev Neurosci.* 22, 167-179.
174. Uemura, N., Ueda, J., Okuda, S., Sawamura, M., Takahashi, R., 2021. α -Synuclein Propagation Mouse Models of Parkinson's Disease. *Methods Mol Biol.* 2322, 119-130.
175. van Erp, A.M., Kruk, M.R., Meelis, W., Willekens-Bramer, D.C., 1994. Effect of environmental stressors on time course, variability and form of self-grooming in the rat: handling, social contact, defeat, novelty, restraint and fur moistening. *Behav Brain Res.* 65, 47-55.
176. van Marum, R.J., 2009. Update on the use of memantine in Alzheimer's disease. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 5, 237-47.
177. Vataeva, L.A., Kostkin, V.B., Makukhina, G.V., Khozhai, L.I., Otellin, V.A., 2004. Conditional Reflex Reaction of the Passive Avoidance in Female and Male Rats Exposed to

- Hypoxia at Different Terms of Prenatal Development. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 40, 307-311.
178. Vinauger, C., Lallement, H., Lazzari, C.R., 2013. Learning and memory in *Rhodnius prolixus*: habituation and aversive operant conditioning of the proboscis extension response. *J Exp Biol*. 216, 892-900.
 179. Vu, M., Mangal, R., Stead, T., 2022. Impact of Alzheimer's Disease on Caregivers in the United States. *Health Psychol Res*. 10, 37454.
 180. Wadenberg, M.-L.G., 2010. Active Avoidance. In *Encyclopedia of Psychopharmacology*, Vol., I.P. Stolerman, L.H. Price, ed.^eds. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
 181. Wang, S., Kong, X., Chen, Z., Wang, G., Zhang, J., Wang, J., 2022. Role of Natural Compounds and Target Enzymes in the Treatment of Alzheimer's Disease. *Molecules*. 27.
 182. Wang, Z.C., Zhao, J., Li, S., 2013. Dysregulation of synaptic and extrasynaptic N-methyl-D-aspartate receptors induced by amyloid-beta. *Neurosci.Bull*. 29, 752-760.
 183. Wareham, L.K., Liddelw, S.A., Temple, S., Benowitz, L.I., Di Polo, A., Wellington, C., Goldberg, J.L., He, Z., Duan, X., Bu, G., Davis, A.A., Shekhar, K., Torre, A., Chan, D.C., Canto-Soler, M.V., Flanagan, J.G., Subramanian, P., Rossi, S., Brunner, T., Bovenkamp, D.E., Calkins, D.J., 2022. Solving neurodegeneration: common mechanisms and strategies for new treatments. *Mol Neurodegener*. 17, 23.
 184. Wenk, G.L., Danysz, W., Mobley, S.L., 1994. Investigations of neurotoxicity and neuroprotection within the nucleus basalis of the rat. *Brain Res*. 655, 7-11.
 185. Wesierska, M., Svoboda, J., Stuchlik, A., 2019. A therapeutic dose of memantine improves the performance of rats in an active place avoidance task under the continuous dissociation of distal room and proximal arena cues. *Neurobiol Learn Mem*. 162, 59-66.
 186. Wójtowicz, S., Strosznajder, A.K., Jeżyna, M., Strosznajder, J.B., 2020. The Novel Role of PPAR Alpha in the Brain: Promising Target in Therapy of Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Disorders. *Neurochemical research*. 45, 972-988.
 187. Wu, W., Du, S., Shi, W., Liu, Y., Hu, Y., Xie, Z., Yao, X., Liu, Z., Ma, W., Xu, L., Ma, C., Zhong, Y., 2019. Inhibition of Rac1-dependent forgetting alleviates memory deficits in animal models of Alzheimer's disease. *Protein Cell*. 10, 745-759.
 188. Wyss-Coray, T., 2006. Inflammation in Alzheimer disease: driving force, bystander or beneficial response? *Nat Med*. 12, 1005-15.
 189. Xiao, Y., Wang, S.K., Zhang, Y., Rostami, A., Kenkare, A., Casella, G., Yuan, Z.Q., Li, X., 2021. Role of extracellular vesicles in neurodegenerative diseases. *Prog Neurobiol*. 201, 102022.
 190. Xu, S., Guan, Q., Wang, C., Wei, X., Chen, X., Zheng, B., An, P., Zhang, J., Chang, L., Zhou, W., Mody, I., Wang, Q., 2014. Rosiglitazone prevents the memory deficits induced by amyloid-beta oligomers via inhibition of inflammatory responses. *Neurosci Lett*. 578, 7-11.
 191. Yakhno, N.N., Zakharov, V.V., Lokshina, A.B., Koberskaya, N.N., Mkhitarian, E.A., 2013. *Dementia: A Guide for Physicians*. Vol., MedPress-Inform, Moscow.
 192. Yarns, B.C., Holiday, K.A., Carlson, D.M., Cosgrove, C.K., Melrose, R.J., 2022. Pathophysiology of Alzheimer's Disease. *Psychiatr Clin North Am*. 45, 663-676.
 193. Yiannopoulou, K.G., Papageorgiou, S.G., 2020. Current and Future Treatments in Alzheimer Disease: An Update. *J Cent Nerv Syst Dis*. 12, 1179573520907397.
 194. Yiu, A.P., Mercaldo, V., Yan, C., Richards, B., Rashid, A.J., Hsiang, H.L., Pressey, J., Mahadevan, V., Tran, M.M., Kushner, S.A., Woodin, M.A., Frankland, P.W., Josselyn, S.A., 2014. Neurons are recruited to a memory trace based on relative neuronal excitability immediately before training. *Neuron*. 83, 722-35.
 195. Zavvari, F., Karimzadeh, F., 2017. A Review on the Behavioral Tests for Learning and Memory Assessments in Rat. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 5, 110-124.

196. Zhai, H.F., Zhang, Z.Y., Zhao, M., Qiu, Y., Ghitza, U.E., Lu, L., 2007. Conditioned drug reward enhances subsequent spatial learning and memory in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 195, 193-201.
197. Zhang, C., Li, H., Han, R., 2020. An open-source video tracking system for mouse locomotor activity analysis. *BMC Res Notes*. 13, 48.
198. Zhang, H., Wei, W., Zhao, M., Ma, L., Jiang, X., Pei, H., Cao, Y., Li, H., 2021. Interaction between A β and Tau in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *International Journal of Biological Sciences*. 17, 2181-2192.
199. Zheng, F., Zhou, Y.T., Li, P.F., Hu, E., Li, T., Tang, T., Luo, J.K., Zhang, W., Ding, C.S., Wang, Y., 2020. Metabolomics Analysis of Hippocampus and Cortex in a Rat Model of Traumatic Brain Injury in the Subacute Phase. *Front Neurosci*. 14, 876.
200. Zhou, X., Wang, L., Xiao, W., Su, Z., Zheng, C., Zhang, Z., Wang, Y., Xu, B., Yang, X., Hoi, M.P.M., 2019. Memantine Improves Cognitive Function and Alters Hippocampal and Cortical Proteome in Triple Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Exp Neurol*. 28, 390-403.

Додаток 1**НАУКОВІ ПРАЦІ В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНО РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Zh. A. Kruchenko, V. A. Gorbachenko, I. S. Chereda, and E. A. Lukyanetz
Effect of Memantine on Motor Behavioral Phenomena in Rats of Different
Ages. Neurophysiology, Vol. 45, No. 5, 2014 p. 448-451

Автором виконано моделювання моторної поведінки тварин, проведення поведінкових, обробка відеоматеріалів поведінкових тестів опрацювання отриманих результатів.

2. V.A. Gorbachenko, E.A. Lukyanetz. Effects of memantine on the passive avoidance test in young rats. Fiziol. Zh. 2020; 66(5): 3-10.

Автором виконано моделювання моторної поведінки тварин, проведення поведінкових, обробка відеоматеріалів поведінкових тестів опрацювання отриманих результатів.

3. V.A. Gorbachenko, Zh.O. Kruchenko, E.A. Lukyanetz. Effect of avandamet on conditioned food reflex in rats of different age groups. Fiziol. Zh. 2020; 66(6): 41-48.

Автором виконано моделювання моторної поведінки тварин, проведення поведінкових, обробка відеоматеріалів поведінкових тестів опрацювання отриманих результатів.

4. Y Tyschenko, V Gorbachenko, E Lukyanetz. Memantine and active avoidance reactions in rats. The scientific heritage (Hungary), 2021, 2 (74), 8-10. DOI: 10.24412/9215-0365-2021-74-2-8-10

Автором виконано моделювання моторної поведінки тварин, проведення поведінкових, обробка відеоматеріалів поведінкових тестів опрацювання отриманих результатів.

Додаток 2

НАУКОВІ ПРАЦІ ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Інші статті:

1 V. Gorbachenko, I. Chereda, S. Vrublevsky, J. Kruchenko, O. Lukyanetz Development and testing of the experimental system for registration of food reflex in rats. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Радіофізика та електроніка. - 2014. - Вип. 1-2. - С. 31-33.

Автором виконано розробку системи для вимірювання часових параметрів умовного харчового рефлексу у щурів, електромонтаж системи та випробування в експериментальних умовах.

2. V. Gorbachenko, I. Chereda, J. Kruchenko, E.A. Lukyanetz Measurements of the time parameters of conditioned food reflex in rats under memantine treatment with using of automatic registration system. Вісн. Київ. нац. ун-ту. Сер. Радіофізика та електроніка. - 2015. - Вип. 1 (23). - С. 23-36.

Автором виконано моделювання моторної поведінки тварин, проведення поведінкових, обробка відеоматеріалів поведінкових тестів опрацювання отриманих результатів.

Патент на корисну модель:

3. Gorbachenko V.A.; Chereda I. C. ; Vrublevsky S.V. ; Lukyanets O. O. Patent № 106590. Device for determining the temporal parameters of the food conditioned reflex. Application number: u 2015 11913, (22) Date of application: 02.12.2015, (24) Date of validity of the right to utility model: 04/25/2016, (46) Publication of information about the issuance of a patent: 04/25/2016, Byul No. 8

Автором виконано розробку системи для вимірювання часових параметрів умовного харчового рефлексу у щурів, електромонтаж системи, підготовка креслень системи.

Тези доповідей:

4. Gorbachenko VA, Chereda I.S., Kruchenko Zh.O., Lukyanetz O.O. Estimation of horizontal and vertical activity of rats using the method of software analysis of video recording *Fiziol. zh*, 2014, 60, 3, Appendix, 33
5. Gorbachenko V., Chereda V., Vrublevsky S., Kruchenko Zh., Lukyanetz O. Development and experimental testing of the system of registration of behavioral food response of rats. *Book of Abstracts. IV International Conference "Medical physics – the current status, problems, ways of development, Innovation technologies"*, October 23-24, Kyiv, Ukraine. 2014 p. 8
6. Gorbachenko V.A., , J.O. Kruchenko Chereda I.S., Lukyanetz E.A. Investigation of changes in time parameters of conditioned reflex by automatic system of registration under influence of memantin *Proceedings of IX International Conference "Electronics and applied physics"*, October 21 – 24, 2015, Kyiv, Ukraine C. 121-122.
7. Gorbachenko VA, Tishchenko Yu. M., Kruchenko Zh.O., Lukyanets O.O. Investigation of the effect of memantine on behavioral reactions of rats. *Materials of the scientific-practical conference with the participation of international specialists, dedicated to the day of science. "Medical science at the intersection of specialties: present and future."* Kharkiv, May 19, 2017 43.
8. Gorbachenko VA, Tishchenko Yu. M., Kruchenko Zh.O., Lukyanets O.O. The Effect of Memantine on Rat's Behavioral Reactions. *Materials of the VIII Congress of the Ukrainian Society of Neurosciences*, June 7-11, 2017 Kyiv, Ukraine, p.81
9. Vasyl Gorbachenko, Zhanna Kruchenko, Yuliya Tyschenko, Sergij Vrublevsky, Elena A Lukyanetz. Effects of memantine on time parameters of behavior responses in different age groups of rats. *Abstract book. 11th FENS Forum of Neuroscience*, 7-11 July 2018, Berlin, Germany. C037.
10. Lukyanetz E.A., Gorbachenko V.A. Platon Kostyuk - founder of Ukrainian school of neuroscientists. *Poster abstracts. History Corner at FENS Forum 2018. 11th FENS Forum of Neuroscience*, 7-11 July 2018, Berlin, Germany. p.8.

11. Gorbachenko V.A., Kruchenko Zh., Y.M. Tyshchenko, Vrublevsky S.V., Lukyanetz E.A. Memantine action on time characteristics of sensory-motor responses in rats. Abstract book. The Inaugural Workshop of UNESCO/UNITWIN Network on PhD Education and Research in Biophysics, Biotechnology and Environmental Health. August 6 – Yerevan, Armenia, 2018, August 7-8, Garni, Armenia. P. 14.
12. Gorbachenko V.A., Kruchenko Zh., Tyshchenko Y.M., Vrublevsky S.V., Lukyanetz E.A. Action of memantine on time characteristics of sensory-motor responses in rats. Materials of Thematic 7th Congress of the Ukrainian Biophysical Society. 2018, October 29-31, Kyiv, Ukraine.
13. V.A. Gorbachenko, Zh. Kruchenko, E.A. Lukyanetz. Using of time characteristics of sensory-motor responses for estimation of memantine effect in rats. Abstracts of the XXth Congress of the P.G. Kostyuk Ukrainian Physiological Society with international participation dedicated to the 95th birthday of Academician PG Kostyuk, Kyiv, Fiziol. Zh. 2019; 65(3S), p.53.
14. Gorbachenko V.A., Kruchenko Zh.O., Lukyanetz E.A. Memantine action on time characteristics of sensory-motor responses in rats. VIII congress of Ukrainian biophysical Society, Kyiv-Lutsk, 12-15 November, 2019.
15. Vasyl Gorbachenko, Elena Lukyanetz. Effect of Avandamet on the behavior of different age rats. Book of abstracts 5th HBP Student Conference on Interdisciplinary Brain Research 1–4 February 2021 | Virtual Conference. P. 193-196.
https://www.frontiersin.org/books/5th_HBP_Student_Conference_on_Interdisciplinary_Brain_Research/4325.
16. Tyshchenko Y, Gorbachenko V, Lukyanetz E. Effect of memantine on behavioral reactions of rats in the active avoidance test. Book of Abstracts. Virtual FENS Regional Meeting 2021. Krakow, Poland, 25-27 August 2021, P. 291-292.
17. V.A. Gorbachenko, E.A. Lukyanetz. The use of temporal parameters of the conditioned food reflex to study the effect of memantine on behavioral responses in rats. Ukrainian conference on Neuroscience, July 25-27, 2022, Kyiv

dedicated to the 90th birthday of academician Vladimir Skok. *Fiziol. Zh.*, 2022, 68(3S), p. 23.

18. Gorbachenko V.A., Lukyanetz E.A. Studying memantine's impact on rat behavior using temporal food reflex parameters. Abstract Book, IX CONGRESS OF THE UKRAINIAN BIOPHYSICAL SOCIETY, OCTOBER 30 - NOVEMBER 2, 2023, Kyiv.

Додаток 3

Програма для мікроконтролера

```
#define F_CPU 8000000UL // 8 MHz
```

```
/*Very Important - change F_CPU to match target clock
```

Note: default AVR CLKSEL is 1MHz internal RC

This program transmits continuously on USART. Interrupt is used for

Receive charactor, which is then transmitted instead. LEDs are used.

Normal RX routine is included but not used.

Change USART_BAUDRATE constant to change Baud Rate */

```
#include <avr/io.h>
```

```
#include <util/delay.h>
```

```
#include <avr/interrupt.h>
```

```
#include <string.h>
```

```
#define USART_BAUDRATE 115200
```

```
#define BAUD_PRESCALE (((F_CPU / (USART_BAUDRATE * 16UL))) - 1)
```

```
#define MAX_CMD LENGHT 30
```

```
#define MAX_EAT_CELLS_POS 30
```

```
volatile unsigned char value;
```

```
volatile unsigned char cmd_str[MAX_CMD LENGHT];
```

```
volatile unsigned long cmd_str_i;
```

```
volatile unsigned long EAT_CELLS_COUNT;
```

```
volatile unsigned long EAT_CELLS_POS[MAX_EAT_CELLS_POS];
```

```
volatile unsigned long MOTOR_GLOBAL_POS;
```

```
volatile unsigned long MOTOR_GLOBAL_CELL_ID;
```

```
volatile unsigned long EXPERIMENT_MODE;
```

```
volatile unsigned long EXPERIMENT_PAW;
```

```
volatile unsigned long EXPERIMENT_EAT;
```

```
volatile unsigned long SOUND_STATUS;
```

```
volatile unsigned long MOTOR_ENA_ALWAYS_ON;
```

Додаток 4

Частина програми для комп'ютера «KORMUSE», Unit1.cpp

```
//-----
#pragma package(smart_init)
#pragma resource "*.dfm"
TForm1 *Form1;
#define BUFSIZE 255 //ёмкость буфера
unsigned char bufrd[BUFSIZE], bufwr[BUFSIZE]; //приёмный и передающий
буферы
//-----
//структура OVERLAPPED необходима для асинхронных операций, при цьому для
операції читання та запису потрібно оголосити різні структури
//Ці структури необхідно оголосити глобально, інакше програма не
працюватиме правильно
// будемо використовувати для операцій читання (див. потік ReadThread)
OVERLAPPED overlapped;
// будемо використовувати для операцій запису (див. потік WriteThread)
OVERLAPPED overlappedwr;
//-----
HANDLE reader; //дескриптор потоку читання з порту
HANDLE writer; //дескриптор потоку запису в порт

DWORD WINAPI ReadThread(LPVOID);
DWORD WINAPI WriteThread(LPVOID);
void ReadPrinting(void);
// Головна функція потоку, реалізує прийом байтів з COM-порту
DWORD WINAPI ReadThread(LPVOID)
{
```

```

COMSTAT comstat;           //структура поточного стану порту, у цій програмі
використовується визначення кількості прийнятих порт байтів
DWORD btr, temp, mask, signal; //змінна temp використовується як заглушка
overlapped.hEvent = CreateEvent(NULL, true, true, NULL);
//Створити сигнальний об'єкт-подію для асинхронних операцій
SetCommMask(Form1->COMport, EV_RXCHAR);
//Встановити маску на спрацювання за подією прийому байта в порт
while(1)                   //поки потік не буде перерваний, виконуємо цикл
{
    WaitCommEvent(Form1->COMport, &mask, &overlapped);
//Чекати на події прийому байта (це і є операція, що перекривається) \
signal = WaitForSingleObject(overlapped.hEvent, INFINITE);
// призупинити потік до приходу байта
    if(signal == WAIT_OBJECT_0) // якщо подія приходу байта відбулася
    {
        if(GetOverlappedResult(Form1->COMport, &overlapped, &temp, true))
// перевіряємо, чи успішно завершилася операція, що перекривається
WaitCommEvent
        if((mask & EV_RXCHAR)!=0)
//якщо сталася саме подія приходу байта
        {
            ClearCommError(Form1->COMport, &temp, &comstat);
//Потрібно заповнити структуру COMSTAT
            btr = comstat.cbInQue;
//і одержати з неї кількість прийнятих байтів
            if(btr)           //якщо дійсно є байти для читання
            {
                ReadFile(Form1->COMport, bufrd, btr, &temp, &overlapped);
//прочитати байти з порту в буфер програми
                Form1->counter+=btr;           //збільшуємо лічильник байтів
            }
        }
    }
}

```

```
    ReadPrinting();           //викликаємо функцію для виведення даних на
екран та у файл
    }
    }
    }
    }
    }
//-----
```