ՀՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
Լ.Ա. ՕՐԲԵԼՈՒ ԱՆՎԱՆ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

Դարբինյան Լիլիթ Վահանի

Պարկինսոնի հիվանդության ռոտենոնային մոդելի վրա Քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը և նրա վարքային դրսևորումները

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅՈՒՆ

Գ.00.09 – մարդու և կենդանիների ֆիզիոլոգիա մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական
աստիճանի հայցման

Գիտական ղեկավար՝

կենս. գիտ. դոկտոր,
պրոֆեսոր Վ.Հ. Սարգսյան

ԵՐԵՎԱՆ 2017

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

ՀԱՊԱՎՈՒՄՆԵՐ

ՏԴ- տետանիկ դեպրեսիա (TD)

ՏՊ - տետանիկ պոտենցիացիա (TP)

ՀՏԴ- հետտետանիկ դեպրեսիա (PTD)

ՀՏՊ - հետտետանիկ պոտենցիացիա (PTP)

ՏԴ ՀՏՊ-տետանիկ դեպրեսիա հետտետանիկ պոտենցիացիա (TD PTP)

ՏԴ ՀՏԴ- տետանիկ դեպրեսիա հետտետանիկ դեպրեսիա (TD PTD)

ՏՊ ՀՏԴ - տետանիկ պոտենցացիա հետտետանիկ դեպրեսիա (TP PTD)

ՏՊ ՀՏՊ - տետանիկ պոտենցացիա հետտետանիկ պոտենցիացիա (TP PTP)

ՊՀ -Պարկինսոնի հիվանդություն

ԲՀԽ-բարձր հաճախականության խթանում

SN-սև նյութ (Substantia nigra)

SNr-սև նյութի փարս ռեթիկուլատա (substantia pars reticulata)

NMDA- N-մեթիլ-D-ասպարտատ

LTP-երկարատև պոտենցիացիա

LTD- երկարատև դեպրեսիա

Dentate gyrus -ատամնավոր գալար

CREB-ցիկլիկ AMP պատասխանող էլեմենտը կապող պրոտեին

TrkB- տրոպոմիոզինային ընկալիչ կինազ B

ԳԱԿԹ- գամմա ամինոկարագաթու

DAT- dopamine transporter (դոփամինի փոխադրիչ)

VTA- վենտրալ տեգմենտալ շրջան

Globus pallidus-դժգույն կորիզ

BDNF-ուղեղից սերվող նեյրոտրոֆիկ գործոն

DMSO-դիմեթիլսուլֆոքսիդ

GDNF-գլիայի բջիջներից սերվող նեյրոտրոֆիկ գործոն

NGF-նյարդի աճի գործոն

c-abl-ոչ ընկալիչ թիրոզին կինազ

ROS-ռեակտիվ թթվածնի գեներացիա

JNK-N-թերմինալային կինազ

6-OHDA-6-հիդրոքսիդոփամին

GFAP-գլիայի ֆիբրիլային թթվային սպիտակուց

MPTP-1-մեթիլ-4-ֆենիլ-1,2,3,6-տետրահիդրոպիրիդին

MPP+-1-մեթիլ-4-ֆենիլ պիրիդին

Nrf2- էրիթրոիդ 2-առնչվող գործոն 2

GSK-3β- գլիկոգեն սինթազ կինազ-3β

Ներածություն

Թեմայի արդիականությունը: Աշխարհի ծերացող բնակչությանը զուգընթաց ծերունական, ներառյալ նյարդաբանական հիվանդությունների դեպքերը և տարածվածությունը ավելացել են՝ առաջացնելով լուրջ խնդիրներ առողջապահության համար: Չնայած կենսաբժշկական հետազոտությունների ժամանակակից մոտեցումները հաջողությամբ բացահայտել են նյարդաբանական հիվանդությունների զարգացման հիմքում ընկած մոլեկուլային մեխանիզմները, այդուհանդերձ թերապևտիկ միջամտություններն ունեն սահմանափակ հաջողություններ: Ծերացման հետ կապված նեյրոդեգեներատիվ հիվանդություններից ամենատարածվածներից մեկը Պարկինսոնի հիվանդությունն (ՊՀ) է, որի կլինիկան բնութագրվում է որպես շարժման խանգարում: Պարկինսոնի հիվանդության կլինիկական առանձնահատկություններն ընդգրկում են տրեմորը, բրադիկինեզիան, ռիգիդությունը և կեցվածքային անկայունությունը (Jankovic J. et al 2008): Պարկինսոնի հիվանդության ախտաբանական բնորոշ գիծը սև նյութի (SN) դոփամիներգիկ նեյրոնների կորուստն է, որը ստրիատումում առաջացնում է դոփամինի դեֆիցիտ: ՊՀ, որպես նյարդաբանական հիվանդություն, առաջին անգամ նկարագրել է Ջեյմս Պարկինսը 1817 թվականին իր “An Essay on the Shaking Palsy” աշխատության մեջ (Goetz C.G. et al 2011): ՊՀ ներկայումս ընդգրկում է մոտավորապես 6 միլիոն մեծահասակ ամբողջ աշխարհում, միջինը 55 տարեկանների մոտ: Սա երկրորդ ամենատարածված նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունն է Ալցհեյմերից հետո (Barone P. et al 2010) և ներկայումս ընդգրկում է աշխարհի 65 տարեկանից բարձր բնակչության 1.5%-ը (Meissner W.G. et al 2011): ՊՀ-ն դեպքերի ճնշող մեծամասնությունը (95%) իդիոպատիկ ձևն է, մինչդեռ միայն 5% է գենետիկական (Obeso J.A. et al 2010):

Հիվանդության ոչ շարժողական առանձնահատկությունները տարածված են և հաճախ համարվում են հիվանդների ամենօրյա բնականոն գործունեության ամենախոչընդոտող սահմանափակումներ (McDowell K. et al 2012): Դեռևս չկան ՊՀ վաղ հայտնաբերման բիոմարկերներ: Հիվանդության շարժողական համակարգի դրսևորումները ակնհայտ են միայն հիվանդության ախտաբանության ամենզարգացած փուլից հետո: Հիվանդների ստրիատումում նեյրոթրանսմիթեր դոփամինի ավելի քան

60-80% կորստից հետո է միայն ի հայտ գալիս հիվանդության առաջին շարժողական ախտանիշները: Այդ ընթացքում հիվանդության ախտորոշումը դեռևս կախված է հիվանդության կլինիկական շարժողական սիմպտոմների առկայությունից, սրությունից, առաջընթացից, իսկ ախտորոշման հաստատումը՝ դիահերձումից հետո նեյրոպաթոլոգիայից (Jankovic J. et al 2008): Ցույց է տրված, որ միտոքոնդրիումի թույն ռոտենոնն ավելացնում է N-մեթիլ-D-ասպարտատ (NMDA) առաջացած ազդակները: Այսպիսով, ռոտենոնը, որը կրծողների մոտ առաջացնում է ՊՀ, կարող է մեծացնել դոփամինային նեյրոնների էքսայթոթոքսիկության ռիսկը: Այս արդյունքներն հուշում են, որ օքսիդատիվ ֆոսֆորիլացման մեղմ կապազերծումը կարող է պաշտպանել դոփամինային նեյրոնները միտոքոնդրիումի թույների վնասից, ինչպիսինն է ռոտենոնը: Վենտրալ մեզէնցեֆալոնում սև նյութի հայտնաբերումը կապված է ՊՀ նեյրոախտաբանական ցուցանիշների հայտնաբերման հետ (Parent M. et al 2010): Կիմը և մյուսները ցույց են տվել գամմա ամինոկարագաթթվի (ԳԱԿԹ) սինթեզի նոր ուղիներ՝ միջնորդված ալդեհիդ դեհիդրոգենազ 1a1-ով (ALDH1a1) (Kim J.I. et al 2015): Այս ֆերմենտը լավ է արտահայտված սև նյութի կոմպակտա հատվածի դոփամիներգիկ նեյրոններում և այն անհրաժեշտ է դոփամինի և ԳԱԿԹ-ի համատեղ արտազատման համար: Այս դոփամիներգիկ նեյրոնների մուլտիպլեքսային նեյրոթրանսմիսիայի բարդությունը արտացոլվում է նաև այն փաստով, որ չնայած գլյուտամատը կարող է արտազատվել դոփամիներգիկ աքսոնից, նորմայում այն չի արտազատվում միևնույն կողմից կամ միևնույն սինապսային բշտից, ինչպես դոփամինը (Zhang S. et al 2015b): Այս տարբերակված տարածական արտազատումը կարող է լինել այն բացատրություններից մեկը, թե ինչու է գլյուտամատի կամ ԳԱԿԹ-ի համատեղ արտազատման կարգավորիչ ազդեցությունը կտրուկ տարբերվում վենտրալ կամ դորսալ ստրիատումում և թիրախային բջիջներում (օրինակ, արգելակող սպայնի աստղաձև բջիջները և խոլիներգիկ ինթերնեյրոնները), ինչպես նաև առաջնային ուղեղի դոփամիներգիկ նեյրոնների թիրախների միջև (Mingote S. et al 2015): Էլեկտրաֆիզիոլոգիական և օպտոգենետիկական ուսումնասիրությունները բացահայտել են դոփամիներգիկ նեյրոնների բազմազանությունը ֆունկցիոնալ մակարդակներում: Այս արդյունքները զուգակցվել են տարբերակիչ գեների աճող թվի

և սպիտակուցի արտահայտվածությամբ և կիրառվել են, որպեսզի տաբերակվեն վենտրալ տեգմենտալ շրջանը և սև նյութը, ինչպես նաև այդ հատվածներում նեյրոնների խմբերը: Այս տվյալները նկարագրում են մոլեկուլային մակարդակներում բազմազանությունները, որոնք կարող են հիմք հանդիսանալ ՊՀ ժամանակ սև նյութի կոմպակտա շրջանի դոփամիներգիկ նեյրոնների ընտրողական խոցելիության համար (Anderegg A. et al 2015): Վնասված նիգրոստրիատումի ուղու ստրիատումում դոփամինի կորստի ներքին փոխհատուցման կարողությունը ցույց է տալիս գրեթե 60-80% դինամիկ փոխհատուցման գործընթաց: Այս փոխհատուցումը կարող է միջնորդավորվել ուղղակիորեն նիգրոստրիատային դոփամիներգիկ նեյրոններում փոփոխությունների ուղիների միջոցով, որոնք բարելավվում են, կամ այլ սխեմաներով, որոնք հանդիսանում են արտաքին և ուղղակիորեն չեն ազդում դոփամինային ուղիների վրա: Նիգրոստրիատային դոփամինային ուղիների փոփոխությունները հիմնականում կարող են լինել հետևյալ մեխանիզմների արդյունք (Zigmond Michael J. et al 2002)՝ ստրիատումում TH-դրական նյարդաթելերի կորստից հետո միաժամանակ տեղի է ունենում դոփամինի փոխադրիչի (DAT) կորուստ, որն իր հերթին հանգեցնում է սինապսային ճեղքում դոփամինի բարձր կոնցենտրացիայի, որը կոմպենսացնում է դոփամինային թերմինալների կորուստը: ՊՀ տառապողների ուղեղի հյուսվածքի ներկումը հայտնաբերում է Լյուի մարմնի առկայություն կենտրոնական և ինքնավար նյարդային համակարգերում (Den Hartog Jager W.A. et al 1960): Լյուի մարմինների ձևավորումը և բջջի մահը ակնհայտ են սև նյութի կոմպակտա շրջանում, կապույտ բծում, raphe և հիմնային կորիզի համապատասխանաբար դոփամիներգիկ, նորադրենիներգիկ, սերոտոնիներգիկ և խոլիներգիկ նեյրոններում: Լյուի մարմիններ հայտնաբերված են նաև ուղեղի կեղևում, մասնավորապես սինգուլային և էնտորինային կեղևներում (Dauer W. et al 2003): Իմունոբջջաքիմիական ներկումը և Լյուի մարմնի մաքրումը վեստերն բլոտտի եղանակով հայտնաբերել են ալֆա-սինուկլեինի գերակայություն (Shults C.W. 2006): Ոչ շարժողական ախտանշանները նույնպես ի հայտ են գալիս ՊՀ տառապողների 90% և ավելի մոտ և կարող են հաճախ ի հայտ գալ հիվանդության մինչշարժողական փուլերում (Tadaieksy M.T. et al 2008): Ոչ շարժողական ախտանշաններն ընդգրկում են քնի խանգարումները, հոտառական

խանգարումները, գերհոգնածության և դեպրեսիայի նեյրոհոգեկան խնդիրները, իմացական խանգարումները և այլն (Chaudhuri K.R. et al 2009): ՊՀ շարժողական սիմպտոմների հիմքում ընկած ախտաբանական մեխանիզմները մասնակիորեն պարզված են, սակայն ոչ շարժողական ախտանշաններինը դեռևս հիմնականում մնում են չբացահայտված (Gerfen C.R. et al 2011): Լյուի մարմնի ձևավորումը ուղեղի տարբեր շրջաններում կարող է բացատրել և՛ շարժողական, և՛ ոչ շարժողական ախտանշանները: Իսկապես, Բռաքի և համահեղինակների կողմից նկարագրված 6 փուլային ախտաբանական համակարգը (ուղեղի տարբեր շրջաններում Լյուի մարմնի զարգացման առաջընթացի վրա հիմնված) կարող է բացատրել ոչ շարժողական սիմպտոմների ի հայտ գալը շարժողականից առաջ (Braak H. et al 2003; Lang, A.E. 2011): Իմացական դիսֆունկցիան, ինչպես օրինակ տեսողական-տարածական խանգարումը, կարող է ի հայտ գալ հիվանդության վաղ փուլում և ավելի վատանալ զարգացման հետ: ՊՀ-ը մարդկության այն բազմաթիվ հիվանդություններից է, որն ինքնաբուխ ձևով ի հայտ չի գալիս կենդանիների մոտ, բայց ՊՀ բնորոշ գծերը կարող են ընդօրինակիչ լինել: Մկները, առնետները և կապիկները լայնորեն օգտագործվում են հիվանդության ուսումնասիրության համար՝ նրանց ներարկելով նեյրոտոքսին, ինչպես օրինակ 6-հիդրոքսիդոփամին (6-OHDA) (Beal M.F. 2001): Առաջին հավանական եզրակացությունը այն է, որ սև նյութի նեյրոնները ավելի ընկալունակ են ալֆա-սինուկլեինի ագրեգացիային՝ շնորհիվ իրենց դոփամինի արտադրության բարձր մակարդակի, և երկրորդն այն է, որ սև նյութի բջիջների կողմից դոփամինի արտադրության պակասը ուղղակիորեն բերում է ՊՀ շարժողական խանգարման աշխտանիշների (Irvine G.B. et al 2008): Սև նյութը հիմնականում դոփամիներգիկ նեյրոններից կազմված կորիզ է, որը տեղակայված է միջին ուղեղում, գտնվում է միջին ուղեղի վենտրալ ցանցաձև կորիզում և սև նյութի փարս ռեթիկուլատայի (SNr) դորսալ մակերևույթում: Ավելի մոտ, բայց ավելի մեդիալ տեղադրված վենտրալ տեգմենտալ շրջանի (VTA) հետ միասին, սա կաթնասունների ուղեղում դոփամինի աղբյուրներից առաջնայիններից մեկն է: Դոփամինային ազդանշանը ունի վարքային շատ նշանակալի ֆունկցիաներ և այն ներգրավված է շարժման հսկողության, ելուստների կոդավորման և ուսուցման գործընթացներում (Schultz W. 2007): SNc նեյրոնները

նյարդավորում են ԳԱԿԹերգիկ միջին սպայնի նեյրոնները, որոնք ստրիատումի գլխավոր բջիջներն են, ինպես նաև ստրիատումի մի քանի ինթերնեյրոնները: Միջին սպայնի նեյրոնները բաժանվում են երկու դասերի՝ ելնելով նրանց կապի և ընկալիչների արտահայտվածության ուղիներից. ուղղակի կապ միջին սպայնի նեյրոններ արտահայտող դոփամինային D1 ընկալիչների հետ, որոնք պրոյեկցվում են SNc և անուղղակի կապի D2 դոփամինային ընկալիչներ, որոնք պրոյեկցվում են դժգույն կորիզի (globus pallidus) արտաքին հատված: Համաձայն դասական մոդելի՝ բազալ գանգլիայի ուղիղ և անուղղակի ուղիները գործում են որպես զուգահեռ ազդեցություններ. ուղղակի ուղին խթանում է շարժումը, մինչդեռ անուղղակին ճնշում է այն (Albin R.L. et al 1989): Նեյրոնների ակտիվ *in vivo* պատասխանների երկու տարբեր եղանակները նկատվել են SNc դոփամինային բջիջներում, կանոնավոր և երբեմն՝ անկանոն, միայնակ-սպայկային ակտիվացում և համազարկային ակտիվացում (Grace A.A. 1991): Միայնակ-սպայկային ռիթմը ենթադրվում է, որ կարևոր է լինել ելակետային դոփամիներգիկ տոնուսի համար ուղեղի թիրախային շրջաններում, մինչդեռ համազարկային ակտիվացումը կապված է դոփամինային արտազատման ժամանակավոր ավելացման հետ: Ակտիվության բարձր աստիճանը մոդուլացվում է սինապսային մուտքերով (Kitai S.T. et al 1999): Որոշ իոնային անցուղիների նկարագրության աշխատանքի ամենակարևոր մասը կարևոր է ինքնաբուխ ակտիվության և տոնային պեյսմեյքերային ակտիվության համազարկային ակտիվացման միջև փոխադրման համար, բայց ամբողջական պատկերը դեռևս թերի է (Yamada-Hanff J. et al 2013): SNc դոփամինային բջիջներում նատրիումի հոսքը և ցածր լարմամբ ակտիվացած L-աձև կալցիումի հոսքերը Cav1.3 միջոցով կարևոր դեր են խաղում գործողության պոտենցիալի շեմին հասնող ապաբեվեռացման համար (Putzier I. et al 2009): Ապացույցներ կան, որ NMDA ընկալիչները խթանում են նիգրոստրիատային դոփամիներգիկ նեյրոնների փրկումը: Չնայած սրա ճշգրիտ մեխանիզմը անհայտ է, սակայն այն հաստատվել է մի շարք գիտափորձերի ընթացքում: Այս ընկալիչների արգելակումը, օգտագործելով ոչ մրցակցային անտագոնիստներ, էապես կրճատում են մեկ փորձի ընթացքում դոփամիներգիկ նեյրոնների փրկումը: Այս վարկածի հետագա աջակցության համար, երբ միևնույն

նեյրոններում K+ բարձր մակարդակներ են, L-աձև Ca 2+ անցուղիները ակտիվանում են (Michel P.P. et al 2007): Ըստ այս գիտափորձի՝ NMDA ընկալիչների արգելափակումը այս մոլեկուլի միջոցով կանխում է կալցիումի իոնների մուտքը ընկալիչային անցքի միջով (Katsuki H. et al 2003): Այս տվյալները նախորդ հետզոտության արդյունքների հետ մեկտեղ բերում են այն եզրակացության, որ NMDA ընկալիչները վերահսկում են դոփամիներգիկ նեյրոնների բարձր ակտիվությունը: Այս ընկալիչները կարգավորում են և՛ ինքնաբուխ, և՛ NMDA հարուցված բարձր ակտիվությունը: Այս նյարդամիջնորդանյութային ընկալիչի համալիր ինտեգրացիան և իոնային անցուղիները ցույց են տալիս փրկման կամ նիգրոստրիատալ դոփամիներգիկ նեյրոնների էլեկտրական ակտիվության մեջ նրանց կարևորությունը: Այսպիսով, ՊՀ տառապողների ուղեղում էլեկտրական հոսքերի փոփոխությունները կարող են նպաստել սև նյութի նեյրոնների բջջի մահվանը (Michel P.P. et al 2007): Ժամանակակից բժշկությունը ֆարմակոթերապիայի համար օգտագործում է լավ սահմանված քիմիական մոլեկուլներ: Քանի որ ՊՀ ժամանակ նեյրոդեգեներացիան ընդգրկում է բազմաթիվ ուղիներ, ինչպիսիք են օքսիդատիվ սթրեսը, միտոքոնդրիումի դիսֆունկցիան, պրոտեասոմային արգելակումը, սպիտակուցային ագրեգացիան և նյարդի բորբոքումը, ապա դա հաջող թերապևտիկ եղանակ է, որը պետք է կարողանա միաժամանակ թիրախավորել բազմաթիվ ուղիներ: Հետևաբար, անհրաժեշտ է ունենալ այնպիսի դեղ, որը ընդհանրապես չունի կամ քիչ կողմնակի ազդեցություն ունի և մարդկանց համար թունավոր չէ, երբ ներարկվում է բարձր կոնցենտրացիաներով՝ ի հավելումն հիվանդության բազմաթիվ ուղիների թիրախավորելու կարողության: Սրա հետ կապված՝ բուսական ծագման նյութերը, ինչպիսիք են բուսական էքստրակտները և ֆիտոքիմիական նյութերը, ուսումնասիրվել են բժշկական հատկություններով (Kumar V. 2006): Քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը խորապես բացահայտվել է Pandey et al. հրատարակած արդյունքներում (Pandey N. et al 2008), որը ցույց է տալիս քուրքումինի ուղղակի բարելավումը ալֆա-սինուկլեինի ագրեգացիայով: Քուրքումինի գլխավոր նյութափոխանակիչները մարդկանց համար քուրքումինի սուլֆատն է՝ սուլֆատացնող ֆերմենտի P450 միջոցով և քուրքումին գլյուկորոնիդացումը P450 միջոցով (Vareed S.K. et al 2008): Քուրքումինը պաշտպանում է բջիջները՝ ի

պատասխան գլյուտամատային էքսայթոթոքսիկության, երկրորդային TrkB ընկալիչների գործունեության (BDNF-ի մոլեկուլային թիրախ), որի արդյունավետության գագաթնակետն ի հայտ է գալիս 10μM (98.57% ստուգիչների մոտ) և 24 ժամ մինչբուժական շրջանում (99.81% ստուգիչների մոտ) (Wang R. et al 2008): Բացարձակ պաշտպանություն դիտվում է նաև հիպոկամպի բջիջներում 15μM քուրքումինով (Matteucci A. et al 2011): Քանի որ գլյուտամատով հարուցված BDNF-ի նվազումը ամբողջությամբ վերականգնվում է 2.5-10μM քուրքումինով, ենթադրվում է, որ այն կարևոր դեր է խաղում: Գլյուտամատով հարուցված թոքսիկության դեմ քուրքումինի պաշտպանիչ ազդեցությունը տարածվում է ուղեղիկային գրանուլային և հիպոկամպի բջիջների վրա (Chen R.W. et al 2003; Matteucci A. et al 2011; Matteucci A. et al 2005): Առնետների մոտ նեյրոնների վնասման դեպքում 500ppm քուրքումինի չափաբաժինը նույնն է, ինչ հակաալցհեյմերային դեղաչափը (Frautschy S.A. et al 2001) 4 շաբաթ անց (Wu A. et al 2006) և այլ սպիտակուցներ, որոնք հակված են նվազելու այս վնասվածքի դեպքում, և երբեմն կայունանում են քուրքումինով (Sharma S. et al 2009): Ցույց է տրվել, որ քուրքումայի քրոնիկ դիետիկ սպառումը ՊՀ մկների մոդելներում ունի նյարդապաշտպան ազդեցություն (Mythri R.B. et al 2011): Չնայած որ քուրքումայի օգտագործմանն են վերագրվում մի քանի արդյունավետ ազդեցություններ, քուրքումայի կենսաբանական հատկությունները կարող են կարգավորվել նրա բաղադրիչների միջոցով: Քուրքումայի ամենակարևոր բաղադրիչը քուրքումինն է, որը ցուցաբերում է հակաօքսիդանտ և թերապևտիկ հատկություններ (Kurien B.T. et al 2009): Գործնականում քուրքումինը ջրում և եթերում անլուծելի է, բայց լուծվում է էթանոլում, դիմեթիլսուլֆօքսիդում (DMSO) և ացետոնում: Քուրքումինը (Curcumin I), դեմեթօքսիքուրքումինը (Curcumin II), բիսդեմեթօքսիքուրքումինը (Curcumin III) և վերջերս ճանաչված ցիկլոքուրքումինը քուրքումայի մեջ առկա քուրքումինոիդների գլխավոր բաղադրիչներն են (Ravindran P.N. et al 2006): Վերջերս որոշ հետազոտողներ ցույց են տվել, որ քուրքումինը պայքարում է միտոքոնդրիումի թաղանթի պոտենցիալի կորստի դեմ՝ պահպանելով միտոքոնդրիումի ամբողջականությունը, իսկ քուրքումայի ածանցյալները ավելի լավ են պաշտպանում՝ ի համեմատ քուրքումինի (Mythri R.B. et al 2011): Քուրքումինով դիետիկ հավելումները

պաշտպանում են առնետներին սինապտիկ դիսֆունկցիայից և ուղեղային տրավմատիկ վնասվածքի մոդելներում իմացական դիսֆունկցիայից (Wu A. et al 2006): Դեպրեսիայով կենդանիների մոդելներում քուրքումինը ցուցաբերում է նաև հակադեպրեսանտ ազդեցություն (Xu Y. et al 2005): Քուրքումինի ներարկումը կարող է պաշտպանել քրոնիկ սթրեսից (Xu Y. et al 2007): Քուրքումինի օրալ ներարկումը պաշտպանում է ցնցումներից և էպիլեպսիայով առնետներին՝ իմացական խանգարումներից (Mehla J. et al 2010): Քուրքումինի նյարդապաշտպանության համար ամենակարևոր կենսաբանական գործունեությունը նրա հակաօքսիդանտ գործունեությունն է: Քուրքումինը հակաօքսիդանտ հատկության շնորհիվ պաշտպանում է սև նյութի նեյրոնները, բարելավում է ստրիատումի դոփամինի մակարդակները ՊՀ 6-հիդրօքսիդոփամինային առնետների մոտ (Zbarsky V. et al 2005): Օքսիդատիվ ԴՆԹ-ի կուտակման վնասի առկայության պայմաններում քուրքումինը հաջողությամբ փորձարկվել է ՊՀ տարբեր թոքսիկ մոդելներում: Ի հետևություն նրա հակաօքսիդանտ գործունեության՝ քուրքումինով բուժումը ՊՀ տարբեր մոդելներում առաջարկվել է միտոքոնդրիումի պաշտպանություն համար: Քուրքումինով բուժումը վերականգնում է միտոքոնդրիումի թաղանթի պոտենցիալը, ավելացնում է Cu/Zn SOD և վերականգնում է 6-հիդրօքսիդոփամին ստացած MES 23.5 բջիջների կենսունակությունը (Wang J. et al 2009): Հետաքրքրական է, որ քուրքումինը *in vitro* արգելակում է ալֆա-սինուկլեինի ագրեգացիան ՊՀ հետ կապված և A53T մուտանտ սինուկլեինը SH-SY5Y բջիջներում դոզակախյալ բնույթով (Wang M.S. et al 2010): Այսպիսով, քուրքումինը մեծացնում է ալֆա-սինուկլեինի լուծելիությունը՝ այն դարձնելով ոչ թունավոր (Pandey N. et al 2008): Քուրքումինը, կախված դեղաչափից, պաշտպանում է PC12 բջիջները A53T-սինուկլեինով հարուցված բջջի մահից՝ կրճատելով ռեակտիվ թթվածնի տեսակների մակարդակներում միտոքոնդրիումի ապաբևեռացումը, ցիտոքրոմի արտազատումը և կասպազ 3 և 9-ի ակտիվացումը (Liu Z. et al 2011): Այն նաև ցուցաբերում է նյարդավերականգնիչ առանձնահատկություններ, ինչպես ցույց է տրված նրա նախապես ձևավորված սինուկլեին ֆիբրիլների կարողությունով (Ono K. et al 2006): Քուրքումինային բուժումը բերում է սինֆիլին-1-ի ագրեգացիայի կրճատման, որը ՊՀ ժամանակ դիտվող Լյուի

բորբոքման բաղադրիչն է, որպես ռոտենոնով հարուցված նիտրոստրեատիվ սթրեսի գործունեություն SH-SY5Y դոփամիներգիկ բջիջներում՝ ապահովելով նրա դրական արդյունավետությունը նիտրոսատիվ սթրեսից առաջացած վնասի դեպքում (Pal R. et al 2011): Երկաթը ոչ միայն պատասխանատու է OH ռադիկալի արտադրության համար, այլև այն նպաստում է սև նյութի նեյրոններում դոփամինի ինքնաօքսիդացմանը՝ հանգեցնելով H_2O_2-ի արտազատման: Քուրքումինային բուժումը կարող է հետագայում ավելացնել սև նյութի դոփամիներգիկ նեյրոնների խտությունը (Vajragupta O. et al 2003): Այս տվյալները համահունչ են ավելի վաղ ստացված արդյունքների հետ, որոնցում առաջարկվում էր, որ քուրքումինով նյարդապաշտպանությունը պայմանավորված է նեյրոգենեզով (Kim S.J. et al 2008):

Տվյալ աշխատանքը նվիրված է քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցության ուսումնասիրմանը: Հիշողության և վարքի հետ կապված նյարդային շղթաներում նրա ազդեցությունը ամբողջովին ուսումնասիրված չէ: Քուրքումինի նյարդավերականգնիչ հատկության գիտական հիմնավորումը կարող է մեծ հետաքրքրություն ներկայացնել դեղագիտության և նյարդաբանության բնագավառներում:

Ուսումնասիրության նպատակն ու խնդիրները

Ներկայացվող հետազոտության նպատակն է հանդիսացել ՊՀ կենդանական ռոտենոնային մոդելում ուսումնասիրել քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը: Հիշողության և վարքի հետ կապված նյարդային շղթաներում նրա ազդեցությունը ամբողջովին ուսումնասիրված չէ: Քուրքումինի նյարդավերականգնիչ հատկությունը կարող է մեծ հետաքրքրություն ներկայացնել դեղագիտության և նյարդաբանության բնագավառներում:

Հետազոտության նպատակի իրականացման համար սահմանվել են հետևյալ խնդիրները.

1. Ուսումնասիրել քուրքումինի ազդեցության պայմաններում էնտորինալ կեղևի բարձր հաճախականության խթանման (ԲՀԽ) ժամանակ հիպոկամպի բջիջների էլեկտրական ակտիվությունը և հյուսվածքաբանական փոփոխությունները ՊՀ ռոտենոնային կենդանական մոդելում:

2. Ուսումնասիրել քուրքումինի ազդեցության պայմաններում սև նյութի կոմպակտա հատվածի ԲՀԽ ժամանակ հիպոկամպի բջիջների էլեկտրական ակտիվությունը և հյուսվածքաբանական փոփոխությունները ՊՀ ռոտենոնային կեդանական մոդելում:
3. Գնահատել ռոտենոնով հարուցված ՊՀ առնետների մոտ քուրքումինի նյարդապաշտպան արդյունավետությունը գլանային վարքային թեստի միջոցով:

Աշխատանքի գիտական նորույթն ու գիտագործնական նշանակությունը

Առաջին անգամ ռոտենոնային կենդանական մոդելում քուրքումինի ազդեցության պայմաններում իրականացվել է հիպոկամպի նեյրոնների արտաբջջային ակտիվության գրանցում, ինչպես նաև հիպոկամպ-սև նյութ նեյրոնային շղթայի ներգրավվածությունը Պարկինսոնի հիվանդության պաթոլոգիայում: Սև նյութի ԲՀԽ պայմաններում առաջին անգամ իրականացվել է հիպոկամպի նեյրոնների սինապտիկ ակտիվության գրանցում: Համաձայն որոշ հետազոտությունների տվյալների՝ դոփամիներգիկ համակարգի և հիպոկամպի միջև առկա է փոխադարձ կապ սինապտիկ պլաստիկության, ադապտիվ հիշողության և մոտիվացիոն վարքագծում [Calabresi P. et al 2013]: Հիպոկամպի ֆունկցիայի խանգարում և ալֆա-սինուկլեինի կուտակում է հայտնաբերվել ՊՀ հիվանդների հիպոկամպում [Hall H. et al 2014]: Առաջին անգամ հիստոլոգիական փորձարկումների արդյունքում հայտնաբերվել է հիպոկամպի նեյրոնների ախտաբանական փոփոխությունները ՊՀ ռոտենոնային մոդելում և քուրքումինի կարգավորիչ ազդեցությունը նեյրոնների վերապրման գործընթացում: Առաջին անգամ վարքային գլանային թեստի միջոցով ՊՀ ռոտենոնային մոդելում ցույց է տրվել քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը:

ԳԼՈՒԽ 1 ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ

Պարկինսոնի հիվանդությունը անհայտ ծագումնաբանությամբ ամենատարածված նեյրոդեգեներատիվ հիվանդություններից է և բնութագրվում է շարժողական այնպիսի ախտանիշներով, ինչպիսիք են հանգստի դողը, մկանային ռիգիդությունը, բրադիկինեզիան, պոստուրալ ռեֆլեքսների բացակայությունը, որոնց ընթացքում տեղի է ունենում բազմահամակարգային դեգեներացիայի բարդ փոխազդեցություն և նյարդամիջնորդանյութերի պաշարների հյուծում, ինչպես նաև սև նյութի դոփամիներգիկ նեյրոնների կորուստ (Langston J.W. 2006; Przedborski S. et al 2017): ՊՀ պաթոգենեզի մեխանիզմներում ամենալավ նկարագրված մեխանիզմը էքսայթոթոքսիկությունն է: Գլյուտամատը կաթնասունների կենտրոնական նյարդային համակարգի հիմնական նյարդամիջնորդանյութն է և էքսայթոթոքսիք պրոցեսների հիմնական մասնակիցը: Հայտնի է, որ գլյուտամատային ընկալիչները մեծ քանակությամբ առկա են սև նյութի դոփամիներգիկ նեյրոններում, որոնք սկիզբ են առնում թալամուսից և կեղևից: Բջջի մահ հարուցելու դեպքում գլյուտամատը՝ ի պատասխան գլուտամատային NMDA ընկալիչի ակտիվության կարող է բարձրացնել ներբջջային կալցիումի մակարդակը (Clodfelter G.V. et al 2002), որին հետևում է պերօքսինիտրիտի առաջացումը (Dawson V.L. et al 1996): ՊՀ-ի ժամանակ սև նյութում 3-նիտրոթիրոզինի մակարդակը բարձր է նորմայից: 1-մեթիլ-4-ֆենիլ-1,2,3,6-տետրահիդրոպիրիդինով հարուցված ՊՀ կենդանական մոդելներում ցույց է տրված, որ N-մեթիլ-D-ասպարտատային ընկալիչի անտագոնիստը սև նյութի դոփամիներգիկ նեյրոնների կորստի ժամանակ ունի նյարդապաշտպան ազդեցություն (Turski L. et al 1991): Նեյրոնի վնասման և զարգացման գործընթացում ապոպտոզը ունի մեծագույն դերակատարություն: Չնայած նրան, որ ապոպտոզի դերը ՊՀ ժամանակ հակասական է, հետազոտություններում ընդգրկվել են ՊՀ մարդկանց ուղեղները՝ ապոպտոտիկ և ավտոֆագիկ բջջի մահերով: Ապոպտոզի հետևանքով առաջացած բջջի մահը լավ է արտահայտվել ՊՀ *in vivo* մոդելներում (Hirsch E.C. et al 1999): Ըստ մի շարք աշխատանքների՝ հնարավոր է ակտիվացնել ապոպտոտիկ ուղիները, օքսիդատիվ սթրեսը, պրոտեինային ագրեգացիան և էքսայթոթոքսիկությունը և այն առանցքային պրոցեսները, որոնք ընկած են բջջի մահվան հիմքում: Այսպիսով, ենթադրյալ

ագենտները, որոնք կարող են արգելակել ապոպտոզը կամ բջջի մահը, ՊՀ ժամանակ կարող են օգտագործվել որպես նեյրոպրոտեկտիվ ագենտներ (Jennings D. et al 2014):

1.1 Նեյրոտրոֆիկ գործոններ

Վերջերս հայտնաբերվել է, որ նեյրոտրոֆիկ գործոնները մեծ դեր ունեն բջիջների պահպանման մեջ, և նրանց քանակության նվազումը ՊՀ ժամանակ կարող է հանգեցնել բջջի մահվան: Նման գործոններ են BDNF-ը, GDNF-ը և NGF-ը (Chauhan N.B. et al 2001; Eslamboli A. et al 2005): ՊՀ ժամանակ հիվանդների սև նյութի նեյրոնների քանակը չափազանց քիչ է: Հետևաբար նեյրոտրոֆիկ գործոնների կիրառումը ևս կարող է այլընտրանքային բուժման տարբերակ լինել ՊՀ ախտաբանության ժամանակ: Քանի որ աճի գործոնները կարող են խթանել դոփամիներգիկ նեյրոնների աճը և աբորիզացիան, ապա դրանք կարող են հանդիսանալ որպես իդեալական նյարդապաշտպան գործոններ: ՊՀ կենդանական մոդելներում ցույց է տրվել, որ գլիայի բջիջներից սերվեղ նեյրոսնուցող գործոնը (GDNF) և նեուրտուրին սպիտակուցը կարող են վերականգնել քիմիական եղանակով հարուցված դոփամիներգիկ նեյրոնների կորուստը (Lang A.E. et al 2006, Lang A.E. et al 2011): Չնայած նրան, որ որոշ գործոններ, որոնք սովորաբար նեյրոտրոֆիկ են և մեծ հաջողությամբ այդ հատկությունը դրսևորում են կենդանական մոդելներում, սակայն շատ քչերն են ուսումնասիրվել ՊՀ տառապող մարդկանց վրա: Նման սնուցող գործոն է հանդիսանում գլիայի բջիջներից սերվող նեյրոսնուցող գործոնը, որը սնուցում է սև նյութի դոփամին սինթեզող նեյրոնները (Kordower J.H. et al 2000; Eslamboli A. et al 2005):

1.2 Ալֆա-սինուկլեին և նեյրոդեգեներացիա

Շատ լավ ուսումնասիրված է, թե ինչպես է ալֆա-սինուկլեինը խթանում նեյրոթոքսիկությունը և որ այն հանդիսանում է ՊՀ-ը խթանող ամենակարևոր մոլեկուլը: Այսպիսով, կանխելով սխալ ձևավորված պրոտեինի ագրեգացիան, կարելի է հասնել նոր նյարդապաշտպան թերապիայի: Կան մի շարք եղանակներ, որոնցով կարելի է կանխել այս սխալ ձևավորված պրոտեինների կուտակումը, օրինակ՝ 1.

արգելակելով ալֆա-սինուկլեինի կուտակումը և սինթեզը, 2. երկարացնելով ալֆա-սինուկլեինի մաքրման պրոցեսը և 3. խթանելով միջանկյալ քիմիական մոլեկուլների փոփոխությունները, որոնք պատասխանատու են ալֆա-սինուկլեինի սինթեզի համար (Yamada M. et al 2005): Ցույց է տրված, որ ալֆա-սինուկլեինի մաքրումը կարող է կատարվել ուբիքուիտին պրոտեասոմային ուղիների ակտիվացման միջոցով: Բարձրացնելով պարկինի մակարդակը՝ կարելի է մաքրել ալֆա-սինուկլեինը և կանխել նրա ագրեգացիան ՊՀ *in vivo* մոդելներում: Չապերոնները նույնպես կարող են խթանել ալֆա-սինուկլեինի մաքրումը և կարող են նպաստել ոչ լուծելի ալֆա-սինուկլեինի կուտկմանը ինչպես *in vivo*, այնպես էլ *in vitro* մոդելներում, իսկ գելդանամիցինը *in vitro* պայմաններում կարող է նվազեցնել ալֆա-սինուկլեինի ագրեգացիան (Masliah E. et al 2005): Ցույց է տրված նաև, որ լիզոսոմային ուղիների ակտիվացումը կարող է նվազեցնել ալֆա-սինուկլեինի կուտակումը բջիջներում և լիզոսոմալ ֆերմենտ կատեպսին D-ն կարող է իջեցնել ալֆա-սինուկլեինի կուտակումն ինչպես *in vivo*, այնպես էլ *in vitro* պայմաններում: Այն մկների մոտ, որոնք ալֆա-սինուկլեինով տրանսգենետիկ և վակցինացված են, ցուցաբերում են ալֆա-սինուկլեինի գերնվազում (Qiao L. et al 2008): Վերջին տարիների հետազոտությունների տվյալները ցույց են տվել, որ քիմիական փոփոխությունները, ինչպես օրինակ օքսիդացումը և ֆոսֆորիլացումը, էական դեր ունեն սխալ ձևավորված պրոտեինների կուտակման գործընթացում: Այսպիսով, թիրախավորելով կինազային ակտիվության օքսիդացման և արգելակման պրոցեսները, կարելի է կանխել ալֆա-սինուկլեինի ագրեգացիան (Smith W.B. et al 2005):

1.3 Կինազային արգելակիչներ

Պարզվել է, որ հայտնի ոչ ընկալիչ թիրոզին կինազը (c-abl) կարգավորում է մի շարք բջջային պրոցեսներ, որոնք առնչվում են ՊՀ հետ: Ուսումնասիրությունները, որոնք կատարվել են ՊՀ ժամանակ, ցույց են տվել, որ c-abl-ն ներգրավված է նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների պաթոլոգիայում (Imam S.Z. et al 2011), ինչպես ՊՀ *in vivo*, այնպես էլ *in vitro* մոդելներում: ՊՀ ժամանակ ստրիատումում (զոլավոր մարմնում) մահանալուց հետո հայտնաբերվել է c-abl պրոտեինի բարձր մակարդակ:

Նաև կան տվյալներ, որ c-abl-ի ֆոսֆորիլացումը բարձր է սև նյութում և ստրիատումում: Ավելի վաղ ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ c-abl-ը ֆոսֆորիլացնում է պարկինը և խաթարում է նրա E3 լիգազային ակտիվությունը և աստիճանաբար դեգեներացնում է սև նյութի դոփամիներգիկ նեյրոնները (Ko H.S. et al 2010): Ցույց է տրված նաև, որ c-abl-ը ընդունակ է նաև մոդուլացնել ալֆա-սինուկլեինի մաքրումը: Արգելակելով c-abl ակտիվությունը իմաթինիբով, նիլոթինիբով կամ բաֆեթինիբով՝ ցույց է տրվել, որ դոփամինի մակարդակը հասնում է նորմային և միջին ուղեղի սև նյութի նեյրոններում վերականգնվում է թիրոքսին-հիդրոքսիլազայի կորուստը (Lin Y.L. et al 2013; Imam S.Z. et al 2013):

1.4 ՊՀ կենդանական մոդելներ

ՊՀ համապատասխան կենդանական մոդելների զարգացումը շատ կարևոր է լուսաբանելու համար հիվանդության էլեկտրաֆիզիոլոգիան, ինչպես նաև գնահատելու համար պոտենցիալ թերապևտիկ միջոցները: Ներկայումս մի քանի կենդանական մոդելներ են կիրառվում և ներկայացնում են ՊՀ բնորոշ գծերը (Westphal R. et al 2017): ՊՀ առաջացումը անհայտ է, բայց համաճարակաբանական հետազոտությունները բացահայտել են, որ գոյություն ունի կապ պեստիցիդների և այս նեյրոդեգեներատիվ հիվանդության միջև: Պարակվատը (N,N-դիմեթիլ-4–4–4-բիպիրիդին) հերբիցիդ է: Ազդեցությունը արտահայտվում է օքսիդատիվ սթրեսով, միջնորդավորված վերականգնիչ ցիկլով, որն էլ իր հերթին հանգեցնում է թթվածնի ռեակտիվ ձևերի առաջացմանը, որը ճարպերի, սպիտակուցների, ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի վնասման հետևանք է: Պարակվատը սև նյութի դոփամիներգիկ նեյրոններում առաջացնում է ալֆա-սինուկլեին և Լյուի մարմնիկներ (Jackson-Lewis V. et al 2012): Ռոտենոնը և՛ հերբիցիդ է, և՛ միջատասպան: Այն առաջացնում է ՊՀ բոլոր բնորոշ գծերը՝ ներառյալ վարքային փոփոխությունները, բորբոքումները, ալֆա-սինուկլեինի ագրեգացիան, Լյուի մարմնիկների նման կուտակումները և օքսիդատիվ սթրեսը (Greenamyre J.T. et al 2010): Ռոտենոնը չի առաջացնում նիգրոստրիատային համակարգի դոփամիներգիկ նեյրոնների ամբողջական սպառում (Wu Y.N. et al 2011): Ռոտենոնը առաջացնում է նեյրոդեգեներացիա, հատկապես նիգրոստրիատումի դոփամիներգիկ նեյրոններում,

սակայն տարբեր մեխանիզմներով և ուղիներով (Uversky V.N. 2004): Ենթադրվում է, որ ռոտենոնը կարևոր դեր է խաղում ՊՀ պաթոգենեզում: Ավելին, կա վարկած, որ երկարատև ազդեցությունը կարող է առաջացնել վարքային փոփոխություններ (Brooks A.I. 1999): Ռոտենոնը առաջացնում է դոփամիներգիկ նեյրոնների հյուծում, ալֆա-սինուկլեինի կուտակում, որոնք այդ հիվանդության երկու բնորոշ գծերն են: Ավելին, ռոտենոնը կարող է առաջացնել սերոտոնիներգիկ նեյրոնների, ինչպես նաև միջին ուղեղի դոփամիներգիկ նեյրոնների դեգեներացիա (Aldridge J.E. et al 2005): Ենթադրվում է, որ ռոտենոնը կարող է նաև առաջացնել դեպրեսիայի նման վարքագիծ: (Yong R. 2007): Չնայած դոփամիներգիկ նեյրոնների հիմքում ընկած մեխանիզմները դեռևս անորոշ են, սակայն ենթադրվում է, որ միտոքոնդրիումի դիսֆունկցիան կարող է նշանակալի դեր խաղալ (Won-Seok C. et al 2008): ՊՀ ժամանակ նեյրոդեգեներատիվ գործընթացները չեն սահմանափակվում միայն նիգրոստրիատումի դոփամիներգիկ նեյրոններով, այլ ընդգրկում են նաև մեզոլիմբիկ և մեզոկորտիկալ համակարգերը, ինչպես նաև raphe կորիզի (կարի կորիզ) սերոտոնիներգիկ բջիջները, իսկ դոփամինի սպառումը տեղի է ունենում 3 ուղիներով, բայց առավելապես այն առաջանում է նիգրոստրիատումի համակարգում և ավելի փոքր չափով մեզոկորտիկալ և մեզոլիմբիկ ուղիներում (Ossowska K. et al 2005): Ուղեղում դոփամիներգիկ համակարգը սկիզբ է առնում միջին ուղեղում և ենթատեսաթմբում տեղադրված բջիջների խմբերից: Դոփամիներգիկ նեյրոնները բաժանված են 3 խմբերի, A8 և A9 սև նյութում և A10 վենտրալ տեգմենտալ շրջանում (Prensa L. et al 2001):

Պարկինսոնի հիվանդությունը կապված է հիպոկամպի Ռիչարդ Կամիցիոլի շարժողական խանգարման (Richard Camicioli MD Movement) հիվանդության հետ (Nestler E.J. et al 2006): Ռոտենոնը (C23H22O6) լայնորեն կիրառվող պեստիցիդ է: Այս նյութը բնական հիդրոքսիդային համալիր է՝ ստացված *Lonchocarpus Cappassa*–ի արմատներից: Ռոտենոնը ունի մի քանի օրում կենսադեգրադացիայի ենթարկվելու հակում (Uversky V.N. 2004): Այս պեստիցիդը չափազանց ճարպալույծ է, այսինքն այն կարող է հեշտությամբ անցնել բջջաթաղանթով առանց որևէ փոխադրիչի: Այսպիսով, ռոտենոնը հեշտությամբ անցնում է արյուն-ուղեղային պատնեշով և հասնում ուղեղ, որտեղ այն կուտակվում է միտոքոնդրիումներում: Փաստացիորեն, ռոտենոն ստացած

առնետների մոտ զարգանում են ՊՀ մի շարք առանցքային հատկանիշներ՝ ներառյալ սև նյութի դոփամիներգիկ նեյրոնների կորուստը, զարգացող օքսիդատիվ սթրեսը և ալֆա-սինուկլեինի ագրեգացիան (Won-Seok C. et al 2008): Ռոտենոնով վնասված բջիջներում, համալիր I ընտրված արգելակիչը, ցույց է տվել Ca2+-ի անսովոր դինամիկա, ի տարբերություն ռոտենոնով չմշակված բջիջների, որոնց մոտ միտոքոնդրիումի դիսֆունկցիան կարող է փոխել բջջի ազդանշանային գործունեությունը և հանգեցնել մահվան (Sherer T.B. et al 2001):

1.5 Ռոտենոնի թոքսիկության մեխանիզմը

Հիմնվելով մի քանի հայտնագործությունների վրա՝ ռոտենոնի թունավոր ազդեցությունը բազմագործոն է: Ռոտենոնը կարող է առաջացնել՝ 1) օքսիդատիվ սթրես, 2) ապոպտոզի ինդուկցիա, 3) ալֆա-սինուկլեինի ագրեգացիայի և ֆիբրիլացիայի արագացում (Uversky V.N. 2004), 4) սերոտոնիներգիկ նեյրոնների ոչնչացում (Ronise M. et al 2010): Կարևոր է նշել, որ ապոպտոզը, սերոտոնիներգիկ և դոփամիներգիկ նեյրոնների ոչնչացումը կարող են լինել օքսիդատիվ սթրեսի հետևանք: Ռոտենոնը իր թոքսիկությունը ուղեղում հիմնականում արտահայտում է օքսիդատիվ սթրեսի միջոցով: Չնայած օքսիդատիվ վնասման պատճառները ամբողջովին բացահայտված չեն, բայց երկու ուղիներ են ընդունվել որպես ռեակտիվ թթվածնի գեներացիայի հիմնական աղբյուրներ ա) համալիր 1-ի ակտիվության խանգարում և բ) ակտիվացած միկրոգլիայի ավելացում, համալիր 1 –ի արգելակում և օքսիդատիվ սթրես: Բացահայտվել է, որ ռոտենոնը միտոքոնդրիումի համալիր 1-ի հզոր արգելակիչ է (Won-Seok C. et al 2008): Քանի որ ռոտենոնը ուժեղ ճարպալույծ է, ուղեղի շրջանում այն կարող է առաջացնել հոմոգեն համալիր 1-ի արգելակում (Todd B. et al 2003): Համալիր 1-ի արգելակումը ունի մի քանի նշանակություն՝ որպես նվազող ԱԵՖ-ի արտադրանք և օքսիդատիվ վնասում: Միտոքոնդրիումը ROS-ի (ռեակտիվ թթվածնի գեներացիայի) հիմնական աղբյուրն է: Չնայած ROS-ի առաջացումը միտոքոնդրիումի շնչառության ժամանակ հիմնականում տեղի է ունենում ցածր մակարդակում, ՊՀ դեպքում ROS-ի բարձր գեներացիան դիտվում է սև նյութում, վնասում է միտոքոնդրիումը և բջջային բաղադրիչները (Claudia M. et al 2005):

Ենթադրվում է նաև, որ համալիր 1–ի քրոնիկ արգելակման հիմքում ընկած առաջնային մեխանիզմը կուտակային օքսիդատիվ վնասումն է: Համարվում է, որ ուղեղում ռոտենոնային թոքսիկությունը առաջանում է օքսիդատիվ սթրեսից՝ ներառյալ ճարպերի, սպիտակուցների նվազող մակարդակը և ԴՆԹ-ի օքսիդատիվ փոփոխությունները: Քրոնիկ համալիր 1-ի արգելակումը նույնպես վնասում է սև նյութի դրական նեյրոնները (TH+) և նվազեցնում է սև նյութի դոփամիներգիկ համակարգում TH սպիտակուցը (Uversky V.N. 2004): Հայտնի է նաև, որ ռոտենոնը ակտիվացնում է միկրոգլիան՝ առաջացնելով ռեակտիվ թթվածնի տեսակների առաջացման ավելացում: Այսպիսով, միկրոգլիան ռեակտիվ թթվածնի տեսակների արտազատման միջոցով առաջացնում է նեյրոդեգեներացիա (Gao H.M. et al 2003): Միկրոգլիայի ակտիվացումը նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների, ինչպիսին է օրինակ ՊՀ-ը, բնորոշ գիծ է: ՈՒղեղում սև նյութը միկրոգլիայի ամենաբարձր խտությունն ունի, իսկ ՊՀ տառապողների մոտ ստրիատումում և սև նյութում նկատվում է միկրոգլիայի ավելացում: Ռոտենոնը իր ցիտոթոքսիկությունը գործադրում է ապոպտոզի միջոցով (Uversky V.N. 2004): Ռոտենոնի ներարկմամբ p38 միտոգեն ակտվացված պրոտեինկինազները և c-Jun N-թերմինալային կինազների (JNK) ուղիները բերում են ապոպտոզի և դոփամիներգիկ նեյրոնների մահվան: JNK և p38 միտոգեն ակտվացված պրոտեին կինազները ակտիվանում են բջջային սթրեսի ժամանակ, օրինակ, օքսիդատիվ սթրեսի և թոքսիկ քիմիական կաթվածների ժամանակ (Newhouse K. et al 2004): Ռոտենոնի ներարկումը սև նյութի նեյրոններում առաջացնում է ալֆա-սինուկլեինի դրական ցիտոպլազմային ագրեգացիա: Պարկինսոնի հիվանդության բնորոշ գծերից մեկը Լյուի մարմնիկներ պարունակող ալֆա-սինուկլեինի առկայությունն է (Sherer T.B. et al 2003): Ցույց է տրված, որ ռոտեննի ներարկումից հետո սև նյութում և ստրիատումում ալֆա-սինուկլեինի ֆիբրիլացիան զգալի ավելանում է, քանի որ ֆիբրիլային ձևավորման զարգացման գործընթացում այն ամենաարդյունավետ պեստիցիդն է (Uversky V.N. 2004): Ռոտենոնը միկրոխողովակների դեպոլիմերացման միջոցով խաթարում է վեզիկուլային փոխադրումը, որը հանգեցնում է սոմայում բշտիկների կուտակման: Միկրոխողովակների դեպոլիմերացումը կարևոր դեր է խաղում դոփամինային

նեյրոններում ռոտենոնի ընտրողական թոքսիկության համար: Ռոտենոնը օքսիդատիվ սթրեսի միջոցով առաջացնում է միկրոխողովակների դեպոլիմերացում, որը խաթարում է վեզիկուլային փոխադրումը և առաջացնում է նրանց կուտակում սոմայում, ինչն էլ ուժեղացնում է օքսիդատիվ սթրեսը (Yong R. 2007): Նիգրոստրիատային ուղու դոփամինային նեյրոնները ռոտենոնով հարուցված օքսիդատիվ սթրեսի նկատմամբ ավելի խոցելի են, քան մեզոլիմբիկ կամ մեզոկեղևային ուղիների դոփամինային նեյրոնները (Savaa V. et al 2006): Այս խոցելիությունը կարող է կապված լինել նիգրոստրիատային ուղում միկրոգլիայի բարձր խտության հետ, բայց բավարար սահմանված չէ, թե ինչու վենտրալ տեգմենտալ շրջանում դոփամինային նեյրոնները ավելի դիմացկուն չեն ռոտենոնին, քան սև նյութի դոփամինային նեյրոնները: Ամենից շատ, ռոտենոնը կարող է առաջացնել նեյրոթոքսիկ ազդեցություն այս գործոնների մի մասի կամ ամբողջի համակցման միջոցով (Uversky V. N. 2004):

1.6 K_{ATP} անցուղիներ և նեյրոթոքսիկություն/նյարդապաշտպանություն

ԿՆՀ-ում դոփամիներգիկ նեյրոնները ունեն K_{ATP} ամենաբարձր արտահայտվածության մակարդակ (Mourre C. et al 1989), բայց բջջի մահվան գործընթացում նրանց դերը հակասական է: Կա տեսակետ, որ այս անցուղիների բացումը ունի նյարդապաշտպան նշանակություն: SH-SY5Y և PC12 բջիջների մի քանի ուսումնասիրություններ K_{ATP} անցուղիների ակտիվացման միջոցով ցուցաբերել են նյարդապաշտպանություն՝ ի պատասխան մի շարք թոքսիկ ինսուլտների՝ ներառյալ իշեմիան և ռոտենոնի ներարկումը (Yang Y. et al 2004): K_{ATP} անցուղիների բացումը դիազօքսիդ ագոնիստով նյարդապաշտպանություն է առաջացնում նաև CA1 նեյրոններում (Huang L. et al 2006): Կարծիք կա, որ K_{ATP} անցուղիների բացմամբ առաջացած նյարդապաշտպանությունը առաջացել է էներգիայի պահպանման միջոցով՝ շնորհիվ նեյրոնների գործունեության նվազման (Guatteo E. et al 2005): Կրճատված նեյրոնների գործունեությունը հիպօքսիայի ժամանակ իոնային գրադիենտների պահպանման համար պահանջվող էներգիայի խնայման հաշվին պահպանում է էներգիան (Ballanyi K. 2004): Այլ ուսումնասիրություններ ցույց են տվել,

որ K_{ATP} անցուղիների ակտիվացմամբ առաջացած նեյրոնային ակտիվության նվազումը հանգեցնում է բջջի փրկության համար պահանջվող գործունեությունից-կախյալ գեների էքսպրեսիայի նվազման (Liss B. et al 2001): Սև նյութի դոփամիներգիկ նեյրոններն ունեն K_{ATP} անցուղիների ամենաբարձր մակարդակներից մեկը (Mourre C. et al 1989): Այս անցուղիները ակտիվանում են տարբեր ինսուլտների, ներառյալ հիպոքսիայի և 6-OHDA ներարկման ժամանակ (Berretta N. et al 2005) և ռոտենոնային մոդելում (Bao L. et al 2005): Պլազմային թաղանթի K_{ATP} անցուղիների դերը ռոտենոնով հարուցված բջջի մահվան մեջ հակասական է մնում: Որոշ ուսումնասիրողներ առաջարկում են, որ այս անցուղիների ակտիվացումը իշեմիկ կամ թոքսիկ կաթվածների ժամանակ նյարդապաշտպան է՝ շնորհիվ էներգիայի պահպանման՝ որպես բջջաթաղանթի գերբևեռացման արդյունք, որը նվազեցնում կամ վերացնում է գործողության պոտենցիալը (Guatteo E. et al 2005): Այնուամենայնիվ, ուսումնասիրությունը, որ ռոտենոնը առաջացնում է [Ca2+]i բարձրացում, անկախ է K_{ATP}–ի ակտիվացումից, եթե անգամ K_{ATP} անցուղիները եղել են նյարդապաշտպան, այն ի վիճակի չէր լինի կանխել ռոտենոնից առաջացած մրցակից [Ca2+]i ծանրաբեռնվածությունը (Crompton M. 2004): Ռոտենոնով հարուցված դիստալ դենդրիտային հնարավոր գերբևեռացումը ակտիվացված ցիկլիկ նուկլեոտիդային (HCN) անցուղիներում կարող է հանգեցնել Na+ ակտիվացման: Նաև ցույց է տրվել, որ ռոտենոնի թոքսիկությունը հնարավոր է դառնում այլ թոքսիկ գործոնների ցածր մակարդակների շնորհիվ՝ ներառյալ էքսայթոթոքսինները, միտոքոնդրիումի շնչառության արգելակիչները և բորբոքման հարուցիչները (Schuh R.A. et al 2008): Նախկինում ցույց է տրվել, որ անգամ տրանզիենտ (<1 րոպե) HCN անցուղու ակտիվացումը կարող է հանգեցնել սև նյութում [Na+]i-ի հայտնաբերման (Knopfel T. 1998): Այնուամենայնիվ, այս հետազոտության մեջ HCN անցուղիների ZD7288-ով արգելակումը չի կանխել ռոտենոնով հարուցված Na+-ի մուտքը, սակայն, ի տարբերություն դրա, HCN անցուղիները ներգրավված չեն [Na+]i–ի ավելացման գործընթացում (Eisfeld J. et al 2007): Սև նյութի դոփամիներգիկ նեյրոնները դրսևորում են յուրօրինակ դեղաբանական ուրվագիծ՝ ներառյալ գերբևեռացումը՝ ի պատասխան D2 ընկալիչի ակտիվացման (Lacey M.G. et al 1989): Ռոտենոնը նվազեցնում է

միտոքոնդրիումի դեհիդրոգենազ ֆերմենտի ակտիվությունը և գեներացված ռեակտիվ թթվածնի տեսակները, սուպերօքսիդը և նիտրիտը: Մելատոնինի հետ համատեղ ներարկումը բջջային կուլտուրայում որպես հակաօքսիդանտ, զգալիորեն ճնշում է ռոտենոնով հարուցված միտոքոնդրիումի դեհիդրոգենազ ֆերմենտի ազդեցության նվազումը, ավելացնում է ROS-ը և RNS-ն: Ցույց է տրվել, որ ներբջջային կալցիումը, ավելի քան օիքսիդատիվ սթրեսը, նեյրոններում ռոտենոնով հարուցված ապոպտոզի հզոր գործոն է (Swarnkar S. et al 2012): Առնետների մոդելներում ռոտենոնի ներարկումը ֆրոնտալ կեղևում, ուղեղիկում, ուղեղիկի կորիզում, սև նյութում, ենթատեսաթմբում և հիպոկամպի շրջանում առաջացնում է աստրոցիտների նշանակալի ակտիվացում: Ռոտենոնի ներարկումը նույնպես հանգեցնում է նշանակալի դեգեներացիայի ուսումնասիրված շրջաններում փոփոխված կորիզային մորֆոլոգիայի հետ միասին՝ գնահատված հեմատոքսիլին-էոզին ներկմամբ: Առնետների ուղեղում ռոտենոնի ներարկումը հարուցում է գլյուտաթիոնի և աուգմենտինային նիտրիտային մակարդակների զգալի նվազում: Ռոտենոնի *In vitro* ներարկումը C6 բջիջներում առաջացնում է գլիայի ֆիբրիլային թթվային սպիտակուցի (GFAP) ավելացող էքսպրեսիա և դեղաչափից և ժամանակից կախյալ բնույթի նվազող կենսունակություն, ապոպտոտիկ քրոմատինային կոնդենսացիա և ԴՆԹ-ի վնասում՝ համեմատած ստուգիչ բջիջների հետ (Goswami P. et al 2015):

1.7 Քուրքումին

Քուրքումինը պոլիֆենոլ է, որը հիմնականում առկա է Քուրքումա բույսի արմատներում (Curcuma longa): Այն լայնորեն օգտագործվում է հիմնականում հնդկական, չինական և իրանական ճաշատեսակներում՝ որպես համեմունք՝ խառնված քարիի հետ: Կլինիկական փորձարկումները ցույց են տվել, որ քուրքումինը կրկնակի կույր և պլացեբո ստուգիչ ուսումնասիրություններում բարելավել է ենթաստամոքսային գեղձի և կրծքագեղձի քաղցկեղը (Bayet R.M. et al 2010): ՊՀ մի քանի մոդելների նախակլինիկական հետազոտություններում նշված են քուրքումինի նյարդապաշտպան հատկության մասին: Օրինակ՝ քուրքումինի համեմատաբար ցածր կոնցենտրացիան (1 μM) կանխում է 1-մեթիլ-4-ֆենիլ պիրիդինային (MPP+) թոքսիկությունը ինչպես

առաջնային դոփամիներգիկ, այնպես էլ SH-SY5Y բջիջներում և ավելացնում է տարբերակված PC12 բջիջների կենսունակությունն ու աքսոնի երկարությունը (Yu S. et al 2010): Ավելին, քուրքումինը պաշտպանում է SH-SY5Y բջիջները սինուկլեինի ազդեցությունից և գերարտահայտվածությունից: Բացի այդ, քուրքումինը առաջնային դոփամիներգիկ նեյրոններում արգելակում է միկրոգլիայի ակտիվությունը խթանող թոքսիկությունը և 6-հիդրոքսիդոփամինային թոքսիկությունը MES23.5 բջիջներում, ինչպես նաև կանխում է 1-մեթիլ-4-ֆենիլ պիրիդինային թոքսիկությունը PC12 բջիջներում (Singh P.K. et al 2013): Սահմանափակ օրալ կենսահասանելիության պատճառով կենդանական մոդելների ուսումնասիրություններում քուրքումինը օգտագործվում է ներորովայնային ներարկման ձևով: Ներարկման տարբեր եղանակներ կիրառած հետազոտություններում ցույց է տրվել, որ քուրքումինը (50 կամ 80 մգ/կգ/օր) պաշտպանում է այն մկների դոփամիներգիկ համակարգը, որոնք ստացել են MPTP և առնետների, որոնք վնասվել են միակողմանի 6-հիդրոքսիդոփամինով (Rajeswari A. et al 2008; Rangasamy S.B. et al 2010): Հատկանշական է, որ ըստ որոշ հետազոտությունների քուրքումինը արգելակում է մոնոամին օքսիդազ A և B ֆերմենտները՝ դրանով իսկ բարձրացնելով մկների մոտ դոփամիներգիկ պարունակությունը (Kulkarni S.K. et al 2008): Հետևաբար, քանի որ մոնոամին օքսիդազ-B –ի MPTP-ն վերափոխում է իր թունավոր մետաբոլիտ 1-մեթիլ-4-ֆենիլ պիրիդինի, արգելակելով այս ֆերմենտը, կարելի է մասնակիորեն բացատրել Պարկինսոնի հիվանդության MPTP մոդելներում քուրքումինի պաշտպանիչ գործունեությունը: Ավելին, *in vitro* միկրոգլիայի նախաբորբոքային գործոնների արտազատման *in vivo* արգելակումը և կարգավորման նվազումը և՛ նուկլեար գործոն kappa B-ն, որը ներգրավված է բորբոքման գործընթացում, և՛ iNOS-ը *in vitro*, և *in vivo* ծառայում են ընդգծելու համար քուրքումինի ենթադրյալ բորբոքային գործունեությունը (Yang, S. et al 2008): Ըստ Վանգի և մյուսների՝ քուրքումինը, կեղևի նեյրոններում խթանելով BDNF արտազատումը և ակտիվացնելով ազդնշանային տրանսդուկցիոն ուղիները՝ բարձրացնում է կեղևի նեյրոնների կենսունակությունը (Wang R. et al 2010b): Քուրքումինով (50, 100 և 200 մգ/կգ, ուտելու եղանակով) երեքշաբաթյա բուժումը նկատելիորեն բարելավում է վարքային փոփոխությունները, օքսիդատիվ վնասը և

միտոքոնդրիումի ֆերմենտի կոմպլեքսային գործունեությունը՝ որպես համեմատություն բացասական ստուգիչ (ռոտենոնային) խմբի հետ: Քուրքումինով բուժված մկների մոտ մեղմվում է բարձրացած ացետիլխոլինէսթերազա ֆերմենտի մակարդակը՝ ի համեմատ բացասական ստուգիչ խմբի: Բացահայտվել է, որ քուրքումինը վերականգնում է շարժողական խանգարումները և ավելացած հակաօքսիդանտ ֆերմենտների գործունեությունը՝ առաջ մղելով իր հակաօքսիդանտային *in vivo* պոտենցիալը: Այս հետազոտության արդյունքները վկայում են քուրքումինի նյարդապաշտպան դերը ռոտենոնով հարուցված մկների մոդելներում և առաջարկում են ուժեղ հիմնավորում այս խառնուրդի հեռանկարային թերապևտիկ հատկությունը ՊՀ ժամանակ (Khatri D.K. 2016):

1.8 Քուրքումինի ազդեցությունները

in vitro և *in vivo* հետազոտությունները ցույց են տվել, որ հակաբորբոքային ազդեցության շնորհիվ քուրքումինը պաշտպանում է դոփամիներգիկ նեյրոնները: Քուրքումինով բուժումը նկատելիորեն արգելակում է նաև 6-հիդրոքսիդոփամինով խթանված NF-κB տրանսլոկացիան (Wang J. et al 2009), ինչպես նաև միկրոգլիայում LPS առաջացած մորֆոլոգիական փոփոխությունները՝ կտրուկ ճնշելով LPS-հարուցված բորբոքային գործոններն ու գենները: Ավելին, քուրքումինով բուժումը նվազեցնում է LPS–ով հարուցված NF-κB ակտիվությունը և ակտիվացնող սպիտակուց 1ը (AP-1) (Yang S. et al 2008): Քուրքումինոիդներով բուժումը (150 մգ/կգ/օր օրալ ներարկում, մեկ շաբաթ) կանխել է MPTP-ով միջնորդավորված դոփամինի սպառումը և թիրոզին հիդրոքսիլազ (TH) իմունոռեակտիվությունը և արգելակել գլիայի ֆիբրիլյար թթու սպիտակուցի արտահայտվածությունը և iNOS–ը՝ խթանված ազոտի օքսիդի սինթեզը: Նմանապես, քուրքումինով բուժումը կրճատում է բորբոքային ցիտոկինը (IL-6, IL-1β, TNF-α) և MPTP-մկների ստրիատումում ընդհանուր նիտրիտի առաջացումը (Ojha R.P. et al 2012): Քուրքումինը մեղմում է TH-IR կորուստը և նվազեցնում է միկրոգլիայի և աստրոցիտների ակտիվությունը (Tripanichkul W. et al 2013): Վերջերս, օգտագործելով քանակական միկրոլուծույթի վրա հիմնված մեթոդը, հետազոտողները ցույց տվեցին, որ LPS-խթանված միկրոգլիան արտազատում է լուծվող գործոններ, որոնք, երբ

անցնում են դեպի աքսոն, հանգեցնում են աքսոնի դեգրադացիայի: Քուրքումինը սպեցիֆիկորեն պաշտպանում է աքսոնը NO-միջնորդավորված դեգրադացիայից, բայց ոչ նեյրոնի բջջամարմինը (Tegenge M.A. et al 2014): Քուրքումինը նաև պաշտպանում է դոփամինային նեյրոնները ապոպտոզից: Ցույց է տրված, որ քուրքումինը պաշտպանում է PC12 բջիջները 1-մեթիլ-4-ֆենիլ պիրիդինով հարուցված ցիտոթոքսիկությունից և ապոպտոզից՝ նվազեցնելով միտոքոնդրիումի թաղանթի պոտենցիալի կորուստը, և այս նյարդապաշտպան ազդեցությունը կարող է միջնորդավորվել Bcl-2-միտոքոնդրիում-ROS-iNOS ուղիներով, քանի որ քուրքումինը մեղմում է 1-մեթիլ-4-ֆենիլպիրիդինով հարուցված ներբջջային ռեակտիվ թթվածնի մակարդակը՝ առաջացնելով BCl-2 և անտագոնիզմ 1-մեթիլ-4-ֆենիլպիրիդինով հարուցված/խթանված նիտրիտի օքսիդի սինթեզի գերարտահայտվածությունը (Chen J. et al 2006): ՊՀ բջջային մոդելների հետազոտություններում բացահայտվել է, որ և՛ ներբջջային, և՛ արտաբջջային ալֆա-սինուկլեինը կարող են առաջացնել դոփամիներգիկ նեյրոնների ապոպտոզ: Քուրքումինը կարող է մեղմել ալֆա-սինուկլեինով հարուցված թոքսիկությունը՝ նվազեցնելով ռեակտիվ թթվածնի մակարդակները և պաշտպանելով բջիջը ապոպտոզից (Wang M.S. et al 2010): Բացի այդ, ստրիատումում դոփամիներգիկ նեյրոնների մահը և դոփամինային աքսոնների կորուստը MPTP մկների մոդելներում նկատելորեն ճնշվում են քուրքումինից (Pan J. et al 2012): Հեղինակները ցույց են տվել, որ լիպոսոմալ ձևավորված քուրքումինը [Lipocurc™] նկատելիորեն խոչընդոտում է ապոպտոզը և սև նյութի խթանված դոփամիներգիկ նեյրոնները (Chiu S. et al 2013): Օգտագործելով SH-sY5Y բջիջներում 6-հիդրոքսիդոփամինով առաջացած նեյրոթոքսիկությունը՝ քուրքումինը նվազեցրել է Bax/Bcl-2 հարաբերակցությունը, մատրիցային ՌՆԹ-ի արտահայտվածությունը և պրոտեինի մակարդակը (Jaisin Y. et al 2011): Քուրքումինը սպեցիֆիկորեն արգելակում է JNK/c-Jun ուղիները (Kim H.T. et al 2005) և կարող է խոչընդոտել MPP(+)-ը, որը առաջացնում է c-Jun N-թերմինալ կինազի (JNK) և դոփամիներգիկ նեյրոնների մահվան կարգավորում: MPTP-հարուցված JNK ֆոսֆորիլացումը կարող է միտոքոնդրիումում առաջացնել Bax տրանսլոկացիա և արտազատել ցիտոքրոմ c, որը կարող է նվազել քուրքումինով (Pan J. et al 2012): LPS–ով աքսոնի դեգեներացիան միջնորդավորված է

միտոքոնդրիումի MyD88/p38 MAPK ազդանշանով և դրան ուղեկցող NO-ի արտադրությամբ: Արգելակված JNK-ի միջոցով քուրքումինը պաշտպանում է աքսոնը JNK ֆոսֆորիլացումը ներառող դեգեներացիայից (Tegenge M.A. et al 2014): Քուրքումինը կարող է նվազեցնել A53T ալֆա-սինուկլեինի կուտակումը mTOR (կաթնասունների թիրախային ռապամիցին/p70S6K)՝ ազդանշանի դաունռեգուլյացիայի միջոցով (Jiang T.F. et al 2013): Պարկինսոնի հիվանդության ժամանակ քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը նաև կախված է նրա հակաօքսիդանտ հատկություններով: 2005 թվականին Zbarsky V et al. առնետներին քուրքումինով բուժեցին և ցույց տվեցին սև նյութի մի շարք TH-դրական բջիջների և ստրիատումի դոփամինային մակարդակների վրա քուրքումինի հզոր պաշտպանիչ ազդեցությունը (Zbarsky V. et al 2005): Մկների դոփամիներգիկ նեյրոնների քուրքումինային բուժումը վերականգնում է սպառված գլյուտաթիոնի մակարդակները, պաշտպանում է սպիտակուցների օքսիդացումից, պահպանում է միտոքոնդրիումի համալիր 1-ի ակտիվությունը, որը նորմայում GSH-ի կորստի պատճառով թուլացած է, ինչպես նաև պահպանում է SOD1 մակարդակները 6-հիդրոքսիդոփամինային մկների վնասված ստրիատումում (Tripanichkul W. et al 2013): Քուրքումինը պաշտպանում է MES23.5 բջիջները 6-հիդրոքսիդոփամինով թունավորումից՝ վերականգնելով միտոքոնդրիումի թաղանթի պոտենցիալը, ավելացնելով Cu-Zn սուպերօքսիդ դիսմուտազը և ճնշելով ներբջջային ROS-ի ավելացումը (Wang J. et al 2009): 6-հիդրոքսիդոփամինի ազդեցությունից մարդկանց դոփամինային բջիջների SH-SY5Y գծի քուրքումինային բուժումից հետո բարելավվել է բջջի կենսունակությունը և նշանակալիորեն կրճատվել է ռեակտիվ թթվածնի տեսակները (Jaisin Y. et al 2011): Արդյունքները ցույց են տվել, որ քուրքումինոիդները ցուցաբերում են նշանակալի պաշտպանություն զարգացող նեյրոնային դեգեներացիայի ժամանակ՝ շնորհիվ 6-հիդրոքսիդոփամինով վնածված առնետների օքսիդատիվ խանգարման ազատ ռադիկալների մաքրման (Agrawal S.S. et al 2012): SH-SY5Y-ի քուրքումին I-ով բուժումը նշանակալիորեն նվազեցնում է քուինոպրոտեինի ձևավորումը և կրճատում է p-p38 մակարդակը, ճեղքում է կասպազ-3–ը 6-հիդրոքսիդոփամինով առաջացած դեղաչափ-կախյալ բնույթը: Քուրքումինը նաև դեթոքսիկացնում է պերօքսինիտրիտը և դիմակայում է միտոքոնդրիումի համալիր 1-ի

արգելակմանը և պրոտեինի նիտրատացմանը (Mythri R.B. et al 2011): Քուրքումինը պաշտպանում է A53T մուտանտ ալֆա-սինուկլեինով հարուցված բջջի մահից՝ օքսիդատիվ սթրեսի և միտոքոնդրիումի բջջի մահվան ուղիների արգելակման միջոցով (Liu F.T. et al 2016): Քուրքումինով բուժումը պաշտպանում է SH-SY5Y բջիջները 6-հիդրոքսիդոփամինով հարուցված նեյրոթոքսիկությունից: Քուրքումինը զգալիորեն բարելավում է բջջի կենսունակությունը և նվազեցնում ROS և p53 ֆոսֆորիլացումը (Zbarsky V. et al 2005): Ցույց է տրվել, որ քուրքումինը ակտիվացնում է Nrf2/ARE (հակաօքսիդանտ տարր) ուղին, որը ակտիվացնում է հակաբորբոքային և հակաօքսիդանտ գեների տրանսկրիպցիան՝ ցուցաբերելով նյարդապաշտպան ազդեցություն (Beal M.F. 2001): Քուրքումինի՝ 6-հիդրոքսիդոփամինի դեմ պաշտպանիչ ազդեցությունը կարող է վերագրվել նրա երկաթ խելատային ունակությանը՝ ճնշելով սև նյութի դոփամիներգիկ նեյրոնների երկաթով հարուցված դեգեներացիան (Du X.X. et al 2012): Ի հավելումն ալֆա-սինուկլեին ագրեգացիայի և ֆիբրիլացիայի կանխման (Ji H.F. et al 2014)՝ քուրքումինը նաև արգելակում է ալֆա-սինուկլեինի ֆիբրիլների (falphaS) ձևավորումը և ապակայունացնում է ավելի վաղ *in vitro* ձևավորված falphaS-ը (Ono K. et al 2008): Քուրքումին-գլյուկոզիդը (Curc-gluc), որը քուրքումինի փոփոխված ձևն է, կանխում է օլիգոմերի առաջացումը և արգելակում է ֆիբրիլների առաջացումը: Curcgluc-ը մեծացնում է ալֆա-սինուկլեինի լուծելիությունը (Gadad B.S. et al 2012): Հետազոտությունները ցույց են տվել Ալցհեյմերի հիվանդության հետ կապված քրոնիկ բորբոքման, տեղային նյարդի բորբոքման աքսոնային դեգեներացիայի ժամանակ նրա պաշտպանիչ ազդեցությունը (Tegenge M.A. et al 2014), այդ թվում նաև β-ամիլոիդով հարուցված նեյրոդեգեներացիա (Wang Y. et al 2013), ծայրամասային նեյրոպաթիա (Di Pierro F. et al 2013), մկների մոտ հիշողության խանգարումներ (Rajasekar, N. et al 2013), մկների ուղեղում N-մեթիլ N-նիտրոմիզաթթվով հարուցված ֆունկցիոնալ և կառուցվածքային փոփոխություններ (Singula N. et al 2012): Ալցհեյմերի հիվանդության ժամանակ քուրքումինի ունեցած պոտենցիալ օգտակարության կլինիկական ուսումնասիրություն է իրականացվել շատ հեղինակների կողմից (Yang C. et al 2013): Ուղեղը օքսիդատիվ վնասի ժամանակ ամենախոցելի օրգանն է: Օքսիդատիվ սթրեսը և գեներացված ազատ ռադիկալները, որոնք հիմնականում ի հայտ են գալիս բարձր

ներբջջային օքսիդատիվ միկրոմիջավայրում շրջապատելով նեյրոնները և գլիայի բջիջները կապված են ուղեղի ծերացման և ուղեղի վնասվածքների հետ (Halliwell B. et al 2006): Հայտնի է, որ քուրքումինը ուժեղ հակաօքսիդանտ միացություն է, որն ունի մեծ հնարավորություն հեռացնելու թթվածնից ստացված ազատ ռադիկալները: Ուստի, քուրքումինը կարող է լինել պոտենցիալ նյարդապաշտպան գործոն: Քուրքումինը նվազեցնում է ալֆա-սինուկլեինի կուտակման ցիտոթոքսիկությունը նեյրոբլաստոմային բջիջների և ներբջջային ROS մակարդակների նկատմամբ: Ավելին, քուրքումինը նշանակալի ազդեցություն ունի ուղեղի չարորակ ուռուցքների վրա, ինչպիսիք են գլիոման, հիպոֆիզի ադենոման, նյարդի թաղանթի ուռուցքը և այլն (Karmakar S. et al 2005): Շնորհիվ իր հիդրոֆոբ բնույթի՝ քուրքումինը թույլ լուծելի է չեզոք լուծիչներում, օրինակ ջրում: Քուրքումինի լուծելիությունը թեթևակի բարելավվում է հիմնային պայմաններում: Այնուամենայնիվ, քուրքումինը հեշտությամբ լուծվում է օրգանական լուծիչներում, օրինակ՝ էթանոլում, մեթանոլում, իզոպրոպանոլում, ացետոնում և դիմեթիլսուլֆօքսիդում (DMSO) և ունի չափավոր լուծելիություն հեքսանի, ցիկլոհեքսանի, տետրահիդրոֆուրանի և դիօքսանի մեջ (Priyadarsini K.I. et al 2009): Դոփամինի հոմեոստազը խանգարվում է ալֆա-սինուկլեին օլիգոմերների որոշակի չափից, որոնք հարաբերվում են բշտերի հետ և առաջացնում են դոփամինի արտազատում (Sun F. et al 2007): Դոփամինի խանգարված հոմեոստազը խթանում է թթվածնի ակտիվ ձևերի առաջացումը և խաթարում է միտոքոնդրիումի ֆունկցիաները՝ նախաձեռնելով օքսիդատիվ սթրսի հետ կապված հաջորդիվ երևույթները: Մասնավորապես, դոփամիներգիկ նեյրոններում MPP^+ թոքսինների կուտակումները, որպես դոփամիներգիկ բջիջների DAT վնասվածքի բաղադրիչ, արգելակում է միտոքոնդրիումի շնչառական շղթան և առաջացնում է բջջի ապոպտոզ (Yavich L. et al 2004): Քուրքումինի կիրառումը մուտանտ PC12-ով հարուցված Պարկինսոնի հիվանդության մոդելների A53Y ալֆա-սինուկլեինի վրա, նվազեցնում է բջջի մահվան ինդուկցիան՝ նվազեցնելով ներբջջային ռեակտիվ թթվածնի տեսակները, միտոքոնդրիումի ֆունկցիայի խաթարումը, ցիտոխրոմի արտազատումը, կասպազ 3-ի և կասպազ 9-ի ակտիվությունը (Liu Z. et al 2011): Վերջին 30 տարիների բազմաթիվ հետազոտություններից ստացված տվյալները ցույց են տվել, որ բազմաթիրախային և

պլեոտրոպիկ թերապիաները ավելի բարձր հաջողության են հասել նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների բուժման ժամանակ ի տարբերություն մոնոթիրախային թերապիայի (Ono S.I. et al 2014): Քուրքումինը հիպոկամպի նեյրոններում իր նյարդապաշտպան ազդեցությունը դրսևորում է նաև ալկոհոլային թոքսիկակության պայմաններում՝ հավանաբար ակտիվացնելով CREB-BDNF ազդանշանային ուղիները (Motaghinejad M. et al 2017): Քուրքումինը հիպոկամպի ուռուցքային նեկրոզի ալֆա գործոնի և ազոտի օքսիդի սինթեզի մակարդակների (iNOS) ապակարգավորման միջոցով կարող է վերականգնել ուսուցման և հիշողության ֆունկցիաները (Xi Bao Yu et al 2016): Քուրքումինի դիետիկ պարունակությունը կարևոր է նեյրոգենեզի և հիպոկապով միջնորդավորված իմացական խանգարումների դրական բարելավման համար: Դիետիկ պոլիֆենոլները հայտնի են ուղեղի վրա իրենց ունեցած արդյունավետ ազդեցությամբ՝ պաշտպանելով նեյրոնային բջիջները վնասվածքից: Կենդանիների նյարդային հյուսվածքում քուրքումինի ամենաբարձր մակարդակը հասել է մոտավորապես 60-րդ րոպեի ընթացքում՝ ներերակային կամ ներորովայնային (100 մգ/կգ) ներարկումից հետո: Որպես քուրքումինի արագ նյութափոխանակության հետևանք՝ 2 ժամ անց այն չի հայտնաբերվում ուղեղում (Estabeyoglu T. et al 2012): Պետք է նշել, որ ուղեղի հյուսվածքում քուրքումինը կարող է հասնել բուժական մակարդակի, երբ այն կանոնավոր կերպով է ընդունվում: Վերը նշված պայմաններում քուրքումինը կուտակվում է ներբջջային մակարդակում և նպաստում է գենային էքսպրսիայի էպիգենետիկ կարգավորմանը, ինչպիսիք են՝ ԴՆԹ-ի մեթիլացումը և միկրոՌՆԹ արտահայտվածությունը: Վերջին տարիներին ուշադրության կենտրոնում է քուրքումինի՝ կոգնիտիվ խանգարումների ժամանակ ունեցած դրական ազդեցությունները: Կլինիկական տվյալները ցույց են տվել, որ քուրքումինի հավելումների կանոնավոր կիրառումը բարելավում է կոգնիտիվ գործընթացները: Ավելին, հիշողության տարբեր խանգարումներով կենդանիների մոդելներում քուրքումինի ներարկումը բարելավում է հիշողության դեֆիցիտը: Այս արդյունքները կարող են լինել քուրքումինի՝ օքսիդատիվ սթրեսի վրա ունեցած ազդեցության, BDNF և արտաբջջային ազդանշան-կարգավորող ֆերմենտի (ERK)/P38 ազդանշանային ուղիների և PKCδ պրոտեին կինազի դեգեներացիայի շնորհիվ (Dong S. et al 2012):

Պարզվել է, որ քուրքումինի հակաբորբոքային և հակաօքսիդանտային թերապևտիկ գործունեության շնորհիվ վերականգնվում են բետա-ամիլոիդ պեպտիդով հարուցված իմացական դեֆիցիտը և նեյրոախտաբանական փոփոխությունները (Frautschy S.A. et al 2001): Վերջերս հաղորդվել է, որ քուրքումինը նպաստում է հիպոկամպի թուլացած նեյրոգենեզին (Zhao C. et al 2008): Քուրքումինը ունի երկֆազ ազդեցություն նեյրոնների ցողունային բջիջների, պրոգենիտոր բջիջների վրա, որի շնորհիվ նրա ցածր կոնցենտրացիան կարգավորում է բջիջների պրոլիֆերացիան, իսկ բարձր կոնցենտրացիան նեյրոթոքսիկ է (Xu Y. et al 2007): Սա համաձայն է այն հայտնագործության հետ, որում քուրքումինի բարձր կոնցենտրացիան հարուցում է օքսիդատիվ սթրես և բջիջների ապոպտոզ: Համաձայն նախկինում կատարված հետազոտությունների՝ քուրքումինի ցածր կոնցնտրացիայի դեպքում նեյրոնների ցողունային/պրոգենիտոր բջիջների բնորոշ միտոգենետիկ գործունեությունը միջնորդավորված է ERK և p38 ֆերմենտների ակտիվացմամբ: Մեկ այլ հետազոտության ժամանակ ցույց է տրված, որ քուրքումինի ներարկումը նշանակալիորեն բարձրացնում է նոր նեյրոնների քանակը հիպոկամպի ատամնավոր գալարում՝ խթանելով նրանց պրոլիֆերացիան (Park H.R. et al 2011): Նեյրոնների ցողունային/պրոգենիտոր բջիջների պրոլիֆերացիայի խթանման միջոցով նեյրոգենեզի ընդլայնումը նկատվում է վարժությունների ընթացքում: Վարժությունները բարձրացնում են ռեակտիվ թթվածնի տեսակների ձևավորումը, և պոլիֆենոլներ ներառող քուրքումինը կարող է նպաստել միջուկային գործոն էրիթրոիդ 2-առնչվող գործոն 2 (Nrf2)-ի հակաօքսիդանտ պատասխանին (Lichtenwalner R.J. et al 2006): Ենթադրվում է, որ հիպոկամպում փոփոխված թթվային հավասարակշռությունը առաջացնում է նեյրոնների ցողունային/պրոգենիտոր բջիջների պրոլիֆերացիա: Ավելին, համարվում է, որ հիպոկամպի BDNF-ի բարձր մակարդակը օգտակար է նեյրոգոնեզի ընդլայնման համար՝ վարժությունների և/կամ քուրքումինի միջոցով (Park H.R. et al 2011): Հիպոկամպի BDNF-ը կապված է նաև հիշողության և տարածական ուսուցման հետ, քանի որ պոլիֆենոլով հարուստ սննդակարգը բարձրացնում է հիպոկամպի նեյրոգենեզի լարվածությունը կայուն սթրեսի ազդեցության պայմաններում՝ ավելացնելով հիպոկամպի BDNF/CREB-ի էքսպրեսիան (Xu Y. et al

2007): Ըստ վերը նշված տվյալի՝ ERK և BDNF-ազդանշանային ուղիները կարող են բարելավել նեյրոգենետիկ գործունեությունը, որը թույլ կտա հայտնագործելու հավանական թերապիա, որը կխթանի հիպոկամպի նեյրոգենեզը ծննդից հետո և կնպաստի Ալցհեյմերի ֆենոտիպով հետիշեմիկ նեյրոդեգեներացիայի բուժմանը: Քուրքումինով բուժումը ավելացնում է աքսոնների աճը և նեյրոնների ցողունային բջիջների պրոլիֆերացիան մշտապես սթրեսային կենդանիների մոտ և ծերացած առնետների մոտ վերականգնում է հիշողության խանգարումը: Համաձայն Tiwari et al. (Tiwari S.K. et al 2014)՝ մոլեկուլային մեխանիզմը, որով քուրքումինը առաջացնում է նեյրոգենեզ, կապված է կանոնիկալ Wnt/β-կատենին ազդանշանային ուղիների ընդունման և գլիկոգեն սինթազ կինազ-3β (GSK-3β) արգելակման հետ: Հեղինակները ցույց են տվել, որ քուրքումինը խթանում է նեյրոնների ցողունային բջիջների պրոլիֆերացիան և նեյրոնների տարբերակումը և փոխում է հիպոկամպի նեյրոգենեզի β-ամիլոիդ պեպտիդով հարուցված արգելակումը և Ալցհեյմերով առնետների մոդելներում հիշողության դեֆիցիտը (Wang Y. et al 2013)՝ ազդանշանային ուղիների ակտիվացման միջոցով: Քուրքումինը ակտիվացնում է Wnt/β-կատենին ազդանշանային ուղին և խթանում է հասուն նեյրոգենեզը՝ Wnt արգելակող գործոնը (Wif-1), Dickkopf (Dkk-1) և GSK-3β հետ փոխազդեցության միջոցով: Քուրքումինը հիպոկամպի նեյրոգենեզի հաստատված խթանիչ է և նրա հստակ դերը իշեմիկ հիպոկամպի նեյրոգենեզի պրոցեսում մնում է հաստատուն: Ալցհեյմերի β-ամիլոիդով առաջացած առնետների մոդելներում քուրքումինը ճնշում է գլիայի ակտիվությունը և ընդլայնում է տարածական հիշողությունը (Wang Y. et al 2013): Հավանական է, որ քուրքումինը գլիայի ակտիվության ապակարգավորման միջոցով պաշտպանում է հիպոկամպի նեյրոգենեզը և նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների ժամանակ բարելավում է կոգնիտիվ դեֆիցիտը, ինչպես օրինակ հետիշեմիկ վնասվածքը (Biscaro B. 2012): Վերը նշված գլիայի գործունեության պաշտպանությունից զատ, քուրքումինը կարող է գործել սերոտոնինային ընկալիչ 1A և BDNF–ի ափոեգուլիացիայի միջոցով և արտաբջջային ազդանշան-կարգավորիչ ֆերմենտների և p38 MAPKs միջոցով (Park H.R. et al 2011): Երկու ուղիներն էլ ներգրավված են նեյրոնների պլաստիկության փոփոխման գործընթացում: Ավելին, քուրքումինը կարող է բարելավել նեյրոգենեզը՝

ակտիվացնելով գեները, ներառյալ հիստոն ացետիլտրանսֆերազները և հիստոն դեացետիլազները, ինչպես նաև սիրտուին 1-ը (SIRT1) (Chung S. et al 2010): Քուրքումինով երկարատև բուժումը բարձրացնում է նեյրոգենեզը ինչպես ատամնավոր գալարի սուբգրանուլար շրջանում, այնպես էլ հիպոկամպի դաշտերում: Քուրքումինով երկարատև բուժումը դրականորեն է ազդում ծերացած առնետների գեների դիսռեգուլյացիայի վրա հիպոկամպում և կեղևում, և այս երևույթն ավելի լայն է հիպոկամպում, քան կեղևում: Նշվում է, որ ափռեգուլյացված գեների քանակը նվազում է հիպոկամպում, բայց ավելանում է կեղևում՝ քուրքումինով բուժման հետ միաժամանակ: Գենետիկ հետազոտության մեկ այլ կարևոր հայտնագործությունն այն է, որ այս տարբեր կերպ արտահայտված գեների մեծ մասը ներգրավված են հիպոկամպի նեյրոգենեզում: NeuroD1 գենը, որը գերարտահայտված է կեղևում, Wnt ուղու ստորին մասում է և այն շատ կարևոր է նեյրոգենեզի և նեյրոնների պրոգենիտորների ազատվելու համար: Քուրքումինով բուժումից հետո նկատվել է Fezf2 գենի ափռեգուլյացիա, և այս գենը ներգրավված է նեյրոգենեզի և ենթակեղևային նեյրոնների պրոյեկցիայի նեյրոնային աճման մեջ: Wnt2 գենը նաև գերարտահայտված է հիպոկամպում և այն ներգրավված է նեյրոգենեզի, դենդրիտների աճի և արբորիզացիայի (ճյուղավորման) գործընթացներում: Երկարատև բուժումից հետո քուրքումինը կարգավորում է Tiam1 գենը, որը աքսոնների աճի և դենդրիտների սպիների մորֆոգենեզի համար ունի կենսական նշանակություն (Dong S. et al 2012): Ներկայումս քուրքումինն ինտենսիվորեն ուսումնասիրվում է՝ որպես խոստումնալից թերապևտիկ միջոց Ալցհեյմերի ֆենոտիպի հետիշեմիկ ներոդեգեներացիայի բուժման նպատակով: Տվյալները վկայում են, որ կրծողների մոտ քուրքումինը կարող է գործել որպես նյարդապաշտպան նյութ հետիշեմիկ ելքերի և վարքային խանգարման ժամանակ և այս նյարդապաշտպան ազդեցությունները ներկայացվում են անտիապոպտոտիկ գործունեությամբ (Zhao J. et al 2010): Կրծողների մոտ վարքային լրացուցիչ ուսումնասիրությունները ցույց են տվել իմացական զգալի փոփոխություններ: Պրոտեին կինազ C -ի ակտիվացմամբ ընկճվում է NMDA ընկալիչի ֆունկցիան: Ցույց է տրվել, որ քուրքումինը նվազեցնում է կասպազների կալցիում-կախյալ ինդուկցիան: Քուրքումինը արգելակում է nNOS ակտիվությունը և պաշտպանում է *in vitro*

պերօքսինիտրիտով խթանված բջջի մահից (Estabeyoglu T. et al 2012): Բացի այդ, ցույց է տրվել, որ քուրքումինը Neuro2-A բջիջներում արգելակում է ջրածնի պերօքսիդի նեյրոթոքսիկությունը: Որպես քուրքումինի պոտենցիալ առողջության համար օգտակարության հետևանք՝ ներառյալ հակաբորբոքային, հակաօքսիդանտային, հակաէքսայթոթոքսիկ գործունեությունները, այն կարող է համարվել որպես Ալցհեյմերի հետիշեմիկ ուղեղային նեյրոդեգեներացիաների համար խոստումնալից բուժական միջոց: Քուրքումինից ստացված լակտոֆերին նանոմասնիկները կարող են խոստումնալից դեղամիջոց լինել դոփամիներգիկ նեյրոնների SK-N-SH բջջային խմբի ռոտենոնով հարուցված նեյրոթոքսիկության ժամանակ (Bollimpelli V.S. 2016): Ցույց է տրված, որ քուրքումինը բարելավում է ռոտենոնով հարուցված դոփամիներգիկ նեյրոնների օքսիդատիվ վնասը առնետների սև նյութում՝ Akt/Nrf2 ազդանշանային ուղու ակտիվացման միջոցով (Cui Q. et al 2016):

ԳԼՈՒԽ 2 ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ ԵՎ ՆՅՈՒԹԵՐԸ

2.1 Արտաբջջային էլեկտրաֆիզիոլոգիական գրանցում

Փորձարարական կենդանիներ

Հասուն ալբինո առնետները 200±30 գ, վերցվել են Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի փորձարարական կենտրոնից: Կենդանիները պահվել են 25±2 °C ջերմաստիճանում, 12 ժամ լույս և խավար պայմաններում, լուսավոր՝ 07:00–19:00 ժամանակահատվածում: Կենդանիների սնունդը և ջուրը եղել են ըստ պահանջի: Բոլոր փորձերը իրականացվել են Երևանի Պետական Բժշկական Համալսարանի էթիկական կոմիտեի "Լաբորատոր կենդանիների խնամքի սկզբունքների" պահանջների և Եվրոպական համայնքների խորհրդի կեղմից 1986 թվականի նոյեմբերի 24-ին ընդունված հրահանգին համապատասխան:

Ուսումնասիրությունները իրականացվել են արու ալբինո առնետների վրա (200±30գ): Էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրություններում իրականացվել է հիպոկամպի առանձին նեյրոնների ֆոնային և հրահրված սպայկային ակտիվության արտաբջջային գրանցում իպսիլատերալ էնտորինալ կեղևի բարձր հաճախականության խթանման (ԲՀԽ) պայմաններում: Սուր *in vivo* փորձերում կենդանիները անզգայացվել են (Ուրետան 1.2 գ/կգ), անշարժացվել են 1% դիթիլինով (25մգ/կգ, ն/ո) և տեղափոխվել արհեստական շնչառության փուլ: Առնետի մեկուսացված գլխուղեղի մոդել ստանալու նպատակով ողնուղեղը (կրծքային T2-T3 հատվածներ) հատվել է տեղային նովոկայինային անզգայացման պայմաններում: Գրգռող, գլանաձև, երկբևեռ էլեկտրոդը իջեցվել է իպսիլատերալ էնտորինալ կեղևի մեջ հետևյալ ստերեոտաքսիկ կոորդինատներով (Paxinos G. et al 2005)՝ AP–9, L±3.5, DV+4.0 մմ, իսկ գրանցող ապակյա 1 մկմ ծայրով միկրոէլեկտրոդը, որը լցված է 2 M NaCl-ի լուծույթով, բազմակի իջեցվել է հիպոկամպի մեջ AP–3.2-3.5; L±1.5-3.5; DV +2.8–4.0 մմ կոորդինատներով: Հաջորդ փորձարկման ժամանակ գրգռող, գլանաձև, երկբևեռ էլեկտրոդը իջեցվել է սև նյութի կոմպակտա հատվածի մեջ հետևյալ ստերեոտաքսիկ կոորդինատներով (AP-5.0; L±2.0; DV+7.5-8.0 մմ), իսկ գրանցող ապակյա 1 մկմ ծայրով միկրոէլեկտրոդը (լցված է 2 M NaCl-ի լուծույթով)՝ հիպոկամպի վերը նշված շրջանը:

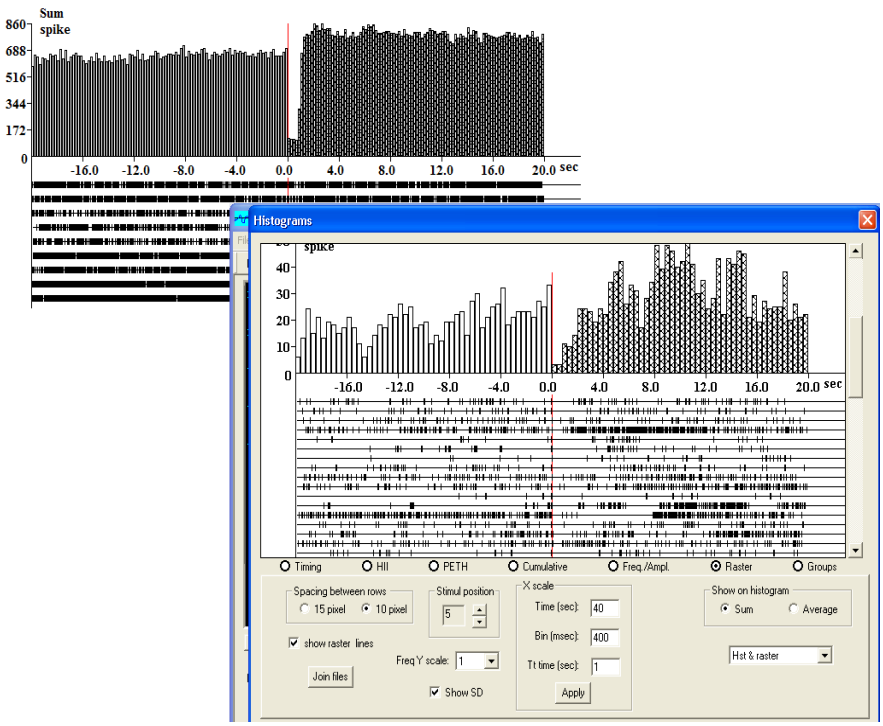
ԲՀԽ-ն (100 Հg 1 վրկ տևողությամբ) իրականացվել է 0.16-0.18 Ա ուղղանկյունային հոսանքի միջոցով: Online ռեժիմում սպայկային պոտենցիալները տատանասահմանային դիսկրիմինատորի միջոցով ընտրվելուց հետո ենթարկվել են ծրագրային վիճակագրական բազմամակարդակ վերլուծության (Վ.Ս.Կամենեցկու մշակմամբ): Իրականացվել է առանձին նեյրոնների նախա- և հետխթանիչ սպայկային ակտիվության գրանցում իրական ժամանակում (40 վրկ), որի գնահատման հիման վրա կառուցվել են գումարային և միջին հաճախականության հիստոգրամներ, որոնցում տարբերակվում են նախա-, հետխթանիչ ժամանակահատվածները՝ ներառյալ ԲՀԽ ժամանակահատվածի տետանիզացիան (Galoyan A. et al 2010, Yenkoyan K. et al 2011): Վերլուծության նպատակն է՝ որոշել միջսպայկային ինտերվալների տարբերության վիճակագրական հավաստիությունը նախա- և հետխթանիչ ժամանակահատվածներում: Այս խնդրի լուծման նպատակով կառուցվել են միջսպայկային ինտերվալների հիստոգրամներ, որոշվել են բաշխման հիմնական չափանիշները, միջին արժեքները, մոդաները, մասնատումները և հաճախականությունները: Ստյուդենտի t-չափանիշները համարվում են երկու անկախ ընտրանքների միասեռության ավանդական ստուգման մեթոդ: Վիճակագրական գնահատումների հուսալիության բարձրացման նպատակով օգտագործվել է նաև Վիլկոքսոնի երկընտրանքային չափանիշների ստուգման ոչ պարամետրային մեթոդը, որը հաշվարկում է տվյալ չափանիշների ասիմպտոտիկ նորմալությունը և թույլ է տալիս հաշված արժեքները համեմատել աղյուսակային ստանդարտ, նորմալ բաշխման արժեքների հետ (0.05, 0.01, և 0.001):

3 շաբաթ տևողությամբ ռոտենոնով հարուցված մոդելի էլեկտրաֆիզիոլոգիական փորձարկումներում առնետները բաժանվել են 3 խմբի՝ յուրաքանչյուրում 6 կենդանի՝ ստուգիչ (արևածաղկի յուղ), նորմա և ռոտենոնային:

6 շաբաթ տևողությամբ էլեկտրաֆիզիոլոգիական փորձարկումներում կենդանիները պատահականորեն բաժանվել են 4 խմբի՝ ռոտենոն (n=6), արևածաղկի յուղ (n=6), DMSO (n=6), քուրքումին (n=6): Ընդհանուր 6 արու ալբինո առնետներին ներորովայնային ներարկվել է արևածաղկի յուղ 1 մգ/կգ (ստուգիչ) 3 շաբաթ: DMSO (1

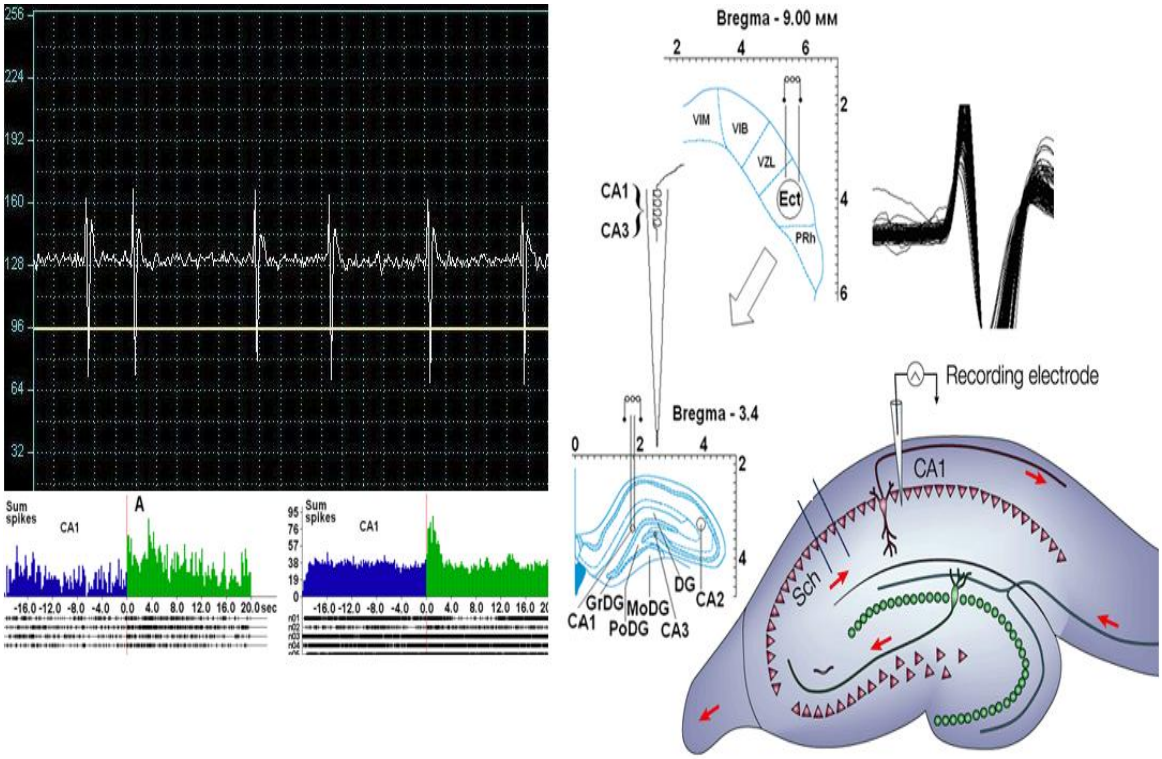
մգ/կգ) և քուրքումինը (200 մգ/կգ) արու առնետներին ներարկվել է ամեն օր 3 շաբաթ տևողությամբ:

***Նկար 1**. Առանձին նեյրոնների սպայկային ակտիվության օրինակ. Դեղին գիծ՝ ամպլիտուդային դիսկրիմինատոր*

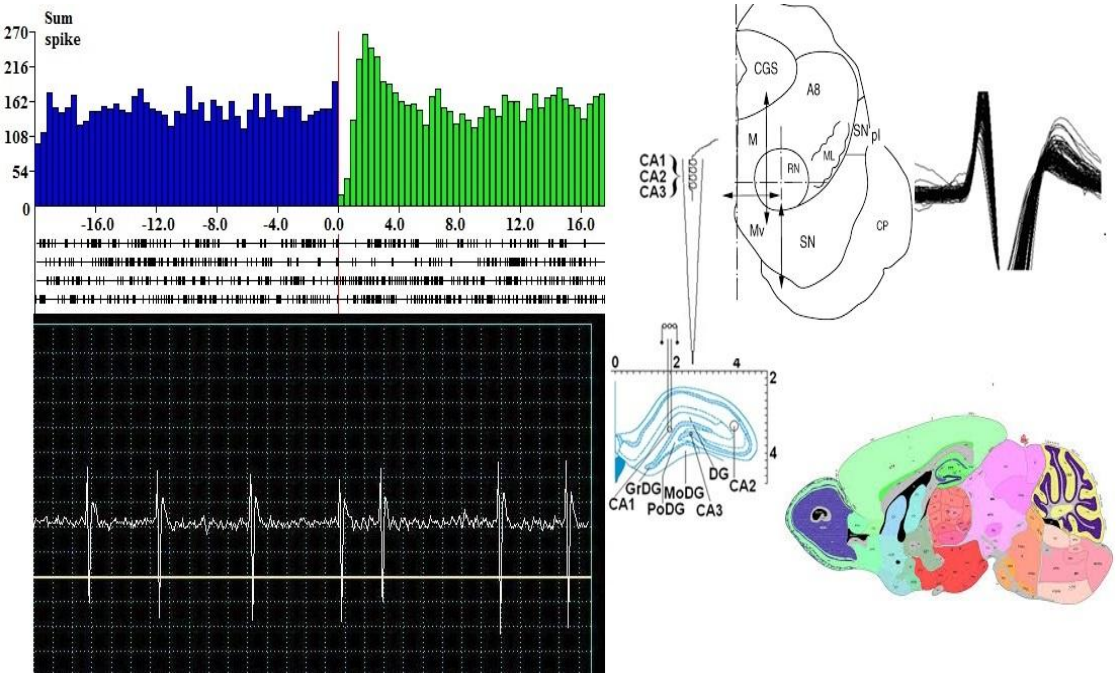


***Նկար 2.** Գրանցված պերիստիմուլային սպայկային ակտիվությունը ներկայացված է ռաստերի ձևով (ձախ՝ սպայկային ակտիվությունը մինչև խթանումը՝ ֆոնային ակտիվությունը, աջ կողմում՝ հետստիմուլային ակտիվությունը՝ ներառյալ բարձր*

հաճախականությամբ խթանումը (1վրկ): Վերևում՝ գումարային սպայկերի պերիստիմուլային հիստոգրամ, ներկայացված սպայկինգի հիման վրա և ռաստերի ձևով



Նկար 3. *Էնտորինալ կեղևի ԲՀԽ (100 Հg) պայմաններում հիպոկամպի նեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական գրանցում*



Նկար 4. *Սև նյութի կոմպակտա հատվածի ԲՀԽ (100 Հց) պայմաններում հիպոկամպի նեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական գրանցում*

Առնետները ներորովայնային ներարկմամբ ստացել են 2.5 մգ/կգ ռոտենոն՝ լուծված արևաձաղկի յուղի մեջ (օրական մեկ անգամ, 3 շաբաթ շարունակ): Նույն քանակությամբ առնետներին տրվել է ռոտենոնի ստուգիչը՝ արևաձաղկի յուղ և քուրքումինի ստուգիչը՝ DMSO (ներորովայնային ներարկմամբ): Ռոտենոնը արևաձաղկի յուղի մեջ լուծվել է ներարկումից մեկ օր առաջ:

I խումբ-Ռոտենոն, 2.5 մգ/մլ (ն/ո) 21 օր

II խումբ- Արևաձաղկի յուղ, 1 մլ/կգ (ն/ո) 21 օր

III խումբ - Ռոտենոն (21 օր) + DMSO, 1 մլ/կգ (ն/ո) 21օր

IV խումբ – Ոոտենոն (21 օր) + Քուրքումին, 200մգ/կգ (ն/ո) 21 օր

V խումբ-ստուգիչ խումբ

III և IV խմբերին քուրքումինը (200 մգ/կգ) և DMSO-ն ներարկվել են Պարկինսոնի հիվանդության մոդելի առաջացումից հետո, 3 շաբաթ տևողությամբ: Կենդանիներն ուսումնասիրվել են 6 շաբաթ և հետո կատարվել է *in vivo* էլեկտրաֆիզիոլոգիական վերլուծություն: Վարքային (գլանային թեսթ) պարամետրերն ուսումնասիրվել են օրական կտրվածքով:

2.2 Վարքային ուսումնասիրություն: Գլանային թեստ

Այս թեստի նպատակն է հանդիսացել որոշել շարժման կողային ուղղվածության առկայությունը և չափը, որը հանդիսանում է որպես միակողմանի նյարդաբանական վնասի ցուցանիշ: Կենդանիները տեղադրվել են օրգանական ապակուց պատրաստված գլանի մեջ (20 սմ լայնությամբ և 30 սմ բարձրությամբ)՝ բացահայտելու շարժողական ասիմետրիան: Հայելին անկյան տակ տեղադրված է եղել գլանի կողքը՝ գրանցելու համար առջևի վերջույթների շարժումները, անգամ եթե կենդանին կամերային հակառակ է թեքվել: Հաշվումն իրականացվել է՝ օգտագործելով վիդեո-ձայնագրիչ՝ դանդաղեցնող և պարզ ստոպ կադրի հնարավորությամբ: Գլանի վերևում

գտնվող տեսախցիկը միացված է եղել վիդեոձայնագրիչին և էկրանին գրանցվել է առնետի շարժումները: Գրմանցման ժամանակ վերջույթները վերև բարձրացնելու ժամանակ հպվում են գլանի պատերին: Գլանը մաքրվել է 5% էթանոլի լուծույթով մինչև վարքային թեսթը: Որպեսզի համարվի վերջույթի բարձրացում՝ կենդանիները բարձրացրել են իրենց վերջույթները ուսերի մակարդակից վերև և հպվել գլանի պատերին կամ մեկ, կամ երկու առջևի վերջույթներով: Առնետները փորձարկվել են միայն մեկ անգամ, որպեսզի կանխվի վարժեցումը ապարատին: Երբ առնետները տեղադրվում են գլանի մեջ, սկսում են ցուցաբերել զննողական վարքագիծ՝ ներառյալ թաթերի բարձրացումը: Այս վարքագիծը նկատվում է տվյալ թեստի ժամանակ: Բարձրացումները տարբերակվել են, երբ կենդանին բարձրացրել է առջևի վերջույթները ուսերի մակարդակից վերև և հպվել է գլանի պատերին մեկ կամ երկու վերջույթներով: Առջևի վերջույթների հեռացնելը և սեղանի մակերեսին հպվելը կատարվել է մինչև մյուս բարձրացումը (Cannon J.R. et al 2009): 3 շաբաթ ռոտենոնային մոդելի փորձարկումների ժամանակ արդյունքները ստուգվել են մինչև ներարկումը, առաջին, երկրորդ և երրորդ շաբաթներում: Քուրքումինով բուժված խմբում առնետները տեղադրվել են գլանի մեջ 3 և 5 րոպե տևողությամբ՝ նախնական, 7, 14, 21, 28, 35 և 42 օրերում: Ուսումնասիրությունները սկսվել են ներարկումից 24 ժամ անց:

Տվյալները ներկայացվել են որպես ±SEM: Վիճակագրական վերլուծությունը խմբերի միջև կատարվել է Ստյուդենտի t-տեստի միջոցով և $p<0.05$ համարվել է վիճակագրորեն հավաստի:

Ռեագենտներ

Ռոտենոնը և քուրքումինը ներկրվել են Սիգմայից: Ռոտենոնը լուծվել է 2.5 մգ/մլ արևաածաղկի յուղում և ներարկվել է ներորովայնային (1 մլ/կգ, 3 շաբաթ) (Betarbet R. et al 2006; Fujikawa T. et al 2005): Ստուգիչ խմբի առնետներին ներարկվել է արևաածաղկի յուղ (1 մլ/կգ): DMSO (1 մլ/կգ, ն/ո) և քուրքումինը (200 մգ/կգ, ն/ո) (Ghoneim A.I. et al 2002) ներարկվել են առնետներին ամեն օր 3 շաբաթ տևողությամբ: Քուրքումինը լուծվել է DMSO-ում (Priyadarsini K.I. et al 2009):

3 շաբաթ տևողությամբ ռոտենոնով փորձարկումների ժամանակ առնետները բաժանվել են 2 խմբի՝ յուրաքանչյուրում 6 կենդանի՝ ստուգիչ (արևաածաղկի յուղ) և ռոտենոնային: Ռոտենոնը (2.5 մգ/մլ) լուծվել է ստերիլ արևաածաղկի յուղում և ներարկվել է ներորովայնային (1 մլ/կգ, 3 շաբաթ): Ստուգիչ խմբի առնետներին ներարկվել է արևաածաղկի յուղ (1 մլ/կգ):

5 րոպե քուրքումինով փորձարկումների ժամանակ առնետները բաժանվել են 4 խմբի՝ յուրաքանչյուրում 6 կենդանի՝ ստուգիչ (արևաածաղկի յուղ), ռոտենոնային, DMSO և քուրքումին: 3 րոպե փորձարկման համար առնետները բաժանվել են 4 խմբի, յուրաքանչյուրում 3 կենդանի՝

Խումբ I - Ռոտենոն, 2.5 մգ/կգ , 3 շաբաթ

Խումբ II- Արևաածաղկի յուղ, 1 մլ/կգ, 3 շաբաթ

Խումբ III - Ռոտենոն (3 շաբաթ) + DMSO (1 մլ/կգ , 3 շաբաթ)

Խումբ IV - Ռոտենոն (3 շաբաթ) + Քուրքումին (3 շաբաթ)

III և IV խմբերում քուրքումինը և DMSO տրվել են ՊՀ մոդելի առաջացումից 3 շաբաթ անց:

Կենդանիների մարմնի զանգվածը

3 և 6 շաբաթ փորձարկումներում առնետները կշռվել են ամեն շաբաթ՝ սկսած առաջին օրից մինչև 21-րդ և 42-րդ օրերը:

2.3 Մորֆոլոգիական ուսումնասիրության մեթոդ

Նիսլի ներկման մեթոդը հանդիսանում է հիմնական հյուսվածքաբանական մեթոդներից մեկը և ժամանակակից հետազոտություններում լայնորեն կիրառվում է ինչպես նեյրոնների կառուցվածքային, այնպես էլ ֆունկցիոնալ վիճակը բացահայտելու համար, ինչպես նաև թույլ է տալիս գնահատել նյարդային բջիջների նորմալ վիճակն ու ախտաբանական փոփոխությունները (տիգրոլիզ, ցիտոպլազմայի վակուոլիզացիա և այլն) և գլիան: Նիսլի դասական մեթոդը հիմնված է սպիրտում ֆիքսված, հիմնականում անիլինային ներկով ներկան վրա, որին հաջորդում է իր ավելցուկային մասի ալկոհոլով

լվացումը: Այս դեպքում բջիջների հիմնական բաղադրիչները ավելի լավ են պահպանում ներկանյութը, քան ֆիբրիլների զանգվածը, որը դիֆերենցվում է ավելի արագ և որի արդյունքում ինտենսիվ ներկված բջջանյութը կտրուկ առանձնանում է անգույն ֆոնի վրա: Բջիջների ներկման պրոցեսում ներգրավված են ինչպես կորիզի կառուցվածքային տարրերը, այնպես էլ նյարդային բջիջների ցիտոպլազմայում առկա նյութերը՝ տիգրոիդ կույտերը կամ Նիսլի նյութերը: Ժամանակի ընթացքում Նիսլի դասական մեթոդի բնօրինակը ենթարկվել է մի շարք պարզեցումների: Նույնիսկ Նիսլի մեթոդի հիմնական պահանջը՝ պատրաստուկների ֆիքսումը էթիլ սպիրտում, մասամբ է կիրառվում, քանի որ մեթոդը հաճախ օգտագործվում է ուսումնասիրվող նյութի տեխնիկական մշակման նպատակով, որը ֆիքսված է ֆորմալինում:

Մեր աշխատանքում, օգտագործելով Նիսլի մեթոդը, իրականացվել է սև նյութի, ինչպես նաև դորսալ և վենտրալ հիպոկամպի նեյրոնների մորֆոլոգիական բնութագրի գնահատում ինչպես նորմայում, այնպես էլ ռոտենոնի ազդեցությունից հետո (Պարկինսոնի հիվանդության մոդել) 3 և 6 շաբաթների ընթացքում և քուրքումինով բուժման պայմաններում:

Միկրոլուսանկարների թվայնացումը կատարվել է ME-500 AMScop տեսախցիկի միջոցով:

ԳԼՈՒԽ 3 ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄ

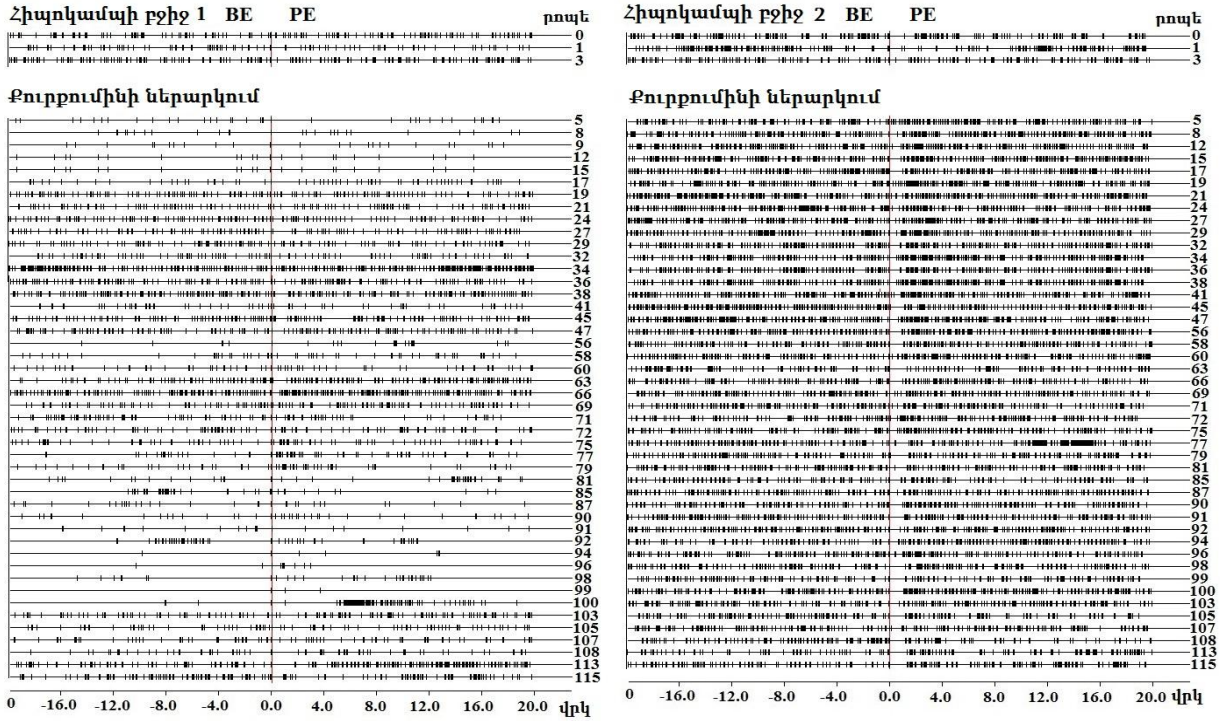
3.1 Քուրքումինի ազդեցությունները առնետների հիպոկամպի նեյրոնների ակտիվության վրա

Տվյալ հետազոտությունը ցույց է տվել իպսիլատերալ էնտորինային կեղևի ԲՀԽ պայմաններում քուրքումինի կարգավորիչ ազդեցությունը առնետների հիպոկամպի նեյրոնային ակտիվության վրա: Դոփամինը յուրահատուկ նեյրոփոխադրիչ է, քանի որ այն և՛ արգելակիչ է, և՛ դրդիչ: Դոփամիներգիկ աֆերենտները մտնում են հիպոկամպի շրջան հիմնականում դորսալ ուղով: Որոշ հետազոտություններ ցույց են տվել, որ դոփամիներգիկ նեյրոփոխադրումը բարելավում է հիպոկամպի պլաստիկությունը և ֆունկցիան (Rossato J.I. et al 2009): Դոփամիներգիկ նեյրոնները կալցիումով ակտիվացած կալիումական անցուղիների նվազման միջոցով խթանում են հիպոկամպի նեյրոնների դրդունակությունը, որի հետևանքով նվազում է գործողության պոտենցիալից հետո գերբևեռացումը (Malenka R.C. et al 1986):

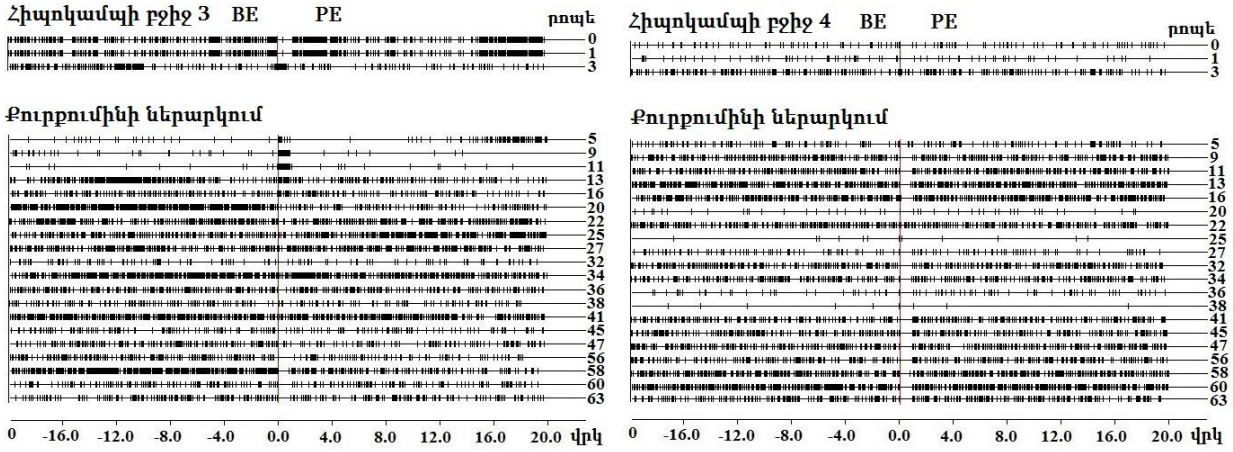
Արտաբջջային գրանցում, տվյալների վերլուծություն և արդյունքների քննարկում

Հիպոկամպի առանձին նեյրոնների ակտիվության գրանցման համար ներորովայնային (ն/ո) ներարկվել է քուրքումին (միանվագ, 200 մգ/կգ) (n=4), իսկ սպայկային ակտիվության գրանցումն իրականացվել է քուրքումինի ներարկումից հետո (5 րոպե անց) որոշակի դինամիկայով (սկսած 1-63, 115 րոպե): Վերլուծությունը ցույց է տվել քուրքումինի ինչպես արգելակող (Նկ. 5 բջիջ 1, Նկ. 6 բջիջ 1), այնպես և դրդիչ ազդեցությունը (Նկ. 5 բջիջ 2, Նկ. 6 բջիջ 1, 2) և նախնական սպայկային ակտիվության վերականգնում: Քուրքումինի միանվագ ներարկման ազդեցությունը մանրամասն ցույց է տրվել սպայկային ակտիվության տեսքով իրական ժամանակահատվածում (սկսած -20-0 վայրկյաններում): Էնտորինալ կեղևի ԲՀԽ հետո (0-20 վրկ) ակնհայտորեն նվազում է նեյրոնների սպայկերի մինչ- և հետխթանման ակտիվությունը 5-60 և 71-99 րոպեների ընթացքում (Նկ. 5 բջիջ 1, Նկ. 6 բջիջ 2) քուրքումինի ներարկումից հետո՝ համեմատած նախնական արժեքի հետ (նշված 0 րոպե): Այսպիսով, սուր էլեկտրաֆիզիոլոգիական փորձարկումներում քուրքումինի միանվագ ներորովայնային ներարկման ժամանակ (200 մգ/կգ, մեկանգամյա) հայտնաբերվել են հիպոկամպի նեյրոնների դրդիչ և արգելակիչ ազդեցությունները, բայց պետք է նշել բնորոշ

տատանումները (սպայկային ակտիվության տատանումները), սկզբնական և վերջնական ազդեցությունների փոփոխությունները՝ ի հակադրություն հաստատուն և վերարտադրելի ազդեցությունների (Նկ. 6, 13-41 րոպե, 16-38 րոպե, քուրքումին (200 մգ/կգ, ն/ո): Նեյրոֆիզիոլոգիական մեխանիզմներում, ինչպիսիք են սինապսային պլաստիկությունը, քուրքումինի ազդեցությունը դեռևս լիարժեք բացահայտված չէ: Առնետների ուղեղի կեղևի նեյրոնների ներբջջային ուսումնասիրությունները (Wang J. et al 2012) ցույց են տվել, որ քուրքումինը գլյուտամատային թունավոր ազդեցության նկատմամբ ունի կոնցենտրացիայից և ժամանակից կախյալ նյարդապաշտպան ազդեցություն: Մեկ այլ ուսումնասիրության համաձայն, քուրքումինը թուլացրել է գլյուտամատային մակարդակները և կոնցենտրացիան հիպոկամպում և բարձրացրել է ԳԱԿԹ և դոփամինի մակարդակները ուղեղի մի քանի շրջաններում:



Նկար 5. *Նեյրոնների սպայկային ակտիվությունը իրական ժամանակահատվածում (40 վրկ),նախնական վիճակում (0 րոպե): Աջ կողմում ցույց է տրված քուրքումինի ներարկումից հետո ակտիվության գրանցման րոպեները: Ներքևում՝ 20-20 գրանցման ժամանակը (վրկ): Մինչ խթանումը (BE-before event) և խթանումից հետո (PE-post event) հիպոկամպի առանձին նեյրոնների սպայկային ակտիվությունը քուրքումինի (200 մգ/կգ) ներարկումից հետո 0-115 րոպե ժամանակահատվածում*



Նկար 6. *Նեյրոնների սպայկային ակտիվությունը իրական ժամանակահատվածում (40 վրկ), նախնական վիճակում (0 րոպե): Աջ կողմում ցույց է տրված քուրքումինի ներարկումից հետո ակտիվության գրանցման րոպեները: Ներքևում՝ 20-20 գրանցման ժամանակը (վրկ): Մինչ խթանումը և խթանումից հետո հիպոկամպի առանձին նեյրոնների սպայկային ակտիվությունը քուրքումինի (200 մգ/կգ) ներարկումից հետո 0-63 րոպե ժամանակահատվածում*

Նախորդ մի շարք հետազոտություններ ցույց են տվել կենտրոնական նյարդային համակարգի վրա քուրքումինի պաշտպանիչ ազդեցությունը՝ հակաօքսիդանտ և հակաբորբոքային մեխանիզմներով, ինչպես նաև կորիզային գործոն kappaB-ի արտահայտվածության արգելակման միջոցով այն վերականգնիչ ազդեցություն է դրսևորում վնասված նեյրոնների վրա: Ի հավելումն, քուրքումինը, լինելով բուսական հիմքով դեղամիջոց, լավ է ընդունվում օրգանիզմի կողմից և ունի կողմնակի ազդեցության ցածր մակարդակ (He L.F. et al 2010): Ավելի վաղ ցույց էր տրվել, որ քուրքումինը պաշտպանում է առնետների հիպոկամպի նեյրոններն ապոպտոզից: L-տիպի Ca2+ անցուղիները կարևոր են, և իոնային անցուղիներն առկա են հետսինապսային թաղանթում, որոնք կարևոր դեր են խաղում սինապսային պլաստիկության գործընթացում: Ցույց է տրվել, որ քուրքումինը նվազեցնում է Ca^{2+}-ի կոնցենտրացիան հիպոկամպի սինապտոսոմերում (Shen L.L. et al 2015): Քուրքումինը նաև կարող է անցնել արյուն-ուղեղային պատնեշով (McClure R. et al 2015):

Այսպիսով, ստացված տվյալները կարող են հիմք հանդիսանալ տարբեր նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների ժամանակ քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցության հետագա հետազոտությունների համար:

3.2 ՊՀ մոդելում 3 շաբաթ անց էնտորինալ կեղևի ԲՀԽ պայմաններում հիպոկամպի նեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրություն

Արդյունքներ

Ստուգիչ խմբում էլեկտրաֆիզիոլոգիական վերլուծությունը ցույց տվեց (Նկ. 7), որ հիպոկամպում ԲՀԽ պայմաններում (100 Հց) տետանիկ պոտենցիացիան՝ TP PTP պատասխաններով, արտահայտվել է 4.12 անգամ (53.96:13.10), TP PTD պատասխանները 2.71 անգամ (28.39:10.47): Հիպոկամպի TP պատսախաններով նեյրոնների մասնաբաժինը գերակշռում է (21.97%) (Աղ. 1):

Պատասխանի տեսակ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին	M BE սպայկ/վրկ	M HFS սպայկ/վրկ	M PE սպայկ/վրկ
TP-PTP (4.12 անգամ)	18.18 %	13.10	53.96	19.52
TP (4.41 անգամ)	21.97 %	8.58	37.90	8.36
TP PTD (2.71 անգամ)	17.42 %	10.47	28.39	6.16
TD PTD (3.38 անգամ)	20.45 %	24.03	7.11	12.35
TD PTP (1.58 անգամ)	9.09 %	20.08	12.75	37.89
Ոչ ռեակտիվ	5.3 %	5.15	4.86	4.78
TD (5.2 անգամ)	7.58 %	7.78	1.50	7.50

Աղյուսակ 1. *Հիպոկամպի նեյրոնների մինչխթանման (M BE), հետխթանման (M PE) և բարձր հաճախականությամբ խթանման (M HFS) ժամանակ սպայկային ակտիվության տոկոսային բաշխման և միջին հաճախականության արժեքները (սպայկ/վրկ) ստուգիչ խմբում*

ԲՀԽ պայմաններում տետանիկ դեպրեսիան՝ TD PTD պատասխաններով նեյրոններում արտահայտվել է 3.38 անգամ (24.03:7.11), TD PTP՝ 1.58 անգամ (20.08:12.75) (Նկ. 7), TD՝ 5.2 անգամ (7.78:1.5), ոչ ռեակտիվ նեյրոնները կազմում են 5.3%:

Ռոտենոն խմբում տետանիկ պոտենցիացիան (TP PTP) արտահայտվել է 1.7 անգամ (15.76:9.36), TP PTD պատասխանները՝ 1.86 անգամ (18.18:9.77) (Նկ. 8). Արգելակիչ (տետանիկ դեպրեսիա)՝ TD PTD և TD PTP պատասխանները արտահայտվել են համապատասխանաբար 1.69 (10.70:6.35) և 2.06 (11.71:5.68) անգամ, PTP պատասխանները՝ 1.39 անգամ, TP (6.34%), TD՝ 1.72 անգամ (Նկ. 8), ոչ ռեակտիվ նեյրոնները կազմում են 5.34%: Հիպոկամպի նեյրոնների TD PTP և TP PTP պատասխանների մասնաբաժինը գերակշռող է (համապատասխանաբար 20.1%, Աղ. 2):

Պատասխանի տեսակ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին	M BE սպայկ/վրկ	M HFS սպայկ/վրկ	M PE սպայկ/վրկ
TP PTP (1.7 անգամ)	20.1 %	9.36	15.76	13.20
TP PTD (1.86 անգամ)	17.46 %	9.77	18.18	8.31
TD PTD (1.69 անգամ)	8.99 %	10.70	6.35	8.22
TD PTP (2.06 անգամ)	20.1 %	11.71	5.68	14.74
TP (1.7 անգամ)	6.34 %	6.00	10.25	6.20
Ոչ ռեակտիվ	15.34 %	5.60	5.24	5.68
PTP (1.39 անգամ)	6.87 %	8.92	8.54	12.36
TD (1.72 անգամ)	4.76 %	13.17	7.67	13.73

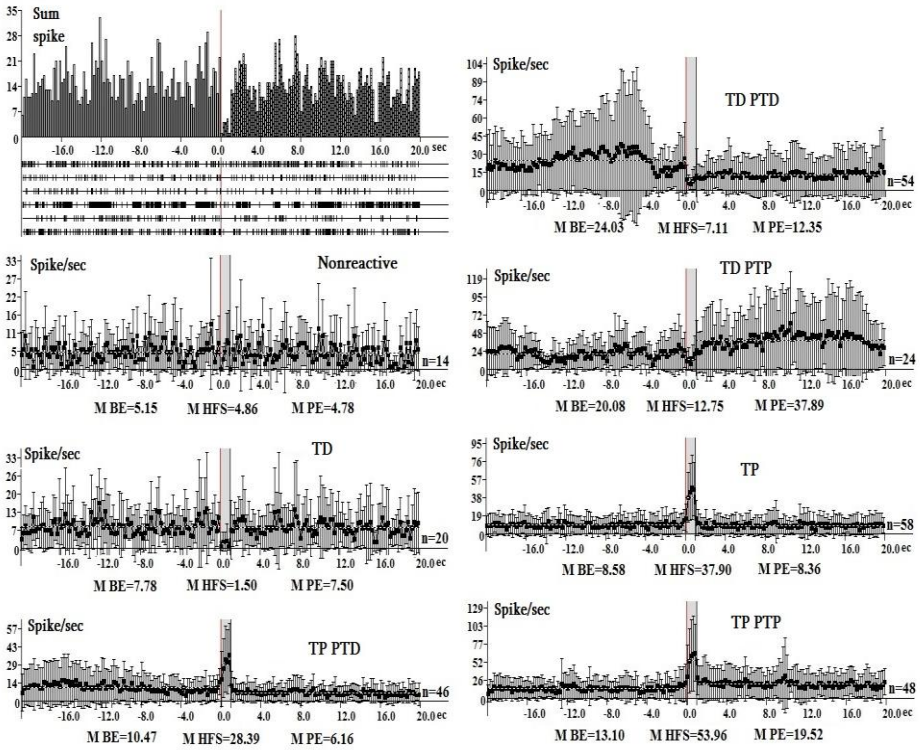
Աղյուսակ 2. *Հիպոկամպի նեյրոնների մինչխթանման (M BE), հետխթանման (M PE) և բարձր հաճախականությամբ խթանման (M HFS) ժամանակ սպայկային ակտիվության տոկոսային բաշխման և միջին հաճախականության արժեքները (սպայկ/վրկ) Ռոտենոն խմբում*

Նորմա խմբում (Նկ. 9) ԲՀԽ պայմաններում հիպոկամպի նեյրոններում տետանիկ պոտենցիացիան՝ TP PTP պատասխաններով, արտահայտվել է 3.94 անգամ (32:8.11), ԲՀԽ պայմաններում տետանիկ դեպրեսիան՝ TD PTD պատասխաններով՝ 8.92 անգամ (6.53:0.74), TD PTP պատասխանները՝ 8.38 անգամ (5.78:0.69) (Նկ. 9): Նորմա խմբում TD PTD պատասխաններ դրսևորող նեյրոնների մասնաբաժինը

առավելագույնն է (42.04%, Նկ. 9): Ընդհանուր առմամբ ԲՀԽ պայմաններում ստուգիչ և ռոտենոն խմբերում ոչ ռեակտիվ նեյրոնները կազմում են համապատասխանաբար 5.3% և 15.34% (Նկ. 8): Ոչ ռեակտիվ նեյրոնները ստուգիչ խմբում կազմում են նվազագույն մասնաբաժին:

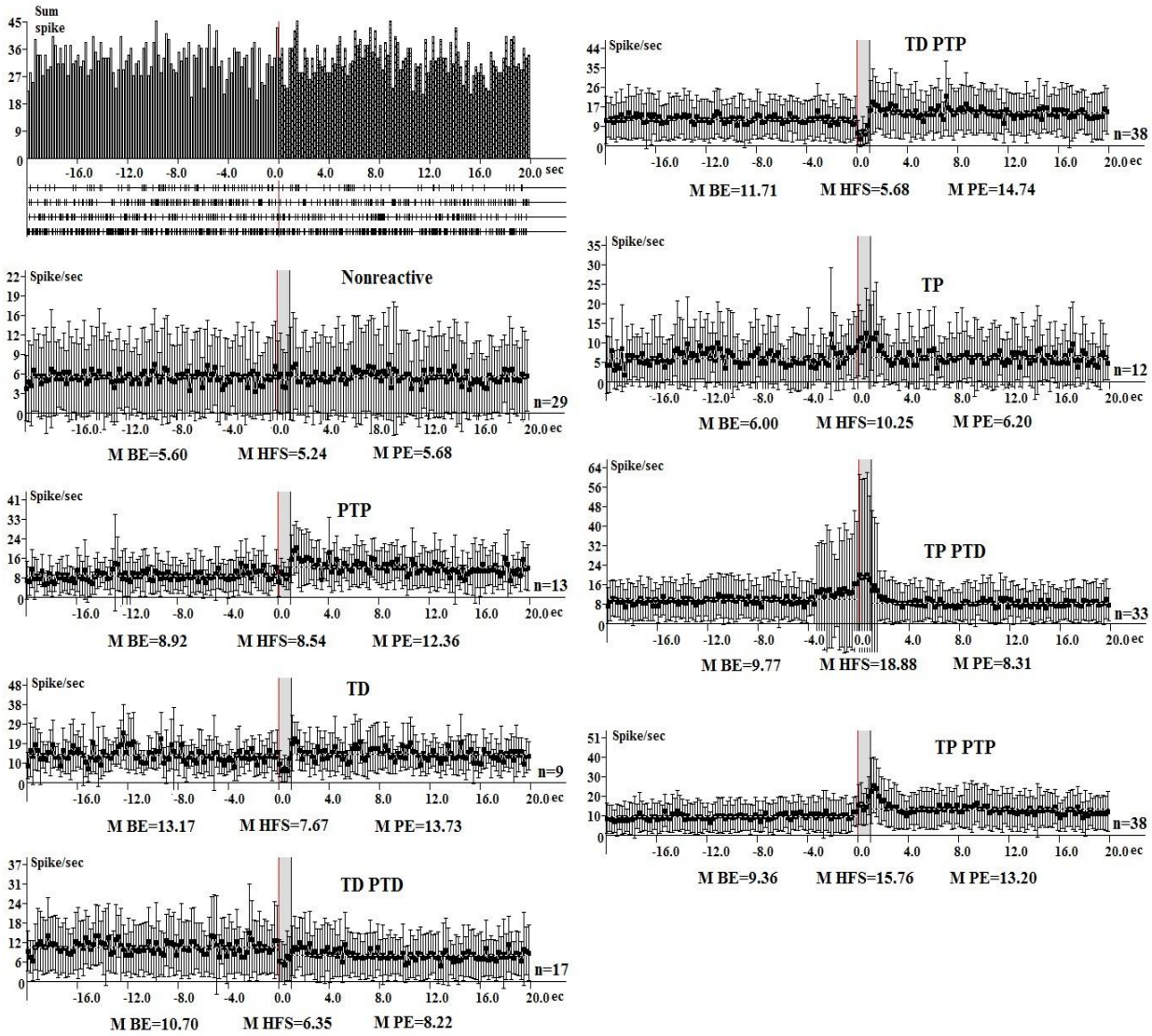
Պատասխանի տեսակ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին	M BE սպայկ/վրկ	M HFS սպայկ/վրկ	M PE սպայկ/վրկ
TP PTP (3.94 անգամ)	16.56 %	8.11	32	10.77
TD PTD (8.92 անգամ)	42.04 %	6.53	0.74	4.70
TD PTP (8.38 անգամ)	41.4 %	5.78	0.69	9.88

Աղյուսակ 3. *Հիպոկամպի նեյրոնների մինչխթանման (M BE), հետխթանման (M PE) և բարձր հաճախականությամբ խթանման (M HFS) ժամանակ սպայկային ակտիվության տոկոսային բաշխման և միջին հաճախականության արժեքները (սպայկ/վրկ) նորմա խմբում*

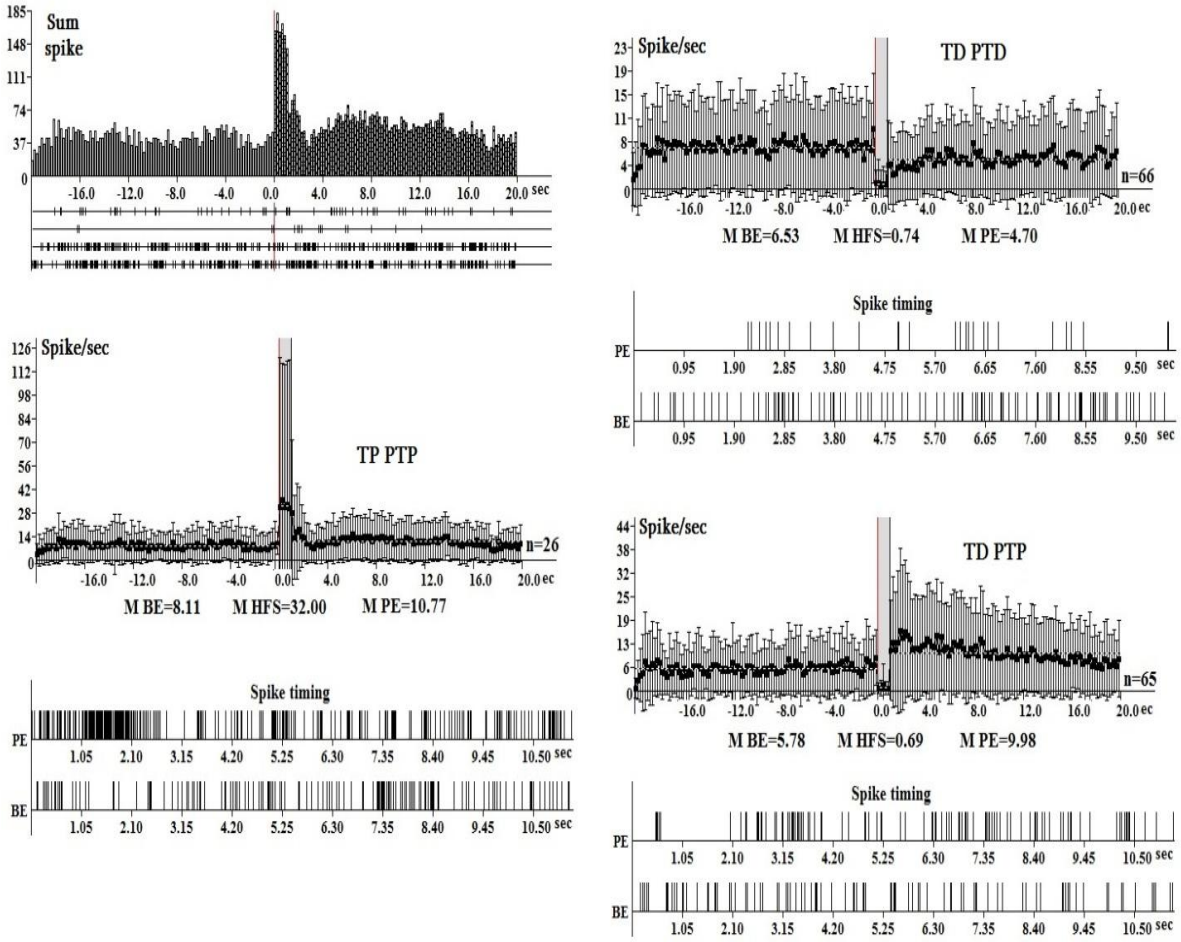


Նկար 7. *Փորձարարական խումբ (ստուգիչ): Հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության սպայկային գրաֆիկները արտահայտել են TP PTP, TP PTD, TD*

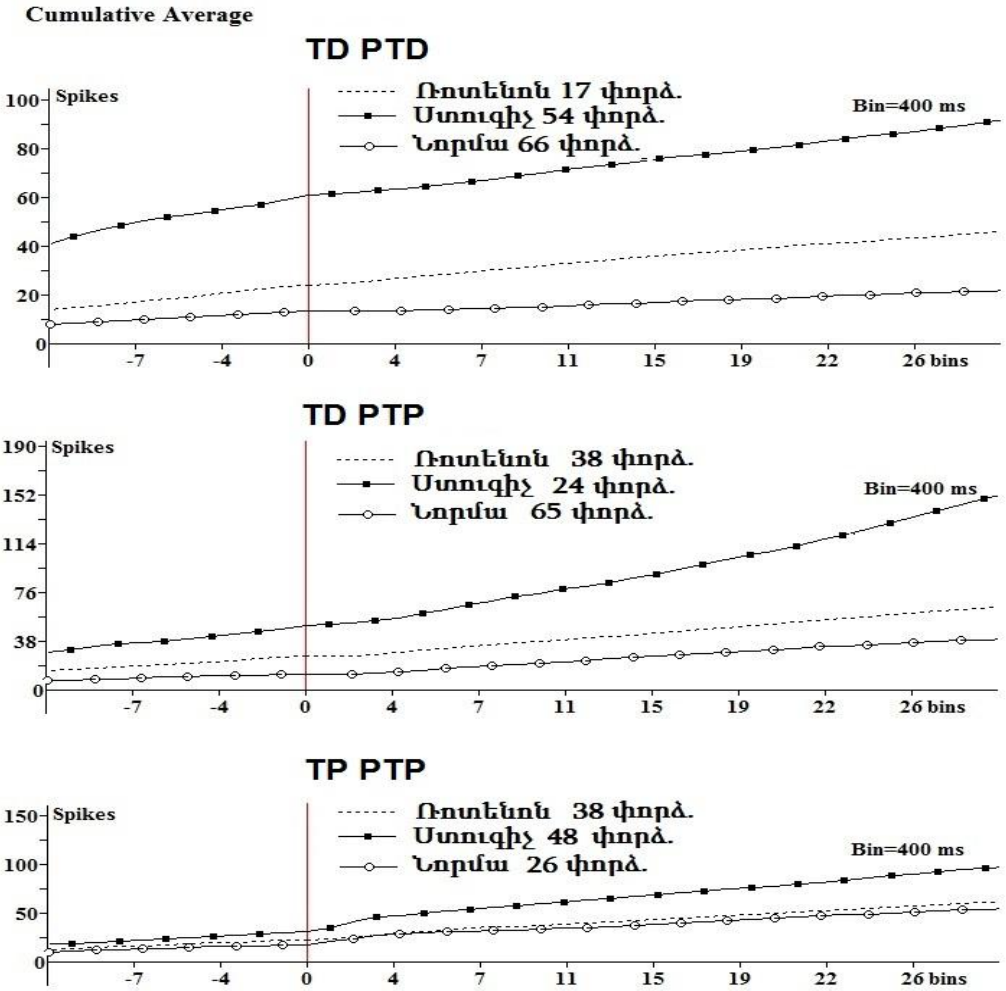
PTD, TD PTP, TD, TP պատասխաններ և ոչ ռեակտիվ նեյրոններ, սպայկային միջին հաճախականության թվային արժեքներ (սպայկ/վրկ) իրական ժամանակահատվածում 20 վրկ մինչ ԲՀԽ, (M BE), 20 վրկ ԲՀԽ հետո (M PE) և ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), n-ը նեյրոնների քանակը, որոնց սպայկային ակտիվության հաճախականությունը գրաֆիկի վրա միջինացված է



Նկար 8. *Փորձարարական խումբ (Ռոտենոն): Հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության սպայկային գրաֆիկները արտահայտել են TP PTP, TP PTD, TD PTD, TD PTP, TD, TP, PTP պատասխաններ և ոչ ռեակտիվ նեյրոններ, սպայկային միջին հաճախականության թվային արժեքներ (սպայկ/վրկ) իրական ժամանակահատվածում 20 վրկ մինչ ԲՀԽ, (M BE), 20 վրկ ԲՀԽ հետո (M PE) և ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), n-ը նեյրոնների քանակը, որոնց սպայկային ակտիվության հաճախականությունը գրաֆիկի վրա միջինացված է*



Նկար 9. *Փորձարարական խումբ (նորմա): Հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության սպայկային գրաֆիկները արտահայտում են TP PTP, TP PTD, TD PTD, TD PTP, TD, TP, PTP պատասխաններ և ոչ ռեակտիվ նեյրոններ, սպայկային միջին հաճախականության թվային արժեքներ (սպայկ/վրկ) իրական ժամանակահատվածում 20 վրկ մինչ ԲՀԽ, (M BE), 20 վրկ ԲՀԽ հետո (M PE) և ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), n-ը նեյրոնների քանակը, որոնց սպայկային ակտիվության հաճախականությունը գրաֆիկի վրա միջինացված է*



Նկար 10. *Համեմատական միջին կուտակային կորեր, TD PTD, TP PTP, TD PTP պատասխանի տեսակներ (Ռոտենոն, լուծիչ, նորմա խմբեր)*

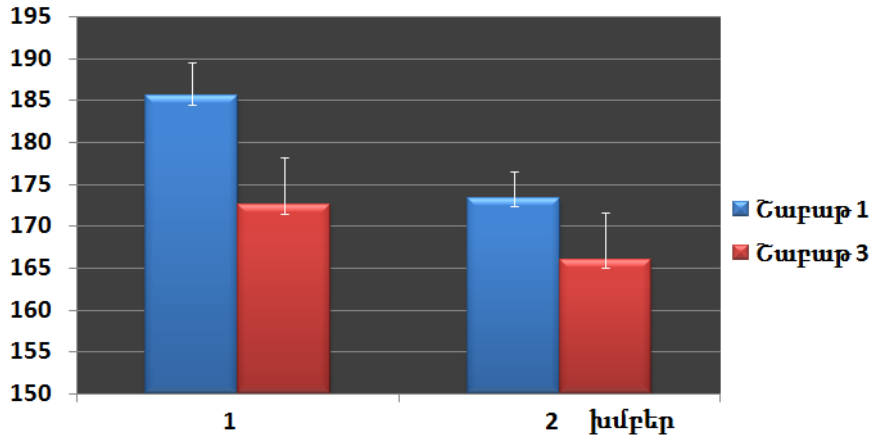
Հետազոտված խմբերի նեյրոնային պատասխանների համեմատական վերլուծությունը ցույց է տվել, որ ամենալավ արտահայտված տետանիկ պոտենցիացիան՝ TP PTP պատասխաններով առկա է ստուգիչ խմբում (Նկ. 7)՝ համեմատած այդպիսիների հետ ռոտենոն խմբում (1.7 անգամ) և նորմայում (3.94 անգամ): Տետանիկ պոտենցիացիան՝ TP PTD պատասխաններով նեյրոններում նույնպես առավել արտահայտված է ստուգիչ խմբում (2.71 անգամ, Նկ. 7)՝ համեմատած այդպիսիների հետ ռոտենոն խմբում (1.86 անգամ (Նկ. 8): Այդ նեյրոնների մասնաբաժնի հարաբերակցությունը ռոտենոն խմբում կազմում է 17.46% (Նկ. 8), իսկ ստուգիչ խմբում՝ 17.42% (Աղ. 1):

Ռոտենոն խմբում առավել արտահայտված է տետանիկ դեպրեսիան՝ TD PTP պատասխաններով (2.06 անգամ)՝ համեմատած TD PTP պատասխաններով ստուգիչ

խմբի նեյրոնների հետ (1.58 անգամ (20.08:12.75) (Աղ. 1): Միայն ռոտենոն խմբում մենք ունենք PTP (1.39 անգամ) տեսակի պատասխաններ: TD PTP պատասխանները նորմա խմբում զգալիորեն շատ են արտահայտված՝ 8.38 անգամ (5.73:0.69) (Աղ. 3): Ռոտենոն խմբում TD PTD պատասխանները նվազագույնն են՝ (1.69 անգամ)՝ համեմատած ստուգիչ (3.38 անգամ) և նորմա խմբերի հետ (8.92 անգամ): TD-ն նույնպես զգալիորեն նվազել է ռոտենոն խմբում (1.72 անգամ)՝ համեմատած ստուգիչ խմբի հետ (5.2 անգամ):

Կենդանիների զանգվածի ուսումնասիրությունը

Կենդանիների զանգվածի չափումը մինչ ռոտենոնի ներարկումը և ներարկումից հետո ցույց է տվել, որ ռոտենոնի ներարկումը առաջացնում է կշռի չափավոր նվազում: Համեմատելով առնետների կշիռները փորձարկումների վերջում (ռոտենոնի ներարկումից 3 շաբաթ անց) ստուգիչ կենդանիների մոտ, որոնք ստացել են արևածաղկի յուղ (185.5± 4.02 գ և 172.5±3.15 գ) և ռոտենոն (173.3±5.73 գ և 166±5.54 գ)՝ ստացվել է կշռի զգալի նվազման վիճակագրորեն ոչ հավաստի տվյալներ (Նկ. 11): Աղեստամոքսային համակարգի ֆունկցիայի խաթարումը այլ ախտանիշների հետ հաճախ է ի հայտ գալիս ռոտենոնով հարուցված ՊՀ ժամանակ՝ ներառելով կշռի նվազումը, փորկապությունը (Patel et al 2005):



Նկար 11. *Կենդանիների կշիռների փոփոխությունը 3 շաբաթ փորձարկումների ժամանակ: Արժեքները ներկայացվել են որպես միջին ±SEM յուրաքանչյուր խմբում n=6 համար, համեմատություն՝ կատարված Ռոտենոն և ստուգիչ խմբերի միջև, P<0.05*

Արդյունքների քննարկում

Արտաբջջային էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտման միջոցով ՊՀ առնետների մոդելում գնահատվել է հիպոկամպի նեյրոնային ակտիվության ֆունկցիան: Մենք ներորովայնային եղանակով (2.5 մգ/կգ/օր) 3 շաբաթ տևողությամբ առնետներին ներարկել ենք ռոտենոն և հիպոկամպի նեյրոններում հայտնաբերել ենք դեղաչափից կախված դրդիչ նեյրոնային ակտիվության և պոտենցիալների արտահայտվածության նվազում: Էնտորինալ կեղևի խթանման պայմաններում հիպոկամպի CA1, CA3 դաշտերում գրանցվել են արտաբջջային պոտենցիալներ: Համեմատելով նորմա խմբի հետ (Նկ. 9)՝ ռոտենոն խմբում մենք գրանցել ենք ավելի քիչ արտահայտված TP PTP (1.7 անգամ), TD PTD (1.69 անգամ) և TD PTP (2.06 անգամ) պատասխաններ (Նկ. 10): Հնարավոր է, որ ստացված տվյալների պատճառը հանդիսանում են այլ նյարդամիջնորդանյութերի կորուստը, ինչպիսիք են նորադրենալինը, որը կապված է ազդակի հաղորդման և պատասխանի արգելակման հետ: Մենք նաև ենթադրում ենք, որ հիպոկամպում ռոտենոնի ազդեցության մեխանիզմը հանդիսանում է նյարդամիջնորդանյութերի արգելակումը, մասնավորապես՝ դրդիչ նեյրոնների արգելակումը (հիպոկամպի սպայկերի քանակի փոփոխությունները համընկնում են TP PTP փոփոխությունների հետ): Համաձայն վերջին հետազոտությունների տվյալների՝ հիպոկամպի երկարատև պոտենցիացիան (ԵՏՊ-LTP), որը հայտնի է որպես հիշողության բջջային մոդել, նույնպես նվազում է, և հիպոկամպի տրոպոմիոզինային ընկալիչ կինազ B (TrkB) նեյրոտրոֆիկ գործոնի ազդանշանային ուղին ՊՀ մոտ նույնպես փոխվում է (Zhu G. et al 2011): Ոչ ռեակտիվ նեյրոնների մասնաբաժինը ամենաբարձրն է (15.34%) ռոտենոն խմբում՝ համեմատած ստուգիչ խմբի հետ (5.3%), TD և TP PTD պատասխանները զգալիորեն քիչ են՝ համեմատած ստուգիչ խմբի հետ: Հիմնվելով ստացված էլեկտրաֆիզիոլոգիական տվյալների վրա՝ կարելի է ենթադրել, որ ՊՀ ժամանակ արգելակիչ ֆունկցիայի խաթարումը և այս դեֆիցիտը հնարավոր է առնչվում են հիպոկամպի խաթարված արգելակիչ ֆունկցիայի հետ: Հիպոկամպում խթանման նվազումը կարելի է դիտարկել որպես ակտիվության նվազմանը հակազդող հոմեոստատիկ պատասխան, որը առաջացել է այդ նեյրոններում դրդիչ մեխանիզմների կորստի պատճառով: Ռոտենոն

խմբում հիպոկամպի հիմնական սինապտիկ ֆունկցիան նվազել է՝ համեմատած նորմայի: Այս մոդելը մենք դիտարկել ենք 3 շաբաթ տևողությամբ: Ռոտենոնի մոդելներում հայտնաբերվել է ստրիատումի և հիպոկամպի դոփամինի մակարդակի նվազում: Դեղաչափից կախված՝ ռոտենոնը հիպոկամպի, սև նյութի և կապույտ բծի բջջային կուլտուրաներում կարող է խթանել բջիջների մահը և առաջացնել ատրոֆիա (Camicioli R. et al 2003): Ռոտենոնը 0.5 nM դեղաչափով հիպոկամպի նեյրոններում թոքսիկ չէ (Chaves R.S. et al 2010): Կլինիկական և փորձարարական բացահայտումները ապացուցում են այն տեսակետը, որ հիպոկամպը՝ որպես քունքային բլթի կառույց, ներգրավված է ֆիզիոլոգիական հիշողության և ուսուցման գործընթացներում, ինչպես նաև ներգրավված է ճանաչողական դիսֆունկցիայում, որը նկարագրվում է որոշ ՊՀ հիվանդների մոտ: Դոփամիներգիկ համակարգի և հիպոկամպի միջև սինապտիկ պլաստիկության, հարմարողական հիշողության և մոտիվացված վարքի առումով հայտնաբերվել է փոխադարձ կապ: Այս կառույցը ևս ներգրավված է ոչ շարժողական ախտանիշների ախտաֆիզիոլոգիայում, ինչպիսիք են իմպուլսի վերահսկման խանգարումները, անքնությունը և հոգնածությունը: Կլինիկական արդյունքների և փորձարարական ուսումնասիրությունների հիման վրա առաջարկվել է հիպոկամպի համալիր խաչաձեւ կապի առկայությունը դոփամիներգիկ և այլ նյարդափոխադրիչ համակարգերի հետ: Բացի այդ, նեյրոտրոֆիկ գործոնները կարող են փոխազդել հիպոկամպի դոփամիներգիկ համակարգի հետ՝ ունենալով հնարավոր առնչություն ոչ շարժողական ախտանիշների հետ, որոնք դիտվում են ՊՀ հիվանդների մոտ (Calabresi P. et al 2013): ՊՀ հիվանդների մոտ հայտնաբերվել է ալֆա-սինուկլեինի մեծ քանակությամբ նստեցմամբ հիպոկամպի դիսֆունկցիա (Hall H. et al 2014): Էլեկտրաֆիզիոլոգիական տվյալները վկայում են, որ դոփամինային մեզէնցեֆալիկ նեյրոնները կարող են կարգավորիչ դեր ունենալ հիպոկամպի դրդունակության զսպման մեջ: Մեզիհիպոկամպային դոփամիներգիկ համակարգի ֆունկցիոնալ նշանակությունը հիմնականում քիչ է պարզված, չնայած կա կարծիք, որ այս պրոյեկցիան կարող է դեր ունենալ հիշողության գործընթացների մոդուլյացիայում (Gasbarri A. et al 1997): Դոփամինային նեյրոնները առաջանում են վենտրալ տեգմենտային շրջանում և սև նյութում և նպաստում են վարքագծի ձևավորմանը (Bayer

H.M. et al 2005): Իրական ժամանակահատվածում քանակական PCR–ը հաստատել է, որ հիպոկամպում կան D1 և D5 ընկալիչներ՝ ներառյալ CA1 դաշտը (Mu Y. et al 2011): Ֆիզիոլոգիական դիտարկումը ցույց է տվել, որ D1 և D5 ընկալիչները կարևոր դեր ունեն սպայկերի հսկողության համար: Հիպոկամպում բնորոշ ժամկետում ընդմիջումներով դոփամիներգիկ նեյրոթրանսմիսիան նույնպես կարևոր է երկարատև հիշողության հաջող կոնսոլիդացման գործընթացում (Rossato J.I. et al 2009): D1-անման ընկալիչային գործունեությունը հիպոկամպում նպաստում է սինապսային պլաստիկության հետ կապված երկարատև հիշողության ձեռքբերման և երկարատև պահպանմանը: Վերջին հետազոտությունները ցույց են տվել, որ *Slc6a3*^{ire} մկների մոտ channelrhodopsin-ի արտահայտվածությունը կապված է CA1 դաշտում համեմատաբար նոր դոփամիներգիկ աքսոնների հետ: Ավելի ուշ հետազոտողները ցույց են տվել channelrhodopsin-2 արտահայտվածություն հատկապես դոփամիներգիկ նեյրոններում, վենտրալ տեգմենտալ շրջանում և սև նյութում: Մկների վենտրալ տեգմենտալ շրջանում և հիպոկամպում այս դոփամիներգիկ նյարդաթելերի խթանումը ցույց է տալիս նոր միջավայր՝ ընդլայնված հիպոկամպի ռեակտիվությամբ կամ բարելավված տարածական ուսուցմամբ և հիշողությամբ (McNamara C.G. et al 2014): Ավելին, ցույց է տրվել, որ դոփամինի օպտոգենետիկ արտազատումը, բացառապես վենտրալ տեգմենտալ շրջանից առաջացնում է հիպոկամպի սլայսներում Schaffer collateral երկկողմանի, գործողությունից-կախյալ կարգավորում: Ցույց է տրվել, որ սինապսային պլաստիկությունը՝ կապված ճնշիչ ուսուցման հետ, կախված է գլյուտամատերգիկ և դոփամիներգիկ նյարդամիջնորդանյութերի ժամանակավոր զուգակցությունից (Rosen Z.B. et al 2015): Դոփամինը հսկում է երկարատև հիշողության պահպանման հաստատունությունը: Էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրությունները վկայում են, որ դոփամիներգիկ նեյրոթրանսմիսիան CA1 շրջանում բարելավում է LTP (L-LTP) վաղ փուլերը. մի երևույթ, որը պահանջում է սպիտակուցի սինթեզ և համարվում է, որ այն մոլեկուլային մեխանիզմ է՝ ընկած CA1 սինապսների մնեմոնիկ կոնսոլիդացիայի հիմքում (Huang W. et al 2013): Դոփամինային ազդանշանները հիպոկամպի CA3-CA1 շրջաններում նպաստում են պլաստիկությանը, որն, ամենայն հավանականությամբ, նպաստում է հիշողության պահպանմանը: Ինչպես LTP-ն, այնպես էլ LTD-ն

(երկարատև դեպրեսիա) կրիտիկորեն կախված են NMDA և DA ընկալիչների ակտիվությունից (Zhu G. et al 2011):

3.3 Սև նյութի կոմպակտա հատվածի խթանման պայմաններում հիպոկամպի նեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրություն ռոտենոնի ներարկումից 3 շաբաթ անց

Ստուգիչ խմբում սև նյութի ԲՀԽ (100 Հց) պայմաններում հիպոկամպի իմպուլսային ակտիվության և ՊՀ մոդելի 3 շաբաթ համեմատական վերլուծությունից պարզ դարձավ, որ առաջացել են խթանող և արգելակող պատասխաններ՝ TP և TD, որին հետևում է մեկ և տարբեր ուղղվածության PTP և PTD ակտիվություններ: Ռոտենոն ստացած կենդանիների խմբում հիպոկամպի նեյրոններում գրանցվել են հետևյալ իմպուլսային ակտիվությունները (Նկ.13)՝ դրդիչ պատասխաններ (բարձր հաճախականությամբ խթանման ժամանակ և հետխթանման ժամանակահատվածում)՝ 10.2%, արգելակիչ պատասխաններ (բարձր հաճախականությամբ խթանման ժամանակ և հետխթանման ժամանակահատվածում) 25.51%, խառը տիպի պատասխաններ (ԲԽՀ ժամանակ և հետխթանման ժամանակահատվածում)՝ 30.95%, ոչ ռեակտիվ միավորներ՝ 8.16% (Նկ. 13): Միևնույն ժամանակ միջին խթանիչ դրդիչ պատասխանները ԲՀԽ ժամանակ արտահայտվել են 2.88 անգամ, արգելակիչը՝ 4.26 անգամ և խառը տիպի պատասխաններ՝ 4.1 անգամ (TD PTP, Նկ. 13): Ստուգիչ խմբում համապատասխանաբար արտահայտվել են 4.02 անգամ (Աղ. 5, Նկ. 12):

Պատասխանի տեսակ	M BE սպայկ/վրկ	M HFS սպայկ/վրկ	M PE սպայկ/վրկ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին
TD	14.32	3.56	14.31	36.56 %
TD PTD	16.25	4.05	12.16	22.58 %
TD PTP	19.66	4.11	25.16	37.63 %
TP PTP	6.95	10.67	10.65	3.23 %

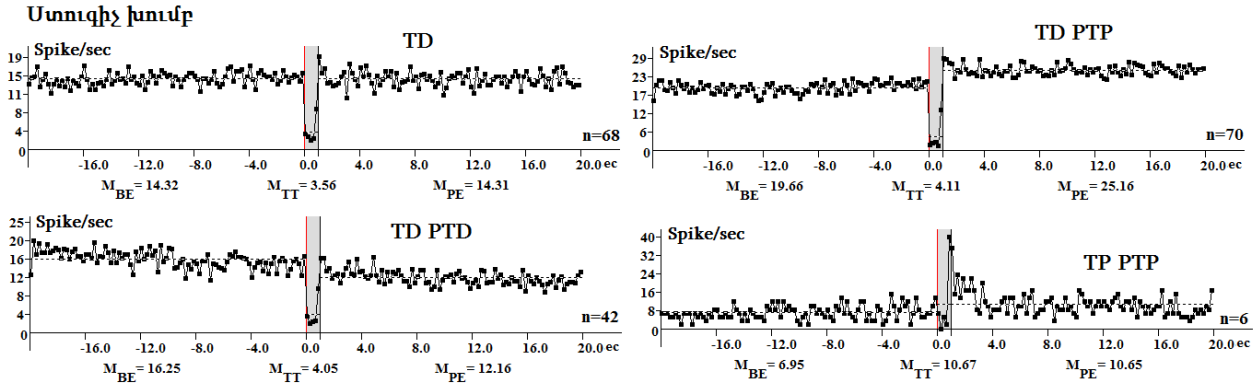
Աղյուսակ 4. *Ստուգիչ խմբում սպայկային ակտիվության մինչխթանման (M BE), հետխթանման (M PE) միջին հաճախությունների թվային արժեքները և այդպիսիները ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), ինչպես նաև պատասխանների մասնաբաժնի հարաբերակցությունը*

Պատասխանի տեսակ	M BE սպայկ/վրկ	M HFS սպայկ/վրկ	M PE սպայկ/վրկ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին
Ոչ ռեակտիվ	6.66	5.75	6.25	8.16%
TD	14.18	3.33	14.11	25.51%
TP	6.30	18.13	5.57	10.2%
PTD	12.36	12.00	8.58	1.7%
TD PTD	20.99	6.40	14.78	15.3%
TD PTP	26.30	6.46	34.14	30.95%
TP PTD	10.45	48.00	7.30	2.04%
TP PTP	12.66	74.17	18.29	6.12%

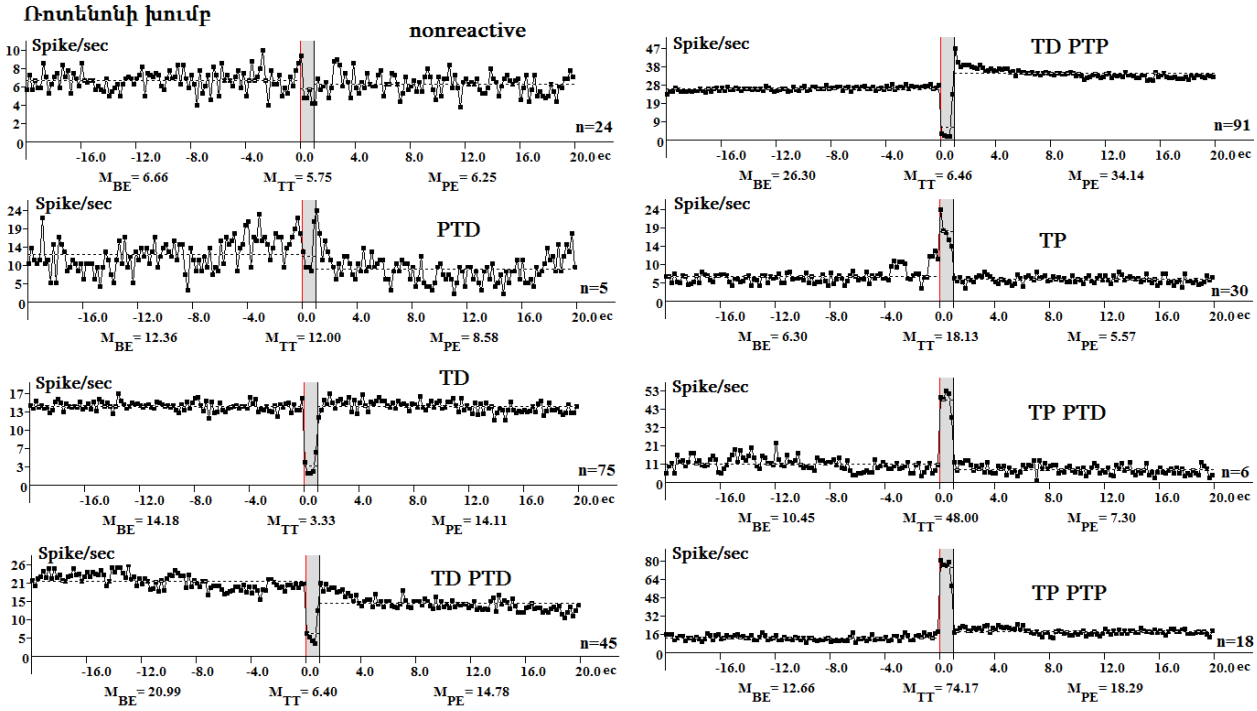
Աղյուսակ 5. *Ռոտենոն խմբում սպայկային ակտիվության մինչխթանման (M BE), հետխթանման (M PE) միջին հաճախությունների թվային արժեքները և այդպիսիները ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), ինչպես նաև պատասխանների մասնաբաժնի հարաբերակցությունը*

Պատասխանի տեսակ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին	Պատասխանների արտահայտվածություն
TD	23.84 %	3.61 անգամ
TD PTD	45.03 %	3.2 անգամ
TD PTP	31.12 %	2.18 անգամ

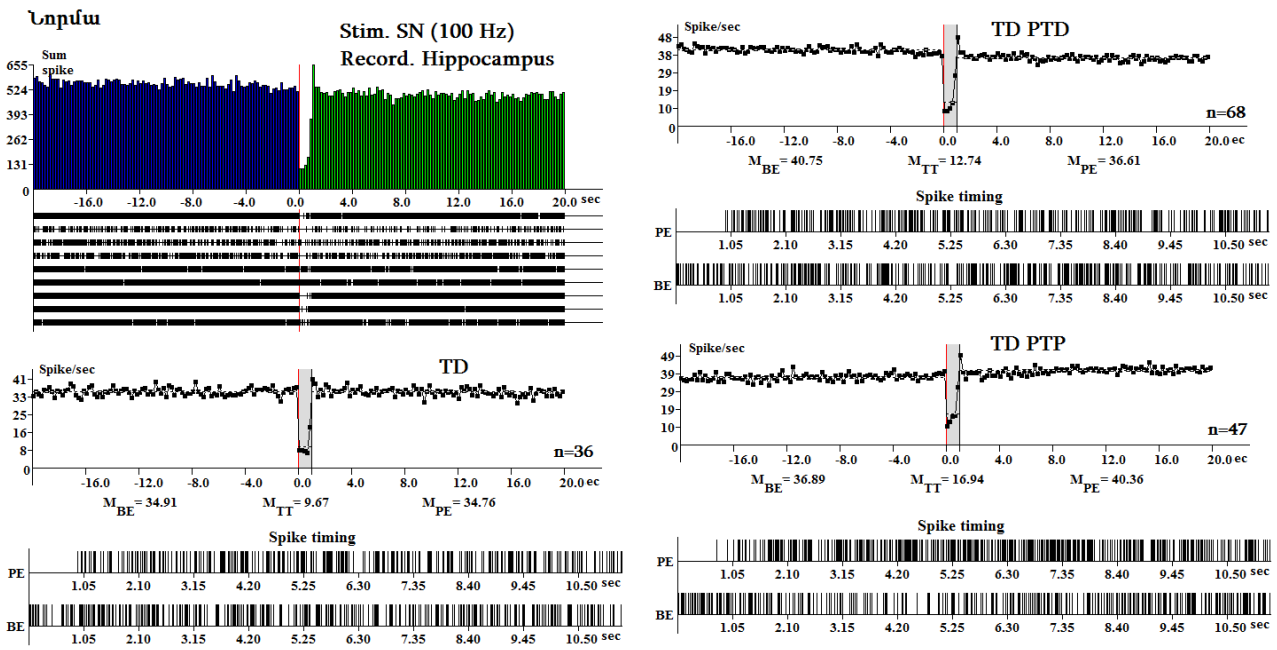
Աղյուսակ 6. *Նորմա խմբում ԲՀԽ պայմաններում սպայկային ակտիվության միջին հաճախականության (սպայկ/վրկ) տոկոսային բաշխումը և պատասխանների արտահայտվածությունը նշված պատասխանների տեսակների համար*



Նկար 12. *Սպայկերի գումարային պերիստիմուլ ժամանակային հիստոգրամներ, կառուցված ռաստերի հիման վրա, ներկայացված հիպոկամպի առանձին նեյրոնների պերիստիմուլային ակտիվությունը դրդիչ, արգելակիչ և TD, TD PTD, TD PTP և TP PTP տեսակի պատասխանները ստուգիչ խմբում*



Նկար 13. *Սպայկերի գումարային պերիստիմուլ ժամանակային հիստոգրամներ՝ կառուցված ռաստերի հիման վրա, ներկայացված հիպոկամպի առանձին նեյրոնների պերիստիմուլային ակտիվությունը դրդիչ, ոչ ռեակտիվ, արգելակիչ և TP PTD, TP PTP և TD PTP տեսակի պատասխանները Ռոտենոն խմբում*



Նկար 14. *Սպայկերի գումարային պերիստիմուլ ժամանակային հիստոգրամներ՝ կառուցված ռաստերի հիման վրա, ներկայացված հիպոկամպի առանձին նեյրոնների պերիստիմուլային ակտիվությունը և TD, TD PTP և TD PTD տեսակի պատասխանները նորմա խմբում*

Նորմա խմբում գրանցվել են հետևյալ իմպուլսային ակտիվությունները (Նկ. 14)՝ արգելակիչ պատասխաններ՝ TD (3.6 անգամ), TD PTD՝ 3.19 (անգամ) և խառը տիպի՝ TD PTP (2.29 անգամ, Աղ. 6):

Արդյունքների քննարկում

Հիպոկամպի նեյրոնների ակտիվությունը գնահատելու համար 21 օրվա ընթացքում փորձարարական կենդանիներին ներարկվել է ռոտենոն: Այս տվյալները համեմատվել են ստուգիչ խմբի կենդանիներից ստացված տվյալների հետ: Ստուգիչ և փորձարարական կենդանիների հիպոկամպի էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտությունների ժամանակ հայտնաբերվել են նեյրոնային ակտիվության փոփոխություններ: Ռոտենոնային մոդելի առավելություններն ի համեմատ ՊՀ այլ փորձարարական մոդելների, նրա ՊՀ շարժման և հիստոքիմիական (օրինակ՝ Լյուի մարմինների ձևավորումը) շատ ախտանշանների դրսևորումն է (Panov A. et al 2005): Մարդկանց մոտ ՊՀ պաթոգենեզում նկատվում են միտոքոնդրիումի ֆունկցիայի խաթարում, օքսիդատիվ սթրես, էքսայթոթոքսիկություն, ուբիքվիտին-պրոտեասոմ

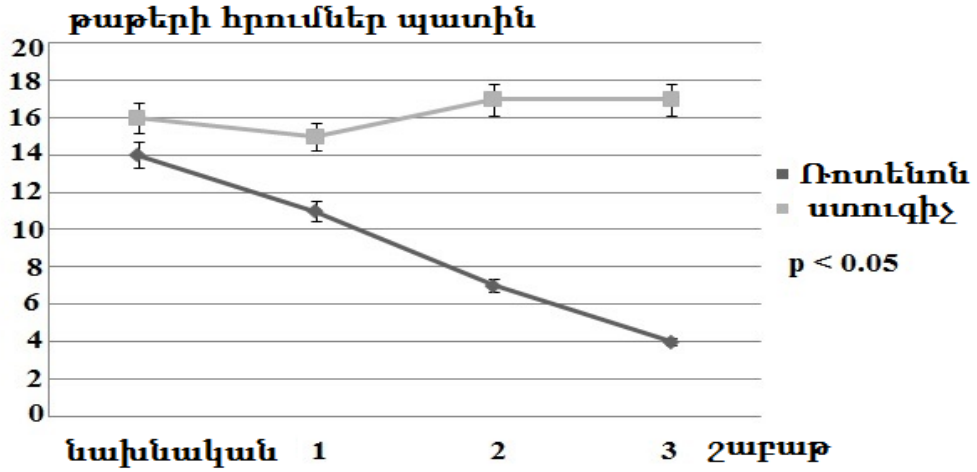
ուղու դիսֆունկցիա և ապոպտոզ (Sherer T.B. et al 2003b): Առնետների մոտ հիպոկամպի CA1 դաշտում հայտաբերվել է NMDA ընկալիչների առավելագույն կոնցենտրացիա (Kloet E.R. De et al 1998): Հիպոկամպի գլխավոր բրգաձև և հատիկավոր նեյրոնները կազմում են նեյրոնների ճնշող մեծամասնությունը (հիպոկամպի նեյրոնների գրեթե 90%-ը): Մնացած 10%-ը ԳԱԿԹերգիկ նեյրոններն են (Freund TF. et al 1996): ԳԱԿԹերգիկ ինթերնեյրոնները ձևավորում են կառուցվածքային ցանց, որը վերահսկում և կարգավորում է բրգաձև և հատիկավոր նեյրոնների գործունեությունները: ԳԱԿԹերգիկ միջանկյալ ինթերնեյրոնների խմբերը ստանում են ԳԱԿԹերգիկ նյարդավորում ուղեղի հիպոկամպից դուրս շրջանից. միևնույն ժամանակ ինթերնեյրոնների այլ խումբ ուղարկում են աքսոնային պրոյեկցիա հիպոկամպից դուրս այլ շրջաններ: TD պատասխաններ դրսևորող նեյրոնները գերակշռում են ռոտենոն խմբում (4.26 անգամ)՝ համեմատած նորմա խմբի հետ (3.61 անգամ): Հիպոկամպի շրջանը ներառում է նորադրեներգիկ, սերոտոնիներգիկ, խոլիներգիկ աքսոնային վերջավորություններ (Vizi E.S. et al 1998): Վերջին տարիներին ցույց է տրվել, որ դոփամինը առաջացնում է դրդիչ ազդեցություն միայն որոշ ինտրակաուդատային նեյրոնների վրա, որոնք սև նյութից ստանում են ուղիղ դրդիչ ազդեցություններ: Սև նյութի խթանման ժամանակ նեյրոնների 50%-ը ցուցաբերում են արգելակիչ գործառույթ և միայն մոտավորապես 15%-ն է դրդիչ: Գլյուտամատերգիկ փոխադրման վրա ռոտենոնի անշրջելի ազդեցությունը կարող է լինել նախասինապսային թերմինալներում գլյուտամատի փոխադրման խանգարման արդյունք: Այդ դեպքում ռոտենոնը կարող է նվազեցնել նախասինապսային գլյուտամատի արտազատումը: Ավելին, ռոտենոնի արգելակիչ գործունեությունը նեյրոնային պատասխանների վրա կարող է լինել պրեսինապսային և ոչ թե հետսինապսային մակարդակում (Ren Y, et al 2005): Բացահայտվել է, որ հիպոկամպի CA1 դաշտում ռոտենոնը նվազեցնում է 17% դաշտային պոտենցիալները (fEPSP): Կան նաև այլ տվյալներ, որ առնետների միջին ուղեղում ռոտենոնը բարձրացնում է NMDA պատասխանները, իսկ այդ ուժեղացված գործունեությունը կապված է NMDA ընկալիչների ակտիվացման հետ (Wu Y.N. et al 2007): NMDA-ընկալիչները իրականացնում են բջջաթաղանթով նատրիումի, կալցիումի և կալիումի իոնների

փոխադրումը որպես համընկման դետեկտորներ անցուղիների բացման պահից սկսած՝ պահանջելով գլյուտամատի մինչսինապսային նեյրոններից միաժամանակյա արտազատում և ապաբևեռացում: Կայնատային և AMPA ընկալիչները թույլ են տալիս նատրիումի և կալիումի իոնների փոխադրումը թաղանթով (Dingledine R. et al 1999): Արգելակիչ ազդեցությունները, որոնք հայտնաբերվել են մեր հետազոտության մեջ, ենթադրվում է, որ հանդիսանում են ԳԱԿԹ երգիկ բջիջների ուղղակի գործունեության արդյունք:

3.4 ՊՀ կենդանական մոդելում վարքային ուսումնասիրություն 3 շաբաթ անց

Փորձարկվել են արևածաղկի յուղ և ռոտենոն ներարկված կենդանիները: Տվյալ փորձարկման ժամանակ առջևի երկու թաթերի դիրքը միջինացվել է, քանի որ ռոտենոնը առաջացնում է երկկողմանի ախտանիշներ: Քանի որ ռոտենոնը երկկողմանի է վնասում շարժողական վարքը, ակտիվությունը չափվել է՝ հաշվելով յուրաքանչյուր կենդանու 5 րոպե երկու թաթերը դեպի վեր կանգնելու տևողությունը: Ներկա աշխատանքում ռոտենոնի դեղաչափը (2.5 մգ/կգ/օր) 21 օր տևողությամբ առաջացրել է վարքային առանձնահատուկ փոփոխություններ (Նկ. 15): Արևածաղկի յուղ (1մլ/կգ) ստացած առնետների մոտ Պարկինսոնանման ախտանշաններ չեն գրանցվել: Յուրաքանչյուր ժամանակակետում ամեն մի առջևի թաթի համար 3 փորձարկում է գրանցվել և տրվել է դրանց միջինացված արժեքը: Սպոնտան թաթերով դեպի վեր կանգնելու միավորները արևածաղկի յուղ և ռոտենոն (2.5 մգ/կգ/օր) ստացած կենդանիների համար ստուգվել են մինչ ներարկումը, այնուհետև առաջին, երկրորդ և երրորդ շաբաթներում: Երբ քանակապես ներկայացվում է առջևի թաթերի դեֆիցիտը, օգտագործվում է առջևի թաթերի միավորը (0 միավորը նշանակում է, որ առջևի թաթերի ֆունկցիան բացակայում է, իսկ 20-ը նշանակում է, որ դեֆիցիտ չկա): Ռոտենոն խմբի առնետները ցուցաբերել են փոքր-ինչ վատ, քան ստուգիչ խմբի առնետները (Նկ. 15), սակայն այս տարբերությունը վիճակագրորեն հավաստի է ($p<0.05$): Ստուգիչները համեմատվել են ռոտենոն ստացած (3 շաբաթ անց) առնետների հետ և հայտնաբերվել է շարժողական փոփոխություններ (Նկ. 15):

Կեցվածքի անկայունությունը ընկած է մի շարք վարքային դեֆիցիտների հիմքում, որոնք ՊՀ կենդանական մոդելներում դիտարկվել են որպես ընդհանուր: Դիրքային անկայունությունը կարող է ընկած լինել ՊՀ կենդանիների մոդելներում վարքային մի շարք խանգարումների հիմքում: Պարկինսոնով հիվանդ առնետների մոտ առկա է նվազող կախվածություն վնասված առջևի վերջույթների շարժման մեջ ներառվածության և քաշի փոփոխությունների միջև: Կենդանիները առավելապես նախաձեռնում են շարժումը ոչ վնասված առջևի թաթով, մասնավորապես կողային շարժումներում մակերեսների ողղահայաց հետազոտման ժամանակ (Schallert T. et al 2000): Մեր կողմից հայտնաբերվել է, որ ռոտենոն ստացած առնետները ցուցաբերել են կանգնման կայուն նվազում 3 շաբաթների ընթացքում՝ համեմատած արևածաղկի յուղ ստացած կենդանիների հետ: Ռոտենոնի ներորովայնային ներարկումը ամբողջ փորձարկման ընթացքում առաջացնում է կանգնման կայուն դեֆիցիտ:

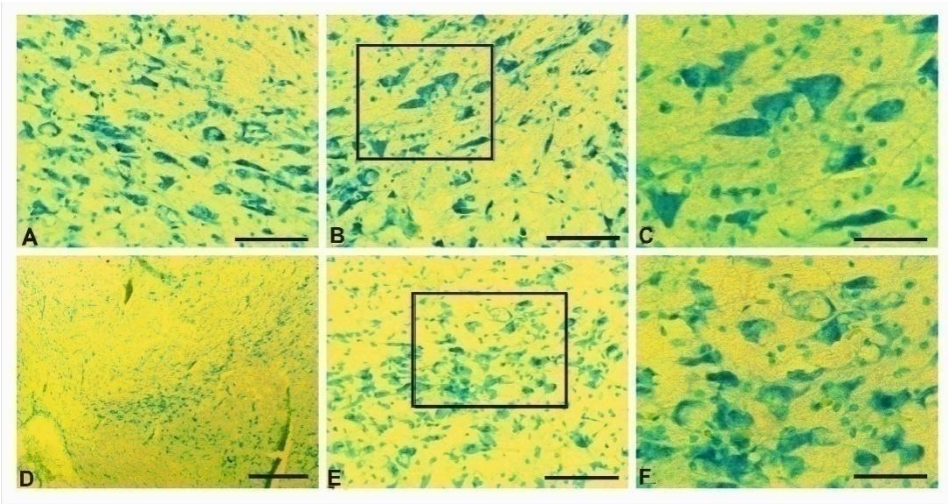


Նկար 15. *Գլանային թեսթ (առնետների առջևի վերջույթների օգտագործման ասիմետրիայի թեսթ): Նկարը ցույց է տալիս ստուգիչ (լուծույթ ստացած) և ռոտենոն ստացած առնետների վարքային ցուցանիշները: Յուրաքանչյուր արժեք ներկայացնում է միջին ±SEM-ը: Արժեքները զգալիորեն տարբեր են ստուգիչ խմբի արժեքներից, p<0.05, Ստյուդենտի t-թեստ*

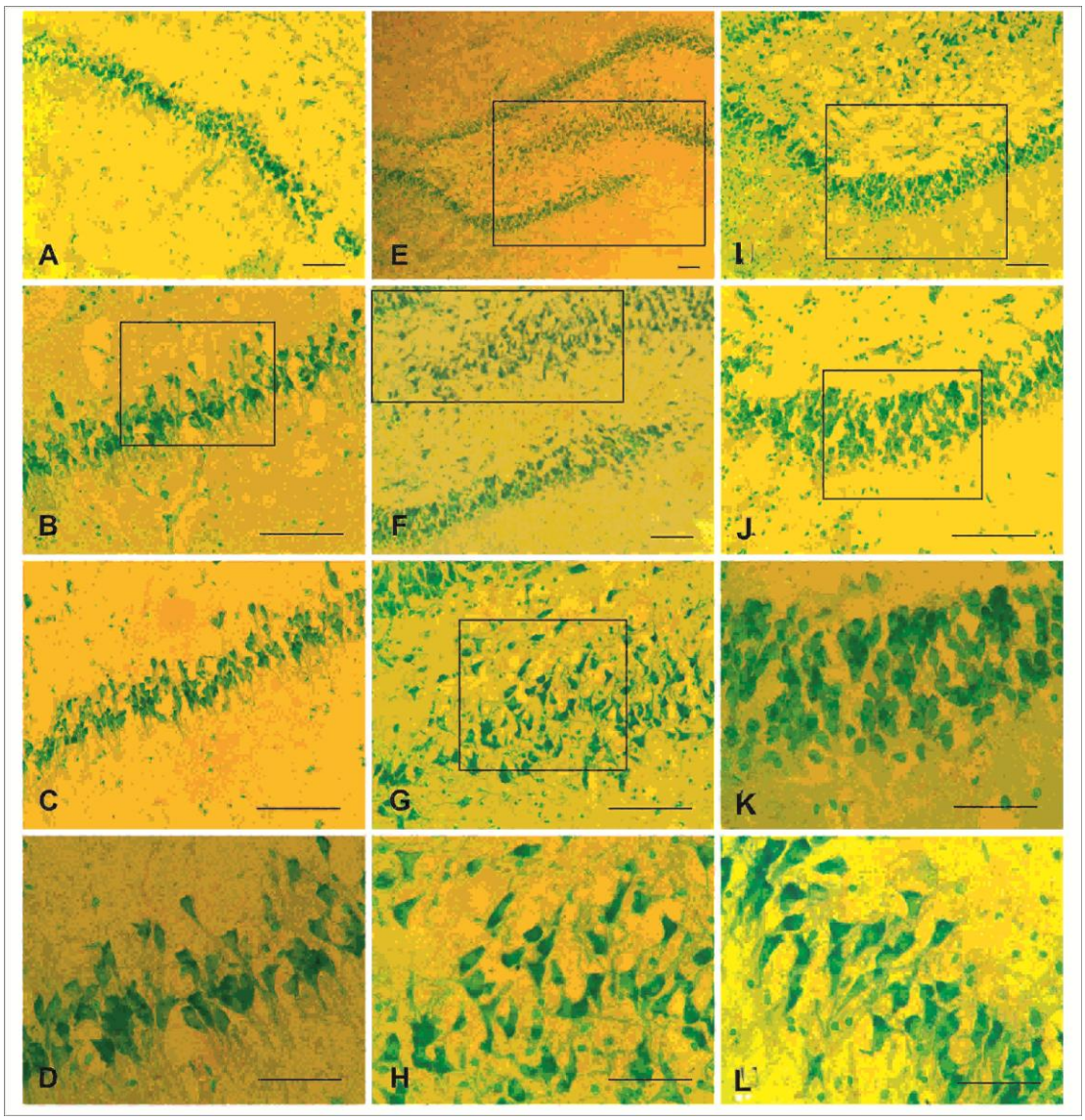
3.5 Սև նյութի կոմպակտա հատվածի և հիպոկամպի նեյրոնների մորֆոլոգիական վերլուծություն

Ի հավելումն էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտությունների՝ իրականացվել են սև նյութի մորֆոլոգիական հետազոտություններ, որոնք միտված են հայտնաբերելու ռոտենոնով հարուցված ախտաբանական փոփոխությունները: Նյութը վերցվել է ամեն անգամ էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտությունից հետո և ռոտենոնի ներարկումից հետո նշված ժամկետներում: Ստուգիչ են հանդիսացել չվնասված առնետները: Միջին ուղեղի ֆրոնտալ կտրվածքները ներկվել է Նիսլի մեթոդով՝ տոլուիդինով կամ կանաչ մեթիլենով: Փորձարարական ՊՀ ռոտենոնային մոդելի առաջացումից հետո սև նյութի ուսումնասիրությունը ցույց տվեց ախտաբանական փոփոխությունների լայն սպեկտր սև նյութում, մասնավորապես նրա կոմպակտա շրջանում: Հարկ է նշել, որ սև նյութի նեյրոններում նորմայում նկատվում են ավելի քրոմատոֆիլ բջիջներ՝ ի համեմատ այլ կորիզների նեյրոնների: Ստուգիչ խմբի առնետների ուղեղի պատրաստանյութի վրա սև նյութի նեյրոնները հետաքրքիր ձևով են ներկվում. նրանցում լավ են երևում Նիսլի մարմնիկը, կորիզը՝ պարզ, որի կենտրոնում գտնվում է մուգ ներկված կորիզակը (Նկ. 16, A, B, C): ՊՀ ռոտենոնային մոդելում սև նյութի բջջախմբերում նկատվում են չափավոր և կտրուկ գերգունավորված բջիջներ (Նկ. 16): Որոշ նեյրոններ ընդունում են անկյունաձև կամ օվալի ձև, իսկ նրանց կորիզը կամ կորիզակը քրոմատոլիզի հետևանքով չի տարբերակվում: Հիպեր և հիպոքրոմատոլիզային նեյրոնների առկայությունը կարելի է դիտել որպես ֆունկցիոնալ ակտիվության կառուցվածքային և վերաբաշխման հիմք: Այս բջիջներում փոփոխությունները դիտվում են որպես պաշտպանիչ-փոխհատուցող ռեակցիա, հնարավոր է նաև, որ այն պատասխան է ինթոքսիկացիային, որը առաջացրել է ռոտենոնը: Այլ նեյրոններում, որտեղ առկա է քրոմատոֆիլության նվազում, կորչում են բջիջների եզրագծերի պարզությունը, գերսնուցված կորիզները պերֆերացիայի են ենթարկվում կամ զբաղեցնում են ողջ կենտրոնական տարածությունը (Նկ. 16, D, E, F): Նեյրոգլիայի ուսումնասիրության ընթացքում բացահայտվել են ակտիվ գլիայի ռեակցիաներ՝ տեսողապես դիտարկելի գլիոցիտների կորիզների քանակի աճի տեսքով: Նեյրոլոգիական հետազոտության ժամանակ նկատվել են ակտիվ գլիայի ռեակցիաներ. սև նյութի որոշ տեղամասերում

գլիայի բջիջների պրոլիֆերացիայի հետ սկսել են զարգանալ պերիցելյուլային այտուցներ: Բջիջը շրջապատող պերիցելյուլային այտուցի և նրա վնասակար ազդեցությունը սև նյութի նեյրոնների վրա ավելի շատ արտահայտված են կորիզի կոմպակտա շրջանում: Բջիջը շրջապատող պերիցելյուլային այտուցը պաշտպանիչ պատասխան ռեակցիա է և, հավանաբար, առաջանում է ռոտենոնի թոքսիկ ազդեցության հետևանքով առաջացած տրոհման նյութերի կուտակման կամ նրանց վերականգնման անհնարինության արդյունքում: Սակայն, նեյրոնների և նրանց ֆրագմենտների, ինչպես նաև գլիայի բջիջների պրոլիֆերացիայի ախտաբանական փոփոխությունների շարքում նեյրոնների մի մասը միևնույն գույնով են ներկված, իսկ նրանցում հստակ նկատվում են կենտրոնական դիրք զբաղեցնող կորիզն ու կորիզակը, ինչը վկայում է նրանց նորմալ գործունեության մասին:



Նկար 16. *Սև նյութի ֆրոնտալ կտրվածքների միկրոլուսանկարներ. A, B, C՝ սպուգիչ խումբ: C-ում ներկայացված են այն նեյրոնները, որոնք առանձնացված են B-ում ավելի մեծ խոշորացմամբ: F-ում ներկայացված են D-ում և E-ում առանձնացված նեյրոնները՝ ներկված Նիսլի մեթոդով:*
Մասշտաբ: A, B, E-100մկմ, D-300մկմ, C, F-50մկմ

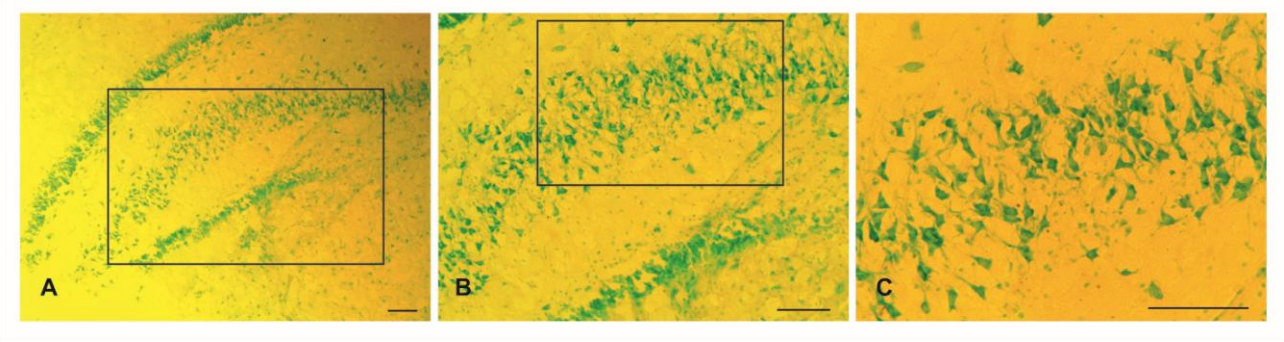


Նկար 17. *Հիպոկամպի նեյրոնների պոպուլյացիաների և ատամնավոր գալարի միկրոլուսանկարները նորմայում (A-L): A-D հիպոկամպի դորսալ CA1 դաշտի բրգաձև նեյրոններ, E-H հիպոկամպի CA3 դաշտի նեյրոններ, J-L-ատամնավոր գալարի հատիկավոր բջիջների պոպուլյացիաներ և D-L նրանց մեծացումները: Այստեղ և մյուս նկարներում առանձնացված ուղղանկյուն հատվածները ներկայացված են խոշոր մեծացումներով՝ հաջորդ միկրոլուսանկարներում:*

Մասշտաբ: A, B, C, E, F, G, J, K-100 մկմ, D, H, L-50 մկմ

Ստուգիչ կենդանիներից վերցված պատրաստուկի ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ դորսալ (CA1 դաշտ) և վենտրալ (CA3 դաշտ) հիպոկամպի նեյրոնները լավ են ներկված (Նկ. 17): Հիպոկամպի բրգաձև նեյրոնների բնորոշ առանձնահատկությունը խոշոր կորիզի առկայությունն է, որը զբաղեցնում է բջջամարմնի հիմնական մասը: Ապիկալ դենդրիտը վառ է արտահայտված և նկատվում է մեծ հեռավորության վրա: Բոլոր ապիկալ դենդրիտներն ունեն որոշակի միանման ուղղություն և ձևավորում են

զուգահեռ ֆիբրիլների նուրբ խրձեր: Վառ գունավորված կորիզի ներսում կենտրոնացած է մուգ կորիզակը: Նեյրոններում չկան կառուցվածքային փոփոխություններ, արտաքնապես նրանք հանգիստ են և գրգռված չեն: Ստուգիչ կենդանիների ատամնավոր գալարի մանրադիտակային հետազոտությամբ բացահայտվել է, որ հատիկավոր շերտը կազմված է նեյրոցիտների խիտ տեղադրված շարքերից, որոնք ունեն երկարացած կամ կլոր պերիկարիոնի էլիպսաձև՝ ցիտոպլազմայում Նիսլի կառույցի հավասար տեղաբաշխում:



Նկար 18. *A-C Հիպոկամպի C3 դաշտի նեյրոնների և ատամնավոր գալարի ՊՀ փորձարարական մոդելի միկրոլուսանկարներ՝ 3 շաբաթ ռոտենոն ներարկված խմբում: Հիպոկամպի նեյրոններում ախտաբանական շեղում գրեթե չի նկատվում:*
Մասշտաբ: A, B, C-100 մկմ:

ՊՀ ռոտենոնային մոդելի (Նկ. 18) այս ժամկետի փորձարարական խմբում հիպոկամպի բրգաձև և ոչ բրգաձև պոպուլյացիաների և ատամնավոր գալարի պատկերը նման են նորմա խմբի կենդանիների մորֆոլոգիական պատկերին (Նկ. 17)

3.6 Էնտորինալ կեղևի ԲՀԽ պայմաններում քուրքումինի պաշտպանիչ ազդեցությունը հիպոկամպի նեյրոնների սինապսային ակտիվության վրա

Կլինիկական և փորձարարական հայտնագործություններն առաջարկում են այն տեսակետը, որ ինչպես հիպոկամպը, այնպես էլ քունքային բլթի կեղևը ներգրավված են ֆիզիոլոգիական ուսուցման և հիշողության գործընթացների մեջ. այն նաև ներառված է ՊՀ տառապողների որոշ կոգնիտիվ խանգարումներում: Պարկինսոնի հիվանդությամբ և դեմենցիայով տառապողները տարբերակված են հիպոկամպի խոլիներգիկ գործունեության նշանակալի կրճատումով, A10 դոփամիներգիկ և Ch4

խոլիներգիկ նեյրոնների (30 և 55% բջջային կորուստ, համապատասխանաբար, համեմատած ստուգիչ խմբի նեյրոնային կազմի պահպանման հետ), լատերալ ոչ պիգմենտացված զգալի կորստով և հիպոկամպում և առջևի ուղեղում հիմային ալֆա-սինուկլեինի ավելացման պաթոլոգիայով (Hall H. et al 2014): Նախկին հետազոտություններից հայտնի է, որ ռոտենոնի միկրոմոլային կոնցենտրացիաները առաջացնում են առաջնային նեյրոնների և հիպոկամպի սլայսային կուլտուրաներում նեյրոնների դեգեներացիա (Xu G. et al 2003) և հիպոկամպի սլայսներում խաթարում են հիմային սինապսային թրանսմիսիան (Costa C. et al 2008): Քուրքումինը հատում է արյուն-ուղեղային պատնեշը և նրա պատրաստուկները մեծ կենսահասանելիության շնորհիվ կարող են հասնել ուղեղում թերապևտիկ կոնցենտրացիաների (օրալ եղանակով ստացված) (Akram M. et al 2010): Քուրքումինով բուժումը կարող է պաշտպանել հիպոկամպի նեյրոնները էքսայթոթոքսիկ և տրամվատիկ վնասվածքներից: Գրականության մեջ կան տվյալներ քուրքումինով հիպոկամպի նեյրոգենեզի մեծացման մասին (Kim S.J. et al 2008):

Արդյունքներ

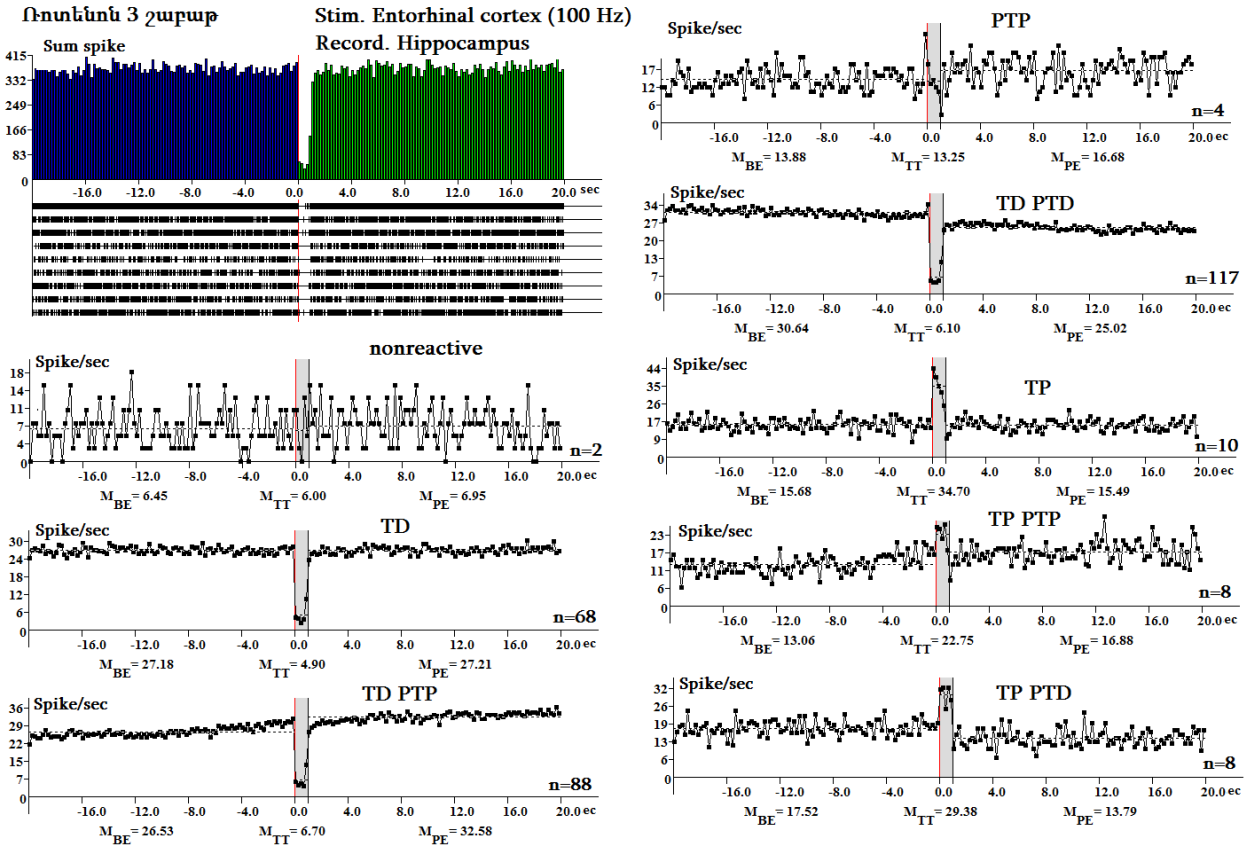
Արտաբջջային *in vivo* գրանցումներ

I խմբում (305 նեյրոն) էլեկտրաֆիզիոլոգիական վերլուծությունները ցույց տվեցին հիպոկամպում ԲՀԽ (100 Հg) ժամանակ տետանիկ պոտենցիացիա՝ արտահայտված 2.21 անգամ (M_{TT}=34.70/M_{BE}=15.68 սպայկ/վրկ), TP PTD պատասխանները՝ 1.68 անգամ (29.38:17.52 սպայկ/վրկ), PTP պատասխանները 1.2 անգամ (1.31%), TP PTP՝ 1.74 անգամ (Նկ. 19): Արգելակիչ (տետանիկ դեպրեսիա) էնտորինալ կեղևի ԲՀԽ ժամանակ (100 Հg) նեյրոններում գրանցվել են TD PTD և TD PTP պատասխաններ՝ արտահայտված համապատասխանաբար 5.02 անգամ (30.64:6.10 սպայկ/վրկ) և 3.96 անգամ (26.53:6.70 սպայկ/վրկ), TD՝ 5.55 անգամ (Նկ. 19), ոչ ռեակտիվ (0.66%): Հիպոկամպի նեյրոնների TD PTD (38.36%) և TD PTP (28.85%) պատասխանները գերակշռում են: Առհասարակ, ԲՀԽ ժամանակ (M HFS) I խմբում ոչ ռեակտիվ նեյրոնների մասնաբաժինը ամենացածրն է (Նկ. 23):

Նորմա խմբում (V խումբ) հիպոկամպի նեյրոններում ԲՀԽ ժամանակ տետանիկ պոտենցիացիան՝ TP PTP, արտահայտվել է 3.94 անգամ (32:8.11 սպայկ/վրկ), տետանիկ դեպրեսիա ԲՀԽ TD PTD պատասխաններ՝ 8.92 անգամ (6.53:0.74 սպայկ/վրկ), TD PTP պատասխաններ՝ 8.38 անգամ (5.78:0.69) (Աղյուսակ 7): Նորմա խմբում գերակշռել է (42.04 %) TD PTD պատասխանների մասնաբաժինը:

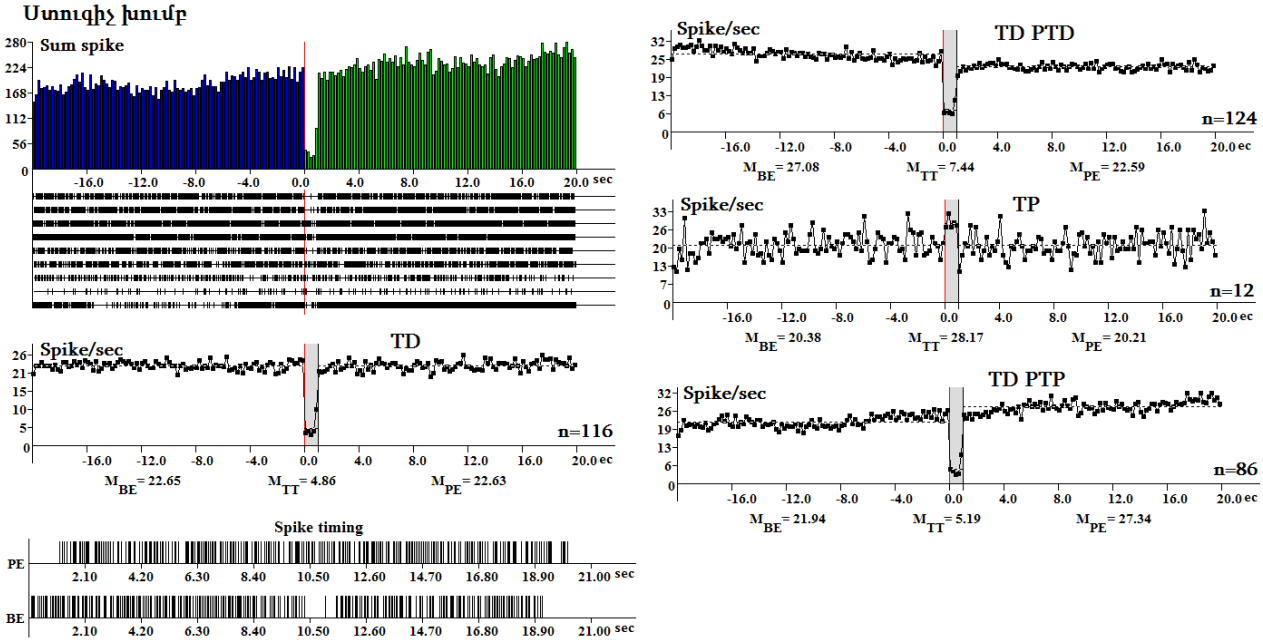
Պատասխանի տեսակ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին	Պատասխանների արտահայտվածություն
TP PTP	16.56 %	3.94 անգամ
TD PTD	42.04 %	8.92 անգամ
TD PTP	41.4 %	8.38 անգամ

Աղյուսակ 7. *Հիպոկամպ նորմա խմբում (էնտորինալ կեղևի ԲՀԽ պայմաններում) միջին հաճախականության (սպայկ/վրկ) տոկոսային բաշխումը և պատասխանների արտահայտվածությունը նշված պատասխանների տեսակների համար*



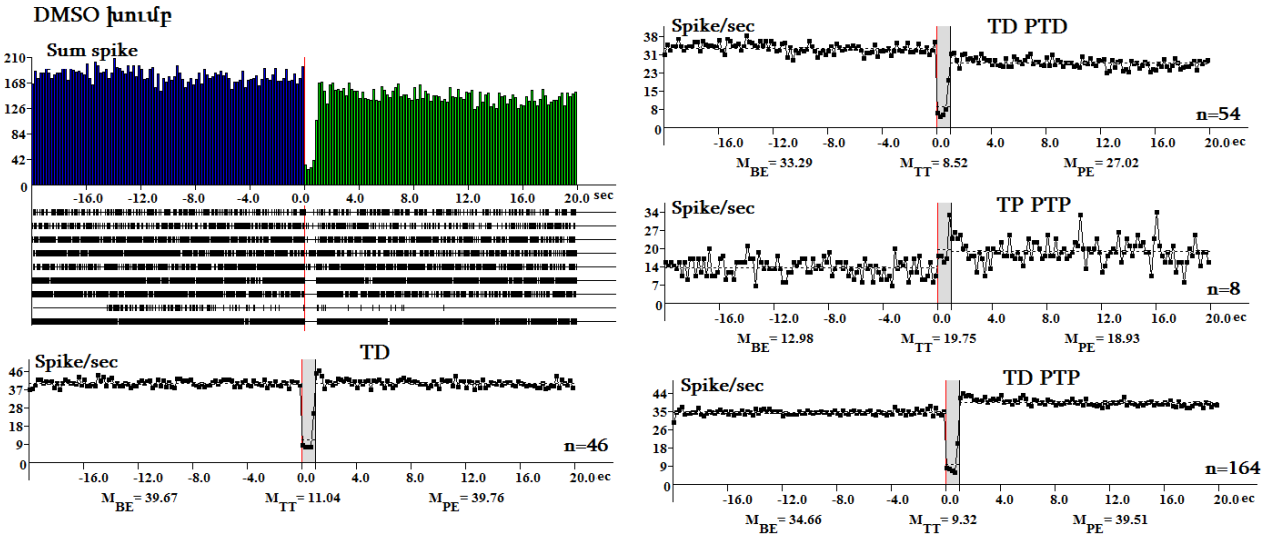
Նկար 19. *Փորձարարական I խումբ (Ռոտենոն), հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության սպայկային գրաֆիկները արտահայտել են TP PTP, TP PTD, TD PTD, TD PTP, TD, TP, PTP պատասխաններ, ոչ ռեակտիվ նեյրոններ սպայկային միջին հաճախականության թվային արժեքներ (սպայկ/վրկ) իրական ժամանակահատվածում 20 վրկ մինչ ԲՀԽ (M BE), 20 վրկ ԲՀԽ հետո (M PE) և ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), n-նեյրոնների քանակը, որոնց սպայկային ակտիվության հաճախականությունը գրաֆիկի վրա միջինացված է*

II խմբում (338 նեյրոն) հիպոկամպի նեյրոնների ԲՀԽ ժամանակ տետանիկ պոտենցիացիա՝ TP գրանցվել է 1.38 անգամ (28.18:20.8 սպայկ/վրկ), տետանիկ դեպրեսիա՝ TD PTD 3.64 անգամ (27.08:7.44 սպայկ/վրկ), TD PTP՝ 4.22 անգամ (21.94:5.19), TD՝ 4.66 անգամ (22.65:4.86) (Նկ. 2): Առհասարակ, ԲՀԽ ժամանակ (M_{TT}) II խմբում TP պատասխանները ցուցաբերել են ամենացածր ցուցանիշը՝ (3.55%) (Նկ. 23):



Նկար 20. *Փորձարարական II խումբ (Արևածաղկի յուղ), հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության սպայկային գրաֆիկները արտահայտել են TD, TD PTD, TD PTP, TP պատասխաններ, սպայկային միջին հաճախականության թվային արժեքներ (սպայկ/վրկ) իրական ժամանակահատվածում 20 վրկ մինչ ԲՀԽ (M BE), 20 վրկ ԲՀԽ հետո (M PE) և ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), n-նեյրոնների քանակը, որոնց սպայկային ակտիվության հաճախականությունը գրաֆիկի վրա միջինացված է*

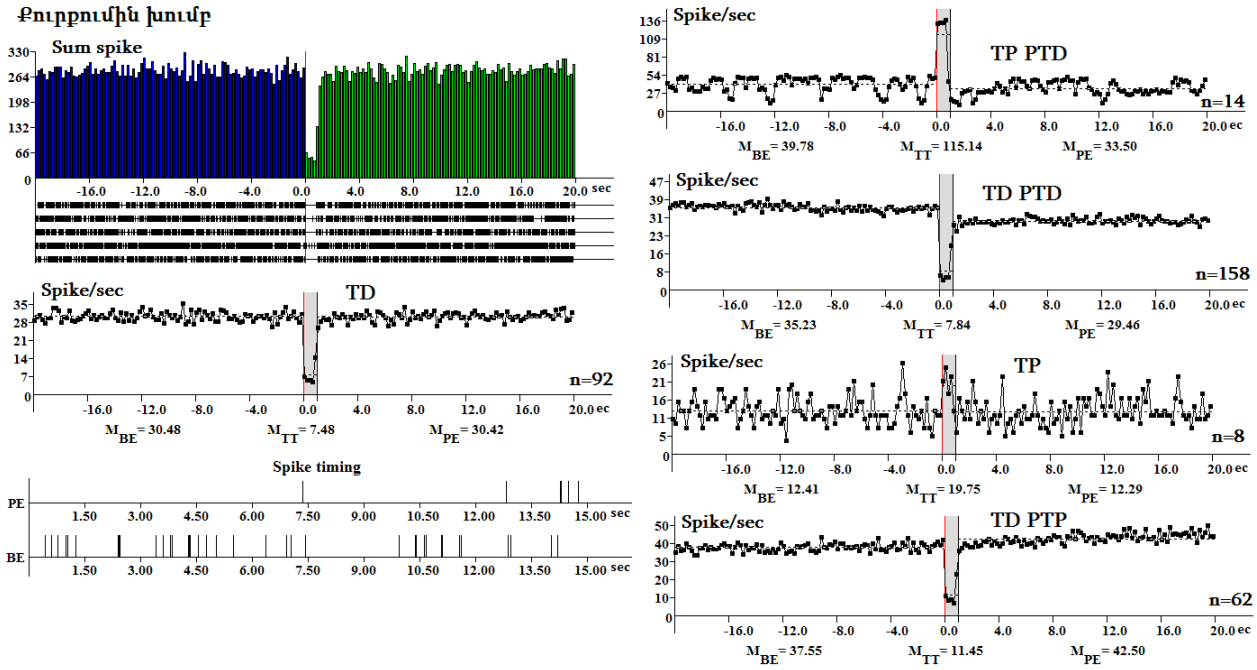
III խմբում (272 նեյրոն) հիպոկամպի նեյրոնների ԲՀԽ ժամանակ տետանիկ պոտենցիացիան՝ TP PTP արտահայտվել են 1.52 անգամ (19.75:12.98 սպայկ/վրկ), ԲՀԽ ժամանակ տետանիկ դեպրեսիան TD PTD պատասխաններ՝ 3.9 անգամ (33.29:8.52 սպայկ/վրկ), TD PTP պատասխաններ՝ 3.72 անգամ (34.66:9.32), TD՝ 3.59 անգամ (39.67:11.04): Ընդհանուր առմամբ, III խմբում ԲՀԽ ժամանակ (M HFS) TD PTP պատասխանները ունեն ամենաբարձր ցուցանիշը (60.3%) (Նկ. 21):



Նկար 21. *Փորձարարական III խումբ (Ռուտենոն+DMSO), հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության սպայկային գրաֆիկները արտահայտել են TP PTP, TD PTD, TD PTP և TD պատասխաններ, սպայկային միջին հաճախականության թվային արժեքներ (սպայկ/վրկ) իրական ժամանակահատվածում 20 վրկ մինչ ԲՀԽ (M BE), 20 վրկ ԲՀԽ հետո (M PE) և ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), n-նեյրոնների քանակը, որոնց սպայկային ակտիվության հաճախականությունը գրաֆիկի վրա միջինացված է*

IV խմբում (Նկ. 22) հիպոկամպի նեյրոնների ԲՀԽ ժամանակ TP-ն արտահայտվել է 1.59 անգամ (M_{TT}=19.75/M_{BE}=12.41 սպայկ/վրկ), ԲՀԽ ժամանակ տետանիկ դեպրեսիա TD PTD պատասխաններ՝ 4.49 անգամ (M_{BE}=35.23/M_{TT}=7.84 սպայկ/վրկ), TD PTP պատասխաններ՝ 3.28 անգամ (M_{BE}=37.55/M_{TT}=11.45 սպայկ/վրկ), TP PTD պատասխաններ՝ 2.89 անգամ (M_{TT}=115.14/M_{BE}=39.78 սպայկ/վրկ), TD՝ 4.08 անգամ (M_{BE}=30.48/M_{TT}=7.48 սպայկ/վրկ): Ընդհանուր առմամբ, ԲՀԽ ժամանակ (M HFS) IV խմբում TP և TP PTD-ն ցուցաբերել են ամենացածր ցուցանիշը (2.4% և 4.2%): TD PTD պատասխանները ցուցաբերել են ամենաբարձր ցուցանիշը (47.3%).

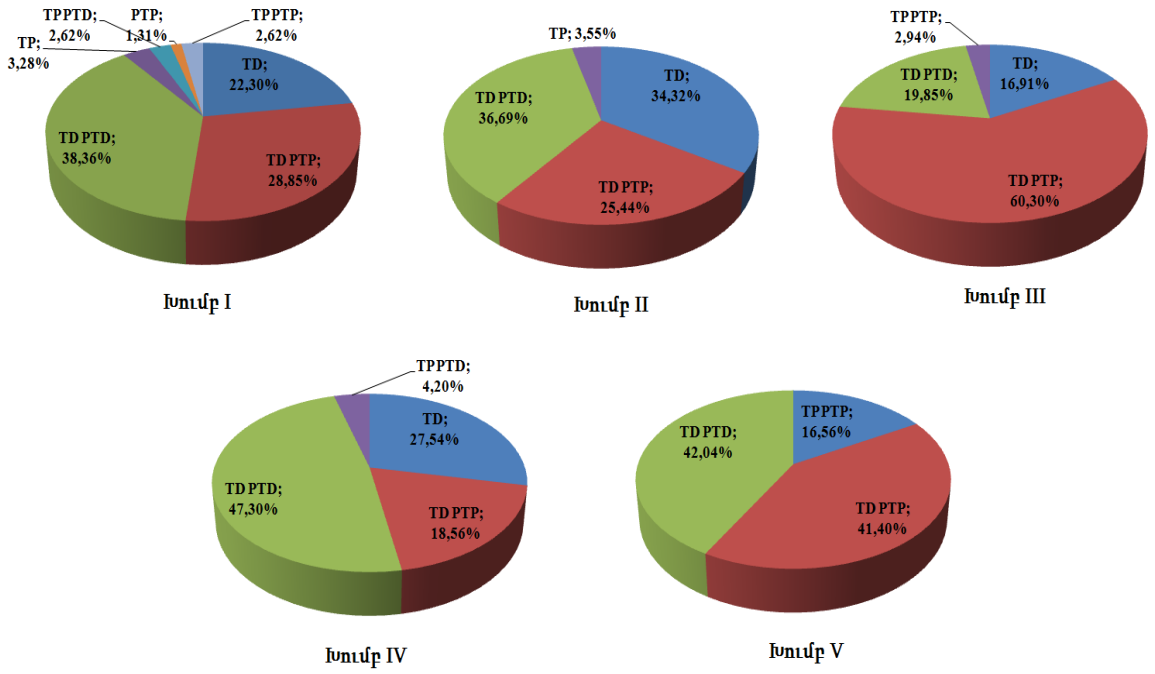
Տետանիկ պոտենցիացիան՝ TP PTP պատասխաններով, ի հայտ է եկել I և III խմբերի մոտ (Նկ. 19, Նկ. 21): Նեյրոններում տետանիկ դեպրեսիան TD PTD պատասխաններով նույնպես ավելի արտահայտված է I խմբում (5.02 անգամ, Նկ. 19)՝ ի համեմատ IV խմբի (4.49 անգամ) (Նկ. 22):



Նկար 22. *Հիպոկամպի նեյրոնային ակտիվության վրա քուրքումինի ազդեցության գնահատումը: Փորձարարական IV խումբ (Ռուտենոն+Քուրքումին), հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության սպայկային գրաֆիկները արտահայտել են TP, TD PTD, TD PTP, TD և TP PTD պատասխաններ, սպայկային միջին հաճախականության թվային արժեքներ (սպայկ/վրկ) իրական ժամանակահատվածում 20 վրկ մինչ ԲՀԽ (M BE), 20 վրկ ԲՀԽ հետո (M PE) և ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), n-նեյրոնների քանակը, որոնց սպայկային ակտիվության հաճախականությունը գրաֆիկի վրա միջինացված է*

Այս նեյրոնների հարաբերակցությունը եղել է 38.36% և 47.3% (Նկ. 19, Նկ. 22): I խմբում հայտնաբերվել է ամենաարտահայտված տետանիկ պոտենցիացիան՝ TP պատասխաններով (2.21 անգամ) համեմատած II խմբի (1.38 անգամ) և IV խմբի (1.59 անգամ): Միայն I խմբում նեյրոններում հայտնաբերվել են PTP պատասխաններ (1.2 անգամ (M_{PE}=16.68/M_{BE}=13.06 սպայկ/վրկ) (Նկ. 19): IV խմբում TP PTD պատասխանները զգալիորեն բարձր են՝ 2.89 անգամ (M_{TT}=115.14/M_{BE}=39.78

սպայկ/վրկ) (Նկ. 22)՝ համեմատած I (1.68 անգամ) խմբի հետ: TD-ն նույնպես զգալիորեն նվազել է III խմբում (3.59 անգամ, Նկ. 21) և IV խմբում (4.07 անգամ)՝ համեմատած I խմբի հետ (5.55 անգամ): TD–ն զգալիորեն նվազել է նաև III (3.59 անգամ, Նկ. 21) և IV խմբերում (4.07 անգամ) ի համեմատ I խմբի (5.55 անգամ): IV խմբում գրանցվել է 334 նեյրոն, որոնցից 92 միավոր (27.54%) եղել է TD, 62 միավոր (18.56%) TD PTP, 14 միավոր՝ TP TP, PTD (4.2%), 158 միավոր՝ (47.8%) TD PTD և 8 միավոր՝ (2.4%) TP (Նկ. 23):



Նկար 23. *Հիպոկամպի նեյրոնների պատասխանների տեսակների տոկոսային բաշխումը փորձարարական բոլոր խմբերում*

Արդյունքների քննարկում

ՊՀ պաթոգենեզի հարուցման և նմանատիպ պատկեր ստանալու համար մի քանի մոդելներ են օգտագործվել, օրինակ՝ ռոտենոն, MPTP և 6-հիդրոքսիդոփամին: Սինապսային դիստրոֆիան բնորոշում է ՊՀ նեյրոպաթոլոգիայի վաղ փուլերը (Blesa J. et al 2010): Ավելին, ՊՀ մկների մոտ հիպոկամպում նկատվել են պլաստիկ սինապտիկության խանգարումներ, որոնք կարող են առնչվել իմացական

խանգարումների հետ (Sweet E.S. et al 2015): Մենք ցույց ենք տվել, որ պեստիցիդ ռոտենոնով հիպոկամպի նեյրոնների վնասումը արգելակում է նրանց նեյրոնային գործունեությունը և առաջացնում է նեյրոնների ինտեգրացիայի խանգարումներ: Ի պատասխան ռոտենոնի ազդեցությանը՝ հիպոկամպի նեյրոնների պատասխանների հետագա բնութագրման համար այս բջիջներում իրականացրել ենք *in vivo* գրանցումներ: Հետխթանիչ ազդեցությունը, ինչպիսիք են էքսայթոթոքսիկությունը (TP, PTP, TP PTP) և արգելակիչ պատասխանները (TD, PTD, TD PTD) գրանցվել են հիպոկամպի նեյրոններում բարձր հաճախականությամբ խթանման պայմաններում (100 Հց 1վրկ տևողությամբ): Այս հետազոտության իրականացման ժամանակ մենք ցույց ենք տվել, որ ռոտենոնի ներարկումից հետո նեյրոնները իրենց պատասխաններում ցուցաբերում են նշանակալի փոփոխություններ հիպոկամպի CA1 և CA3 դաշտերում: Մենք բացահայտել ենք, որ 2.5 մգ/կգ ռոտենոնը (3 շաբաթ տևողությամբ, 6-րդ շաբաթ՝ գրանցում) զգալիորեն ավելացնում է նեյրոնի դրդունակությունը (TP՝ 2.1 անգամ) (Նկ. 19)՝ ի համեմատ 3 շաբաթ ռոտենոն (1.72 անգամ) և II խմբի (1.38 անգամ): TP PTP պատասխանները մնացել են հաստատուն (1.74 անգամ*):* PTP պատասխաններն I խմբում ի հայտ են եկել VI շաբաթում (1.2 անգամ)՝ ի համեմատ ռոտենոն 3 շաբաթի հետ (1.39 անգամ): Ոչ ռեակտիվ նեյրոններ (0.64%) են հայտնաբերվել միայն I խմբում: Ենթադրում ենք, որ ռոտենոնը հիպոկամպ-էնտորինալ կեղև նեյրոնային շղթայում հարուցում է էլեկտրաֆիզիոլոգիական ցուցանիշների փոփոխություններ՝ հավանաբար արտահայտելով նեյրոնի մահը: I խմբում (Նկ. 19) հայտնաբերվել է, որ TD PTD (5.02 անգամ) արտահայտվածությունը և TD PTP (3.96 անգամ) պատասխանները ավելի քիչ համեմատելի են V խմբի հետ (TD PTD 8.92 անգամ, TD PTP 8.38 անգամ) (Աղ. 7): Ըստ Էյզենհոֆերի՝ ռոտենոնով հարուցված միկրոխողովակների դեպոլիմերիզացիոն գործունեությունը թոքսիկություն է առաջացնում՝ խաթարելով միկրոխողովակներով նյարդամիջնորդանյութերի բշտերի փոխադրումը (Eisenhofer G. et al 2004): Սա հանգեցնում է սոմայում բշտերի կուտակման, որն առաջացնում է օքսիդատիվ սթրեսի ուժգնացում՝ բշտերից արտահոսող նեյրոթրանսմիթերների օքսիդացման հաշվին (Ren Y. et al 2005): Ռոտենոն ստացած նեյրոնները չձևավորված ցենտրոսոմների հետ ցուցաբերում են

աքսոնների կրճատում և միկրոխողովակների անկայունացում (Diaz-Corrales F.J. et al 2005): Ռոտենոնը կարող է գործադրել իր արգելակող ազդեցությունը աքսոնների ձևավորման վրա՝ կայունացնելով աճի կոնի ակտինային թելիկները (Arimura N. et al 2007): Պլաստիկությունը ուղեղում կարևոր առանձնահատկություն է այն առումով, որ էլեկտրական ակտիվությանը հարմարեցնում է նեյրոնային կառույցին և գործառույթներին: L-աձև կալցիումական անցուղու ակտիվությունը կապված է նեյրոնի վերապրման և մահվան հետ՝ կորիզում կալցիումի և ազդանշանային երևույթների կարգավորման հետ: Գլյուտամատն առաջացնում է սինապսային պատասխաններ մետաբոտրոպ mGLU և իոնոտրոպ NMDA ընկալիչների միջոցով՝ առաջացնելով բջջի գրգռում և ներբջջային Ca^{+2}-ի արտազատում: Մյուս կողմից, իոնոտրոպ ընկալիչների ակտիվացումը ավելացնում է Ca^{+2} բջջային թափանցելիությունը (Weil Z.M. et al 2008): Ենթադրվում է, որ գլյուտամատով միջնորդված էքսայթոթոքսիկությունը գլխավոր դեր է խաղում տարբեր նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների ժամանակ, ինչպիսին է օրինակ Պարկինսոնի հիվանդությունը (Gubellini P. et al 2006): Միտոքոնդրիումի համալիր 1-ի արգելակումը ռոտենոնով, օքսիդատիվ ֆոսֆորիլացիան կարող է հանգեցնել տրիկարբոքսիլինային թթվի ցիկլի քանակի ավելացման, որը բջջային էներգիայի մատակարարման պահպանման միտոքոնդրիումային երկրորդ գլխավոր ուղին է (Moussa E.H.C. et al 2007): Ուստի, գլյուտամատային և գլյուտամինային խմբերի ավելացումը կարող են մատնանշել գլյուտամատ-գլյուտամին ցիկլի փոփոխությունները, որը գլյուտամատի արտադրության և բջջում դեթոքսիֆիկացիայի հսկայական աղբյուր է (Danbolt N.C. et al 2000), և գլյուտամատի մակարդակի ավելացումը կարող է հանգեցնել նեյրոնների էքսայթոթոքսիկ վախճանի (Danbolt N.C. et al 2001): Այնուամենայնիվ, գլյուտամատի էքսայթոթոքսիկությունը ներառում է NMDA2B-ի գերակտիվացում, իսկ mGLUR5 ընկալիչները կարող են արագացնել ներբջջային պահեստներից Ca^{+2} արտազատումը, որը հարուցում է ֆերմենտների գերակտիվացում, ինչպիսին պրոտեին կինազներն են՝ հանգեցնելով սպիտակուցների և թաղանթի դեգեներացիայի՝ այդպիսով առաջացնելով բջջի վնասում (Hu X. et al 2015): NR2 տարբեր ենթամիավորների կազմը ընկալիչներում առաջացնում է հստակ

էլեկտրաֆիզիոլոգիական և դեղաբանական հատկություններ՝ տարբեր կերպով նպաստելով էքսայթոթոքսիկ նեյրոնային վնասվածքին:

Բազմաթիվ ուսումնասիրություններում հայտնաբերվել են սինապսային կամ էքստրասինապսային NR2A պարունակող NMDArs, որոնք նպաստում են NMDA հարուցված նեյրոնային վնասվածքի դեմ պաշտպանությանը կամ վերջապես, NMDA թոքսիկության մեջ ավելի քիչ ներգրավված լինելու համար (Zhou M. et al 2006): Հայտնի է, որ ռոտենոնը դեպոլիմերիզացնում է միկրոխողովակները՝ բջջակմախքի բաղադրիչները, որոնք ներգրավված են վեզիկուլային փոխադրման մեջ: Միկրոխողովակների դեպոլիմերիզացիան խաթարում է վեզիկուլային փոխադրումը և հարուցում է նրանց կուտակում սոմայում (Ren Y. et al 2005): Հիպոկամպի CA1 դաշտը շատ խոցելի ուղեղային շրջան է այնպիսի անբարենպաստ պայմանների ազդեցության դեպքում, ինչպիսիք են իշեմիան և թթվածնաքաղցը (Sims N.R. et al 1987): Հիպոկամպում ինֆորմացիայի հոսքը հիմնականում միակողմանի է: Միմյանց մոտ տեղադրված բջջային շերտերն ազդանշաններ տարածելու ուղիներ են: Հիպոկամպի միակ արտաքին կապ հաստատող շրջանը CA1 բրգաձև բջիջների շրջանն է (Zola-Morgan S. et al 1986): Հայտնաբերվել է, որ ռոտենոնը առնետների հիպոկամպի սլայսներում առաջացնում է սուպերօքսիդի գեներացիայի բարձր մակարդակներ՝ ի համեմատ առնետների ստրիատումի սլայսների՝ ցույց տալով, որ այս կառույցը ավելի զգայուն է օքսիդատիվ սթրեսի նկատմամբ (Saybasili H. et al 2001): Հայտնի է, որ հիպոկամպը շատ զգայուն է օքսիդատիվ սթրեսի նկատմամբ, որը հիպոկամպի սինապտիկ փոխադրումը դարձնում է չափազանց կախյալ միտոքոնդրիումի այնպիսի նյութերից, ինչպիսիք են ATP և ROS (Keating D.J. et al 2008): Ցույց է տրվել, որ ռոտենոնով բուժումը կարող է նվազեցնել նախասինապսային գլյուտամատի արտազատումը: Ռոտենոնի արգելակիչ ազդեցությունը նեյրոնային պատասխանների վրա ավելի շատ նախասինապսային կողմում է, քան հետսինապսային (Ren Y. et al 2007): Ցույց է տրվել, որ ռոտենոնը նվազեցնում է հիպոկամպի CA1 դաշտային պոտենցիալները (fEPSP) մոտավորապես 17% (Wu Y.N. et al 2011): Նախորդ ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ հիպոկամպը ամենաքիչ զգայունությունն է ցուցաբերում ռոտենոնով համալիր 1-ի արգեակմանը, քան ստրիատումը (Costa C. et al

2008), բայց գերակշիռ նորանոր վկայությունները համապատասխանում են մեր եզրահանգմանը, որ ռոտենոնը ցուցաբերում է թոքսիկություն և հիպոկամպի շրջանում կարող է առաջացնել սինապսային փոխադրման փոփոխություններ:

Քուրքումինի ազդեցությունները հիպոկամպի էլեկտրական ակտիվության վրա

Քուրքումինի պաշտպանիչ ազդեցությունների մասին ավելի ընդարձակ պատկերացումներ ունենալու համար մենք փորձարկել ենք հիպոկամպի նեյրոնների գործունեությունը՝ համակցելով այն վարքային և *in vivo* էլեկտրաֆիզիոլոգիական մեթոդների հետ: Քուրքումինի ազդեցությունները հայտնաբերվել են 334 նեյրոններում՝ արտաբջջային գրանցման միջոցով: Առնետներին տրվել է քուրքումին (200 մգ/կգ լուծված DMSO-ում) ն/n 21 օր: Ռոտենոնի ներարկման ընդհատվող դեղաչափերով գրաֆիկը, մինչ օրս համարվում է առավել արդյունավետ: Երբ օրական ցածր չափաբաժիններով (1.5–2.5 մգ/կգ -1 ն/n) են ներարկել, մինչև 2 ամիս, ստրիատումի ՏՀ և դոփամինի մակարդակների դեղաչափից կախյալ նվազում է հայտնաբերվել (Alam M. et al 2002): Ցույց է տրվել, որ ռոտենոնի սուր ներարկումը վնասում է հիպոկամպի սինապսային թրանսմիսիան՝ կախված կոնցենտրացիայից և ներարկման շրջանից: Ավելին, վերջին տվյալները ցույց են տվել, որ հիպոկամպի սլայսի վրա 0.1–1μ ռոտենոնի սուր ազդեցությունը (30 րոպե), կտրուկ նվազեցնում է սպայկերի պոպուլյացիայից առաջացած ամպլիտուդը: Մի շարք հեղինակների կողմից ցույց է տրվել, որ ռոտենոնը խաթարում է ԲՀԽ հարուցված երկարատև պոտենցիացիան (Kim do Y. et al 2010): Հիպոկամպի սլայսների վրա ցույց է տրվել, որ ռոտենոնի կարճատև ազդեցությունը 1–2 μM (1 ժամ) առաջացնում է CA1 նեյրոնների մահ (Xu G, et al 2003), իսկ քրոնիկ ազդեցությունը (24 ժամ) հիպոկամպի սլայսի վրա (200–300 nM) զգալիորեն խորացնում է բջջի դեգեներացիան (Schuh R.A. et al 2008): Կենդանական մոդելի ծավալուն ուսումնասիրություններ են իրականացվել ՊՀ ժամանակ դոփամիներգիկ նեյրոնների դեմ տարբեր կենսաակտիվ միացությունների վերաբերյալ: Տարբեր դեղաբույսերից ստացված ֆիտոակտիվ միացությունները կենդանական մոդելներում ցուցաբերում են տարբեր նյարդապաշտպան ազդեցություն (Son H.J. et al 2012): Քուրքումինը նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների ժամանակ առաջացնում է

շատ կենսաբանական ազդեցություններ: Այստեղ մենք հաստատում ենք և հետագայում բնորոշում նրա պաշտպանիչ ազդեցությունը ռոտենոնով հարուցված նեյրոթոքսիկ մոդելում: Ավելի լավ գնահատելու համար ռոտենոնի թոքսիկ ազդեցությունը հիպոկամպի վրա, մենք համեմատել ենք ռոտենոնի և քուրքումինի ազդեցությունները: Ավելին, մենք նկարագրել ենք հիպոկամպի վրա ունեցած նրա պաշտպանիչ ազդեցությունը: Հաշվելով հիպոկամպի նեյրոնների էլեկտրական հոսքերը՝ մենք կարող ենք հաստատել, որ քուրքումինն ազդել է էքսայթոթոքսիկ նեյրոնային ակտիվության վրա: Ստացված արդյունքները ապացուցում են NMDAr-ի՝ որպես թիրախ հանդիսանալը քուրքումինային նյարդապաշտպանության համար: Հետաքրքրական է, որ ինչպես տրված է Նկ. 22-ում, քուրքումինային խմբում (IV խումբ) զգալիորեն նվազել է նեյրոնների դրդելիությունը (TP-1.59 անգամ)՝ ի համեմատ I խմբի (2.21 անգամ): TD PTP պատասխաններում փոփոխություններն ավելի քիչ են IV խմբում (3.28 անգամ)՝ համեմատած I խմբի (3.96 անգամ), II խմբի (4.22 անգամ) և III խմբի (3.72 անգամ) հետ: Զգալիորեն բարձր TP PTD պատասխաններ նկատվում են քուրքումինային խմբում (2.89 անգամ) ի համեմատ I խմբի (1.68 անգամ): Ստացված տվյալների համաձայն՝ քուրքումինը կանխել է ռոտենենով հարուցված էքսայթաթոր TP PTP և PTP արտահայտվածությունը (I խումբ՝ TP PTP և PTP, III խումբ՝ միայն TP PTP): Ըստ գրանցված պատասխանների տեսակների հարաբերակցության (Նկ. 22)՝ TD PTD (47.3%) պատասխաններով նեյրոնները առավելագույնս առկա են IV խմբում: Քուրքումինով բուժումը պահպանել է արգելակիչ TD PTD (4.49 անգամ) և TD (4.07 անգամ) պատասխանները հիպոկամպում՝ ի համեմատ I խմբի (5.02 և 5.5 անգամ), II խմբի (3.64 և 4.66 անգամ) և III խմբի (համապատասխանաբար 3.72 և 3.59 անգամ): Բջջային մեխանիզմները, որոնք ուղղակիորեն ազդում են սինապսային գործառույթի վրա, ամենայն հավանականությամբ, կազմում են ապագա արդյունավետ միջամտության թիրախներ ՊՀ թերապիայի համար: Ներկայումս քուրքումինի ազդեցությունը երկարատև դեպրեսիայի վրա ամբողջությամբ պարզաբանված չէ: Բացահայտվել է, որ հիպոկամպի դաշտի պոտենցիալի երկարատև դեպրեսիան կանխվել է քուրքումինով (Ga-Young Choi et al 2017): Քուրքումինը զգալիորեն կանխում է ռոտենոնով հարուցված հիպոկամպի սինապսային պլաստիկության

խանգարումները, որը, հավանաբար, միջնորդված է միտոքոնդրիում համալիր 1-ի ֆունկցիայով: Ցույց է տրվել, որ քուրքումինը պաշտպանում է հիպոկամպի նեյրոնները NMDA-հարուցված բջջի մահից՝ հաստատելով նրա հակաէքսայթոթոքսիկ հատկությունը, և NMDAr ենթամիավորային տեսակ 2A (NR2A) մակարդակների բարձրացումը սերտորեն փոխկապակցված է նյարդապաշտպանության ժամանակային կտրվածքի և [Ca(2+)](i) նվազման հետ (Matteucci A. et al 2011): Քուրքումինը իր կոնցենտրացիայից կախյալ բնույթով մեղմացնում է Aβ-հարուցված գլյուտամատ/ԳԱԿԹ բջջային մակարդակի ավելացումը: Ցույց է տրվել, որ քուրքումինով քրոնիկ բուժումը հանգեցնում է հիպոկամպում ավելացած BDNF արտահայտվածության: BDNF ուղղակիորեն ներգրավված է բջիջների գոյատևման և նեյրոգենեզի մեջ (First M. et al 2011): *In vitro* ուսումնասիրութունները ցույց են տվել, որ քուրքումինը պաշտպանում է NMDA միջնորդված թոքսիկությունից՝ հաստատելով NMDA ընկալիչների վրա քուրքումինի արգելակող ազդեցության փաստը: Հայտնաբերվել է, որ քուրքումինը պաշտպանում է հիպոկամպի նեյրոնները NMDA հարուցված ապոպտոզից (Matteucci A. et al 2005): Դրոզոֆիլի մոդելում քուրքումինը նաև նվազեցնում է ռոտենոնով հարուցված լոկոմոտոր խանգարումը, դոփամիներգիկ նեյրոնի դեգեներացիան և վաղ մահը՝ կրճատելով միտոքոնդրիումի ռեակտիվ թթվածնի տեսակները (Liu Z. et al 2013): Ավելի վաղ ցույց է տրվել, որ 6-հիդրոքսիդոփամինով (6-OHDA) հարուցված նեյրոնի մահի դեմ քուրքումինի բջջապաշտպանությունը և նյարդապաշտպանությունը վերագրվում է կորիզային գործոն kappaB-ի տրանսլոկացիայի կարգավորմանը (Wang J. et al 2009):

3.7 Քուրքումինի պաշտպանիչ ազդեցությունը հիպոկամպի նեյրոնների սինապսային ակտիվության վրա սև նյութի կոմպակտա հատվածի ԲՀԽ պայմաններում

Երկարատև պոտենցիացիայի և դեպրեսիայի արտահայտվածության մեջ Էնդոգեն դոփամինի ներգրավվածության ի հայտ գալուց ի վեր դոփամինի արտազատումը չափվում է էլեկտրաֆիզիոլոգիական փորձարկումների ժամանակ, երբ առաջանում է երկարատև պոտենցիացիա: Միայն CA1 շերտի մեկ ուսումնասիրության

դեպքում, օգտագործելով 14 C դոփամին, ցույց է տրվել, որ տետանիզացիան առաջացնում է դոփամինի արտազատման զգալի ավելացում (Frey U. et al 1990): Սև նյութի կոմպակտա և ռետիկուլատա հատվածների նեյրոնները պարունակում են ԳԱԿԹA և ԳԱԿԹB ընկալիչներ և այդ նեյրոնները *in vivo* կամ *in vitro* պայմաններում պատասխանում են ԳԱԿԹA և/կամ ԳԱԿԹB ընկալիչների խթանմանը գերբևեռացմամբ, արգելակմամբ կամ ակտիվացմամբ (Gulacsi A. et al 2003):

In vivo արտաբջջային գրանցումներ

I խումբ – Ռոտենոն, 2.5 մգ/մլ (ն/n) 21 օր

II խումբ –Արևածաղկի յուղ, 1 մլ/կգ (ն/n) 21 օր

III խումբ – Ռոտենոն (21 օր) + DMSO ,1մլ/կգ (ն/n) 21 օր

IV խումբ – Ռոտենոն (21 օր) +քուրքումին, 200 մգ/կգ (ն/n) 21 օր

V խումբ – նորմա

I խմբում էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտությունները (209 նեյրոն) ցույց տվեցին, որ սև նյութի (ՍՆ) ԲՀԽ (100 Հg) ժամանակ հիպակամպում TP PTP պատասխանները՝ արտահայտվել են 1.27 անգամ (13.84/10.93 սպայկ/վրկ), TP PTD պատասխանները 6.45 անգամ (45,43:7.04 սպայկ/վրկ), TP PTP պատասխանները 2.38 անգամ (2,4%) (Նկ. 24): Արգելակիչ (տետանիկ դեպրեսիա) ՍՆ ԲՀԽ (100 Հg) ժամանակ նեյրոնների TD PTD և TD PTP պատասխանները արտահայտված են համապատասխանաբար 4.7-պատիկի չափով (29.18:6.21 սպայկ/վրկ) և 4.98-պատիկի չափով (22.37:4.49 սպայկ/վրկ), TD՝ 4.02 անգամ (Նկ. 24), ոչ ռեակտիվ նեյրոնները (3.83%): Հիպոկամպի նեյրոնների հիմնական պատասխաններն են TD PTP (36,84%) և TD PTD (26.8%): Ընդհանուր առմամբ, I խմբում ԲՀԽ պայմաններում TP PTP կազմում է ամենացածր մասնաբաժինը:

Պատասխանի տեսակ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին	M BE սպայկ/վրկ	M HFS սպայկ/վրկ	M PE սպայկ/վրկ
TP PTP 2.38 անգամ	2.4 %	14.11	33.60	30.67
PTP 1.27 անգամ	3.34 %	10.93	10.00	13.84
TP PTD 6.45 անգամ	6.7 %	7.04	45.43	5.65
TD PTD 4.7 անգամ	26.8 %	29.18	6.21	19.15
TD PTP 4.98 անգամ	36.84 %	22.37	4.49	31.72
Ոչ ռեակտիվ	3.83 %	5.81	5.75	5.49
TD 4.02 անգամ	20 %	20.17	5.02	20.16

Աղյուսակ 8. *Ռոտենոն խումբ (I խումբ)*

Պատասխանի տեսակ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին	M BE սպայկ/վրկ	M HFS սպայկ/վրկ	M PE սպայկ/վրկ
TD 4.91 անգամ	25.8 %	38.62	7.86	38.61
TD PTD 4.04 անգամ	21.65 %	39.58	9.79	31.89
TP PTP 3.26 անգամ	5.07 %	12.74	41.55	14.59
TD PTP 4.42 անգամ	47.46 %	31.60	7.15	38.43

Աղյուսակ 9. *Քուրքումին խումբ (IV խումբ)*

Պատասխանի տեսակ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին	M BE սպայկ/վրկ	M HFS սպայկ/վրկ	M PE սպայկ/վրկ
TD 3.61 անգամ	23.84 %	34.91	9.67	34.76
TD PTD 3.2 անգամ	45.03 %	40.75	12.74	36.61
TD PTP 2.18 անգամ	31.12 %	36.89	16.94	40.36

Աղյուսակ 10. *Նորմա խումբ (V խումբ)*

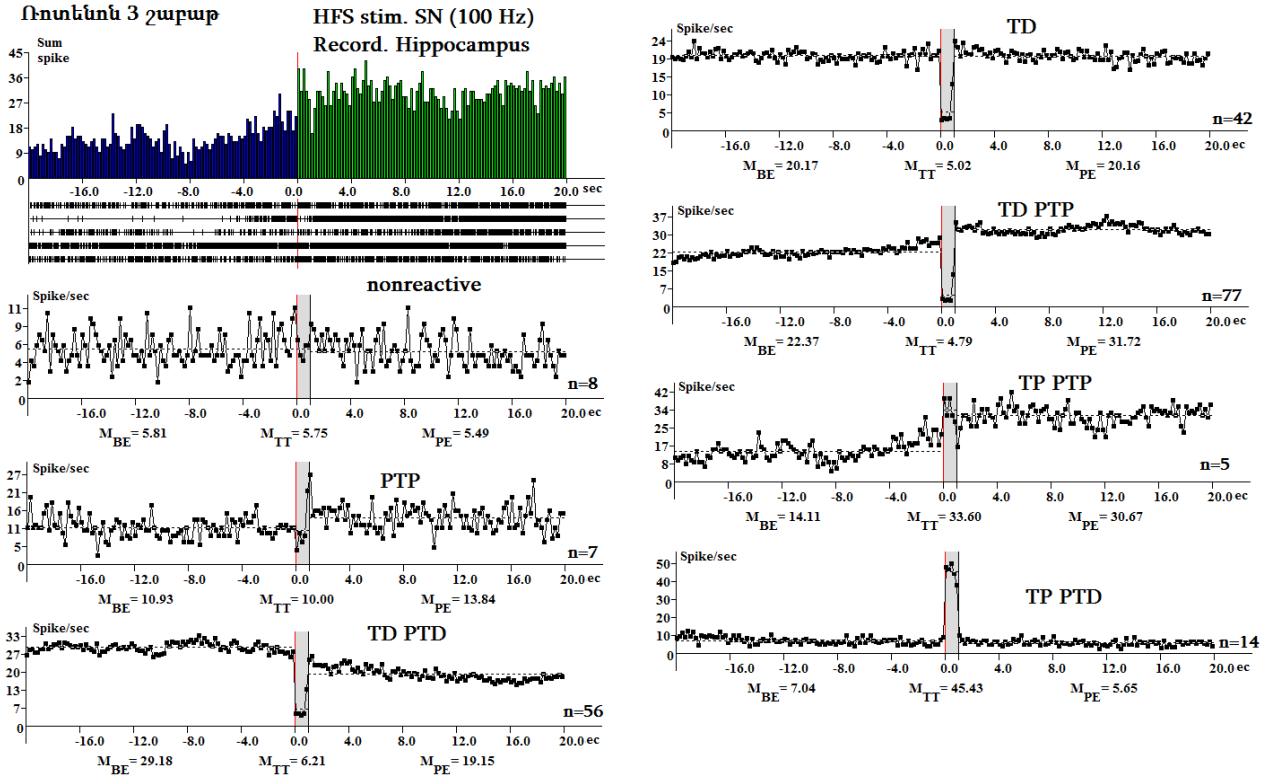
Պատասխանի տեսակ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին	M BE սպայկ/վրկ	M HFS սպայկ/վրկ	M PE սպայկ/վրկ
TD 3.95 անգամ	21.3 %	29.66	7.50	29.58
TD PTD 3.77 անգամ	23.35 %	34.58	9.17	27.25
TP PTP 5.6 անգամ	4.56 %	8.30	46.44	10.46
TD PTP 4.28 անգամ	50.76 %	30.33	7.08	37.69

Աղյուսակ 11. *Արևածաղկի յուղ խումբ (II խումբ)*

Պատասխանի տեսակ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին	M BE սպայկ/վրկ	M HFS սպայկ/վրկ	M PE սպայկ/վրկ
TD 6.7 անգամ	12.55 %	47.41	7.07	47.44
TD PTD 8.7 անգամ	16.14 %	57.97	6.69	51.97
TP PTP 2.28 անգամ	2.7 %	11.34	25.83	14.31
TD PTP 5.28 անգամ	68.6 %	58.01	10.99	64.93

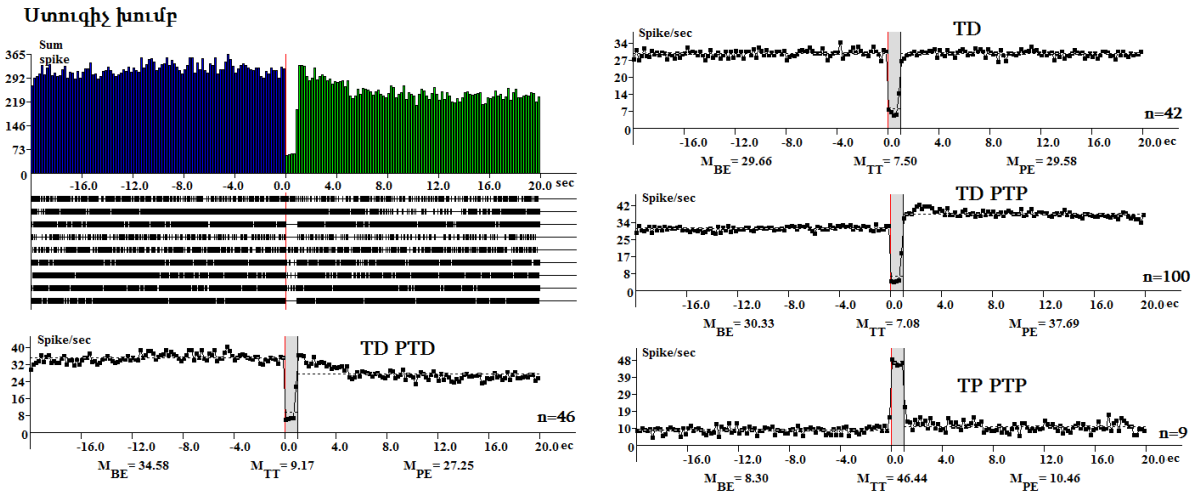
Աղյուսակ 12. *Դիմեթիլսուլֆօքսիդ խումբ (DMSO) (III խումբ)*

Աղյուսակ 8-12. *Հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության (սպայկ/վրկ) տոկոսային բաշխումը և արժեքները՝ առաջացած մինչխթանման (M BE) ժամանակահատվածի, հետխթանման (M PE) ժամանակի սպայկային ակտիվություններ և սև նյութի ԲՀԽ (M HFS) ժամանակ սպայկային ակտիվությունը խմբերի նշված տեսակների պատասխանների համար*



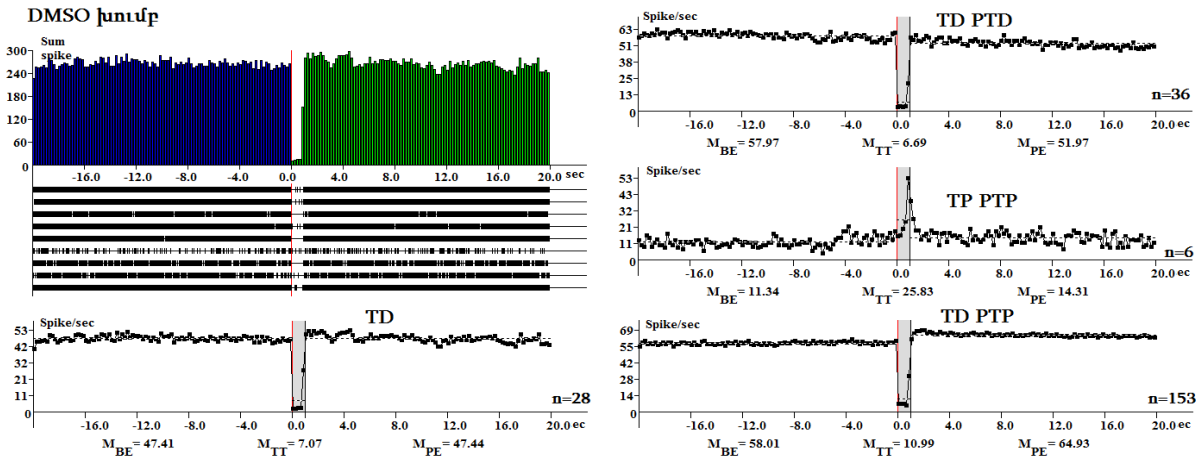
Նկար 24. *Փորձարարական I խումբ (Ռոտենոն), հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության սպայկային գրաֆիկները արտահայտել են TP PTP, TP PTD, TD PTD, TD PTP, TD, TP, PTP պատասխաններ, ոչ ռեակտիվ նեյրոններ սպայկային միջին հաճախականության թվային արժեքներ (սպայկ/վրկ) իրական ժամանակահատվածում՝ 20 վրկ մինչ ԲՀԽ (M BE), 20 վրկ ԲՀԽ հետո (M PE) և ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), n-նեյրոնների քանակը, որոնց սպայկային ակտիվության հաճախականությունը գրաֆիկի վրա միջինացված է*

II խմբում (197 նեյրոն) սև նյութի կոմպակտա հատվածի ԲՀԽ ժամանակ հիպոկամպի նեյրոններում TP PTP արտահայտված են 5.6 անգամ (46.44:8.30 սպայկ/վրկ), TD PTD պատասխանները՝ 3.77 անգամ (34.58:9.17 սպայկ/վրկ), TD PTP պատասխանները՝ 4.28 անգամ (30.33:7.08), TD՝ 3.95 անգամ (29.66:7.50): Ընդհանուր առմամբ, II խմբում ԲՀԽ ժամանակ (M TT) TP PTP պատասխանները կազմել են ամենացածր մասնաբաժինը՝ (4.56%), իսկ TD PTP պատասխանները՝ ամենաբարձր (50.76%) (Նկ. 25):



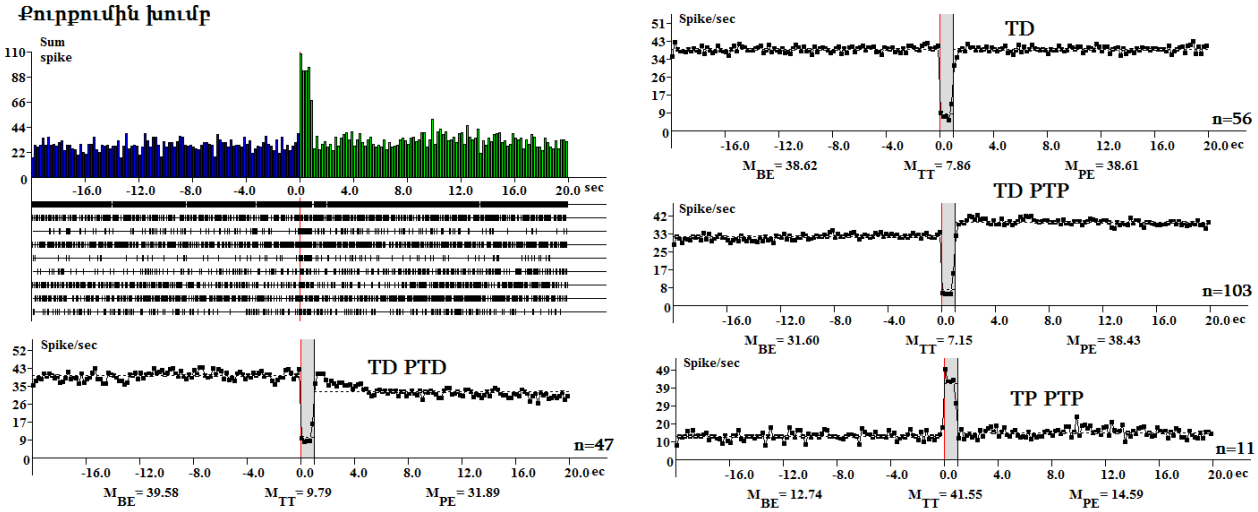
Նկար 25. *Փորձարարական II խումբ (Արևածաղկի յուղ), հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության սպայկային գրաֆիկները արտահայտել են TD, TD PTD, TD PTP, TP պատասխաններ, սպայկային միջին հաճախականության թվային արժեքներ (սպայկ/վրկ) իրական ժամանակահատվածում 20 վրկ մինչ ԲՀԽ (M BE), 20 վրկ ԲՀԽ հետո (M PE) և ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), n-նեյրոնների քանակը, որոնց սպայկային ակտիվության հաճախականություն գրաֆիկի վրա միջինացված է*

III խմբում (223 նեյրոն) ՍՆ ԲՀԽ ժամանակ հիպոկամպի նեյրոնների TP PTP պատասխանները արտահայտված են 2.28 անգամ (25.83:11.34 սպայկ/վրկ), ԲՀԽ ժամանակ TD PTD պատասխանները՝ 8.7 անգամ (57.97:6.69 սպայկ/վրկ), TD PTP պատասխանները՝ 5.28 անգամ (58.01:10.99), TD՝ 6.7 անգամ (47.41:7.07): Ընդհանուր առմամբ ՍՆ ԲՀԽ ժամանակ III խմբում (M HFS) TD PTP պատասխանները կազմել են ամենաբարձր մասնաբաժինը (60.3%), իսկ TP PTP պատասխանները՝ ամենացածր (2.7%) (Նկ. 26):



Նկար 26. *Փորձարարական III խումբ (Ռոտենոն+DMSO) հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության սպայկային գրաֆիկները արտահայտել են TP PTP, TD PTD, TD PTP, TD պատասխաններ, սպայկային միջին հաճախականության թվային արժեքներ (սպայկ/վրկ) իրական ժամանակահատվածում 20 (M BE), 20 վրկ ԲՀԽ հետո (M PE) և ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), n-նեյրոնների քանակը, որոնց սպայկային ակտիվության հաճախականությունը գրաֆիկի վրա միջինացված է*

IV խմբում (217 նեյրոն) ՍՆ ԲՀԽ ժամանակ հիպոկամպի նեյրոնների TP PTP պատասխանները արտահայտված են 3.36 անգամ (41.55:12.74 սպայկ/վրկ), TD PTD պատասխանները՝ 4.04 անգամ (39.58:9.79 սպայկ/վրկ), TD PTP պատասխանները՝ 4.42 անգամ (31.60:7.86), TD՝ 4.91 անգամ (38.62:7.86): Ընդհանուր առմամբ, ՍՆ ԲՀԽ ժամանակ IV խմբում (M HFS) TD PTP պատասխանները կազմել են ամենաբարձր մասնաբաժինը՝ (47.46%), իսկ TP PTP պատասխանները՝ ամենացածր՝ (5.07%) (Նկ. 27).



Նկար 27. *Հիպոկամպի նեյրոնային ակտիվության վրա քուրքումինի ազդեցության գնահատումը: Փորձարարական IV խումբ (Ռոտենոն+Քուրքումին), հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության սպայկային գրաֆիկները արտահայտել են TP PTP, TD PTD, TD PTP, TD պատասխաններ, սպայկային միջին հաճախականության թվային արժեքներ (սպայկ/վրկ) իրական ժամանակահատվածում 20 վրկ մինչ ԲՀԽ (M BE), 20 վրկ ԲՀԽ հետո (M PE) և ԲՀԽ ժամանակ (M HFS), n-նեյրոնների քանակը, որոնց սպայկային ակտիվության հաճախականությունը գրաֆիկի վրա միջինացված է*

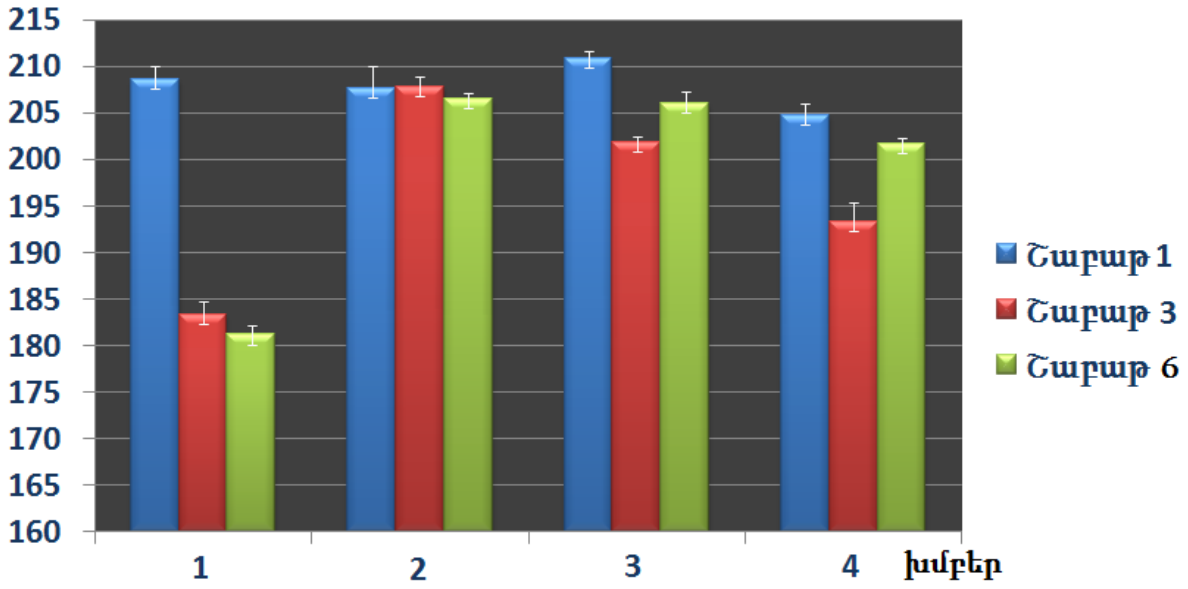
Քուրքումին խմբում TD պատասխանները (4.91 անգամ)՝ համեմատած նորմա (3.61 անգամ) և արևածաղկի յուղ ստացած խմբի (3.95 անգամ) հետ զգալիորեն

բարձր են: Նմանապես TD PTD պատասխանները (4.04 անգամ)՝ համեմատած արևածաղկի յուղ (3.77 անգամ) և նորմա (3.2 անգամ) խմբերի հետ, իսկ TP PTP պատասխանները (4.42 անգամ)՝ համեմատած արևածաղիկ խմբի (4.28 անգամ) և նորմա (2.18 անգամ) խմբերի հետ: TD պատասխանները քուրքումին խմբում ավելի բարձր են, քան ռոտենոնի խմբում (4.02 անգամ): Նորմայում առկա նվազագույն արտահայտված TD PTP պատասխանները (2.18 անգամ) ռոտենոն խմբում բարձր են արտահայտված (4.96 անգամ):

Արդյունքների քննարկում

Քուրքումինի ազդեցությունը մարմնի զանգվածի վրա

Մինչև փորձարկումը բոլոր առնետների միջին զանգվածը 201.67±1.2գ (խումբ I), 209.33±1.54 գ (խումբ II), 216.33±1.23 գ (խումբ III) և194.67±3.32գ (խումբ IV) է եղել: 3-րդ շաբաթվա վերջում I խմբի, III խմբի և IV խմբի մարմնի զանգվածները նվազել են (համապատասխանաբար 191.50±1.98գ, 208.50±1.18գ, 182.50±1.61գ): 6-րդ շաբաթից հետո IV խումբը ցուցաբերել է քաշի ավելացում (203.50±0.62գ): Մյուս խմբերի առնետների մարմնի զանգվածները նվազել էին 185.33±0.21գ (I խումբ), 202.50±0.43գ (III խումբ)՝ համեմատած 211.67±0.88գ (II խումբ) և (IV խումբ) առնետների հետ (Նկ. 28):



Նկար 28. *Կենդանիների կշիռների փոփոխությունը 6 շաբաթ փորձարկումների ժամանակ: Արժեքները ներկայացվել են որպես միջին ±SEM յուրաքանչյուր խմբում n=6, համեմատություն՝ կատարված I , II, III և IV խմբերի միջև, P < 0.05*

Արագ feed-forward արգելակման պոտենցիացիան կարող է առաջանալ դրդիչ փոխադրող կապերում (Kairiss E.W. et al 1987): Ըստ մեր տվյալների՝ հետտետանիկ դեպրեսիայի մի մասը մինչսինապսային մեխանիզմներով է պայմանավորված: Տետանիկ դեպրեսիա և հետտետանիկ պոտենցիացիա պատասխանները պայմանավորված են ԳԱԿԹերգիկ սինապսային փոխադրման անցողիկ ընկճմամբ՝ հարուցված հետսինապսային նեյրոնների թաղանթի կարճատև ապաբեվեռացման հետսինապսային սպայկային բռնկումով: Հնարավոր է ԳԱԿԹ-ի արտազատումը կրճատվում է ժամանակից կախված, առավել հավանական է, մինչսինապսային CA^{2+}-ի ներհոսքի միջոցով՝ լարումով կարգավորվող Ca^{2+} անցուղիներով կամ նյարդային թերմինալների փոքր սպիտակուցների հետ փոխհարաբերության միջոցով: Միևնույն տետանիկ խթանումը կարող է առաջացնել կամ հետտետանիկ պոտենցիացիա կամ դեպրեսիա՝ կախված հետսինապսային նեյրոնների ապաբևեռացման մակարդակից: Հետտետանիկ դեպրեսիան դիտվում է, եթե հետսինապսային ապաբևեռացումը գերազանցում է կրիտիկական մակարդակը, բայց մնում է NMDA ընկալիչով կարգավորվող հաղորդականության շեմից ցածր, մինչդեռ հետտետանիկ պոտենցիացիան առաջանում է, եթե երկրորդ շեմին է հասնում: Թրանսմիթերներից դեպի բջջի կորիզ ազդակը իրականացվում է երկրորդային միջնորդանյութեր IP3, cAMP և cGMP միջոցով: Վերջիններիս արտահայտվածությունը և փոփոխությունները մեծ դեր են խաղում ազդանշանային համալիրում (Hajnóczky G. et al 1989): Տարբեր տրանսկրիպցիոն գործոններ, ինչպես ալֆա-սինուկլեինը, ուբիքուիտինը և Bax կարգավորվում են Պարկինսոնի հիվանդության ժամանակ նեյրոդեգեներացիան: Ցիկլիկ AMP պատասխանող էլեմենտը կապող պրոտեինը (CREB) կարևոր դեր է խաղում մի շարք բջջային գործընթացներում, այդ թվում՝ պրոլիֆերացիայի, տարբերակման և ադապտիվ պատասխաններում: CREB ֆոսֆորիլացման աճը Պարկինսոնի հիվանդության վերականգնման ժամանակ կապված է նեյրոնի վերապրման հետ (Walton M.R. et al 2000): Բջջային սթրեսի ուսումնասիրությունը կարևոր է և կարող է հանգեցնել նեյրոդեգեներատիվ խանգարումների: Ինչ-որ չափով

վիճելի է PET և SPECT ուսումնասիրություններում ստրիատումի դոփամիներգիկ հիպոֆունկցիայի չափումները, ըստ որոնց այդ նիգրոստրիատային ուղու խափանումը կարող է միջնորդել Պարկինսոնի հիվանդության ճանաչողական խանգարման զարգացմանը (Jokinen P. et al 2009), մինչդեռ այլ ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ստրիատումի դոփամինի կլանումը չի կարող տարբերակել Պարկինսոնի հիվանդության թուլամտությամբ հիվանդներին ոչ թուլամիտներից (Klein J.C. et al 2010): Հիստոախտաբանական ուսումնասիրությունները վկայում են, որ ՊՀ ժամանակ առաջացած թուլամտությունը կախված չէ նիգրոստրիատային համակարգում դոփամինի կորստի ծավալից (Gaspar P. et al 1984): Հետաքրքրական է նշել, որ A9 նեյրոնների ծանր կորուստը նույնն է ՊՀ բոլոր խմբերի համար՝ անկախ դեմենցիայի ախտորոշումից՝ բացառելով սև նյութի նեյրոնների կորուստը՝ որպես դեմենցիայի բերող հիմանական գործոն: Վենտրալ տեգմենտալ շրջանի A10 բջիջների խմբերը սովորաբար համարվում են ամբողջական և ենթադրվում է, որ նրանք հիմնականում գտնվում են սև նյութի միջին հատվածում: Այնուամենայնիվ, դոփամիներգիկ A10 բջջային խմբերը ավելի հետերոգեն են, մասնավորապես մարդկանց մոտ (McRitchie D.A. et al 1996), և վենտրալ տեգմենտալ շրջանի (VTA) դորսովենտրալ շրջանի նեյրոնների հետ ցուցաբերում են տարբեր էլեկտրաֆիզիոլոգիական հատկություններ իրենց լավ հայտնի միջին վենտրալ տեգմենտալ շրջանի անալոգների հետ (Di Salvio M. et al 2010): Վենտրալ տեգմենտալ շրջանի այս երկու հատվածների պրոյեկցիաները նույնպես զգալիորեն տարբերվում են (Ferreira J.G. et al 2008)՝ ներառելով խոլիներգիկ հիմնային առջևի ուղեղի դոփամիներգիկ նյարդավորումը: Լատերալ վենտրալ տեգմենտալ շրջանը նյարդավորում է Ch4 NBM, մինչդեռ մեդիալ վենտրալ տեգմենտալ շրջանը որոշակի խմբերում նյարդավորում է խոլիներգիկ նեյրոնները: Լատերալ A10 VTA նեյրոնները նույնպես պրոյեկցիաներ են ուղարկում accumbens կորիզ, հիպոկամպ, ամիգդալա, ինչպես նաև պրեֆրոնտալ կեղև (Gasbarri A. et al 1994): Միայն մեկ ուսումնասիրություն է մինչ այսօր գնահատել ՊՀ տառապողների վենտրալ տեգմենտալ շրջանի A10 տարբեր հատվածների դեգեներացիայի աստիճանը և Պարկինսոնի դեպքերի 7-ից 5–ում է դիտվել դեմենցիա (McRitchie D.A. et al 1997): Սև նյութի խոլիներգիկ դեֆիցիտներ են ի հայտ եկել ՊՀ դեմենցիայով տառապողներից շատերի

մոտ (Bohnen N.I. et al 2011): Քանի որ վենտրալ տեգմենտալ շրջանի լատերալ A10 դոփամինային նեյրոնների կորուստ է եղել, որոնք նյարդավորում են Ch4 նեյրոնները միայն ՊՀ դեմենցիայով տառապողների մոտ, հետևաբար A10 դոփամինային նեյրոնների կորուստը կարող է լինել ռետրոգրադ դեգեներատիվ գործընթաց: Ի հավելումն Ch4 խոլիներգիկ համակարգի՝ ուսումնասիրվել են ավելի անթերիոր տեղադրված Ch1 և Ch2 բջիջները, որոնք ապահովում են լիմբիկ համակարգի, ներառյալ հիպոկամպի խոլիներգիկ նյարդավորումը (Mesulam M.M. et al 1983): ՊՀ դեմենցիայի ժամանակ հայտնաբերված է, որ խոլիներգիկ բջիջների կորուստը ի հայտ է գալիս սահմանափակելու Ch4 նեյրոնների կեղևային պրոյեցիաները, մինչդեռ Ch1/2 նեյրոնները մնում են կառուցվածքով անփոփոխ: ՊՀ դեմենցիայով և առանց դեմենցիա խմբերի մոտ Ch1/2 բջիջների խմբերից խոլիներգիկ բջիջների ուսումնասիրությունը բացահայտել է տատանումներ, որոնք չկան ստուգիչ խմբում: Այնուամենայնիվ, խոլիներգիկ նեյրոնների զգալի կորուստ չի նկատվել երկու խմբերում էլ: Հիպոկամպի նվազող ChAT ակտիվությամբ Ch1/2 նեյրոնների ավելացող տատանումները կարող են տեղի ունենալ հիպոկամպի ChAT ակտիվության կրճատման ժամանակ և CA2 շրջանում ալֆա-սինուկլեինի մեծ քանակությամբ նստեցմամբ ՊՀ դեմենցիայով տառապողների մոտ (Mattila P.M. et al 2001) և զգալի ալֆա-սինուկլեինի պաթոլոգիան հիպոկամպի CA2 սեկտորում (Irwin D.J. et al 2012) նախկինում ՊՀ ժամանակ կապվել է իմացական դեֆիցիտների հետ: Երբ կեղևային խոլինացետիլտրանսֆերազա ֆերմենտի գործունեությունը կրճատվում է առանց Ch4 նեյրոնների դեգեներացիայի, բազալ առջևի հիմային ուղեղում ալֆա-սինուկլեինի պաթոլոգիան ավելի խիստ է լինում ՊՀ դեմենցիայի դեպքում՝ ի համեմատ առանց դեմենցիայի դեպքերի՝ հաստատելով նախորդ ուսումնասիրությունները, որ ՊՀ ժամանակ համադրում էին ալֆա-սինուկլեինի պաթոլոգիայի աստիճանները դեմեցիայի հետ (Braak H, et al 2005): Ընդհակառակը, հաղորդվել է դեմենցիայի ժամանակ Լյուի մարմինների հետ Ch1/2 համակարգում խոլիներգիկ նեյրոնների սպառման մասին, հավանաբար Լյուի մարմնի սինդրոմի և ՊՀ համեմատության ժամանակ ի հայտ եկող հիպոկամպի նեյրոնների ընտրողական կորստին հետևող սեփթումի նեյրոնների ռետրոգրադ դեգեներացիայի շնորհիվ (Harding A.J. et al 2002):

Հիպոկամպում դոփամինի դերը ավելի քիչ է ուսումնասիրվել, որովհետև ավելի վաղ տեսակետի համաձայն հիպոկամպը զգալի դոփամինային նյարդավորում չի ստացել (Loy R. et al 1980): Հնարավոր է, որ հիպոկամպը այդպիսի նյարդավորում է ստանում (Gasbarri A. et al (1997) և նրա ֆունկցիայի ընկալման մեջ առաջընթաց է գրանցվել: Մասնավորապես, աշխատանքները սինապսային պլաստիկության ոլորտում ապացուցել են, որ դոփամինը ազդում է երկարատև պոտենցիացիայի վրա, որը սինապսային պլաստիկության ձև է, և որը կոդավորում է երկարատև հիշողությունը: ԿՆՀ ֆիզիոլոգիայի ոլորտում զուգահեռ հայտնագործությունը փորձել է սահմանել այն պայմանները, որոնցում դոփամինային բջիջները ակտիվանում են: Ցույց է տրվել, որ այս բջիջների ակտիվացումը ավելանում է անկանխատեսելի ձևով (Schultz W. et al 2000): Վերջին աշխատանքը ցույց է տվել, որ նոր միջավայրից կախված ուղիների համար պատասխանատու դոփամիներգիկ գործունեությունը կարող է հետադարձ ուղով ուղղվել դեպի հիպոկամպ (Legault M. et al 2001): Կարծիք կա, որ մեկ հնարավոր ինֆորմացիոն ուղի, որն անցնում է հիպոկամպից դեպի վենտրալ տեգմենտալ շրջան, պրեֆրոնտալ կեղևն է, քանի որ կան դրդիչ կապեր հիպոկամպից դեպի պրեֆրոնտալ կեղև և պրեֆրոնտալ կեղևից դեպի վենտրալ տեգմենտալ շրջան: Այնուամենայնիվ, ուղին էական չէ հիպոկամպից կախյալ վենտրալ տեգմենտալ շրջանի ակտիվացման համար, քանի որ 'I'I'X կիրառումը պրեֆրոնտալ կեղևում չի արգելափակում սուբիկուլային խթանումը դոփամինային նեյրոնների գործունեության վրա: Ավելին, ցույց է տրվել, որ ազդանշանը ներառում է պոլիսինապսային ուղի accumbens և ventral pallidum-ի միջոցով: Սուբիկուլումի խթանմամբ առաջացած դոփամինային նեյրոնների ակտիվացումը կարող է արգելափակվել accumbens կորիզում գլյուտամատի անտագոնիստի ներմուծումից հետո: Քանի որ accumbens բջիջները սուբիկուլումից եկող դրդիչ մուտքերի գլխավոր թիրախներն են, այս արդյունքները վկայում են, որ accumbens-ը պահանջում է միջնորդել ինֆորմացիան հիպոկամպից դեպի վենտրալ տեգմենտալ շրջան (Floresco S.B. et al 2001): Հիպոկամպը ստանում է դոփամիներգիկ մուտք (Scatton B. et al 1980), որը գալիս է և՛ սև նյութից, և՛ վենտրալ տեգմենտալ շրջանից: Մուտքի բաշխումը անհավասար է, հատկապես ուժեղ է սուբիկուլումում, հիլուսում և CA1 շրջանի lacunosum-moleculare-ում (Gasbarri A. et al 1997):

Ֆերմենտային մեխանիզմները, որոնք կապված են դոփամիներգիկ փոխադրման հետ, առկա են հիպոկամպում՝ ներառյալ դոփամինի կլանման հատվածը, դոփամինի նյութափոխանակությունը իրականացնող ֆերմենտը՝ կատեխոլ-O-մեթիլտրանսֆերազան (Matsumoto M., et al 2003): Հիպոկամպի շերտերի (սլայսներ) փորձարկումները ցույց են տվել, որ CA1–ի երկարատև պոտենցիացիան (LTP) կախված է դոփամինից: Երբ ուժեղ, կրկնվող խթանում է օգտագործվում LTP առաջացնելու համար, LTP-ի ուշ փուլը ամբողջովին արգելակվում է D1 նոկաուտով: Ընդհակառակը, երկարատև պոտենցիացիան կարող է մեծանալ դոփամինային ընկալիչների ակտիվացմամբ: Վաղ երկարատև պոտենցիացիան կարող է մեծանալ D1 ակտիվացմամբ, բայց այս ազդեցությունը զգալի է միայն եթե էնդոգեն արտազատումը կրճատվում է էնդոգեն բջջախմբերի սպառման միջոցով (Otmakhova N.A. et al 1998): Այս ռեակցիաները վաղ երկարատև պոտենցիացիայի համար դոփամիներգիկ կարգավորման հիմքեր են ապահովում: Ուշ երկարատև պոտենցիացիայի յուրահատուկ կարևորության ընկալման մեջ ևս առաջընթաց է եղել: Հետաքրքրական է, որ և՛ ուշ երկարատև պոտենցիացիան, և՛ ուշ երկարատև դեպրեսիան կախված են դոփամինից և պահանջում են սպիտակուցի սինթեզ (Sajikumar S. et al 2004): Վերջին աշխատանքը, օգտագործելով սպիտակուցի սինթեզի օպտիկական հայտնաբերումը, թույլ է տալիս ուղիղ դիտարկել դոփամինով հարուցված արագ պրոտեինային սինթեզը և ցույց տալ, որ այն հայտնվում է որոշակի դենդրիտներում (Smith W.B. et al 2005): Ավելին, հիպոկամպում դոփամինի սպառումը խանգարում է տարածական կողմնորոշումը Մորիսի ջրային լաբիրինթում (Gasbarri A. et al 1996): D1 ընկալիչներ արտահայտող միայն մի քանի ներկված բջիջներ են հայտնաբերվել ստրիատումի օրբիտայում և հիպոկամպի CA1–CA3 դաշտերում (Ciliax B.J. et al 2000): Ի տարբերություն CA1 դաշտի՝ մի քանի հետազոտություններ ցույց են տվել երկարատև պոտենցիացիայի դոփամինային կարգավորումը ատամնավոր գալարումում (dentate gyrus). անգամ դոփամինային նյարդավորում կա փոքր քանակությամբ, բայց միանման չափով հիպոկամպի այս շրջանում: Yanagihashi և Ishikawa-ն հայտնաբերել են, որ ատամնավոր գալարում սպայկային պոպուլյացիայի երկարատև պոտենցիացիան D1 ագոնիստի (SKF 38393) ներկայությամբ անհետանում է

(Yanagihashi R. et al 1992): Ստրիատումի ակտիվության մեջ դոփամինի էական նշանակությունը նույնպես հանգեցրել է կորտիկոստրիատալ ուղղում LTP-ի դոփամինային կարգավորման հայտնագործությունների: Ստրիատումը ստանում է հսկայական գլյուտամատերգիկ մուտք կեղևից, և ստրիատումում պրոյեկցիոն նեյրոնները հանդիսանում են միջին սպայնի նեյրոնները: Այս նեյրոնները, որոնք օգտագործում են ԳԱԿԹ որպես նեյրոտրանսմիտեր նույնպես ստանում են հսկայական դոփամինային պրոյեկցիա սև նյութի պարս կոմպակտա հատվածի բջիջներից և դոփամինային թերմինալները տեղադրված են կորտիկոստրիատային մուտքերի մոտ (Smith A.D. et al 1990): CA1 շրջանում ցածր հաճախականության խթանմամբ առաջացած երկարատև դեպրեսիան CA1 շերտերում ի հայտ է գալիս D1 և D2 ընկալիչների կողմից կարգավորված լինելու համար, բայց հակառակ կողմերից: D1 ընկալիչների ակտիվացումը մեծացնում է երկարատև դեպրեսիան, մինչդեռ D2 ընկալիչների ակտիվացումը արգելափակում է ինդուկցիան: Հիպոկամպի CA1 շրջանում երկարատև դեպրեսիան կախված է NMDA-ից և ԳԱԿԹ A –ի (GABAA) ընկալիչներից: Մի քանի *in vitro* ուսումնասիրություններ ցույց են տվել, որ դոփամինային ընկալիչների ակտիվացումը երկարատև դեպրեսիայի կորտիկոստրիատային սինապսներում հայտնվելու համար մեծ պահանջարկ ունի (Centonze D. et al 2001a): Նաև նշվում է, որ միջին սպայնի նեյրոններում առաջացած երկարատև դեպրեսիան չի ենթարկվում դոփամինի կամ դոփամինային անտագոնիստների ազդեցությանը nucleus accumbens-ի սլայսներում: Դորսալ ստրիատումում երկարատև դեպրեսիան NMDA ընկալիչից կախված չէ, սակայն պահանջում է դոփամինային ընկալիչների ակտիվացում, մինչդեռ վենտրալ ստիրատումում երկարատև դեպրեսիան ներառում է NMDA ընկալիչների ակտիվացում, բայց չի ենթարկվում դոփամինի ազդեցությանը (Thomas M.J. et al 2000): Վերջերս մի քանի ուսումնասիրություններ են անցկացվել պարզելու համար արդյոք դոփամինը կարող է ազդել սինապսային պլաստիկության այլ ձևերի, դեպոտենցիացիայի և երկարատև դեպրեսիայի ռեվերսի վրա: Չնայած որ այս ուսումնասիրությունները անցկացվել են CA1 շրջանում և dentate gyrus-ում՝ օգտագործելով երկու տարբեր պատրաստուկներ (*in vitro* սլայսներ կամ ազատ շարժվող կենդանիներ), նմանատիպ արդյունքներ են ստացվել: D1/D5 ընկալիչների

ագոնիստները CA1-ում և dentate gyrus-ում արգելակել են դեպոտենցիացիան և այս ազդեցությունը կանխվել է D1/D5 անտագոնիստներով: Սա անակնկալ ձևով է ի հայտ գալիս, չնայած որ ատամնավոր գալարում դոփամինային ընկալիչները էականորեն ներգրավված չեն երկարատև պոտենցիացիայում և կարող են զգալի դեր խաղալ դեպոտենցիացիայի արտահայտվածության մեջ (Kulla A. et al 2000): Դոփամինի՝ սինապսային պլաստիկության գործունեության մեջ առաջացող դիրքային հակասությունները կարող են բացատրվել ամեն շրջանի համար դոփամինի պարունակության և դոփամինային ընկալիչների ենթատեսակների նկարագրությամբ և որպես հետևանք դոփամինային ընկալիչների ակտիվացման մակարդակների տարբերությունները տրված ժամանակում յուրահատուկ պատրաստուկում, երբ երկարատև պոտենցիացիա կամ երկարատև դեպրեսիա է առաջացել: Նյարդամիջնորդանյութերը և մասնավորապես դոփամինային ռեզիդենտը սինապսներում կարող են զգալիորեն բարելավել երկարատև պոտենցիացիայի և/կամ երկարատև դեպրեսիայի ինդուկցիան՝ յուրահատուկ փոփոխությունների միջոցով cAMP և Ca^{2+} սկզբնական մակարդակներում, որոնք հիպոկամպում, ստրիատումում և պրեֆրոնտալ կեղևում երկարատև պոտենցիացիաների առանցքային կարգավորիչներ են (Gurden H. et al 2000): Բացի գլյուտամատից նաև այլ միջնորդանյութեր կարող են ինտեգրված լինել այս պլաստիկ երևույթների ինդուկցիոն մեխանիզմներում: AMPA ընկալիչների ֆոսֆորիլացումը և դեֆոսֆորիլացումը բարելավվում են սինապսներում առկա մի շարք դոփամինային և D1 ընկալիչների միջոցով: Ի համեմատ այլ դոփամիներգիկ համակարգերի՝ հիշողության գործընթացում հիպոկամպի դոփամիներգիկ համակարգի ներգրավվածությունը այնքան էլ բացահայտված չէ: Մեզոհիպոկամպի դոփամիներգիկ նեյրոնների նեյրոթոքսիկ վնասվածքները հետևում են առնետների մոտ վենտրալ և դորսալ հիպոկամպի մեջ 6-OHDA երկողմանի ներարկմանը, որն էլ խաթարում է տարածական ինֆորմացիայի պահպանումը Մորիսի ջրային լաբիրինթում, բայց ոչ դասական արգելակիչ խուսափման թեսթի ժամանակ (Gasbarri A. et al 1996): Դոփամին արտադրող նեյրոնները ակտիվանում են սինխրոն ձևով և չունեն որևէ համակարգված փոփոխություն այն տեղում, որտեղ նրանք պրոյեկցվում են (Redgrave P. et al 1999): Հիպոկամպի դոփամիներգիկ

համակարգերի մեծ մասը տեղակայված է հիպոկամպի վենտրալ մասում (Gasbarri A. et al 1994): Բոլորովին վերջերս վենտրալ հիպոկամպում D2 ընկալիչներով միջնորդված խաթարված հիշողությունը նույնպես հայտնաբերվել է ավելի ամբողջական ուսուցողական առաջադրանքով (Umegaki H. et al 2001): Այս արդյունքները միասին ցույց են տալիս, որ հիպոկամպի դոփամիներգիկ համակարգերը փոխազդում են հիշողության հետ, բայց դոփամինի մնեմոնիկ դերը՝ բացահայտված հիպոկամպի վենտրալ մասում, դեռևս պետք է ուսումնասիրվի դորսալ հիպոկամպում: Փնտրելով մոդելներ ՊՀ հետ կապված հիշողության խանգարումների ուսումնասիրության համար՝ որոշ հետազոտություններում օգտագործվել են դոփամինային նեյրոթոքսին 1-մեթիլ-4-ֆենիլ-1,2,3,6-տետրահիդրոպիրիդին (MPTP), որը առաջացնում է դոփամինի և նրա մետաբոլիտների արտահայտված կորուստ դորսալ ստրիատումում և պրեֆրոնտալ կեղևում, բայց ոչ հիպոկամպում կամ վենտրալ ստրիատումում (nucleus accumbens): Չնայած որ տարբեր ուսումնասիրություններում որոշ անհամաձայնություններ կան, օրինակ՝ կապիկների մոտ MPTP ներարկումը հանգեցնում է առաջադրանքի կատարման ժամանակ պատասխանի ուշացման (Roeltgen D.P. et al 1994): Արդյունքների կարևորությունն այն է, որ Պարկինսոնի այս մոդելում կոգնիտիվ խանգարումների մեծ մասը ի հայտ է գալիս նախորդելով չափելի շարժողական խնդիրներին և զգալի բարելավում է նկատվում լևոդոպայով թերապիայից հետո (Fernandez-Ruiz J. et al 1999): Ավելին, անկարողությունները նույնպես առկա են ՊՀ առնետների մոդելներում (Da Cunha C. et al 2002): Այս կենդանիները (MPTP-ստացած առնետները) ցուցաբերում են սովորելու և հիշողության դեֆիցիտ և աշխատանքային հիշողության կորուստ (աշխատանքային հիշողությունը ջրային լաբիրինթ թեսթում), բայց երկարատև տարածական հիշողությունը պահպանված է (Miyoshi E. et al 2002):

3.8 Քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը ռոտենոնով հարուցված Պարկինսոնի հիվանդության առնետների մոդելում և նրանց վարքային ուսումնասիրությունը

Ռոտենոնի ներարկումը (ամեն օր, ն/ո) առաջացնում է զոլավոր մարմնի դոփամինի քանակի նվազում, սև նյութ-զոլավոր մարմին դոփամինային թերմինալների

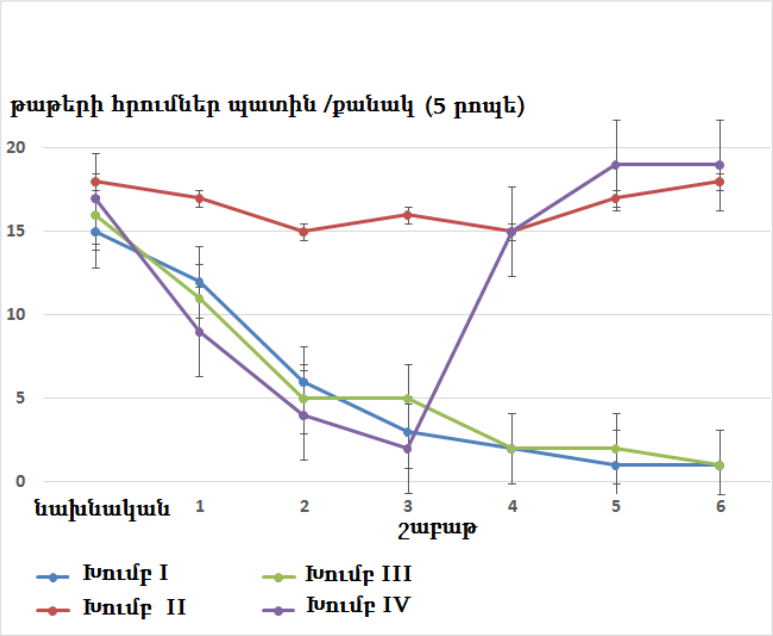
դեգեներացիա և սև նյութում թիրոզին հիդրոքսիլազա-դրական նեյրոնների կորուստ (Cannon J.R. et al 2009): Համեմատելով օսմոտիկ պոմպերի միջոցով ռոտենոնի ներերակային և ենթամաշկային ներարկումը ներորովայնային եղանակի հետ՝ ցույց է տրվել, որ ներորովայնային եղանակը սև նյութում առաջացնում է ալֆա-սինուկլեին սպիտակուցի կուտակում և ագրեգացիա (Betarbet R. et al 2006; Sherer T.B. et al 2003): Քուրքումինը ընդունակ է արգելակելու c-Jun N-թերմինալի կինազային ուղիները, ինչը ենթադրում է, որ նրա նյարդապաշտպան ազդեցությունները միայն նրա հակաօքսիդանտ հատկություններով չեն պայմանավորված: Վերջերս, հետազոտողների կողմից կատարված մեկ այլ հայտնագործություն 6-հիդրոքսիդոփամինային առնետների մոդելներում ցույց է տվել քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը (Khuwaja G. et al 2011): Ցույց է տրված նաև, որ քուրքումինոիդներով բուժումը մինչ ռոտենոնով դեգեներացիայի առաջացումը (150 մգ/կգ/օր, ուտելու եղանակով) 1 շաբաթ տևողությամբ, կանխում է 1-մեթիլ-4-ֆենիլ-1,2,3,6-տետրահիդրոպիրիդին-միջնորդավորված դոփամինի սպառումը և թիրոզին հիդրոքսիլազայի իմունոռեակտիվությունը և արգելակում է գլիային ֆիբրիլային թթվային սպիտակուցների արտահայտվածությունը: Գլանային թեսթը կիրառվում է առնետների ֆունկցիոնալ արդյունքների գնահատման համար Հանթինգթոնի հիվանդության (McBride J.L. et al 2004), ՊՀ-ն (Lundblad M. et al 2002) և կաթվածի զանազան մոդելներում (Karhunen H. et al 2003): Քանի որ գլանային թեսթը գնահատում է առջևի վերջույթների բնականոն օգտագործումը, այն ունի կարևոր առավելություն դոփամիներգիկ ասիմետրիայի պայմանական չափման համար: Տվյալ աշխատանքի նպատակն է հանդիսանում ռոտենոնով հարուցված վարքային խանգարումներով առնետների մոտ ցույց տալ քուրքումինի կանխարգելիչ և նյարդապաշտպան ազդեցությունը:

Գլանային թեսթ

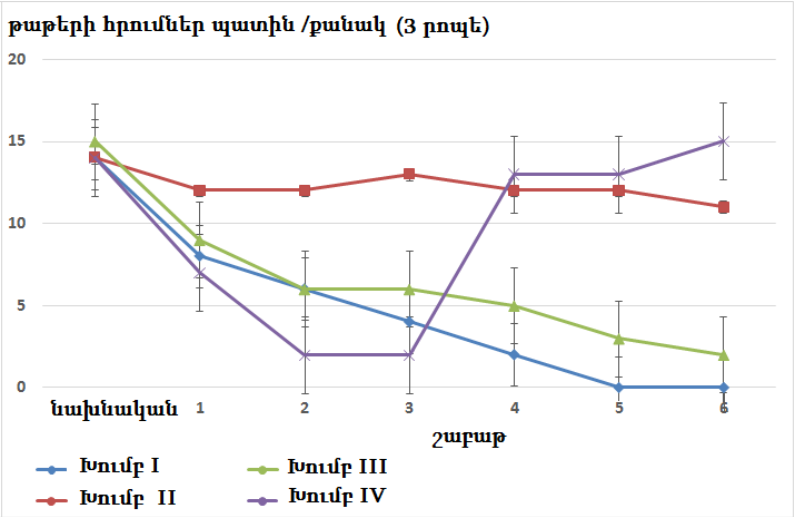
Արդյունքները և դրանց քննարկումը

Կիրառվել է առջևի թաթերի օգտագործման ասիմետրիայի թեսթը: Այս թեսթի առավելությունները նկարագրվել է Schallert T. et al կողմից (Schallert T. et al 1999):

Շարժողական համակարգի վերահսկման անկայունության փորձարկումները իրականացվել է նաև ՊՀ միակողմանի 6-հիդրոքսիդոփամինային առնետների մոդելներում (Woodlee M.T. et al 2008): Փորձարկվել են 4 խմբերում համապատասխան ներարկված կենդանիները: Տվյալ փորձարկման ժամանակ թաթերի շարժումների տվյալները միջինացվել են, քանի որ ռոտենոնը առաջացնում է երկկողմանի ախտանիշներ: Քանի որ ռոտենոնը երկկողմանի է վնասում շարժողական վարքը, ակտիվությունը չափվել է՝ հաշվելով յուրաքանչյուր կենդանու 3 և 5 րոպե երկու թաթերով դեպի վեր կանգնելու տևողությունը՝ առանց գրանցելու սպեցիֆիկ վերջույթների օգտագործումը: Ներկա աշխատանքում ռոտենոնի դեղաչափը (2.5 մգ/կգ/օր), 21 օր տևողությամբ առաջացրել է վարքային առանձնահատուկ փոփոխություններ (Նկ. 29, 30): Արևածաղկի յուղ (1մլ/կգ) ստացած առնետների մոտ պարկինսոնանման ախտանշաններ չեն գրանցվել: Յուրաքանչյուր ժամանակահատվածում ամեն մի առջևի թաթի համար 3 փորձարկում է գրանցվել և տրվել է դրանց միջինացված արժեքը:



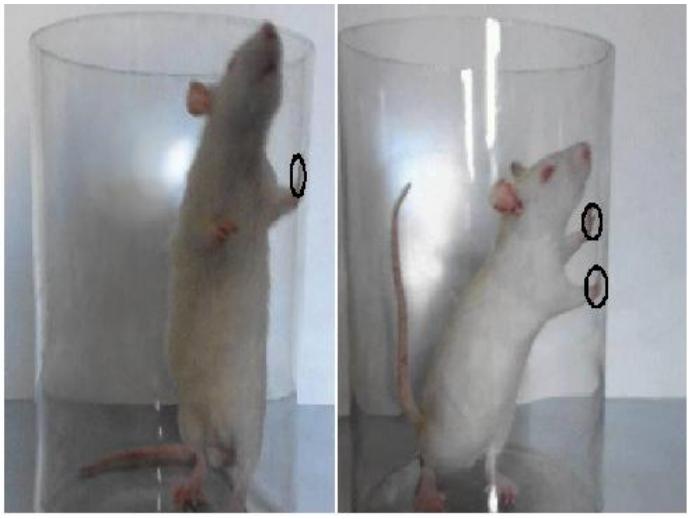
Նկար 29. *Գլանային թեստ (5 րոպե)*



Նկար 30. *Գլանային թեսթ (3 բոպե)*

Թաթերով դեպի վեր սպոնտան կանգնելու միավորները հաշվվել են արևածաղկի յուղ (1մլ/կգ), DMSO, քուրքումին և ռոտենոն (2.5 մգ/կգ/օր) ստացած կենդանիների համար, որոնք ստուգվել են մինչ ներարկումը և 1-6 շաբաթներում ներարկումից հետո (Նկ. 29, 30, 31): Յուրաքանչյուր կենդանի, որը փորձարկման ժամանակ ցույց է տվել հիվանդության վատ նշաններ, վաղաժամկետ էֆտանազիայի է ենթարկվել: Բոլոր կենդանիները ապրել են փորձարկման ողջ ընթացքում: Երբ քանակապես ներկայացվում է առջևի թաթերի դեֆիցիտը, օգտագործվում է առջևի թաթերի միավորը (0 միավորը նշանակում է, որ առջևի թաթերի ֆունկցիան բացակայում է, իսկ 20-ը նշանակում է, որ դեֆիցիտ չկա): Rոտենոն խմբի առնետները ցուցաբերել են փոքր-ինչ ավելի վատ ցուցանիշներ, քան ստուգիչ խմբի առնետները (Նկ. 29, 30), սակայն այս տարբերությունը վիճակագրորեն հավաստի է ($p<0.05$): Ստուգիչները համեմատվել են ռոտենոն ստացած (3 շաբաթ անց) առնետների հետ և հայտնաբերվել է շարժողական փոփոխություններ (Նկ. 29, 30): Կեցվածքի անկայունությունը ընկած է մի շարք վարքային դեֆիցիտների հիմքում, որոնք ՊՀ կենդանական մոդելներում դիտարկվել են որպես ընդհանուր: Կենդանիները առավելապես նախաձեռնում են շարժումը ոչ վնասված առջևի թաթով, մասնավորապես կողային շարժումներում մակերեսների ողղահայաց հետազոտման ժամանակ (Schallert T. et al 2000):

	Խումբ 1	Խումբ 4
Նախնական		
1 շաբաթ		
2 շաբաթ		
3 շաբաթ		
4 շաբաթ		
5 շաբաթ		
6 շաբաթ		



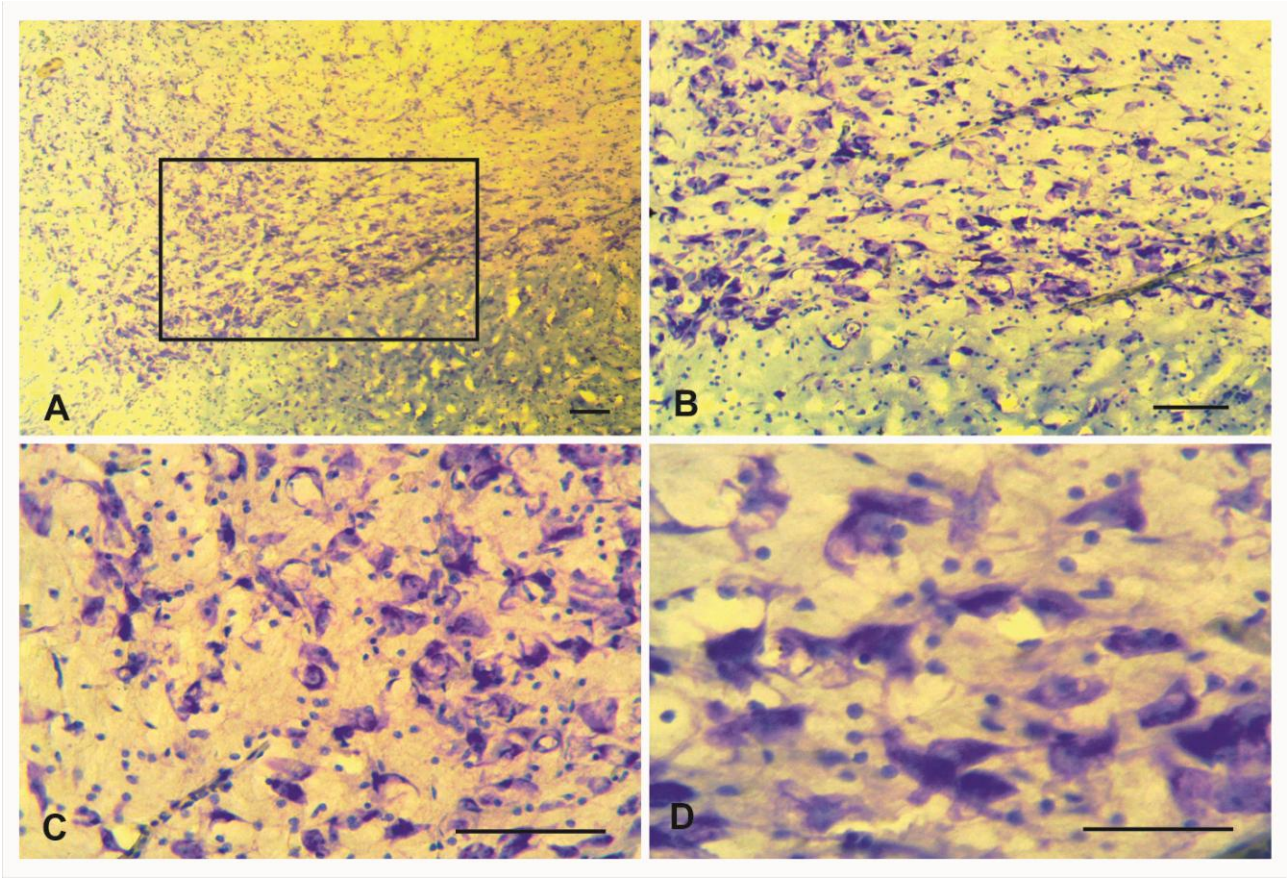
Նկար 31. *Գլանի պատին թաթերի հպման հաջորդականությունը և ժամանակը*

Նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների ժամանակ բացահայտվել է քուրքումինի հակաապոպտոզային հատկությունը և ցույց է տրվել, որ այն բարելավում է նյարդաախտաբանական փոփոխությունները (Pan R. et al 2008): Մեր կողմից հայտնաբերվել է, որ ռոտենոն ստացած առնետները ցուցաբերում են կանգնման կայուն նվազում 3 շաբաթների ընթացքում՝ համեմատած արևածաղկի յուղ ստացած կենդանիների հետ: Ռոտենոնի (2.5 մգ/կգ ն/ո) ներարկումը ամբողջ փորձարկման ընթացքում առաջացնում է կանգնման կայուն դեֆիցիտ (Նկ. 31): 5 րոպե տևողությամբ վարքային թեստի ժամանակ ռոտենոնի ներարկում (3-6 շաբաթ) ստացած առնետները դրսևորում են վարքային կտրուկ փոփոխություններ (Նկ. 29) քան II խմբի առնետները, և այս տարբերությունը վիճակագրորեն հավաստի է ($p=0.0001$, $p<0.05$): I և II խմբի առնետների վարքային ցուցանիշները համեմատվել են քուրքումին ստացած առնետների ցուցանիշների հետ (3 շաբաթ անց, խումբ 4) և նկատվել են զգալի փոփոխություններ ($p=0.0003$, $p<0.05$)(Նկ. 29): 3 րոպե շարժումների դիտարկումը ռոտենոն ստացած առնետների մոտ (3-6 շաբաթ) հանգեցնում է վարքային կտրուկ փոփոխությունների (Նկ. 30)՝ համեմատած II խմբի առնետների հետ, և այս տարբերությունը վիճակագրորեն հավաստի է ($p=0.0001$, $p<0.05$): I և III խմբի առնետների վարքային ցուցանիշները համեմատվել են քուրքումին ստացած

առնետների ցուցանիշների հետ (3 շաբաթ անց, խումբ 4) և նկատվել են զգալի դրական փոփոխություններ (p=0.0002, p=0.0007 p<0.05) (Նկ. 30): Քուրքումինով բուժումից հետո վերականգնվել են թաթերը վեր բարձրացնելու և կեցվածքային խանգարումները, որոնք նկատվել էին I և III խմբերում: Գլանային թեսթի ցուցանիշները IV խմբում (քուրքումին, 200 մգ/կգ) գրեթե լրիվ վերականգնվեցին ռոտենոնի ներարկումից հետո 4, 5, 6 շաբաթներում (Նկ. 31) և մոտ էին II խմբի և նորմա խմբի նախնական ցուցանիշներին (Նկ. 29, 30):

3.9 Քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցության պայմաններում սև նյութի կոմպակտա հատվածի և հիպոկամպի մորֆոլոգիական ուսումնասիրություն

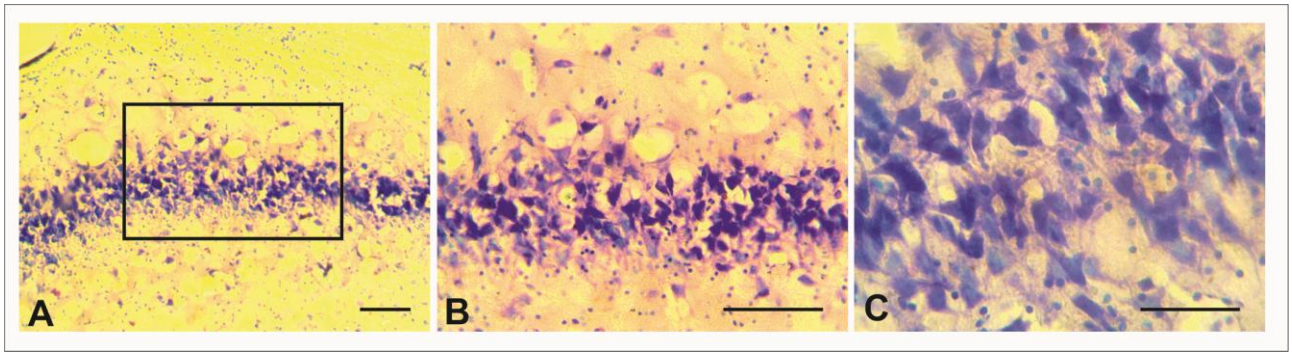
Ռոտենոն (6 շաբաթ) խմբի հիստոլոգիական պատրաստուկներում սև նյութի բջիջների պոպուլյացիաներում նկատվում է նեյրոնների խտության նվազում, լիցքաթափման և անկման հատվածներով, շարունակում է խորանալ պերիցելյուլար այտուցը: Պահպանված նեյրոնների հիմնական մասը խիստ հիպերքրոմային է, տիգրոիդ նյութը զբաղեցնում է բջիջների ամբողջ մակերեսը, դրանցում չեն տարբերակվում կորիզը և կորիզակը: Վերը նշված բջիջների հետ միասին հանդիպում են հիպերտրոֆիկ, կլորավուն կորիզով նեյրոններ՝ կենտրոնում տեղակայված կորիզակով: Լիցքաթափված նյարդային հյուսվածքի տեղամասերը հերթակայվում են նեյրոնային կուտակումներով, որոնք ձևավորվում են ոչ հստակ ուրվագծերով, տարբեր չափերով և ձևերով բջիջների մի քանի խմբերով: Սև նյութի նեյրոններին բնորոշ պիգմենտացիան հատկապես նրա կոմպակտա հատվածում ավելի թույլ է արտահայտված, քան նորմա խմբում (Նկ. 32):



Նկար 32. *A-D ՊՀ ռոտենոնային մոդել (6 շաբաթ), սև նյութի կոմպակտա հատվածի նեյրոններ: Բջիջների ուրվագծերի հստակության կորուստ, հիպերտրոֆիկ կորիզները ունեն ծայրամասային դիրք կամ զբաղեցնում են բջջի ողջ ծավալը (C, D): Նեյրոնները վնասված են, նկատվում է պերիցելյուլար այտուց:*
Մասշտաբ: A-C 100 մկմ, D-50 մկմ

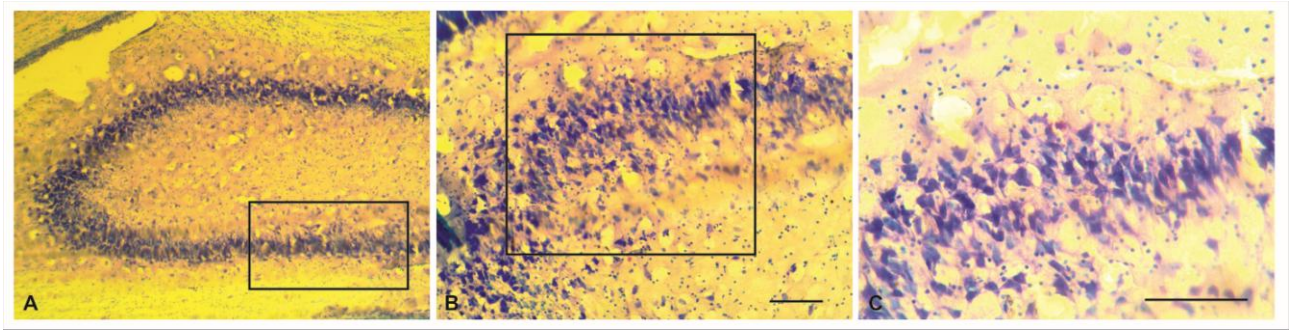
Ռոտենոն (6 շաբաթ) խմբում հիպոկամպի բջիջների պոպուլյացիաներում գերակշռում են բավարար և խիստ հիպերքրոմային բջիջները (Նկ. 33, A-C): Որոշ նեյրոններ անկյունաձև են, իսկ նրանց կորիզը և կորիզակը խիստ հիպերքրոմության պատճառով չեն տարբերակվում: Հիպերքրոմային և հիպոքրոմային նեյրոնների առկայությունը ընդունված է համարել ֆունկցիոնալ ակտիվության վերադասավորման կառուցվածքային հիմք: Համաձայն նեյրոնների տիպային ձևերի մորֆոլոգիական փոփոխության ժամանակակից տվյալների՝ թույլ ֆունկցիոնալ ակտիվության արդյունքում, ընդհանուր ախտաբանական պրոցեսների ընթացքում հիպերքրոմատոզը և նեյրոնների փոփոխությունը մգացմամբ վկայում է այս բջիջներում չօգտագործված սպիտակուցային ֆրակցիաների կուտակման, ռիբոնուկլեոպրոտեիդների պարունակության բարձրացման մասին: Ավելի քիչ վնասված, բաց գունավորմամբ

նեյրոնների առկայությունը վկայում է վերջիններիս ֆունկցիոնալ հյուծվածության մասին: Նեյրոնները և ելուստների սկզբնական սեգմենտները դեֆորմացված են և կոշտացած: Փորձարկման այս ժամկետում զարգանում է պերիցելյուլար այտուց: Վերջինս, որպես պատասխան ռեակցիա, հնարավոր է, որ քայքայման նյութերի կուտակման և սպառման հնարավորության բացակայման արդյունք է:



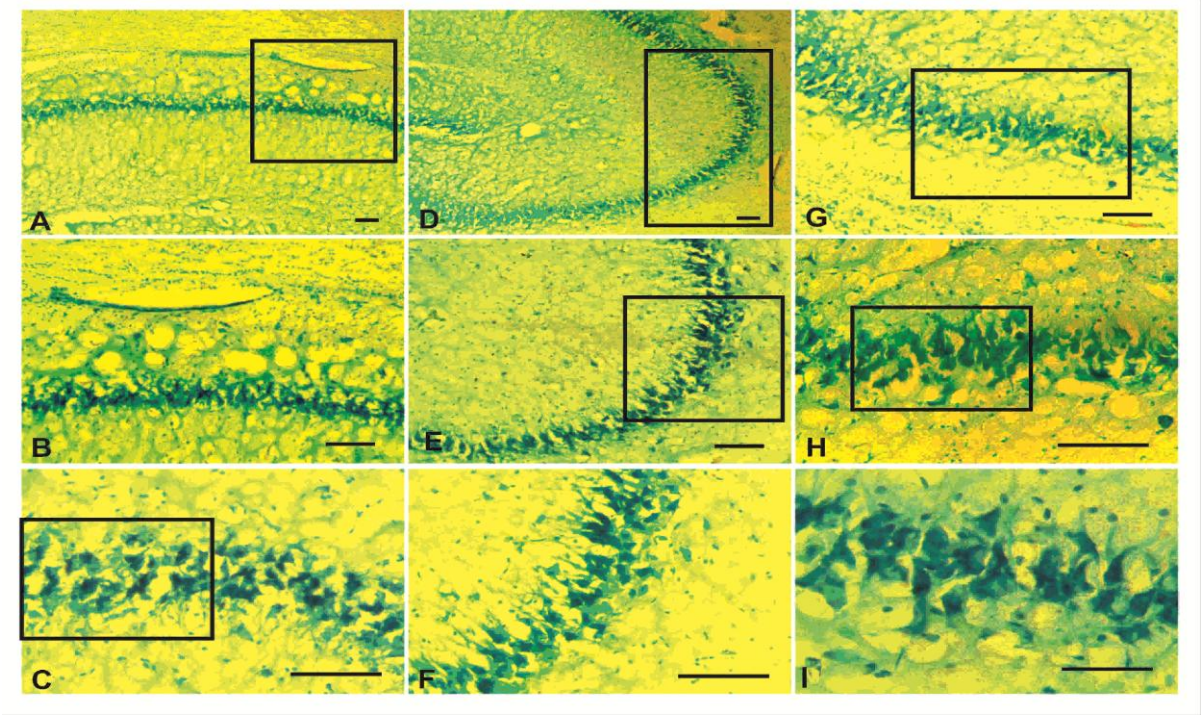
Նկար 33. *ՊՀ ռոտենոնային 6 շաբաթ, հիպոկամպի նեյրոններ*
Մասշտաբ: A, B 100 մկմ, C 50 մկմ

DMSO խմբի առնետների հիպոկամպի մորֆոլոգիական պատկերը բնութագրվում է ինչպես հիպերքրոմ, այնպես էլ հիպոքրոմ ներկված բջիջների առկայությամբ (Նկ. 34 A, B): Ելուստները ձգվում են ոչ մեծ հեռավորության վրա, բջջի ուրվագծերը հստակ են, որոշ նեյրոններում նկատվում է ավելի բաց գունավորված կորիզը (Նկ. 34 B, C): Ընդհանուր առմամբ, նյարդային հյուսվածքի ֆունկցիոնալ ակտիվությունը տարբեր աստիճանի է՝ դատելով հիպերքրոմային նեյրոնների առկայությունից, որոնցում կուտակվում են բջիջ ներկրվող սպիտակուցային ֆրակցիաները և թույլ ֆունկցիոնալ ակտիվության պատճառով չեն հասցնում օգտագործվել և հակառակը, ավելի արագ են օգտագործվում և չեն մնում հիպերքրոմ նեյրոններում: Ենթադրում են, որ հիպոքրոմատոզի և հիպերքրոմատոզի բավարար արտահայտումը, ինչպես նաև բջիջների ուրվագծերի հստակությունը դարձելի փոփոխություններ են:



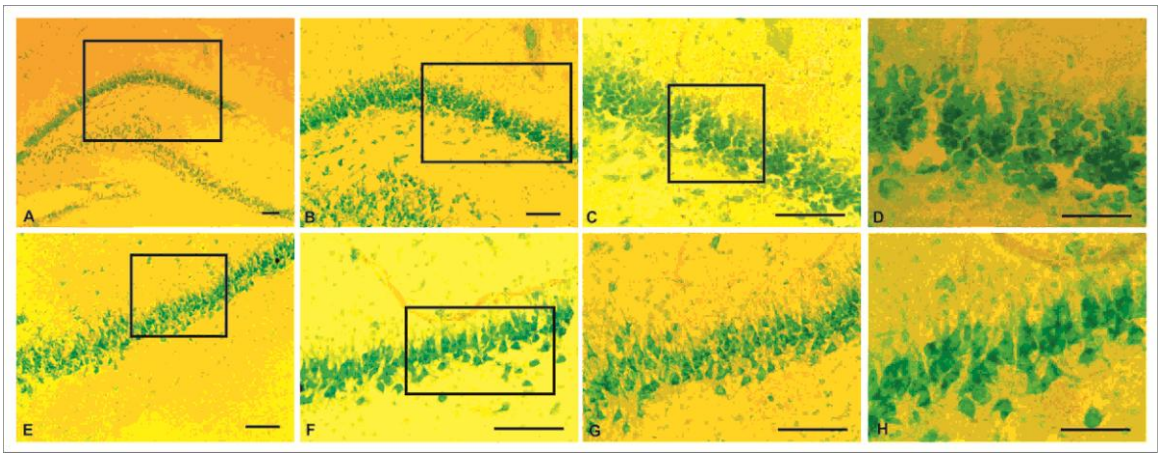
Նկար 34. *DMSO ներարկված կենդանիների հիպոկամպի նեյրոնների միկրոլուսանկարներ*
Մասշտաբ: A-C-100 մկմ

Ռոտենոնով հրահրված ինթոքսիկացիայի և քուրքումինի ազդեցության ֆոնի վրա հիպոկամպի նեյրոնները ունեն կայունության տարբեր աստիճաններ (Նկ. 35 A, B): Բրգաձև բջիջները ներկված են հիպերքրոմ, քրոմատինը նրանցում անհավասարաչափ է բաշխված և հաճախ ունի ծայրամասային դիրք (Նկ. 35 D-F): Այնուամենայնիվ, որոշ նեյրոններում երևում է բաց գունավորված կորիզը՝ տեղակայված կենտրոնում կամ ծայրամասային դիրքում (Նկ. 35 C, H): Ելուստները ճիշտ են ուղղված, բջիջների ուրվագծերը հստակ են (Նկ. 35 E): Այսպիսի նեյրոնները ընդունակ են վերապրելու, քանի որ ախտաբանական փոփոխությունները կրում են դարձելի բնույթ (Նկ. 35 F, I): Որոշ բջիջներ դասավորված են զույգերով կամ խմբերով, որը վնասակար ազդեցության պայմաններում բնորոշ է հիպոկամպի բջիջներին (Նկ. 35 G, H): Պետք է նշել, որ նորմայում հիպոկամպի նեյրոնները տարբերվում են ուղեղի մյուս կառույցներից քրոմատոֆիլությամբ և գունավորման ինտենսիվությամբ և ոչ միշտ է այն կախված ախտաբանական փոփոխություններից:



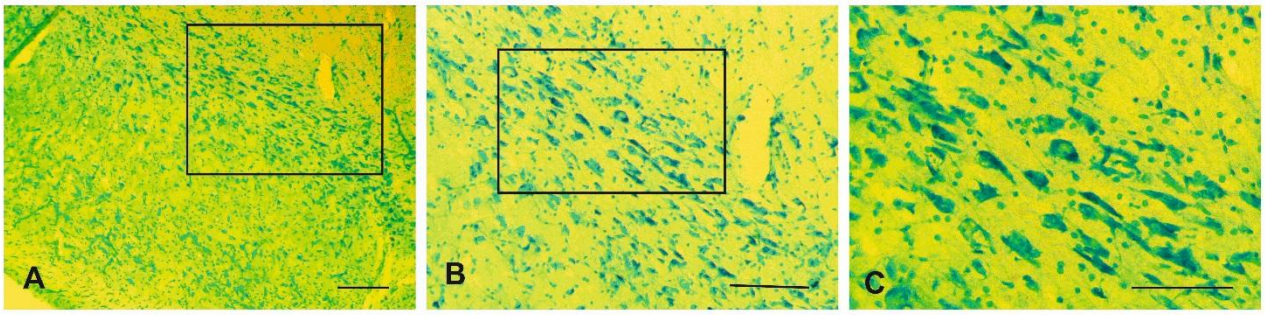
Նկար 35. *A-I ՊՀ ռոտենոնային մոդելի քուրքումին սպացած կենդանիների հիպոկամպի նեյրոնների միկրոլուսանկարներ, D-F-հիպոկամպի բրգաձև բջիջներ*
Մասշտաբ: A-H- 100 մկմ, I-50 մկմ

Մորֆոլոգիական պատկերն ամբողջությամբ համապատասխանում է նորմային: Հիպոկամպի բրգաձև բջիջները և ատամնավոր գալարի հատիկավոր բջիջները համապատասխանում են վերը նշված նորմայի մորֆոլոգիական բնութագրին (Նկ. 36):



Նկար 36. *Արևածաղկի յուղ ստացած կենդանիների խմբի հիպոկամպի և ատամնավոր գալարի նեյրոնների միկրոլուսանկարներ, ատամնավոր գալարի հատիկավոր նեյրոններ՝ A, B, C, D, H, հիպոկամպի CA3 դաշտի բրգաձև նեյրոններ՝ E, F, G*
Մասշտաբ: A, B, C , E, F, G-100 մկմ, D, H-50 մկմ

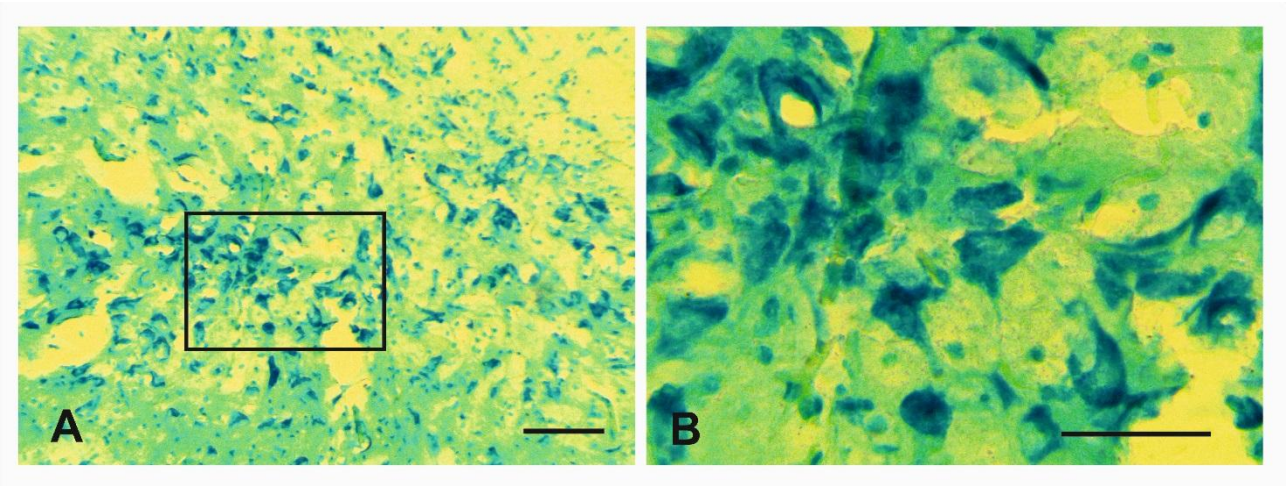
Արևածաղկի յուղ խմբում սև նյութի մորֆոլոգիական պատկերը նման է նորմային (Նկ. 37 A): Սև նյութին բնորոշ են չափավոր հիպերքրոմային միջին մեծության, անկյունաձև կամ երկարավուն նեյրոններ (Նկ. 37 B, C): Նյարդային հյուսվածքը գրգռված չէ և նեյրոններում կառուցվածքային ախտաբանական խանգարումներով պայմանավորված փոփոխություններ չեն նկատվել (Նկ. 37 C):



Նկար 37. *Արևածաղկի յուղ ստացած կենդանիների խմբի սև նյութի կոմպակտա հատվածի նեյրոնների միկրոլուսանկարներ*
Մասշտաբ: A, B, C -100 մկմ

DMSO խմբում սև նյութի հիմնական ռեակտիվ նեյրոնների պատասխաններն ի հայտ են եկել ցիտոպլազմայի միջին հիպերքրոմատության ձևով սև նյութի ինչպես ռետիկուլյար, այնպես էլ կոմպակտա հատվածներում (Նկ. 38 A): Ցիտոպլազմայի հիպերքրոմատությունը ցույց է տալիս նրանում չօգտագործված սպիտակուցների ֆրակցիաների, մասնավորապես ռիբոնուկլեոպրոտեիդների կուտակումներ: Ռեակտիվ փոփոխություններն առավել արտահայտված են սև նյութի կոմպակտա հատվածում: Նկատվել են կտրուկ այտուցված նեյրոններ՝ հիպերտրոֆիայի ենթարկված կորիզով, որը զբաղեցնում է բջջի ողջ ծավալը կամ գտնվում է ծայրամասում: Այս փոփոխությունները կարող են դիտվել որպես պաշտպանողական-փոխհատուցող ռեակցիաներ նեյրոնների թաղանթի վրա DMSO-ի ունեցած հնարավոր վնասակար ազդեցության դեմ: Այս խմբի նեյրոններին բնորոշ է մի քանի հարակից

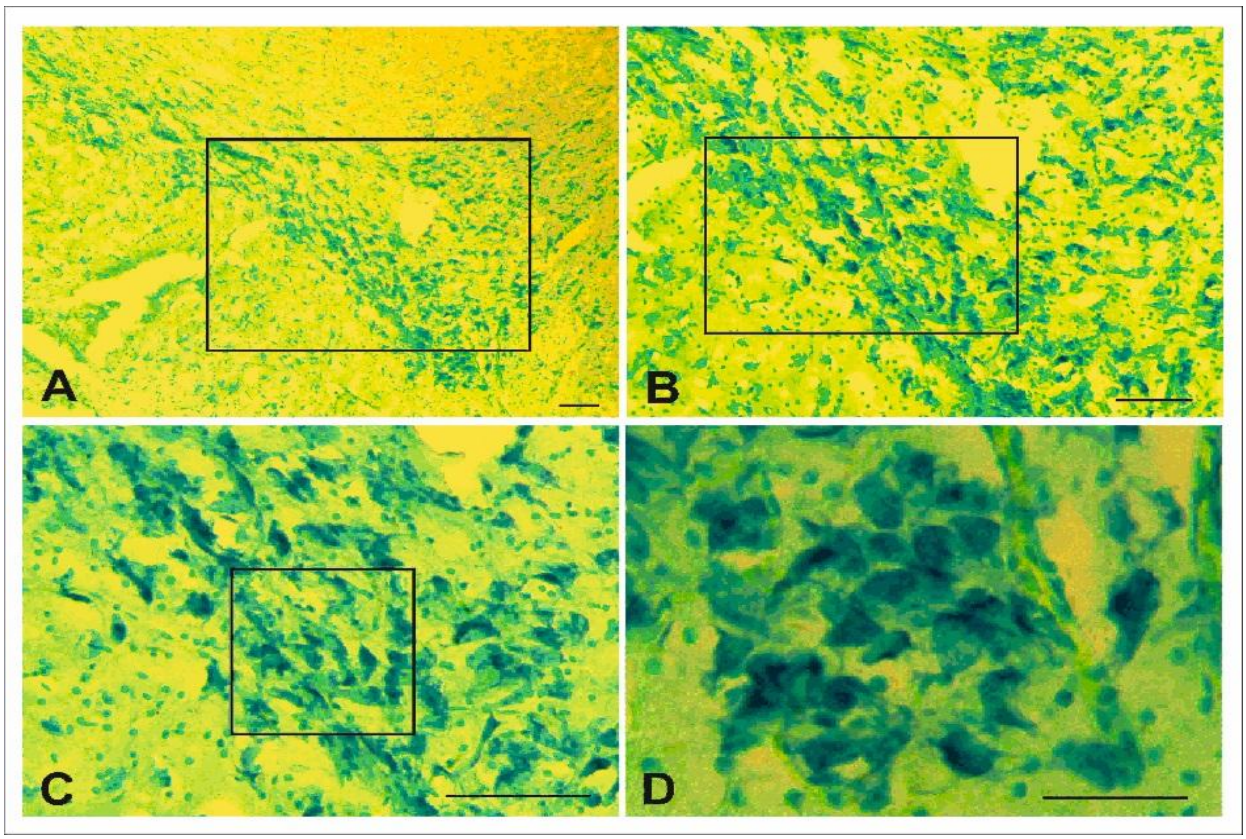
նեյրոններից խմբերի ձևավորումը: Այդպիսի տարածքները ընդմիջվում են նոսր և ախտահարված նեյրոնների հատվածներով և լեցուն են գլիայի տարրերով: Նեյրոնների խտության անհավասարաչափ բաշխումը առավել նկատելի է սև նյութի կոմպակտա հատվածում: Խիստ վնասված նեյրոնների հետ միասին՝ մասնատված բջջամարմիններով և փոփոխված ձևերով, հայտնաբերվել են ամբողջությամբ նորմալ, սև նյութին բնորոշ միջին մեծության նեյրոններ՝ անկյունաձև կամ երկարավուն ձևերով, ելուստների սկզբնական դիրքերով և լավ պահպանված կորիզով ու կորիզակով (Նկ. 38 B):



Նկար 38. *DMSO խմբի սև նյութի նեյրոնների միկրոլուսանկարներ: A-B՝ վնասված և մասնատված նեյրոնները ընդմիջվում են լավ պահպանված կորիզով և կորիզակով նեյրոններով (B), որը հանդիսանում է այդ նեյրոնների հետագա վերապրման երաշխիք*
Մասշտաբ: A-100 մկմ, B–50 մկմ

Քուրքումինով բուժված խմբում միջին ուղեղի սև նյութի ֆրոնտալ կտրվածքներում հստակ երևում է պիգմենտացված նեյրոնների կուտակումները սև նյութի կոմպակտա շրջանում (Նկ. 39 A): Փորձարարական այս խմբի նեյրոնները տաարբերվում են գունավորման ինտենսիվությամբ՝ ի համեմատ այլ խմբերի: Հարկ է նշել, որ պիգմենտացված բջիջների կուտակումները դիտվում են ոչ միայն սև նյութում, այլև նրա հարակից շրջաններում՝ օրինակ՝ վենտրալ տեգմենտալ շրջանի parabrachial pigmental կորիզում (Նկ. 39 A, B): Հավանաբար, քուրքումինի ազդեցությունն ուղղված է նյութափոխանակության և կենսաքիմիական գործընթացների կարգավորմանը և շտկմանը, որոնք հանգեցնում են նեյրոնների ակտիվ ֆունկցիոնալ գոյատևման

(ռոտենոնի ազդեցությունից հետո)՝ նպաստելով սև նյութի բջիջների անհրաժեշտ պիգմենտի ձևավորմանը (Նկ. 39 C, D): DMSO-ն իր հերթին նպաստում է քուրքումինի և պիգմենտների սինթեզի համար անհրաժեշտ այլ ակտիվ տարրերի տեղափոխմանը թաղանթի անցուղիների բացման միջոցով, մասնավորապես, աքսոնային վերջավորության թերմինալներում՝ աքսոնային փոխադրող համակարգով նեյրոնի սոմային հասցնելու համար:



Նկար 39. *Քուրքումին խմբի սև նյութի պիգմենտացված բջիջների և վենտրալ տեգմենտալ շրջանի parabrachial pigmental կորիզի միկրոլուսանկարներ տարբեր մեծացումներով՝ A–D: D-ում ներկայացված է նեյրոնների խմբավորում, որը տեղակայված է parabrachial pigmental կորիզի ամենավենտրալ հատվածում:* **Մասշտաբ: A-C 100 մկմ, D-50 մկմ**

Այսպիսով բացահայտվել են քուրքումինի նյարդապաշպան արդյունավետության մորֆոհիստոքիմիական առանձնահատկությունները: Քուրքումինով բուժված խմբում գրեթե վերականգնվում է նեյրոնների մորֆոլոգիական պատկերը և նեյրոնների տեղաբաշխման խտությունը: Վերականգնվող նեյրոններին

բնորոշ է կառուցվածքային հատկությունների դրական փոփոխություններ և ակտիվության բարձրացում, ինչպես նաև անոթավորման ուժեղացում, ռեակտիվ գլիալ էլեմենտներ և սերտ կապիլյար-բջջային փոխհարաբերակցություն:

Եզրակացություններ

1. Ռոտենոն խմբում (3 շաբաթ) էնտորինալ կեղևի և սև նյութի բարձր հաճախականության խթանման պայմաններում հիպոկամպի նեյրոններում բացահայտվել են անոմալ սինապսային ակտիվության էլեկտրաֆիզիոլոգիական ցուցանիշներ. առկա են նորմայում չգրանցված PTP և ոչ ռեակտիվ պատասխաններ, ինչպես նաև առավել արտահայտված տետանիկ դեպրեսիա՝ գերակշռող մասնաբաժին կազմող TD PTP պատասխաններով:
2. էնտորինալ կեղև-հիպոկամպ-սև նյութ նեյրոնային շղթայում քուրքումինը կարգավորիչ ազդեցություն է ցուցաբերում նեյրոնների էլեկտրական ակտիվության վրա: Քուրքումինով բուժված (3 շաբաթ) խմբում հիպոկամպի և սև նյութի բարձր հաճախականության խթանման պայմաններում հիպոկամպի նեյրոններում բացահայտվել են նորմային բնորոշ սպայկային ակտիվության պարամետրեր ու ոչ ռեակտիվ միավորների բացակայություն, ինչպես նաև դրդիչ և արգելակիչ պատասխանների մասնաբաժին՝ բացառությամբ TD պատասխանների, որոնք զգալիորեն բարձր են՝ համեմատած նորմայի և ստուգիչ խմբերի հետ:
3. Քուրքումինի միանվագ թերապևտիկ դեղաչափը ինտակտ առնետների հիպոկամպի նեյրոններում առաջացնում է կայուն և վերարտադրվող արգելակող, կարգավորիչ ազդեցություն:
4. Բացահայտվել է, որ ռոտենոնի ներորովայնային ներարկումը (3 շաբաթ) ամբողջ փորձարկման ընթացքում առաջացնում է վարքային խանգարումներ, որոնք վերականգնվել են քուրքումինի կարգավորիչ և պաշտպանիչ ազդեցություն շնորհիվ:
5. Ռոտենոն խմբում մորֆոհիստոքիմիական հետազոտությունների արդյունքում (3 շաբաթ) սև նյութի նեյրոններում բացահայտվել են ախտաբանական փոփոխություններ, ինչպես նաև գլիայի բջիջների պրոլիֆերացիա սև նյութի կոմպակտա շրջանում՝ ի պատասխան ռոտենոնային ինտոքսիկացիայի: Ռոտենոն խմբում (3 շաբաթ) հիպոկամպի նեյրոնների բրգաձև և ոչ բրգաձև պոպուլյացիաները և ատամնավոր գալարը համապատասխանում են

բնականոնին, իսկ 6 շաբաթ անց նկատվում է նեյրոնների ախտաբանական փոփոխություններ և հիպերքրոմատոզ:

6. Բացահայտվել է քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցության մորֆոհիստոքիմիական ցուցանիշներ սև նյութի և հիպոկամպի նեյրոններում՝ պայմանավորված վերջիններիս վերապրման գործընթացով:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ

1. Agrawal S.S., Gullaiya S., Dubey V., Singh V., Kumar A., Nagar A. and Tiwari P. (2012) Neurodegenera- tive Shielding by Curcumin and Its Derivatives on Brain Lesions Induced by 6-OHDA Model of Parkinson's Disease in Albino Wistar Rats. Car- diovasc Psychiatry Neurol. 942981.
2. Akram M. Shahab-uddin, Ahmad A., Khan U., Hanna A. et al. (2010) Curcuma longa and curcumin: a review article. Rom J Biol – Plant Biol. 55:65–70.
3. Alam M., Schmidt W.J. (2002) Rotenone destroys dopaminergic neurons and induces parkinsonian symptoms in rats. Behav Brain Res. 136:317–324.
4. Albin R.L., Young A.B., Penney J.B. (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. Trends Neurosci. 12:366-375.
5. Aldridge J.E., Levin E.D., Seidler F.J., Slotkin T.A. (2005) Developmental exposure of rats to chlorpyrifos leads to behavioral alterations in adulthood, involving serotonergic mechanisms and resembling animal models of depression. Environmental Health Perspectives, 113(5):527-531.
6. Anderegg A., Poulin J.-F. and Awatramani R. (2015) Molecular heterogeneity of midbrain dopaminergic neurons – Moving toward single cell resolution. FEBS Lett. 589:3714 – 3726.
7. Arimura, N., and Kaibuchi, K. (2007) Neuronal polarity: From extracellular signals to intracellular mechanisms. Nat. Rev. Neurosci. 8: 194–205.
8. Ballanyi K. (2004) Protective role of neuronal KATP channels in brain hypoxia. Journal of Experimental Biology, 207:3201-3212.
9. Bao L, Avshalumov MV, Rice ME (2005) Partial mitochondrial inhibition causes striatal dopamine release suppression and medium spiny neuron depolarization via H2O2 elevation, not ATP depletion. Journal of Neuroscience 25:10029-10040.
10. Barone P. (2010) Neurotransmission in Parkinson's disease: beyond dopamine." European Journal of Neurology, 17:364-376.
11. Bayer HM, Glimcher PW (2005) Midbrain dopamine neurons encode a quantitative reward prediction error signal. Neuron, 47:129–141.

12. Bayet R.M., Kwiatkowski, F., Leheurteur, M., Gachon, F., Planchat, E., Abrial, C., Mouret-Reynier, M.A., Durando, X., Barthomeuf, C., Chollet, P. (2010) Phase I dose escalation trial of docetaxel plus curcumin in patients with advanced and metastatic breast cancer. Cancer. Biol. Ther. 9:8-14.
13. Beal M.F. (2001) Experimental models of Parkinson's disease. Nature Reviews, 2:325-332.
14. Berretta N., Freestone P.S., Guatteo E., Castro Dd., Geracitano R., Bernardi G., Mercuri N.B., Lipski J. (2005) Acute Effects of 6-Hydroxydopamine on Dopaminergic Neurons of the Rat Substantia Nigra Pars Compacta In Vitro. NeuroToxicology, 26:869-881.
15. Betarbet R., Canet-Aviles R.M., Sherer T.B., Mastroberardino P.G., McLendon C., Kim J.H., Lund S., Na H.M., Taylor G., Bence N.F., Kopito R., Seo B.B., Yagi T., Yagi A., Klinefelter G., Cookson M.R., Greenamyre J.T. (2006) Intersecting pathways to neurodegeneration in Parkinson's disease: effects of the pesticide rotenone on DJ-1, alpha-synuclein, and the ubiquitin-proteasome system. Neurobiol Dis. 22:404–420.
16. Biscaro B., Lindvall O., Tesco G., Ekdahl C.T., Nitsch R.M. (2012) Inhibition of microglial activation protects hippocampal neurogenesis and improves cognitive deficits in a transgenic mouse model for Alzheimer's disease. Neurodegener Dis. 9:187-198.
17. Blesa J., Juri C., Collantes M., Peñuelas I., Prieto E., Iglesias E., et al. (2010) Progression of dopaminergic depletion in a model of MPTP-induced Parkinsonism in non-human primates. An (18)F-DOPA and (11)C-DTBZ PET study. Neurobiol. Dis. 38:456–463.
18. Bohnen N.I., Albin R.L. (2011) The cholinergic system and Parkinson disease, Behav Brain Res. 221:564-573.
19. Bollimpelli V.S., Kumar P., Kumari S., Kondapi A.K. (2016) Neuroprotective effect of curcumin-loaded lactoferrin nano particles against rotenone induced neurotoxicity. Neurochem Int. 95:37-45.
20. Braak H., Rub U., Jansen Steur E.N., Del Tredici K., de Vos R.A. (2005) Cognitive status correlates with neuropathologic stage in Parkinson disease, Neurology, 64:1404-1410.

21. Braak H., et al. (2003) Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. Neurobiology of Aging, 24:197-211.
22. Brooks A.I., Chadwick C.A. (1999) Paraquat elicited neurobehavioral syndrome caused by dopaminergic neuron loss. Brain Research, 823:1–10.
23. Calabresi P., Castrioto A., Di Filippo M., Picconi B. (2013) New experimental and clinical links between the hippocampus and the dopaminergic system in Parkinson's disease. Lancet Neurol. 8:811-821.
24. Camicioli R., Moore M.M., Kinney A., Corbridge E., Glassberg K., KayeJ A. (2003) Parkinson's disease is associated with hippocampal atrophy. Mov Disord. 18(7):784-790.
25. Cannon J.R., Tapias V., Na H.M., Honick A.S., Drolet R.E., Greenamyre J.T. (2009) A highly reproducible rotenone model of Parkinson's disease. Neurobiol Dis. 34:279–290.
26. Centonze D., Picconi B., Gubellini P., Bernardi G., Calabresi P. (2001a) Dopaminergic control of synaptic plasticity in the dorsal striatum. Eur. J. Neurosci. 13:1071–1077.
27. Chaudhuri K.R. et al. (2009) Non-motor symptoms of Parkinson's disease: dopaminergic pathophysiology and treatment. Lancet Neurology, 8:464- 474.
28. Chauhan N.B.; Siegel G.J.; Lee J.M. (2001) Depletion of Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor in SubstantiaNigra Neurons of Parkinson's Disease Brain. J. Chem. Neuroanat. 21:277–288.
29. Chaves R.S., Melo T.Q., Martins S.A., Ferrari M.F. (2010) Protein aggregation containing β-amyloid, α-synuclein and hyperphosphorylated τ in cultured cells of hippocampus, substantia nigra and locus coeruleus after rotenone exposure. BMC Neurosci 11:144.
30. Chen J., Tang X.Q., Zhi J.L., Cui Y., Yu H.M., Tang E.H., Sun S.N., Feng J.Q., Chen P.X. (2006) Curcumin protects PC12 cells against 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced apoptosis by bcl-2-mitochondria-ROS-iNOS pathway. Apoptosis. 11:943-953.
31. Chen R.W., Qin Z.H., Ren M., Kanai H., Chalecka-Franaszek E., Leeds P., Chuang D.M. (2003) Regulation of c-Jun N-terminal kinase, p38 kinase and AP-1 DNA binding in cultured brain neurons: roles in glutamate excitotoxicity and lithium neuroprotection. J Neurochem. 84(3):566-575.

32. Chiu S., Terpstra K.J., Bureau Y., Hou J., Raheb H., Cernvosky Z., Badmeav V., Copen J., Husni M.Woodbury-Farina M. (2013) Liposomal-formulat- ed curcumin [Lipocurc] targeting HDAC (his- tone deacetylase) prevents apoptosis and im- proves motor deficits in Park 7 (DJ-1)-knockout rat model of Parkinson's disease: implications for epigenetics-based nanotechnology-driven drug platform. J Complement Integr Med Nov.7; 10. doi: 10.1515/jcim-2013-0020.
33. Chung S., Yao H., Caito S., Hwang J.W., Arunachalam G., Rahman I. (2010) Regulation of SIRT1 in cellular functions: Role of polyphenols. Arch Biochem Biophys. 501:79-90.
34. Ciliax B.J., Nash N., Heilman C., Sunahara R., Hartney A., Tiberi M., Rye D.B., Caron M.G., Niznik H.B., Levey A.I. (2000) Dopamine D(5) receptor immunolocalization in rat and monkey brain. Synapse, 37:125–145.
35. Claudia M. Testaa, Todd B. Sherer. (2005) Rotenone induces oxidative stress and dopaminergic neuron damage in organotypic substantia nigra cultures -Molecular Brain Research, 134:109–118.
36. Clodfelter G.V., Porter N.M., Landfield P.W., Thibault O. (2002) Sustained Ca2+-induced Ca2+-release underlies the post-glutamate lethal Ca2+ plateau in older cultured hippocampal neurons. Eur J Pharmacol. 447(2-3):189-200.
37. Costa C., Belcastro V., Tozzi A., et al. (2008) Electrophysiology and pharmacology of striatal neuronal dysfunction induced by mitochondrial complex I inhibition. J Neurosci. 28:8040–8052.
38. Crompton M. (2004) Mitochondria and aging: a role for the permeability transition? Aging Cell 3:3-6.); (Wang X-J, Xu J-X (2005) Possible involvement of Ca2+ signaling in rotenone-induced apoptosis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. Neuroscience Letters, 376:127-132.
39. Da Cunha C., Angelucci M.E., Canteras N.S., Wonnacott S., Takahashi R.N. (2002) The lesion of the rat substantia nigra pars compacta dopaminergic neurons as a model for Parkinson's disease memory disabilities. Cell Mol. Neurobiol. 22:227–237.
40. Danbolt N.C. (2000) In: Sodium- and potassium-dependent amino acid transporters in brain plasma membrane. Bjorklund A, Hokfelt T, editors. 231–254.

41. Danbolt N.C. (2001) Glutamate uptake (review) Progress Neurobiol. 65:1-105.
42. Dauer W. et al. (2003) Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. Neuron 39:889-909.
43. Dawson V.L., Dawson T.M. (1996) Nitric Oxide Neurotoxicity. J. Chem. Neuroanat. 10:179-190.
44. Den Hartog Jager W.A. et al. (1960) The Distribution of Lewy Bodies in the Central and Autonomic Nervous Systems in Idiopathic Paralysis Agitans." J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 23:283-290.
45. Di Pierro F., Settembre R. (2013) Safety and efficacy of an add-on therapy with curcumin phytosome and piperine and/or lipoic acid in subjects with a diagnosis of peripheral neuropathy treated with dexibuprofen. J. Pain Res. 6:497–503.
46. Di Salvio M., Di Giovannantonio L.G., Omodei D., Acampora D., Simeone A. (2010) Otx2 expression is restricted to dopaminergic neurons of the ventral tegmental area in the adult brain, Int J Dev Biol. 54:939-945.
47. Diaz-Corrales F. J., Asanuma M., Mizayaki I., Miyoshi K., Ogawa N. (2005) Rotenone induces aggregation of gamma-tubulin protein and subsequent disorganization of the centrosome: Relevance to formation of inclusion bodies and neurodegeneration. Neuroscience, 133:117–135.
48. Dingledine R., Borges K., Bowie D., Traynelis S.F. (1999) [The glutamate receptor ion channels]. Pharmacol Rev. 51:7-61.
49. Dong S., Zeng Q., Mitchell E.S., Xiu J., Duan Y., Li Ch., Tiwari J.K., Hu Y., Cao X., Zhao Z. (2012) Curcumin enhances neurogenesis and cognition in aged rats: Implications for transcriptional interactions relat-ed to growth and synaptic plasticity. PLos ONE, 7: e31211.
50. Du X.X., Xu H.M., Jiang H., Song N., Wang J., Xie J.X. (2012) Curcumin protects nigral dopaminergic neurons by iron-chelation in the 6-hydroxydo- pamine rat model of Parkinson's disease. Neu- rosci Bull. 28:253-258.
51. Eisenhofer G., Kopin I. J., Goldstein D. S. (2004) Leaky catecholamine stores: Undue waste or a stress response coping mechanism? Ann. N. Y. Acad. Sci. 1018:224–230.

52. Eisfeld J., Luckhoff A. (2007) Trpm2. Handbook of Experimental Pharmacology, 237-252.
53. Eslamboli A., Georgievska B., Ridley R.M., Baker H.F., Muzyczka N., Burger C., Mandel R.J., Annett L., Kirik D. (2005) Continuous Low-Level Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Delivery Using Recombinant Adeno-Associated Viral Vectors Provides Neuroprotection and Induces Behavioral Recovery in a Primate Model of Parkinson's Disease. J. Neurosci. 25:769–777.
54. Estabeyoglu T., Huebbe P., Ernst I.M.A., Chin D., Wagner A.E., Rim- bach G. (2012) Curcumin-From molecule to biological function. Angew Rev Int Ed. 51:5308-5332.
55. Fernandez-Ruiz J., Doudet D., Aigner T.G. (1999) Spatial memory improvement by levodopa in parkinsonian MPTP-treated monkeys. Psychopharmacology (Berl.), 147:104-107.
56. Ferreira J.G., Del-Fava F., Hasue R.H., Shammah-Lagnado S.J. (2008) Organization of ventral tegmental area projections to the ventral tegmental area-nigral complex in the rat, Neuroscience, 153:196-213.
57. First M., Gil-Ad I., Taler M., Tarasenko I., Novak N., Weizman A. (2011) The effects of fluoxetine treatment in a chronic mild stress rat model on depression-related behavior, brain neurotrophins and ERK expression. J Mol Neurosci. 45(2):246-255.
58. Floresco S.B., Todd C.L., Grace A.A. (2001) Glutamatergic afferents from the hippocampus to the nucleus accumbens regulate activity of ventral tegmental area dopamine neurons. J. Neurosci. 21:4915-4922.
59. Frautschy S.A., Hu W., Kim P., Miller S.A., Chu T., Harris-White M.E., Cole G.M. (2001) Phenolic anti-inflammatory antioxidant reversal of Abeta-induced cognitive deficits and neuropathology. Neurobiol Aging, 22:993-1005.
60. Freund T.F. (1996) Interneurons of the hippocampus. Hippocampus, 6(4):347-470.
61. Frey U., Schroeder H., Matthies H. (1990) Dopaminergic antagonists prevent long-term maintenance of posttetanic LTP in the CA1 region of rat hippocampal slices. Brain Res. 522:69–75.

62. Gadad B.S., Subramanya P.K., Pullabhatla S., Shantharam I.S., Rao K.S. (2012) Curcumin-gluco- side, a novel synthetic derivative of curcumin, inhibits alpha-synuclein oligomer formation: relevance to Parkinson's disease. Curr Pharm Des. 18:76-84.
63. Galoyan A. A., Naser Khalaji, Lilia E. Hambardzumyan, Larisa P. Manukyan, Irina B. Meliksetyan, Vergine A. Chavushyan, Vaghinak H. Sarkisian and John S. Sarkissian. (2010) Protective Effects of Hypothalamic Proline-Rich Peptide and Cobra Venom Naja Naja Oxiana on Dinamics of Vestibular Compensation Folloing Unilateral Labynthectomy. Neurochemical Research, 35(11):1747-1760.
64. Gao H.M., Hong J.S., Zhang W., Liu B. (2003) Synergistic dopaminergic neurotoxicity of the pesticide rotenone and inflammogen lipopolysaccharide: relevance to the etiology of Parkinson's disease. Journal of Neuroscience, 23:1228-1236.
65. Gasbarri A., Packard M.G., Campana E., Pacitti C. (1994) Anterograde and retrograde tracing of projections from the ventral tegmental area to the hippocampal formation in the rat. Brain Res. Bull. 33:445–452.
66. Gasbarri A., Sulli A., Innocenzi R., Pacitti C., Brioni J.D. (1996) Spatial memory impairment induced by lesion of the mesohippocampal dopaminergic system in the rat. Neuroscience, 74:1037-1044.
67. Gasbarri A., Sulli A., Packard M.G. (1997) The dopaminergic mesencephalic projections to the hippocampal formation in the rat. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry, 21:1-22.
68. Gaspar P., Gray F. (1984) Dementia in idiopathic Parkinson's disease. A neuropathological study of 32 cases, Acta Neuropathol. 64:43-52.
69. Ga-Young Choi, Hyun-Bum Kim, Eun-Sang Hwang, Seok Lee, Min-Ji Kim, Ji-Young Choi, Sung-Ok Lee, Sang-Seong Kim, Ji-Ho Park. (2017) Curcumin Alters Neural Plasticity and Viability of Intact Hippocampal Circuits and Attenuates Behavioral Despair and COX-2 Expression in Chronically Stressed Rats. Mediators of Inflammation, 1:1-9.
70. Gerfen C.R. et al. (2011) Modulation of striatal protection systems by dopamine." Annual Review of Neuroscience, 34:441-466.

71. Goetz C.G. (2011) The History of Parkinson's Disease: Early Clinical Descriptions and Neurological Therapies." Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 1:1-15.
72. Goswami P., Gupta S., Joshi N., Sharma S., Singh S. (2015) Astrocyte activation and neurotoxicity: A study in different rat brain regions and in rat C6 astroglial cells. Environ Toxicol Pharmacol. 40(1):122-139.
73. Grace A.A. (1991) Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: A hypothesis for the etiology of schizophrenia. Neuroscience, 41:1-24.
74. Greenamyre J.T. et al. (2010) Lessons from the rotenone model of Parkinson's disease. Trends Pharmacol Sci, 31(4):141-142.
75. Guatteo E., Marinelli S., Geracitano R., Tozzi A., Federici M., Bernardi G., Mercuri N.B. (2005) Dopamine-containing Neurons are Silenced by Energy Deprivation: A Defensive Response or Beginning of Cell Death? NeuroToxicology, 26:857-868.
76. Gubellini P., Eusebio A., Oueslati A., Melon C., Kerkerian-Le Goff L., Salin P. (2006) Chronic high frequency stimulation of the sub-thalamic nucleus and L-DOPA treatment in experimental parkinsonism; effects of motor behaviour and striatal glutamate transmission. Eur J Neuro Sci. 24:1802–1814.
77. Gulacsi A., Lee C.R., Sik A., Viitanen T., Kaila K., Tepper J.M., Freund T.F. (2003) Cell type-specific differences in chloride-regulatory mechanisms and GABAA receptor-mediated inhibition in rat substantia nigra. J Neurosci. 23:8237-8246.
78. Gurden H., Takita M., Jay T.M. (2000) Essential role of D1 but not D2 receptors in the NMDA receptor-dependent long-term potentiation at hippocampal-prefrontal cortex synapses in vivo. J. Neurosci. 20, RC106.
79. Hajnóczky G., Csordás G., Krishnamurthy R., Szalai G. (1989) Mitochondrial calcium signaling driven by the IP3 receptor. J Bioenerg Biomembr. 32(1):15-25.
80. Hall H., Reyes S., Landeck N., Bye C., Leanza G., Double K., Thompson L., Halliday G., Kirik D. (2014) Hippocampal Lewy pathology and cholinergic dysfunction are associated with dementia in Parkinson's disease. Brain, 137(Pt 9):2493-2508.

81. Halliwell B. (2006) Oxidative stress and neurodegeneration where are we now. J. Neurochem. 97:1634–1658.

82. Harding A.J., Lakay B., Halliday G.M. (2002) Selective hippocampal neuron loss in dementia with Lewy bodies, Ann Neurol. 51:125-128.

83. He L.F., Chen H.J., Qian L.H., Chen G.Y., Buzby J.S. (2010) Curcumin protects pre-oligodendrocytes from activated microglia in vitro and in vivo. Brain Res. 1339:60–69.

84. Hirsch E.C., Hunot S., Damier P., Brugg B., Faucheux B.A., Michel P.P., Ruberg M., Muriel M.P., Mouatt-Prigent A., Agid Y. (1999) Glial Cell Participation in the Degeneration of Dopaminergic Neurons in Parkinson's Disease. Adv. Neurol. 80:9-18.

85. Hu X., Huang F., Szymusiak M., Liu Y., Wang Z.J. (2015) Curcumin attenuates opioid tolerance and dependence by inhibiting Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase II α activity. J Pharmacol Exp Ther. 352:420-428.

86. Huang L., Li W., Li B., Zou F. (2006) Activation of ATP-sensitive K channels protects 146 hippocampal CA1 neurons from hypoxia by suppressing p53 expression. Neuroscience Letters , 398:34-38.

87. Huang W., Zhu P.J., Zhang S., Zhou H., Stoica L., Galiano M., Krnjevic K., Roman G., Costa-Mattioli M. (2013) mTORC2 controls actin polymerization required for consolidation of long-term memory. Nat Neurosci. 16:441-448.

88. Imam S.Z., Trickler W., Kimura S., Binienda Z.K., Paule M.G., Slikker W., Jr. Li., S. Clark R.A., Ali S.F. (2013) Neuroprotective Efficacy of a New Brain-Penetrating c-Abl Inhibitor in a Murine Parkinson's Disease Model. PLoS ONE, 8, e65129.

89. Imam S.Z., Zhou Q., Yamamoto A., Valente A.J., Ali S.F., Bains M., Roberts J.L., Kahle P.J., Clark R.A., Li S. (2011) Novel Regulation of Parkin Function through c-Abl-Mediated Tyrosine Phosphorylation: Implications for Parkinson's Disease. J. Neurosci. 31:157-163.

90. Irvine G.B., El-Agnaf O. M., Shankar G. M., Walsh D. M. (2008) Protein aggregation in the brain: the molecular basis for Alzheimer's and Parkinson's diseases. Molecular Medicine, 14(7-8):451-464.

91. Irwin D.J., White M.T., Toledo J.B., Xie S.X., Robinson J.L., Van Deerlin V. et al. (2012) Neuropathologic substrates of Parkinson disease dementia, Ann Neurol. 72:587-598.

92. Jackson-Lewis V., Blesa J. and Przedborski S. (2012) Animal models of Parkinson's disease. Parkinsonism Relat Disord. 18(1):S183-5.

93. Jaisin Y., Thampithak A., Meesarapee B., Ratana-chamnong P., Suksamrarn A., Phivthong-Ngam L., Phumala-Morales N., Chongthammakun S., Govitrapong P. Sanvarinda Y. (2011) Curcumin I protects the dopaminergic cell line SH-SY5Y from 6-hydroxydopamine-induced neurotoxici- ty through attenuation of p53-mediated apoptosis. Neurosci Lett. 489:192-196.

94. Jankovic J. (2008) Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 79:368-376.

95. Jennings D., Eberly S., Oakes D., Seibyl J., Marek K., Shoulson I. (2014) Parkinson Study Group PRECEPT Investigators.. Impact of disclosure of individual imaging results in a multi-center Parkinson clinical trial. J Parkinsons Dis. 4(4):629-638.

96. Ji H.F., Shen L. (2014) The multiple pharmaceutical potential of curcumin in Parkinson's disease. CNS Neurol Disord Drug Targets, 13:369-373.

97. Jiang T.F., Zhang Y.J., Zhou H.Y., Wang H.M., Tian L.P., Liu J., Ding J.Q. Chen S.D. (2013) Curcumin ameliorates the neurodegenerative pathology in A53T alpha-synuclein cell model of Parkinson's disease through the downregulation of mTOR/p70S6K signaling and the recovery of macroautophagy. J Neuroimmune Pharmacol. 8:356-369.

98. Jokinen P., Bruck A., Aalto S., Forsback S., Parkkola R., Rinne J.O. (2009) Impaired cognitive performance in Parkinson's disease is related to caudate dopaminergic hypofunction and hippocampal atrophy, Parkinsonism Relat Disord. 15:88-93.

99. Kairiss E.W., Abraham W.C., Bilkey D.K., Goddard G.V. (1987) Field potential evidence for long-term potentiation of feed-forward inhibition in the rat dentate gyrus. Brain Res. 401:87–94.

100. Karhunen H., Virtanen T., Schallert T., Sivenius J., Jolkkonen J. (2003) Forelimb use after focal cerebral ischemia in rats treated with an alpha 2-adrenoceptor antagonist. Pharmacol Biochem Behav. 74(3):663-669.

101. Karmakar S., Saha A., Das A., Banik N.L., Ray S.K. (2005) Curcumin activated mutiple molecular mechanisms for apoptosis in human glioblastoma T98G cells. J. Neurochem. 94:28-28.

102. Katsuki H., Shibata H., Takenaka C., Kume T., Kaneko S., Akaike A. (2003) N- Methyl-D-aspartate receptors contribute to the maintenance of dopaminergic neurons in rat midbrain slice cultures. Neuroscience Letters, 341(2):123-126.

103. Keating D.J. (2008) Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, regulation of exocytosis and their relevance to neurodegenerative diseases. J Neurochem. 104:298–305.

104. Khatri D.K., Juvekar A.R. (2016) Neuroprotective effect of curcumin as evinced by abrogation of rotenone-induced motor deficits, oxidative and mitochondrial dysfunctions in mouse model of Parkinson's disease. Pharmacol Biochem Behav. 150-151:39-47.

105. Khuwaja G., Khan M.M., Ishrat T., Ahmad A., Raza S.S., Ashafaq M., Javed H., Khan M.B., Khan A., Vaibhav K., Safhi M.M., Islam F. (2011) Neuroprotective effects of curcumin on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats: behavioral, neurochemical and immunohistochemical studies.Brain Res. 1368:254-263.

106. Kim do Y., Vallejo J., Rho J.M. (2010) Ketones prevent synaptic dysfunction induced by mitochondrial respiratory complex inhibitors. J Neurochem. 114:130-141.

107. Kim H.T., Qiang W., Liu N., Scofield V.L., Wong P.K. Stoica G. (2005) Up-regulation of astrocyte cyclooxygenase-2, CCAAT/enhancer-binding protein-homology protein, glucose-related protein 78, eukaryotic initiation factor 2 alpha, and c-Jun N-terminal kinase by a neurovirulent murine retrovirus. J Neurovirol. 11:166-179.

108. Kim J.I., Ganesan S., Luo S. X., Wu Y.W., Park E., Huang E. J., Chen L. Ding J. B. (2015) Aldehyde dehydrogenase 1a1 mediates a GABA synthesis pathway in midbrain dopaminergic neurons. Science, 350:102-106.

109. Kim S.J., Son T.G., Park H.R., et al. (2008) Curcumin Stimulates Proliferation of Embryonic Neural Progenitor Cells and Neurogenesis in the Adult Hippocampus. The Journal of Biological Chemistry. 283(21):14497-14505.

110. Kitai S.T., Shepard P.D., Callaway J.C., Scroggs R. (1999) Afferent modulation of dopamine neuron firing patterns. Curr Opin Neurobiol. 9:690-697.

111. Klein J.C., Eggers C., Kalbe E., Weisenbach S., Hohmann C., Vollmar S., et al. (2010) Neurotransmitter changes in dementia with Lewy bodies and Parkinson disease dementia in vivo, Neurology, 74:885-892.

112. Kloet E.R. De et al. (1998) Brain corticosteroid receptor balance in health and disease]. Endocr Rev. 19(3):269-301.

113. Knopfel T., Guatteo E., Bernardi G., Mercuri N.B. (1998) Hyperpolarization induces a rise in intracellular sodium concentration in dopamine cells of the substantia nigra pars compacta. European Journal of Neuroscience, 10:1926-1929.

114. Ko H.S., Lee, Y., Shin J.H., Karuppagounder S.S., GADad B.S., Koleske A.J., Pletnikova O., Troncoso J.C., Dawson V.L., Dawson T.M. (2010) Phosphorylation by the c-Abl Protein Tyrosine Kinase Inhibits Parkin's Ubiquitination and Protective Function. Proc. Natl. Acad. Sci. 107:16691–16696.

115. Kordower J.H., Emborg M.E., Bloch J., Ma S.Y., Chu Y., Leventhal L., Mcbride J., Chen E.Y., Palfi S., Roitberg B.Z. et al. (2000) Neurodegeneration Prevented by Lentiviral Vector Delivery of Gdnf in Primate Modelsof Parkinson's Disease. Science, 290:767-773.

116. Kulkarni S.K., Bhutani M.K., Bishnoi M. (2008) Antidepressant activity of curcumin: Involvement of serotonin and dopamine system. Psychopharmacology (Berl), 201:435-442.

117. Kulla A., Manahan-Vaughan D. (2000) Depotentiation in the dentate gyrus of freely moving rats is modulated by D1/D5 dopamine receptors. Cereb. Cortex, 10:614–620.

118. Kumar V. (2006) Potential medicinal plants for CNS disorders: an overview. Phytother Res. 20:1023-1035.

119. Kurien B.T., Scofield R.H. (2009) Increasing the solubility of the nutraceutical curcumin by heat and inhibition of oxidative modification. Mol Nutr Food Res, 53:308.

120. Lacey M.G., Mercuri N.B., North R.A. (1989) Two cell types in rat substantia nigra zona compacta distinguished by membrane properties and the actions of dopamine and opioids. Journal of Neuroscience, 9:1233-1241.

121. Lang A.E. (2011) A critical appraisal of the pre-motor symptoms of Parkinson's disease: potential usefulness in early diagnosis and design of neuroprotective trials. Movement Disorders, 26:(5):775-783.

122. Lang A.E., Gill S., Patel N.K., Lozano A., Nutt J.G., Penn R., Brooks D.J., Hotton G., Moro E., Heywood P. et al. (2006) Randomized Controlled Trial of Intraputamenal Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Infusion in Parkinson Disease. Ann. Neurol. 59:459–466.

123. Langston J.W. (2006) The Parkinson's complex: parkinsonism is just the tip of the iceberg. Ann Neurol. 59:591–596.

124. Legault M., Wise R.A. (2001) Novelty-evoked elevations of nucleus accumbens dopamine: dependence on impulse flow from the ventral subiculum and glutamatergic neurotransmission in the ventral tegmental area. Eur. J. Neurosci. 13:819-828.

125. Lichtenwalner R.J., Parent J.M. (2006) Adult neurogenesis and the isch- emic forebrain. JCBFM, 26:1-20.

126. Lin Y.L., Meng Y., Jiang W., Roux B. (2013) Explaining Why Gleevec Is a Specific and Potent Inhibitor of Abl Kinase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 110:1664-1669.

127. Liss B., Roeper J. (2001) ATP-sensitive potassium channels in dopaminergic neurons: transducers of mitochondrial dysfunction. News in Physiology Science, 16:214-217.

128. Liu F.T., Yang Y.J., Wu J.J., Li S., Tang Y.L., Zhao J., Liu Z.Y., Xiao B.G., Zuo J., Liu W., Wang J. (2016) Fasudil, a Rho kinase inhibitor, promotes the autophagic degradation of A53T α-synuclein by activating the JNK 1/Bcl-2/beclin 1 pathway. Brain Res. 1632:9-18.

129. Liu Z., Li T., Yang D. and Smith W. (2013) Curcumin protects against rotenone-induced neurotoxicity in cell and drosophila models of Parkinson's disease. Advances in Parkinson's Disease, 2:18-27.

130. Liu Z., Yu Y., Li X., Ross C.A., Smith W.W. (2011) Curcumin protects against A53T alpha-synuclein-induced toxicity in a PC12 inducible cell model for Parkinsonism. Pharmacol Res. 63(5):439-444.

131. Loy R., Koziell D.A., Lindsey J.D., and Moore R.Y. (1980) N0rad- renergic innervation of the adult rat hippocampal formation. J. Comp. Neurol. 189:699-710.

132. Lundblad M., Andersson M., Winkler C., Kirik D., Wierup N., Cenci M. A. (2002) Pharmacological validation of behavioural measures of akinesia and dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. The European Journal of Neuroscience, 15:120-132.

133. Malenka R.C., Nicoll R.A. (1986) Dopamine decreases the calcium-activated afterhyperpolarization in hippocampal CA1 pyramidal cells. Brain Res. 379:210-215.

134. Masliah E., Rockenstein E., Adame A., Alford M., Crews L., Hashimoto M., Seubert P., Lee M., Goldstein J., Chilcote T. et al. (2005) Effects of Alpha-Synuclein Immunization in a Mouse Model of Parkinson's Disease. Neuron, 46:857-868.

135. Matsumoto M., Weickert C.S., Akil M., Lipska B.K., Hyde M., Herman M.M., Kleinman J.E., Weinberger D.R. (2003) Catechol O-methyltransferase mRNA expression in human and rat brain: evidence for a role in cortical neuronal function. Neuroscience 116:127-137.

136. Matteucci A., Cammarota R., Paradisi S., Varano M, Balduzzi M., Leo L., Bellenchi G.C., De Nuccio C., Carnovale-Scalzo G., Scorcia G., Frank C., Mallozzi C., Di Stasi A.M., Visentin S., Malchiodi-Albedi F. (2011) Curcumin protects against NMDA-induced toxicity: a possible role for NR2A subunit. Invest Ophthalmol Vis Sci. 52(2):1070-1077.

137. Matteucci A., Frank C., Domenici M.R. (2005) Curcumin treatment protects rat retinal neurons against excitotoxicity: effect on N-methyl-D-aspartate-induced intracellular Ca(2+) increase. Exp Brain Res. 167:641-648.

138. Mattila P.M., Roytta M., Lonnberg P., Marjamaki P., Helenius H., Rinne J.O. (2001) Choline acetytransferase activity and striatal dopamine receptors in Parkinson's disease in relation to cognitive impairment. Acta Neuropathol. 102:160-166.

139. McBride J.L., Behrstock S.P., Chen E.Y., Jakel R.J., Siegel I., Svendsen C.N., Kordower J.H. (2004) Human neural stem cell transplants improve motor function in a rat model of Huntington's disease. J Comp Neurol. 475:211-219.

140. McClure R., Yanagisawa D., Stec D., Abdollahian D., Koktysh D., Xhillari D., Jaeger R., Stanwood G., Chekmenev E., Tooyama I., Gore J.C., Pham W. (2015) Inhalable curcumin: offering the potential for translation to imaging and treatment of Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis. 44(1):283-295.

141. McDowell K., Chesselet M.F. (2012) Animal models of the non-motor features of Parkinson's disease. Neurobiology of disease, 46(3):597-606.

142. McNamara C.G., Tejero-Cantero A., Trouche S., Campo-Urriza N., Dupret D. (2014) Dopaminergic neurons promote hippocampal reactivation and spatial memory persistence. Nat Neurosci. 17:1658–1660.

143. McRitchie D.A., Cartwright H.R., Halliday G.M. (1997) Specific A10 dopaminergic nuclei in the midbrain degenerate in Parkinson's disease. Exp Neurol. 144:202-213.

144. McRitchie D.A., Hardman C.D., Halliday G.M. (1996) Cytoarchitectural distribution of calcium binding proteins in midbrain dopaminergic regions of rats and humans. J Comp Neurol. 364:121-150.

145. Mehla J., Reeta K.H., Gupta P., Gupta Y.K. (2010) Protective effect of curcumin against seizures and cognitive impairment in a pentylenetetrazole-kindled epileptic rat model. Life Sci. 87:596-603.

146. Meissner W.G. et al. (2011) Priorities in Parkinson's disease research. Nature Review, 10:377-393.

147. Mesulam M.M., Mufson E.J., Levey A.I., Wainer B.H. (1983) Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata), and hypothalamus in the rhesus monkey, J Comp Neurol. 214:170-197.

148. Michel P.P., Alvarez-Fischer D., Guerreiro S., Hild A., Hartmann A., Hirsch E.C. (2007) Role of activity-dependent mechanisms in the control of dopaminergic neuron survival. Journal of Neurochemistry, 101(2):289-297.

149. Mingote S., Chuhma N., Kusnoor S.V., Field B. (2015) Functional connectome analysis of dopamine neuron glutamatergic connections in forebrain regions. J. Neurosci. 35:16259-16271.

150. Miyoshi E., Wietzikoski S., Camplessei M., Silveira R., Takahashi R.N., Da Cunha C. (2002) Impaired learning in a spatial working memory version and in a cued version of the water maze in rats with MPTP-induced mesencephalic dopaminergic lesions. Brain Res. Bull. 58:41-47.

151. Motaghinejad M., Motevalian M., Fatima S., Hashemi H., Gholami M. (2017) Curcumin confers neuroprotection against alcohol-induced hippocampal neurodegeneration via CREB-BDNF pathway in rats. Biomed Pharmacother. 87:721-740.

152. Mourre C., Ben Ari Y., Bernardi H., Fosset M., Lazdunski M. (1989) Antidiabetic sulfonylureas: localization of binding sites in the brain and effects on the hyperpolarization induced by anoxia in hippocampal slices. Brain Research, 486:159-164.

153. Moussa E.H.C., Rae C., Bubb W.A., Griffin J.L., Deters N.A., Balcar V.J. (2007) Inhibitors of glutamate transport modulate distinct patterns in brain metabolism. J Neurosci Res. 85:342-350.

154. Mythri R.B., Harish G., Dubey S.K., Misra K., Bharath M.M. (2011) Glutamoyl diester of the dietary polyphenol curcumin offers improved protection against peroxynitrite-mediated nitrosative stress and damage of brain mitochondria in vitro: implications for Parkinson's disease. Mol Cell Biochem. 347:135-143.

155. Nestler E.J., Carlezon W.A. (2006) The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. Jr. Biol Psychiatry, 59(12):1151-1159.

156. Newhouse K., Shih-Ling Hsuan. (2004) Rotenone-Induced Apoptosis Is Mediated By p38 And JNK MAP Kinases In Human Dopaminergic SH-SY5Y Cells-Toxicological sciences, 79:137–146.

157. Obeso J.A. et al. (2010) “Missing pieces in the Parkinson’s disease puzzle.” Nature Medicine, 16:653-661.

158. Ojha R.P., Rastogi M., Devi B.P., Agrawal A., Dubey G.P. (2012) Neuroprotective effect of curcuminoids against inflammation-mediated dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease. J Neuroimmune Pharmacol. 7:609-618.
159. Ono K., Hirohata M., Yamada M. (2008) Alpha-synuclein assembly as a therapeutic target of Parkinson's disease and related disorders. Curr Pharm Des. 14: 3247-3266.
160. Ono K., Yamada M. (2006) Antioxidant compounds have potent antifibrillogenic and fibril-destabilizing effects for alpha-synuclein fibrils in vitro. J Neurochem. 97:105-115.
161. Ono S.I., Sorte R., Tokuda E.I. (2014) A possible novel pharmacological therapy for Parkinson's disease using the pleiotropic property of Selegiline. Current Topics in Pharmacology, 18(1-2):29-37.
162. Ossowska K., Wardas J. (2005) A slowly developing dysfunction of dopaminergic nigrostriatal neurons induced by long-term paraquat administration in rats: an animal model of preclinical stages of Parkinson's disease? European Journal of Neuroscience, 22:1294–1304.
163. Otmakhova N.A., Lisman J.E. (1998) D1/D5 dopamine recep- tors inhibit depotentiation at CA1 synapses via cAMP-dependent mechanism. J. Neurosci. 18:1270-1279.
164. Pal R., Miranda M., Narayan M. (2011) Nitrosative stress-induced Parkinsonian Lewy-like aggregates prevented through polyphenolic phytochemical analog intervention. Biochem Biophys Res Commun. 404:324-329.
165. Pan J., Li H., Ma J.F., Tan Y.Y., Xiao Q., Ding J.Q., Chen S.D. (2012) Curcumin inhibition of JNKs prevents dopaminergic neuronal loss in a mouse model of Parkinson's disease through suppressing mitochondria dysfunction. Transl Neurodegener. 1:16.
166. Pan R., Qiu S., LuD X., Dong J. (2008) Curcumin improves learning and memory ability and its neuroprotective mechanism in mice. ChinMedJ (Engl). 121(9):832-839.
167. Pandey N., Strider J., Nolan W.C., Yan S.X., Galvin J.E. (2008) Curcumin inhibits aggregation of alpha-synuclein. Acta Neuropathol. 115:479-489.
168. Parent M., Parent A. (2010) Substantia nigra and Parkinson's disease: a brief history of their long and Intimate relationship. Can. J. Neurol. Sci. 37:313-319.

169. Park H.R., Lee J. (2011) Neurogenic contributions made by dietary reg- ulation to hippocampal neurogenesis.Ann N Y Acad Sci. 1229:23-28.

170. Patel B.A., Arundell M., Parker K.H., Yeoman M.S., OHare D. (2005) Simple and rapid determination of serotonin and catecholamines in biological tissue using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. J Chromatogr. 818(2):269–276

171. Paxinos G., Watson Ch. (2005) The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. // 5th Edition. New York: Academic Press. 367.

172. Prensa L., Parent A. (2001) The nigrostriatal pathway in the rat: A single-axon study of the relationship between dorsal and ventral tier nigral neurons and the striosome/matrix striatal compartments. J Neurosci. 21(18):7247-7260.

173. Priyadarsini K.I. (2009) Photophysics photochemistry and photobiology of curcumin.Studies from organic solutions bio-mimetics and living cells. J. Photochem. Photobiol. 10:81-95.

174. Przedborski S. (2017) The two-century journey of Parkinson disease research Nature Reviews Neuroscience, 251-259.

175. Putzier I., Kullmann P.H.M., Horn J.P., Levitan E.S. (2009) Cav1.3 channel voltage dependence, not Ca2+ selectivity, drives pacemaker activity and amplifies bursts in nigral dopamine neurons. J Neurosci. 29:15414-15419.

176. Qiao L., Hamamichi S., Caldwell K.A., Caldwell G.A., Yacoubian T.A., Wilson S., Xie Z.L., Speake L.D., Parks R., Crabtree D., et al. (2008) Lysosomal Enzyme Cathepsin D Protects Against Alpha-Synuclein Aggregation and Toxicity. Mol. Brain. 1:17.

177. Rajeswari A., Sabesan M. (2008) Inhibition of monoamine oxidase-B by the polyphenolic compound, curcumin and its metabolite tetrahydrocurcumin, in a model of parkinson's disease induced by MPTP neurodegeneration in mice. Inflammopharmacology, 16:96-99.

178. Rangasamy S.B., Soderstrom K., Bakay R.A., Kordower J.H. (2010) Neurotrophic factor therapy for parkinson's disease. Prog. Brain Res. 184:237-264.

179. Ravindran P.N. (2006) Turmeric-the golden spice of life. Turmeric: The genus Curcuma: Taylor and Francis Group, 1-14.

180. Redgrave P., Prescott T.J., Gurney K. (1999) Is the short-latency dopamine response too short to signal reward error? Trends in Neurosciences 22(4):146–151.

181. Ren Y., Feng J. (2007) Rotenone selectively kills serotonergic neurons through a microtubule-dependent mechanism. J Neurochem. 103:303-311.

182. Ren Y., Liu W., Jiang H., Jiang Q., Feng J. (2005) Selective vulnerability of dopaminergic neurons to microtubule depolymerization. J. Biol. Chem. 280:34105-34112.

183. Roeltgen D.P., Schneider J.S. (1994) Task persistence and learning ability in normal and chronic low dose MPTP-treated monkeys. Behav. Brain Res. 60:115-124.

184. Ronise M. Santiago. (2010) Depressive-like behaviors alterations induced by intranigral MPTP, 6-OHDA, LPS and rotenone models of Parkinson's disease are predominantly associated with serotonin and dopamine-Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry 34:1104-1114.

185. Rosen Z.B., Cheung S., Siegelbaum S.A. (2015) Midbrain dopamine neurons bidirectionally regulate CA3-CA1 synaptic drive. Nat Neurosci 18:1763-1771.

186. Rossato J.I., Bevilaqua L.R., Izquierdo I., Medina J.H., Cammarota M. (2009) Dopamine controls persistence of long-term memory storage. Science, 325:1017-1020.

187. Sajikumar S., Frey J.U. (2004) Late-associativity, synaptic tag- ging, and the role of dopamine during LTP and LTD. Neurobiol. Learn. Mem. 82:12-25.

188. Savaa V., Reunovaa O. (2006) Neuroanatomical mapping of DNA repair and antioxidative responses in mouse brain: Effects of a single dose of MPTP. NeuroToxicology. 27(6):1080-1093.

189. Saybasili H., Yuksel M., Haklar G., Yalcin A.S. (2001) Effect of mitochondrial electron transport chain inhibitors on superoxide radical generation in rat hippocampal and striatal slices. Antioxid Redox Signal. 3:1099-1104.

190. Scatton B., Simon H., Le Moal M., Bischoff S. (1980). Origin of dopaminergic innervation of the rat hippocampal formation. Neurosci. Lett. 18:125-131.

191. Schallert T., Fleming S.M., Leasure J.L., Tillerson J.L., Bland S.T. (2000) CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, Parkinsonism and spinal cord injury. Neuropharmacology, 39:777–778.

192. Schallert T., Tillerson J. (1999) Intervention strategies for degeneration of dopamine neurons in Parkinsonism: optimizing behavioral assessment of outcome. In: Central nervous system diseases (Emerich DF, Dean III RL, Sanberg PR, eds), Totowa, NJ: Humana. 131–151.
193. Schuh R.A., Matthews C.C., Fishman P.S. (2008) Interaction of mitochondrial respiratory inhibitors and excitotoxins potentiates cell death in hippocampal slice cultures. J Neurosci Res. 86:3306-3313.
194. Schultz W. (2007) Behavioral dopamine signals. Trends Neurosci. 30:203-210.
195. Schultz W., Dickinson A. (2000) Neuronal coding of prediction errors. Annu. Rev. Neurosci. 23:473-500.
196. Sharma S., Zhuang Y., Ying Z., Wu A., Gomez-Pinilla F. (2009) Dietary curcumin supplementation counteracts reduction in levels of molecules involved in energy homeostasis after brain trauma. Neuroscience. 161(4):1037-1044.
197. Shen L.L., Jiang M.L., Liu S.S., Cai M.C., Hong Z.Q., Lin L.Q., Xing Y.Y., Chen G.L., Pan R.,Yang L.J., Xu Y., Dong J. (2015) Curcumin improves synaptic plasticity impairment induced by HIV-1gp120 V3 loop. Neural Regen Res. 10(6):925-931.
198. Sherer T.B., Betarbet R., Testa C.M., Seo B.B., Richardson J.R., Kim J.H., Miller G.W., Yagi T., Matsuno-Yagi A., Greenamyre J.T. (2003b) Mechanism of toxicity in rotenone models of Parkinson's disease. J. Neurosci. 23:10756-10764.
199. Sherer T.B., Kim J.H., Betarbet R., Greenamyre J.T. (2003) Subcutaneous rotenone exposure causes highly selective dopaminergic degeneration and alpha-synuclein aggregation. Exp Neurol. 179:9–16.
200. Sherer T.B., Trimmer P.A., Borland K., Parks J.K., Bennett J.P., Tuttle J.B. (2001) Chronic reduction in complex I function alters calcium signaling in SH-SY5Y neuroblastoma cells.Brain Res. 891:94-105.
201. Shults C.W. Lewy bodies. PNAS, 103:1661-1668.
202. Sims N.R., Pulsinelli W.A. (1987) Altered mitochondrial respiration in selectively vulnerable brain subregions following transient forebrain ischemia in the rat. J Neurochem. 49:1367-1374.

203.Singh P.K., Kotia V., Ghosh D., Mohite G.M., Kumar A., Maji S.K. (2013) Curcumin modulates α-synuclein aggregation and toxicity. ACS Chem Neurosci. 4(3):393-407.

204. Singula N., Chawan D.K. (2012) N-methyl N-nitrosourea induced functional and structural alterations in mice brain-role of curcumin. Neurotox. Res. 22:115–126.

205. Smith A.D., Bolam J.P. (1990) The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurones. Trends Neurosci. 13:259-265.

206. Smith W.B., Starck S.R., Roberts R.W., Schuman E.M. (2005) Dopaminergic stimulation of local protein synthesis enhances sur- face expression of GluR1 and synaptic transmission in hippocam- pal neurons. Neuron, 45:765-779.

207. Son H.J., Lee J.A., Shin N. et al. (2012) A novel compound PTIQ protects the nigral dopaminergic neurones in an animal model of Parkinson's disease induced by MPTP. Brit J Pharmacol. 165(7):2213-2227.

208. Sun F., Kanthasamy A., Anantharam V., Kanthasamy A.G. (2007) Environmental neurotoxic chemicals-induced ubiquitin proteasome system dysfunction in the pathogenesis and progression of Parkinson's disease. Pharmacol. Ther. 114:327-344.

209. Swarnkar S., Goswami P., Kamat P.K., Gupta S., Patro I.K., Singh S., Nath C. (2012) Rotenone-induced apoptosis and role of calcium: a study on Neuro-2a cells. Arch Toxicol. 86(9):1387-1397.

210. Sweet E.S., Saunier-Rebori B., Yue Z., Blitzer R.D (2015) The Parkinson's disease-associated mutation LRRK2-G2019S impairs synaptic plasticity in mouse hippocampus. J. Neurosci. 35:11190-11195.

211. Tadaieksy M.T. et al. (2008) Emotional, Cognitive and Neurochemical Alterations in a Premotor Stage Model of Parkinson's Disease. The Journal of Neuroscience 156:830-840.

212. Tegenge M.A., Rajbhandari L., Shrestha S., Mithal A., Hosmane S., Venkatesan A. (2014) Curcumin protects axons from degeneration in the setting of local neuroinflammation. Exp. Neurol. 253:102-110.

213. Thomas M.J., Malenka R.C., Bonci A. (2000) Modulation of long-term depression by dopamine in the mesolimbic system. J. Neurosci. 20:5581-5586.

214. Tiwari S.K., Agrawal S., Seth B., Yadav A., Nair S., Bhatnagar P., Karmakar M., Kumari M., Chauhan L.K.S., Patel D.K., Srivastava V., Singh D., Gupta S.K., Tripathi A., Chaturvedi R.K., Gupta K.Ch. (2014) Curcumin-loaded nanoparticles potently induce adult neurogenesis and reverse cognitive deficits in Alzheimer's disease model via canonical Wnt/β-catenin pathway. ACSNANO, 8:76-103.

215. Todd B. Sherer, Jin-Ho Kim (2003) Subcutaneous Rotenone Exposure Causes Highly Selective Dopaminergic Degeneration and Synuclein Aggregation. Experimental Neurology. 179:9-16.

216. Tripanichkul W., Jaroensuppaperch E.O. (2013) Ameliorating effects of curcumin on 6-OHDA- induced dopaminergic denervation, glial response, and SOD1 reduction in the striatum of hemiparkinsonian mice. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 17:1360-1368.

217. Turski L., Bressler K., Rettig K.J., Loschmann P.A., Wachtel H. (1991) Protection of Substantia Nigra from Mpp+Neurotoxicity by N-Methyl-D-Aspartate Antagonists. Nature, 349:414-418.

218. Umegaki H., Munoz J., Meyer R.C., Spangler E.L., Yoshimura J., Ikari H., Iguchi A., Ingram D.K. (2001) Involvement of dopamine D(2) receptors in complex maze learning and acetylcholine release in ventral hippocampus of rats. Neuroscience, 103:27–33.

219. Uversky V.N. (2004) Neurotoxicant-induced animal models of Parkinson's disease: understanding the role of rotenone, maneb and paraquat in neurodegeneration. Cell Tissue Res. 318:225-241.

220. Vajragupta O., Boonchoong P., Watanabe H., Tohda M., Kummasud N., Sumanont Y. (2003) Manganese complexes of curcumin and its derivatives: evaluation for the radical scavenging ability and neuroprotective activity. Free Radic Biol Med. 35:1632-1644.

221. Vareed S.K. et al. (2008) Pharmacokinetics of curcumin conjugate metabolites in healthy human subjects. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 17(6):1411-1417.

222. Vizi E.S. (1998) Neurochemistry and Pharmacology of the Major Hippocampal Transmitter Systems: Synaptic and Nonsynaptic Interactions. Hippocampus. 8(6):566-607.

223. Walton M.R., Dragunow I. (2000) Is CREB a key to neuronal survival? Trends Neurosci. 23(2):48-53.

224. Wang J., Du X.X., Jiang H. Xie J.X. (2009) Curcumin attenuates 6-hydroxydopamine-induced cyto- toxicity by anti-oxidation and nuclear factor- kappa B modulation in MES23.5 cells. Bio- chem Pharmacol. 78:178-183.

225. Wang J., Zhang Y.J., Du S. (2012) The protective effect of curcumin on Abeta induced aberrant cell cycle reentry on primary cultured rat cortical neurons. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 16:445-454.

226. Wang M.S., Boddapati S., Emadi S., Sierks M.R. (2010) Curcumin reduces alpha-synuclein induced cytotoxicity in Parkinson's disease cell model. BMC Neurosci. 11:57.

227. Wang R. et al. (2008) Curcumin protects against glutamate excitotoxicity in rat cerebral cortical neurons by increasing brain-derived neurotrophic factor level and activating TrkB. Brain Res. 1210:84-91.

228. Wang R., Li Y.H., Xu Y., Li Y.B., Wu H.L., Guo H., Zhang J.Z., Zhang J.J., Pan X.Y., Li X.J. (2010b) Curcumin produces neuroprotective effects via activating brain-derived neurotrophic factor/TrkB-dependent MAPK and PI-3K cascades in rodent cortical neurons. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiat. 34:147-153.

229. Wang Y., Yin H., Li J., Zhang Y., Han B., Zeng Z., Qiao N., Cui X., Lou J., Li J. (2013) Amelioration of β-amyloid-induced cognitive dysfunction and hippocampal axon degeneration by curcumin is associated with suppression of CRMP-2 hyperphosphorylation. Neurosci. Lett. 557:112–117.

230. Wang Y., Yin H., Wang L., Shuboy A., Lou J., Han B., Zhang X., Li J. (2013) Curcumin as a potential treatment for Alzheimer’s disease: A study of the effects of curcumin on hippocampal expression of glial fibrillary acidic protein. Am J Chin Med. 41:59-70.

231. Weil Z.M., Norman G.J. (2008) The injured nervous system: a Darwinian perspective. Prog Neurobiol. 86:48-59.

232. Westphal R., Simmons C., Mesquita M.B., Wood T.C., Williams S.C., Vernon A.C., Cash D. (2017) Characterization of the resting-state brain network topology in the 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease. PLoS One, 1;12(3):e0172394.

233. Won-Seok C., Kruse Shane E. (2008) Mitoconderial complex I inhibition is not required for dopaminergic neuron death induced by rotenone, MPP+, or paraquat. PNAS, 105(39):15136–15141.

234. Woodlee M.T., Kane J.R., Chang J., Cormack L.K., Schallert T. (2008) Enhanced function in the good forelimb of hemi-parkinson rats: compensatory adaptation for contralateral postural instability? Exp Neurol. 211:511–517.

235. Wu A., Ying Z., Gomez-Pinilla F. (2006) Dietary curcumin counteracts the outcome of traumatic brain injury on oxidative stress, synaptic plasticity, and cognition. Exp Neurol. 197:309-317.

236. Wu Y.N., Johnson S.W. (2007) Rotenone potentiates NMDA currents in substantia nigra dopamine neurons. Neurosci Lett. 421:96-100.

237. Wu Y.N., Johnson S.W. (2011) Dopamine oxidation facilitates rotenone-dependent potentiation of N-methyl-D-aspartate currents in rat substantia nigra dopamine neurons. Neuroscience, 195:138-144.

238. Xi Bao Yu, Fen Zi Mian, Yi Xue, Za Zhi. (2016) Curcumin improves learning and memory function through decreasing hippocampal TNF-α and iNOS levels after subarachnoid hemorrhage inrats. Chinese. 32(3):343-346.

239. Xu G., Perez-Pinzon M.A., Sick T.J. (2003) Mitochondrial complex I inhibition produces selective damage to hippocampal subfield CA1 in organotypic slice cultures. Neurotox Res. 5:529-538.

240. Xu Y., Ku B., Cui L., Li X., Barish P.A., Foster T.C. et al. (2007) Curcumin reverses impaired hippocampal neurogenesis and increases serotonin receptor 1A mRNA and brain-derived neurotrophic factor expression in chronically stressed rats. Brain Res. 1162:9-18.

241. Xu Y., Ku B.S., Yao H.Y. et al. (2005) The effects of curcumin on depressive-like behaviors in mice. Eur J Pharmacol. 518:40-46.

242. Yamada M., Mizuno Y., Mochizuki H. (2005) Parkin Gene Therapy for Alpha-Synucleinopathy: A Rat Model of Parkinson's Disease. Hum. Gene Ther. 16:262-270.

243. Yamada-Hanff J., Bean B.P. (2013) Persistent sodium current drives conditional pacemaking in CA1 pyramidal neurons under muscarinic stimulation. J Neurosci 33:15011-15021.

244. Yanagihashi R., Ishikawa T. (1992) Studies on long-term potentiation of the population spike component of hippocampal field potential by the tetanic stimulation of the perforant path rats: effects of a dopamine agonist, SKF-38393. Brain Res. 579:79–86.

245. Yang S., Zhang D., Yang Z., Hu X., Qian S., Liu J., Wilson B., Block M., Hong J.S. (2008) Curcumin protects dopaminergic neuron against LPS induced neurotoxicity in primary rat neuron/glia culture. Neurochem. Res. 33:2044-2053.

246. Yang Y., Liu X., Ding J.H., Sun J., Long Y., Wang F., Yao H.H., Hu G. (2004) Effects of iptakalim on rotenone-induced cytotoxicity and dopamine release from PC12 cells. Neuroscience Letters, 366:53-57.

247. Yavich L., Tanila H., Vepsalainen S., Jakala P. (2004) Role of alpha-synuclein in presynaptic dopamine recruitment. J. Neurosci. 24:11165–11170.

248. Yenkoyan K., Safaryan K., Chavushyan V., Meliksetyan I., Navasardyan G., Sarkissian J., Galoyan A., Aghajanov M. (2011) Neuroprotective action of proline-rich polypeptide-1 in β - amyloid induced neurodegeneration in rats. Brain Res Bull, 86:262-271.

249. Yong R. (2007) Rotenone selectively kills serotonergic neurons through a microtubule-dependent mechanism. Journal of Neurochemistry, 103:303–311.

250. Yu S., Zheng W., Xin N., Chi Z.H., Wang N.Q., Nie Y.X., Feng W.Y., Wang Z.Y. (2010) Curcumin prevents dopaminergic neuronal death through inhibition of the c-jun Nterminal kinase pathway. Rejuvenation Res. 13:55-64.

251. Zbarsky V., Datla K.P., Parkar S., Rai D., Aruoma O.I., Dexter D.T. (2005) Neuroprotective properties of the natural phenolic antioxidants curcumin and naringenin but not quercetin and fisetin in a 6-OHDA model of Parkinson's disease. Free Radic Res. 39:1119-1125.

252. Zhang S., Qi J., Li X., Wang H.L., Britt J.P., Hoffman A.F., Bonci A., Lupica C.R. and Morales M. (2015b) Dopaminergic and glutamatergic microdomains in a subset of rodent mesoaccumbens axons. Nat. Neurosci. 18:386-392.

253. Zhao C., Deng W., Gage F.H. (2008) Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. Cell, 132:645-660.

254. Zhao J., Yu S., Zheng W., Feng G., Luo G., Wang L., Zhao Y. (2010) Curcumin improves outcomes and attenuates focal cerebral ischemic injury via antiapoptotic mechanisms in rats.Neurochem Res. 35374-35379.

255. Zhou M., Baudry M. (2006) Developmental changes in NMDA neurotoxicity reflect developmental changes in subunit composition of NMDA receptors. J Neurosci. 26:2956–2963.

256. Zhu G., Chen Y., Huang Y., Li Q., Behnisch T. (2011) MPTP-meditated hippocampal dopamine deprivation modulates synaptic transmission and activity-dependent synaptic plasticity. Toxicol Appl Pharmacol. 254(3):332-341.

257. Zigmond Michael J., Hastings T.G., Perez R.G. (2002) Increased dopamine turnover after partial loss of dopaminergic neurons: compensation or toxicity? Parkinsonism & related disorders, 8(6):389–93.

258. Zola-Morgan S., Squire R.E., Amaral D.G. (1986) Human amnesia and medial temporal region: Enduring memory impairment following bilateral lesion limited to CA1 of the hippocampus. J Neurosci. 6(10):2950-2967.