



VILNIUS UNIVERSITETAS
GYVYBĖS MOKSLŲ CENTRAS

Elena Kavaliauskaitė

Atminties sutrikimo gyvūnų modeliai

Magistro baigiamasis darbas

Neurobiologijos studijų programa

Darbo vadovė

Prof. Dr. Valentina Vengalienė

Konsultantė

Dokt. Ieva Pocevičiūtė

Darbas atliktas

GMC Biomokslų instituto

Neurobiologijos ir biofizikos katedroje

Vilnius 2025

Turinys

Ivadas	4
1. Literatūros apžvalga.....	6
1.1. Atmintis ir jos neurobiologiniai aspektai.....	6
1.2. Klinikinė atminties sutrikimų problema	8
1.3. Atminties sutrikimų mechanizmai.....	10
1.3.1. Paveldimumo veiksniai	10
1.3.2. Neuropatologiniai veiksniai	10
1.3.3. Neurocheminiai veiksniai.....	10
1.3.4. Sisteminiai veiksniai	11
1.4. Atminties sutrikimų modeliavimas.....	11
1.4.1. Modeliavimo tikslai.....	12
1.4.2. Modeliavimo tipai	12
1.5. Atminties sutrikimų gyvūniniai modeliai	13
1.6. Genetiniai atminties sutrikimų gyvūnų modeliai.....	14
1.7. Farmakologiniai atminties sutrikimo gyvūnų modeliai.....	16
1.8. Su amžiumi susijusių pokyčių atminties modeliai	17
2. Medžiagos ir metodai.....	19
2.1. Laboratoriniai gyvūnai	19
2.2. Naudotos medžiagos.....	19
2.3. Elgsenos testai	19
2.3.1. Atviro lauko testas.....	20
2.3.2. Naujo objekto atpažinimo testas	21
2.4. Eksperimentų eiga	22
2.4.1. Genetinis atminties sutrikdymo modelis naudojant transgenines peles (APP/PS1)	22
2.4.2. Farmakologinis atminties sutrikdymo modelis naudojant THP injekcijas.....	23
2.4.3. Su amžiumi susijusių atminties pokyčių tyrimas	23
2.5. Statistinė analizė	24
3. Rezultatai ir jų aptarimas	25
3.1. Genetinis atminties sutrikdymo modelis	25
3.1.1. Atviro lauko testas	25
3.1.2. Naujo objekto atpažinimo testas	26
3.2. Farmakologinis atminties sutrikdymo modelis naudojant THP	28
3.2.1. Atviro lauko testas	28
3.2.2. Naujo objekto atpažinimo testas	30
3.3. Su amžiumi susijusių pokyčių tyrimas	33

3.3.1. Atviro lauko testas.....	33
3.3.2. Naujo objekto atpažinimo testas	33
Išvados.....	37
Autoriaus asmeninis indėlis	38
SANTRAUKA	39
SUMMARY	40
Literatūros sąrašas	41

Ivadas

Šiuolaikinėje senėjančioje visuomenėje su amžiumi susiję kognityviniai sutrikimai tampa vis aktualesne visuomenės sveikatos problema (Raz et al., 2016). Remiantis Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) 2021 metų duomenimis, visame pasaulyje sergančiųjų demencija yra 57 milijonai ir prognozuojama, kad iki 2050 metų šis skaičius galėtų padidėti tris kartus (Nichols et al., 2022). Demencija yra bendrinis terminas, apimantis platų sutrikimų spektrą, kuriems būdingas progresuojantis kognityvinių funkcijų prastėjimas, paveikiantis atmintį, mąstymą, kalbą, orientaciją, sprendimų priėmimą ir gebėjimą atlikti kasdienes veiklas (Kim et al., 2021). Labiausiai paplitusi demencijos forma yra Alzheimerio liga (AL), sudaranti apie 60-70% visų atvejų. Ši liga pasižymi amiloido-beta ($A\beta$) plokštelių kaupimusi ir neurofibrilinių tau baltymo tinklelių formavimusi smegenyse (Breijyeh & Karaman, 2020). Didžiausias jų tankis aptinkamas hipokampe ir žievės srityse, kurios yra svarbios mokymuisi ir atminties procesams (Silva et al., 2019). Veiksmingo gydymo, galinčio sustabdyti ar išgydyti Alzheimerio ligą ir kitus demencijos tipus, iki šiol nėra. Dabartiniai vaistai, skiriami šiomis ligomis sergantiesiems, veikia tik simptomus ir gali sulėtinti ligos progresą (DeTure & Dickson, 2019). Todėl vis dar reikalinga gilinti žinias apie šių ligų patofiziologiją, ankstyvą diagnostiką ir kurti efektyvias farmakologines gydymo priemones.

Viena iš svarbiausių priemonių, būtina atminties sutrikimų mechanizmų tyrimams ir naujų gydymo būdų ieškojimui, yra eksperimentiniai gyvūnų modeliai. Juos pasitelkus galima stebėti elgsenos, fiziologinius ir molekulinis pokyčius sudėtingoje, gyvoje sistemoje, kuriai įtaką daro daugybė biologinių veiksnių (Chen & Zhang, 2022). Gyvūnų modeliai vis dar yra būtini norint įvertinti vaistų veiksmingumą ir saugumą prieš pradedant klinikinius tyrimus. Genetiniai gyvūnų modeliai suteikia galimybę ištirti specifinių genų mutacijų ar variacijų, susijusių su paveldimomis Alzheimerio ligos formomis, poveikį kognityvinėms funkcijoms (Mukherjee et al., 2022). Farmakologiniais gyvūnų modeliais, naudojant tam tikras medžiagas (pavyzdžiui, muskarininių receptorių antagonistus), indukuojami grįžtami atminties sutrikimai ir taip galima tirti įvairių neurotransmiterių svarbą kognityviniams procesams (More et al., 2016). Tuo tarpu natūralaus senėjimo modeliai yra ypač svarbūs tiriant vėlyvai pasireiškiančios, sporadinės kilmės atminties sutrikimus, kurie sudaro didžiąją dalį demencijos atvejų (Brito et al., 2023).

Šiame darbe buvo analizuojami trys pagrindiniai gyvūnų modelių tipai, kurie yra taikomi atminties sutrikimų tyrimuose: genetinis modelis, naudojant APP/PS1 transgenines peles; farmakologinis modelis, kuriuo bandoma sutrikdyti Wistar žiurkių atmintį naudojant triheksifenidilio (THP) injekcijas; bei su amžiumi susijusių pokyčių Wistar žiurkėse tyrimas

(natūralus senėjimas). Kiekvienas iš šių modelių turi pranašumų ir trūkumų, tačiau jų įvairovė prisideda prie išsamesnio atminties sutrikimų suvokimo.

Darbo tikslas – palyginti skirtingų tipų atminties sutrikdymo gyvūnų modelius.

Darbo uždaviniai:

1. Įvertinti APP/PS1 transgeninių pelių genetinio modelio tinkamumą atminties sutrikimų tyrimui;
2. Sutrikdyti atmintį Wistar žiurkėms naudojant triheksifenidilio injekcijas ir ištirti jų poveikį gyvūnų elgsenai;
3. Įvertinti su amžiumi susijusių neurobiologinių pokyčių poveikį Wistar žiurkių atminčiai ir jų elgsenai.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Atmintis ir jos neurobiologiniai aspektai

Atmintis yra būtina išgyvenimui ir yra viena iš pagrindinių kognityvinių funkcijų, leidžianti įgyti, išlaikyti ir atkurti informaciją (Zlotnik & Vansintjan, 2019). Šį sudėtingą kognityvinį procesą sudaro keli skirtingi etapai: kodavimas (*angl.* encoding), konsolidavimas (*angl.* consolidation), atkūrimas (*angl.* recovery) ir rekonsolidavimas (*angl.* reconsolidation) (Liu et al., 2021).

Kodavimas – pradinis žingsnis, kai sensorinė informacija yra apdorojama ir transformuojama į formą, tinkamą tolimesniam saugojimui (Ortega-de San Luis & Ryan, 2022).

Konsolidavimas yra procesas, kurio metu prisiminimai stabilizuojami ir perkeliami į ilgalaikės atminties talpą, taip užtikrinant jų atsparumą trikdžiams (interferencijai) ir nykimui (*angl.* decay) (Goedert & Willingham, 2002). Šis procesas sukelia ilgalaikius struktūrinius pokyčius smegenyse, kurie daro reikšmingą poveikį jų funkcijai, pertvarkydami ir stiprindami neuronų jungtis. Įvairūs veiksniai, tokie kaip miegas, stresas ir įgimti neurotransmisijos nuokrypiai turi įtakos konsolidavimo procesui (Dudai et al., 2015). Pavyzdžiui, yra daug tyrimų, patvirtinančių miego svarbą dėl jo esminio vaidmens užtikrinant sklandų informacijos įtvirtinimą iš trumpalaikių „saugyklų“ į stabilesnes engramas (atminties pėdsakus) (Rakowska et al., 2022). Kaip žinia, streso hormonai (epinefrinas ir kortizolis), išsiskiriantys stipriai emociškai paveikiančių įvykių metu, yra reikšmingi atminties formavimosi procesui. Migdolinis kūnas turi itin svarbų vaidmenį konsolidavime, būtent ši smegenų struktūra reguliuoja streso hormonų veiklą (Lee & Jung, 2025).

Atkūrimas – procesas, kurio metu prieinama prie saugomos informacijos, ji atrenkama, ir „rekonstruojama“ tam, kad būtų galima prisiminti anksčiau užkoduotą informaciją (Hasegawa et al., 1999). Prisiminimų atkūrimas priklauso nuo tam tikrų neuroninių tinklų aktyvacijos, o šį procesą gali reikšmingai paveikti įvairūs veiksniai, tokie kaip kontekstinės užuominos ar informacijos atkūrimo signalai (*angl.* retrieval cues) (Frankland et al., 2019).

Nors anksčiau buvo manyta, kad kartą konsoliduotas prisiminimas tampa pastovus ir ilgalaikis (McGaugh, 2000), naujesni tyrimai atskleidė papildomą – rekonsolidacijos – etapą (Asthana et al., 2016). Šio proceso metu, prisiminimui vėl suaktyvėjus, jis trumpam tampa nestabilus ir imlus pokyčiams. Tai rodo, kad atmintis nėra statiška, o dinamiška ir nuolat kintanti kognityvinė sistema (Bellfy & Kwapis, 2020).

Yra trys pagrindinės žmogaus atminties rūšys: darbinė atmintis, deklaratyvioji atmintis (eksplicitinė) ir nedeklaratyvioji (implicitinė) atmintis (Squire & Dedee, 2015). Darbinė atmintis išsiskiria tuo, kad leidžia ne tik saugoti, bet ir aktyviai manipuluoti informacija. Ji ypač svarbi tokiems kasdieniams kognityviniams procesams kaip kalbos supratimas, sprendimų priėmimas ar loginis mąstymas (Funahashi, 2017). Darbinė atmintis siejama su prefrontaline ir užpakalinės

parietalinės žievės sritimi (*angl.* posterior parietal cortex) (Quentin et al., 2019). Tuo tarpu deklaratyvioji atmintis – tai sąmoningas gebėjimas prisiminti informaciją. Išskiriami du deklaratyviosios atminties tipai: epizodinė ir semantinė (Squire & Dede, 2015). Epizodinė atmintis siejama su asmeninių patirčių prisiminimu, o semantinė – su žiniomis, kurios kaupiamos smegenyse kaip faktai, idėjos ir su kalba susijusi informacija (pavyzdžiui, žodžių ir matematinių simbolių reikšmės) (Ober, 2014). Deklaratyvioji atmintis dažniausiai siejama su hipokampu ir vidurinės smilkininės smegenų žievės sritimi (*angl.* medial temporal lobe, MTL) (Squire & Zola, 1996). Nedeklaratyvioji atmintis, priešingai, veikia nesąmoningai. Ji pasireiškia per įgūdžius, įpročius ar net pasikartojančius elgesio modelius, kurie išmokstami be sąmoningo suvokimo (Squire & Dede, 2015). Nedeklaratyvioji atmintis siejama su įvairiomis smegenų sritimis – migdoliniu kūnu (*angl.* amygdala) (Ober, 2014), motorine žieve, dryžuotuoju kūnu (*angl.* striatum), limbinė sistema ir smegenėlėmis (Mayes, 2002).

Ilgalaikė potenciacija (*angl.* Long-Term Potentiation, LTP) ir ilgalaikė depresija (*angl.* Long-Term Depression, LTD) yra pagrindiniai neuroniniai mechanizmai, susiję su atminties formavimusi (Hagena & Manahan-Vaughan, 2024). Ilgalaikė potenciacija – tai sinapsių stiprumo padidėjimas, o ilgalaikė depresija – jo sumažėjimas (Ivanco, 2015). LTP – tai reiškinys, kurio metu dėl trumpalaikio intensyvaus dirginimo sinapsinis ryšys sustiprėja (Lynch, 2004). Dažniausiai minima LTP forma yra priklausoma nuo NMDA (N-metil-D-aspartato) receptorių (Lüscher & Malenka, 2012). Šiuo atveju, kai presinapsinis neuronas yra aktyvinamas aukšto dažnio impulsais, jis išskiria glutamatą – žadinantį neurotransmiterį, kuris prisijungia prie AMPA (α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoazolepropiono rūgšties) receptorių postsinapsiniame neurone ir sukelia jo aktyvaciją. Tai sukelia NMDA receptorių kanalų atsidarymą, pro kuriuos į neurono vidų patenka Ca^{2+} jonai. Būtent kalcio jonai inicijuoja fosforilinimo kaskadą, kurios metu aktyvuojami tokie fermentai kaip CaMKII ir PKC, sustiprinantys AMPA receptorių laidumą bei skatinantys naujų receptorių įterpimą į sinapsę (Bailey et al., 2015). Neuroninio plastiškumo tyrimai rodo, kad sinapsių stiprėjimas, vykstantis mokymosi metu, yra labai panašus į LTP mechanizmus (Dringenberg, 2020). Trys pagrindinės LTP savybės – asociatyvumas (silpnas signalas gali sustiprėti, jei pasireiškia kartu su stipriu), sinapsinis specifiskumas (pokytis įvyksta tik tose sinapsėse, kurios buvo aktyvios) ir kooperatyvumas (tam, kad LTP susiformuotų, reikia pakankamo stiprumo dirgiklio) – laikomos svarbiu įrodymu, kad LTP dalyvauja atminties formavime (Orsini & Maren, 2012). Nabavi ir kt. (2014) parodė, kad baimės sąlygojimą (asociatyvinės atminties rūšį) galima susilpninti per LTD ir vėl aktyvuoti per LTP. Šiame tyrime buvo pasiūlyta idėja, kad LTP formuoja neuronų tinklus, atspindinčius prisiminimą, o LTD gali juos inaktyvuoti ir „išjungti“ prisiminimą. Vis dėlto LTP tyrimų atlikta kur kas daugiau nei LTD, todėl šios srities literatūros vis dar trūksta (Malenka & Bear, 2004; Nabavi et al., 2014).

1.2. Klinikinė atminties sutrikimų problema

Atminties sutrikimai apima įvairias būkles, kurioms būdingi atminties procesų – kodavimo, saugojimo ar atkūrimo – pažeidimai. Atminties praradimas gali būti natūralaus senėjimo dalis, bet taip pat pasireikšti sergant neurodegeneracinėmis ligomis, patyrus galvos traumą ar esant tam tikroms psichikos sveikatos būklėms (Casella & Al Khalili, 2024). Senėjant populiacijai, su atmintimi susiję sutrikimai yra itin dažni ir kliniškai svarbūs dėl jų progresuojančio poveikio žmogaus gyvenimo kokybei. Šie sutrikimai gali pasireikšti įvairiomis formomis – trumpalaikės atminties praradimu, ilgalaikės atminties ar darbinės atminties sutrikimais (Race & Verfaellie, 2012).

Viena iš labiausiai paplitusių demencijos formų ir neurodegeneracinių ligų – Alzheimerio liga (AL). Patologiškai ji pasižymi ekstraląstelių amiloido-beta ($A\beta$) plokštelių ir intraląstelių neurofibrilių tinkelių, sudarytų iš fosforilinto tau baltymo, kaupimusi – ypač vidurinėje smilkininėje žievės srityje (Jack et al., 2018). Šie pokyčiai ilgainiui lemia žievės atrofiją ir neuronų žūtį. Klinikinėje praktikoje AL dažniausiai prasideda lėtai progresuojančiu epizodinės atminties pablogėjimu – pacientams sunku atsiminti neseniai įvykčius įvykius, jie kartoja klausimus ar pamiršta pokalbių turinį, tai reiškia sutrikusią informacijos kodavimą ir saugojimą (Kumar et al., 2025). Ankstyvosiose stadijose gali pasireikšti ir su kalba susiję sutrikimai bei erdvinė dezorientacija, apatija. Apatija, kurios dažniausiai įvardijamas požymis yra motyvacijos stoka, pasireiškia net iki 70% sergančiųjų AL (Dolphin et al., 2023). Svarbu paminėti, kad apatijos požymių sunkumas koreliuoja su $A\beta$ ir tau patologijomis bei AL stadija (Banning et al., 2021). Pasitelkiant neurovaizdinimo tyrimus, rasta, kad apatija yra susijusi su priešaktyvėmis ir požiėvinėmis struktūromis (Thelert et al., 2014). Kadangi farmakologinio išgydymo Alzheimerio ligai šiuo metu nėra, svarbi ankstyva AL diagnostika, nes simptomų suvaldymas gali pagerinti gyvenimo kokybę. Tam dažniausiai naudojami acetilcholinesterazės inhibitoriai (pvz., donepezilis) ir NMDA receptorių antagonistai (pvz., memantinas), kurių efektyvumas yra didžiausias gydant ankstyvasias ligos stadijas (S. Khan et al., 2020).

Kraujagyslinė demencija (*angl.* Vascular Dementia) kyla dėl smegenų kraujotakos sutrikimų – insultų, lakūninių infarktų ar baltosios medžiagos pažeidimų (Wong & Chui, 2022). Tai – antra pagal paplitimą demencijos forma, kuri neretai pasireiškia kartu su Alzheimerio ligos patologija, todėl vadinama mišria demencija (Azarpazhooh et al., 2018). Pagrindinis kraujagyslinės demencijos bruožas yra laipsniškas, bet ne visada tolygus kognityvinių funkcijų silpnėjimas, įvykstantis po insulto ar kitų kraujotakos sutrikimų (Wong & Chui, 2022). Dažni simptomai – vykdomųjų funkcijų (*angl.* executive function) sutrikimai (Jaywant et al., 2022), apatija (Tay et al., 2020). Neurologiniai požymiai, tokie kaip hemiparezė (vienos kūno pusės silpnumas) ar hiperrefleksija (sustiprėjęs refleksas), taip pat būdingi sergantiesiems kraujagysline demencija (Sanders et al., 2025). Gydymas

grindžiamas kraujagyslinių rizikos veiksnių valdymu, įskaitant arterinio kraujospūdžio, gliukozės ir lipidų kontrolę. Ankstyvas kraujagyslinių pažeidimų atpažinimas svarbus siekiant išvengti didesnio kognityvinių funkcijų pablogėjimo (Korczyn et al., 2012).

Lewy kūnelių demencijai (*angl.* Lewy Body Dementia) būdinga α -sinukleino baltymų (Lewy kūnelių) kaupimasis žievės neuronuose. Klinikiniai simptomai persidengia tiek su Alzheimerio, tiek su Parkinsono ligomis, todėl diagnostika dažnai yra sudėtinga (Taylor et al., 2020). Sergantieji Lewy kūnelių demencija patiria svyruojančias kognityvines būsenas, regos haliucinacijas (ankstyvas požymis) ir parkinsoninius motorinius simptomus, tokius kaip bradikinezija ir rigidiškumas. Vienas iš išskirtinių požymių – REM miego sutrikimas, kuris gali pasireikšti dar prieš kognityvinius simptomus (St Louis & Boeve, 2017). Pacientai, sergantys Lewy kūnelių demencija, yra itin jautrūs antipsichotiniams vaistams, todėl jų vartojimas gali sukelti nepageidaujamų šalutinių efektų (Prasad et al., 2023).

Frontotemporalinė demencija – tai neurodegeneracinių sutrikimų grupė, kuriems būdinga priekinės ir (arba) smilkininės smegenų žievės degeneracija (I. Khan & De Jesus, 2025). Ši liga dažniau pasireiškia žmonėms iki 65 metų amžiaus ir turi dvi klinikines formas: elgsenos ir kalbos (Bott et al., 2014). Elgsenos forma pasireiškia reikšmingais asmenybės ir socialinio elgesio pokyčiais – apatija ir abejingumu (Rascovsky et al., 2011). Kalbos forma pasireiškia progresuojančia afazija ar kalbos supratimo praradimu. Skirtingai nei AL atveju, ankstyvose frontotemporalinės demencijos stadijose atminties funkcijos dažnai lieka nepažeistos (Gregory et al., 1999). Kadangi patvirtinto farmakologinio gydymo nėra, pagrindinis dėmesys skiriamas kognityvinėms ir elgsenos terapijoms (Olney et al., 2017).

Lengvas kognityvinis sutrikimas (*angl.* mild cognitive impairment, MCI) yra tarpinė būseną tarp įprasto senėjimo ir demencijos, kuriai būdingas kognityvinių funkcijų suprastėjimas, kuris dar netrukdo kasdieniam gyvenimui (Dubois et al., 2016). MCI gali būti amnezinis (paveikiantis atmintį) arba neamnezinis, bei paveikti vieną ar kelias kognityvines sritis. Amnezinis MCI laikomas didelės rizikos būseną Alzheimerio ligos išsivystymui, tačiau ne visi atvejai progresuoja – dalis gali stabilizuotis ar net sugrįžti į normalią būseną (Jongsiriyanong & Limpawattana, 2018). Apatija – lengvam kognityviniam sutrikimui būdingas simptomas, kurio pasireiškimas gali būti demencijos progresavimo požymis (Connors et al., 2023). Laiku atpažinus MCI galima pradėti aktyvų stebėjimą ir intervencijas, kurios gali padėti atitolinti ar net išvengti demencijos išsivystymo. Nors šiuo metu nėra patvirtintų vaistų MCI gydymui, yra rekomendacijos keisti gyvenimo įpročius – užsiėmimas kognityvinėmis treniruotėmis, fizinio aktyvumo palaikymas, miego ir kraujagyslių rizikos veiksnių valdymas (Petersen, 2016).

Atminties sutrikimų klinikinis spektras yra sudėtingas ir jų neuropatologiniai pokyčiai persidengia. Alzheimerio liga, kraujagyslinė demencija, Lewy kūnelių demencija ir

frontotemporalinė demencija sudaro pagrindines kognityvinių sutrikimų priežastis vyresnio amžiaus žmonėms (Emmady et al., 2025). Ankstyvas ir tikslus šių būklių atpažinimas – remiantis išsamia anamneze, kognityviniais testais bei vaizdinimo ir biomarkerių duomenimis – yra esminis efektyviam gydymui. Nors dabartiniai vaistai dažniausiai veikia simptomiškai, nefarmakologinės intervencijos išlieka pagrindinėmis kompleksinio gydymo strategijomis (S. Khan et al., 2020).

1.3. Atminties sutrikimų mechanizmai

Atminties funkcijų pažeidimų mechanizmai yra sudėtingi ir daugialypiai – jie apima paveldimumą, neuropatologinius pokyčius, neurocheminį disbalansą ir sisteminius veiksnius, tokius kaip senėjimas ar kraujotakos sistemos problemos (Singh et al., 2015).

1.3.1. Paveldimumo veiksniai

Mutacijos *APP*, *PSEN1* (angl. presenilin-1) ir *PSEN2* (angl. presenilin-2) genuose yra siejamos su ankstyvąja šeimine AL forma, kuri sudaro mažiau nei 5% visų atvejų (Van Cauwenberghe et al., 2016). Dėl mutacijų *APP* genuose padidėja Aβ agregavimosi smegenyse ir AL išsivystymo tikimybė (Kanatsu & Tomita, 2017). Nors daugiau nei 90% AL atvejų yra vėlai pasireiškiančios ir sporadinės formos, yra įrodyta, kad šių AL formų patologijas sukelia įvairių genetinių ir aplinkos veiksnių sąveika (Bekris et al., 2010). *APOE* (angl. *Apolipoprotein E*) genas (ypač jo alelis ε4) yra laikomas abiejų (šeiminės ir sporadinės) formų rizikos faktoriumi (Corder et al., 1993; Saunders et al., 1993). Kadangi genų sekoskaitos technologijos sparčiai tobulėja ir tampa labiau prieinamos, naudojantis plataus masto genomo asociacijos tyrimus, surandama vis daugiau genetinių rizikos faktorių (Harold et al., 2009).

1.3.2. Neuropatologiniai veiksniai

Neuropatologiniai veiksniai yra esminiai tiek atminties sutrikimų pradžioje, tiek jų progresavimo metu. Kaip jau minėta, AL būdingi požymiai yra Aβ plokštelių kaupimasis ekstraląstelinėje erdvėje bei hiperfosforilinto tau baltymo tinklelių kaupimasis neuronuose (Zheng & Wang, 2024). Šie pokyčiai prasideda vidurinėje smilkininės žievės srityje, ypač hipokampe ir vėliau plinta į neokorteksą (Trejo-Lopez et al., 2022). Patologiniai procesai sukelia sinapsinę disfunkciją, neuronų žūtį ir žievės atrofiją. Vaizdinimo tyrimai rodo, kad AL pradžioje pastebimas hipokampo tūrio sumažėjimas (Jellinger, 2020).

1.3.3. Neurocheminiai veiksniai

Neurocheminiai sutrikimai yra itin svarbūs atminties pažeidimų mechanizams. Vieni iš pagrindinių – cholinerginės sistemos sutrikimai, ypač aktualūs Alzheimerio ligos atveju (Z.-R. Chen et al., 2022). Priekinių smegenų pamato (angl. basal forebrain) sričių cholinerginių neuronų degeneracija lemia sumažėjusią acetilcholino koncentraciją žievėje, taip trikdydama sinapsinę transmisiją, svarbią dėmesiui ir kodavimui. Reikšmingas ir glutamato sistemos vaidmuo. Kadangi

NMDA receptoriams būdingas daug didesnis Ca^{2+} jonų pralaidumas palyginus su kitais jonotropiniais glutamato receptoriais, ši NMDA receptorių savybė AL atveju sukelia eksitotoksiškumą, kuris skatina neuronų žūtį (Wang & Reddy, 2017). Taip pat nustatyta, kad monoaminų (dopamino, serotonino, norepinefrino) disbalansas prisideda prie nuotaikos ir elgesio simptomų, lydinčių demenciją (Martorana & Koch, 2014). Dopamino trūkumas ypač ryškus Lewy kūnelių ir Parkinsono demencijoms, kur jis turi įtakos tiek motoriniams, tiek kognityviniams simptomams (Shaikh et al., 2023). Dar vienas svarbus komponentas – neurotrofiniai veiksniai, ypač smegenų neurotrofinis faktorius (angl. brain-derived neurotrophic factor, BDNF). Jis palaiko sinapsinį plastiškumą ir ilgalaikę potenciaciją (LTP) – procesus, būtinus mokymuisi ir atminčiai. BDNF sumažėjusi koncentracija sergant AL ir senstant siejama su prastėjančiomis kognityvinėmis funkcijomis (Gao et al., 2022).

1.3.4. Sisteminiai veiksniai

Tarp sisteminių veiksnių pagrindinis yra senėjimas, tai yra stipriausias demencijos rizikos veiksnys (Hou et al., 2019). Senėjimo metu didėja oksidacinis stresas, mitochondrijų disfunkcija ir lėtinis uždegimas, kurie prisideda prie neuronų pažeidžiamumo ir kognityvinių funkcijų prastėjimo. Kraujagyslių senėjimas sukelia endotelio disfunkciją ir sumažėjusią smegenų perfuziją, tai reiškia prastesnį deguonies ir maisto medžiagų tiekimą nervų ląstelėms (Tini et al., 2020). Tokie reiškiniai kaip arterijų sustandėjimas, mikrohemoragijos ir aterosklerozė (dažni vyresnio amžiaus žmonėms) yra glaudžiai susiję su atminties sutrikimu (Dolan et al., 2010). Pastaruoju metu vis daugiau dėmesio skiriama imuninės sistemos ir uždegimo vaidmeniui tyrinėjimui. Lėtinis sisteminis uždegimas, dažnai susijęs su nutukimu, II tipo diabetu ir metaboliniu sindromu, gali skatinti neurouždegimą, kurį sukelia mikroglijos aktyvacija (Santos et al., 2017). Mikroglija, nors iš pradžių atliekanti apsauginę funkciją, ilgainiui tampa žalinga, sukelianti sinapsių praradimus ir neuronų pažeidimus (Hansen et al., 2018). Įdomus naujas tyrimų laukas – žarnyno ir smegenų ašis (angl. gut-brain axis). Žarnyno mikrobiotos disbalansas vyresnio amžiaus žmonėms gali prisidėti prie sisteminio uždegimo ir neurotransmiterių sintezės pokyčių, kas galimai turi įtakos ir kognityvinėms funkcijoms (Kowalski & Mulak, 2019). Be to, hormoniniai pokyčiai – ypač estrogeno ir testosterono mažėjimas su amžiumi – taip pat turi reikšmės. Estrogenas veikia hipokampo struktūrą, moduliuoja cholinerginę ir serotonerginę veiklą, o jo netekimas po menopauzės galimai prisideda prie padidėjusios AL rizikos moterims (Janicki & Schupf, 2010).

1.4. Atminties sutrikimų modeliavimas

Modelių kūrimas ir taikymas atminties sutrikimų tyrimuose yra tapęs vienu pagrindinių šiuolaikinės neurologijos ir biomedicinos tyrimų įrankių. Kadangi su amžiumi ir neurodegeneracija susiję atminties sutrikimai vis dažnesni, modeliavimas įgyja reikšmę ne tik siekiant suprasti ligos

mechanizmus, bet ir siekiant identifikuoti diagnostinius žymenis, išbandyti terapines strategijas bei prognozuoti ligos eigą (Chen & Zhang, 2022).

1.4.1. Modeliavimo tikslai

Tiesioginiai genetinių, molekulinų, ląstelinių ir sisteminių veiksnių sąveikų tyrimai su žmonėmis yra ribojami etiniais, logistiniais ar techniniais aspektais. Todėl biologiniai, kompiuteriniai ar hibridiniai modeliai tarnauja kaip tyrimų platformos, leidžiančios kontroliuojamomis sąlygomis analizuoti atminties sutrikimų dinamiką (Alayba et al., 2024; Jones et al., 2022).

Vienas iš ryškiausių modeliavimo tikslų – išsiaiškinti biologinius procesus, lemiančius atminties sutrikimą. Modeliai leidžia atkurti neuropatologinių (pvz., beta-amiloido, tau) kaupimąsi, neurouždegiminius procesus ar sinapsių degeneraciją, kaip tai vyksta žmogaus organizme (Drummond & Wisniewski, 2017). Modeliai taip pat leidžia eksperimentiškai įvertinti teorinius teiginius (hipotezes) – pvz., ar sinapsių disfunkcija sukelia neuronų žūtį, ar tai yra to pasekmė; ar tam tikros genų mutacijos sukelia atminties sutrikimus, ar tam būtinas aplinkos poveikis (Shineman et al., 2011). Be to, patikimi biomarkeriai yra būtini ankstyvai diagnostikai ir ligos eigos sekimui, o modeliai sudaro sąlygas cerebrospinalinio skysčio, kraujo ar vaizdinimo biomarkerių tyrimui (Cummings, 2019). Modeliai taip pat yra svarbūs ikiklinikiniams farmaciniams tyrimams, jie leidžia įvertinti įvairių junginių efektyvumą, dozes ir galimą toksiškumą dar prieš pereinant prie klinikinių tyrimų (Akhtar et al., 2022). Kompiuteriniai ir hibridiniai modeliai naudingi simuliuojant ligos progresavimą ir gydymo strategijas. Jie integruoja duomenis nuo molekulinio iki elgesio lygmens ir taip prisideda prie adaptyvių klinikinių tyrimų planavimo (Saraceno et al., 2013).

1.4.2. Modeliavimo tipai

Biologiniai modeliai apima tiek *in vivo* (gyvuose organizmuose), tiek *in vitro* (ląstelių kultūrose) sistemose taikomus metodus. Į šią kategoriją patenka tyrimai su transgeniniais graužikais bei tyrimai su iš pacientų gautomis pluriipotentinėmis kamieninėmis ląstelėmis (*angl.* induced pluripotent stem cells) (Prajapat et al., 2023; Xu et al., 2023).

Kompiuteriniai modeliai simuliuoja kognityvinius procesus ir neuroninius tinklus, pasitelkiant matematinius algoritmus ir dirbtinių tinklų principus (Jones et al., 2022). Tai leidžia analizuoti atminties kodavimo, konsolidavimo ir atkūrimo procesus patloginėmis sąlygomis. Šie modeliai naudingi ne tik teorijų tikrinimui, bet ir farmakologinių intervencijų simuliacijoms bei didelių duomenų integracijai (pvz., genomikos, neurovaizdinimo, elgsenos) (Saraceno et al., 2013).

Hibridiniai ir integraciniai modeliai jungia biologinius duomenis su skaičiavimo įrankiais (Alex et al., 2025). Integraciniai modeliai yra svarbūs sistemų biologijoje, kur analizuojamos sudėtingos sąveikos tarp genų, baltymų ir aplinkos veiksnių. Šie modeliai vis dažniau vertinami

siekiant sukurti tikslius medicininius metodus neurodegeneracinėms ligoms gydyti (Alayba et al., 2024).

1.5. Atminties sutrikimų gyvūniniai modeliai

Nepaisant sparčios pažangos molekulinės biologijos, neurovaizdinimo ir *in silico* (kompiuterinių) simuliacijų srityse, gyvūnų modeliai vis dar išlieka nepakeičiami neurologiniuose tyrimuose, ypač siekiant suprasti atminties sutrikimų mechanizmus (Wilcock & Lamb, 2024). Vienas didžiausių gyvūnų modelių pranašumų – galimybė tirti biologinius procesus fiziologinės sistemos lygmeniu, ko nebūtų galima padaryti *in vitro* arba įvairiais skaičiavimo būdais (Homborg et al., 2021). Kaip jau buvo minėta pradžioje, atminties sutrikimai kyla dėl genetinių, molekulinų, ląstelių ir aplinkos sąveikų, o tik gyvame organizme šie procesai gali būti tiriami natūralioje aplinkoje. Pavyzdžiui, transgeninėms pelėms, turinčioms paveldimų Alzheimerio ligos mutacijų (pvz., APP23Tg ar Tg2576), išsivysto ne tik amiloido-beta patologija, bet ir elgsenos pokyčiai, imuninis atsakas bei metaboliniai sutrikimai, kurie daro įtaką kognityvinėms funkcijoms (Saraceno et al., 2013).

Taip pat gyvūnų modeliai leidžia griežtai kontroliuoti genetiką, aplinkos veiksnius, mitybą ir cirkadinį ritmą, kas yra neįmanoma tiriant žmones, tokia eksperimento valdymo kontrolė mažina trikdančius ir nenumatytus veiksnius ir užtikrina tyrimų pakartojamumą (Nestler & Hyman, 2010). Pavyzdžiui, optogenetikos ar chemogenetikos metodais galima tiksliai aktyvuoti konkrečius neuroninius tinklus, susijusius su atminties funkcija (Whalley, 2015). Roy ir kt. (2016) atliko tyrimą, kuriame optogenetiškai aktyvavo hipokampo engramų ląsteles ir atkūrė specifinius prisiminimus amnezinėms pelėms, taip įrodydami ryšį tarp neuroninių tinklų ir prisiminimo (Roy et al., 2016). Dar vienas svarbus gyvūnų modelių bruožas yra ilgalaikės ligos eigos stebėjimas – nuo ikiklinikinės stadijos iki pažengusios. Pavyzdžiui, TgF344-AD žiurkių modelis pasižymi laipsnišku kognityvinių funkcijų prastėjimu – nuo lengvo sutrikimo iki ryškios demencijos, taip atspindėdamas AL eigą. Tokie modeliai padeda identifikuoti ankstyvuosius atminties silpnėjimo žymenis (R. M. Cohen et al., 2013).

Vienas plačiausiai gyvūnų modelių pritaikymo būdų – ikiklininis vaistų testavimas. Prieš išbadant naują medikamentą su žmonėmis, būtina įvertinti jo veiksmingumą, farmakokinetiką ir saugumą gyviems organizmams (Walker, 2004). Vaistams, kurie paveikia CNS (centrinę nervų sistemą), turi būti įvertintas prasiskverbimas per kraujo-smegenų barjerą (*angl.* blood-brain-barrier) ir galimas neurotoksinis poveikis (Neumaier et al., 2021). Pastarųjų metų tyrimuose su pelėmis tiriami antisensiniai oligonukleotidai, ir AAV virusais grįsta genų terapija rodo perspektyvius rezultatus tauopatijų gydymui (DeVos et al., 2017).

Pasitelkiant modernias genų inžinerijos priemones, tokias kaip CRISPR/Cas9, kuriami tiksliai nukreipti modeliai (knock-in ar knock-out mutacijos) konkrečių genų įtakos atminčiai tyrimui. Taip

galima modeliuoti poligenines ar genų ir aplinkos sąveikos formas, kurios būdingos nepaveldimai (sporadinei) demencijos formai (De Plano et al., 2022).

Nors nė vienas modelis negali idealiai atspindėti žmogaus ligos, validuoti modeliai gali suteikti vertingų įžvalgų. Elgsenos testai, tokie kaip Morris vandens labirintas, naujo objekto atpažinimo testas ar baimės sąlygojimo tyrimas, padeda įvertinti hipokampo ir smegenų žievės funkcijas, kurias galima palyginti su žmogaus kognityviniais testais (Puzzo et al., 2014).

1.6. Genetiniai atminties sutrikimų gyvūnų modeliai

Kaip buvo aptarta ankstesniame skyriuje, genetiniai gyvūnų modeliai yra ypač svarbūs tiriant atminties sutrikimus ir neurodegeneracines ligas, ypač Alzheimerio ligą. Šių modelių pagalba galima įvesti su paveldimomis demencijos formomis susijusias genetines mutacijas ir tyrinėti molekulinis bei ląstelinius ligos mechanizmus (Drummond & Wisniewski, 2017). Egzistuoja tiek bestuburių, tiek stuburinių gyvūnų genetiniai modeliai, o jų taikymas suteikia reikšmingų įžvalgų apie ligos vystymąsi, terapinių taikinių nustatymą bei farmakologinių intervencijų testavimą. Vienas plačiausiai ir geriausiai ištirtų modelių yra APP/PS1 transgeninės pelės, kurios dėl patikimų ir pakartojamų fenotipų plačiai naudojamos Alzheimerio ligos tyrimuose (Z.-Y. Chen & Zhang, 2022).

Tarp bestuburių dažnai naudojamas *Caenorhabditis elegans* – paprastas organizmas, turintis trumpą gyvenimo ciklą ir gerai ištirtą nervų sistemą (Mhatre et al., 2013). Nors šis kirminas neturi smegenų, jo molekuliniai mechanizmai, ypač susiję su sinapsiniu perdavimu, yra panašūs į žmogaus. Transgeniniai *C. elegans* modeliai, kurie ekspresuoja žmogaus amiloido-beta (Aβ) peptidus, dažnai patiria paralyžių ir jų gyvenimo ciklas būna trumpesnis, todėl jie tinka itin greitam neurodegeneracinių efektų tyrimui (Z.-Y. Chen & Zhang, 2022).

Vaisinė muselė *Drosophila melanogaster* taip pat plačiai naudojama, nes gali atlikti sudėtingus elgesio veiksmus, įskaitant mokymąsi ir atminties procesus (Prüßing et al., 2013). Į jos genomą įvedus žmogaus *APP* ar *tau* genus, galima sukelti Alzheimerio ligai būdingus požymius. Pavyzdžiui, *D. melanogaster* su *APP* mutacija pasireiškia su amžiumi susijusi neurodegeneracija, o ekspresuojant *tau* geną stebimi neuroninių funkcijų sutrikimai (Merdes et al., 2004). Vis dėlto šiam modeliui trūksta stuburiniams gyvūnams būdingos smegenų struktūros, todėl jis mažiau tinkamas kai kuriems sudėtingesniems tyrimams.

Tarp stuburinių modelių ypač išsiskiria zebražuvės (*Danio rerio*), kurių genomas apie 85-95% sutampa su žmogaus, o dėl skaidrių embrionų galima lengvai stebėti vystymosi procesus (Z.-Y. Chen & Zhang, 2022). Transgeninėse zebražuvėse, turinčiose žmogaus *APP* ar *tau* mutacijas, kaupiasi Aβ (X. Wang et al., 2021). Vis dėlto jų smegenų struktūra labai skiriasi nuo žinduolių,

ypač dėl to, kad neturi smegenų žievės, todėl šis modelis ne visada tinkamas rezultatų perkėlimui į žmogaus ligų kontekstą (Kalueff et al., 2012, 2014).

Plačiausiai taikomi genetiniai modeliai atminties tyrimuose yra graužikai, ypač pelės. Vienas iš svarbiausių yra APP/PS1 transgeninių pelių modelis, sukurtas įvedant mutacijas, kurios koduoja žmogaus amiloido prekursoriaus (APP) ir presenilino-1 (PS1) baltymus (Holcomb et al., 1998). Šių pelių smegenyse amiloidinės plokštelės pradeda formuotis nuo 4 mėnesių amžiaus, o joms esant 6 mėnesių amžiaus, pasireiškia erdvinio mokymosi ir atminties kognityviniai sutrikimai naudojant, pavyzdžiui, Morris vandens labirinto testą ar Y labirinto testą (Braidy et al., 2012). Šiame modelyje stebima mikroglijos aktyvacija, sinapsinio perdavimo sutrikimai ir sumažėjusi ilgalaikė potenciacija (LTP) ypač hipokampo srityje (Sasaguri et al., 2017). Tačiau šioms pelėms nepasireiškia tau patologija, todėl jos netinkamos neurofibrilinių tinklelių poveikio tyrimui (Tag et al., 2022). Nepaisant to, dėl ryškios ir anksti pasireiškiančios amiloidinės patologijos, šis modelis yra plačiai naudojamas (Rocha-Martins et al., 2015). Kitas reikšmingas graužikų modelis – 3xTg-AD pelės, turinčios *APP*, *PS1* ir *tau* mutacijas. Šioms pelėms išsivysto ir amiloidinės plokštelės, ir neurofibriliniai tinkleliai, todėl tinka šių baltymų sąveikos tyrimui (Javonillo et al., 2022). Kognityviniai sutrikimai šioms pelėms pasireiškia 6 mėnesių ir prastėja su amžiumi (Drummond & Wisniewski, 2017). Šio modelio trūkumas yra dažni fenotipų pokyčiai ir genetinis nestabilumas. Dar vienas svarbus modelis – 5xFAD pelės, turinčios penkias mutacijas trijuose *APP* ir dviejuose *PS1* genuose. Šis modelis išsiskiria agresyviu ligos progresavimu – Aβ aptinkamas jau 1,5 mėnesio amžiaus, o plokštelės formuojasi nuo 2 mėnesių (Forner et al., 2021). Neuronų žūtis stebima pelėms esant 6 mėnesių amžiaus. Nors tai puikus modelis amiloido patologijos ir neurouždegimų tyrimui, jis nėra tinkamas tau baltymo sukeltų pakitimų analizei. Naudojamas ir TgF344-AD žiurkių modelis, kuriame įvestos žmogaus *APP* ir *PS1* mutacijos (Sagalajev et al., 2023). Šioms žiurkėms per maždaug 16 mėnesių išsivysto tiek amiloidinės plokštelės, tiek tauopatija ir stebima neurodegeneracija (Fowler et al., 2022). Joms būdingi kognityviniai sutrikimai ir sinapsinės funkcijos pažeidimai. Kadangi žiurkių smegenys didesnės, šis modelis leidžia atlikti detalesnius elgesio ir vaizdinimo tyrimus (Xu et al., 2023).

Be graužikų, kai kuriais atvejais naudojami ir didesni gyvūnai. Pavyzdžiui, šunims su amžiumi būdingas kognityvinių funkcijų suprastėjimas ir amiloido kaupimasis – tai panašus požymis į ankstyvąją Alzheimerio ligą. Nors tau patologija šunims retai būdinga ir yra dideli individualūs skirtumai, šis modelis artimas natūraliam, būdingam žmonėms (Head, 2013).

Panašūs senėjimo procesai į žmogaus matomi ir nežmoginiuose primatuose, tokiose kaip makakos ir marmozetės, tačiau transgeninių primatų modelių kol kas išvesta labai mažai (Z.-Y. Chen & Zhang, 2022).

Genetiniai modeliai turi daugybę pranašumų – jie leidžia kontroliuoti ligos kilmę, analizuoti atskirus genetinius vienetus, pasižymi stabiliais fenotipais, todėl puikiai tinka hipotezių testavimui. Juose vienu metu galima tirti molekulinis, elgsenos ir elektrofiziologinius parametrus (Onos et al., 2016). Daugelis vaistų pirmiausia testuojami būtent naudojant šiuos modelius. Tačiau šie modeliai turi ir apribojimų – dėl nenatūralių promoterių naudojimo galima netipiška genų raiška, dauguma modelių atspindi paveldimą Alzheimerio ligos rūšį, kuri sudaro tik labai nedidelę dalį visų atvejų. Taip pat dėl tarprūšinių skirtumų rezultatus ne visada galima perkelti į žmogaus ligų kontekstą (Chen & Zhang, 2022).

1.7. Farmakologiniai atminties sutrikimo gyvūnų modeliai

Farmakologiniai atminties sutrikimų modeliai yra itin naudingi tiriant kognityvinių sutrikimų neurocheminį aspektą bei vertinant galimų terapinių medžiagų efektyvumą (Gilles & Ertlé, 2000). Skirtingai nei genetiniai modeliai, kurie imituoja neurodegeneracinių ligų etiologiją, farmakologiniai modeliai pasižymi laikinio valdymo galimybe, poveikio grįžtamumu bei paprastu taikymu (Gilles & Ertlé, 2000). Šie modeliai naudingi norint atrinkti potencialius kognityvines funkcijas gerinančius vaistus ir norint išsiaiškinti specifinių neurotransmiterių sistemų vaidmenį (Dudal et al., 2022). Dažniausiai tiriami farmakologiniai poveikiai cholinerginei, glutamaterginei ir GABAerginei sistemoms, kurios turi svarbų vaidmenį sinapsinio plastiškumo ir informacijos apdorojimo procesams (Bartus et al., 1982). Tarp atminties sutrikdymui naudojamų medžiagų – anticholinerginiai junginiai – tokie kaip skopolaminas ir triheksifenidilis (*angl.* trihexyphenidyl, THP), kurie plačiai taikomi norint sukelti trumpalaikius kognityvinius sutrikimus (Agrawal et al., 2009; Pomara et al., 2004).

Vienas iš tokių naudojamų medžiagų – skopolaminas, neselektyvus muskarininių receptorių antagonistas, ilgą laiką naudojamas siekiant sukelti grįžtamus atminties sutrikimus gyvūnų modeliuose (Chen & Yeong, 2020). Skopolaminu sutrikdomi su hipokampu susiję mokymosi ir trumpalaikės atminties procesai (Bajo et al., 2015; Blokland, 2022). Naujame tyrime buvo nustatyta, kad 3 savaites trukusios pakartotinės skopolamino (1 mg/kg) injekcijos reikšmingai sutrikdė Wistar žiurkių trumpalaikę atmintį. Tai parodė sumažėjęs teisingų spontaninių alternacijų skaičius T labirinto teste ir naujo objekto atpažinimą (Poceviciute et al., 2025). Šis modelis plačiai naudojamas vertinant cholinesterazės inhibitoriaus, pavyzdžiui, donepezilio, veiksmingumą – šis vaistas sušvelnina skopolamino sukeltus kognityvinius sutrikimus ir imituoja panašius terapinius efektus, pastebimus gydant Alzheimerio liga sergančius pacientus. Vis dėlto verta paminėti, kad skopolaminas veikia ir periferinę nervų sistemą bei gali sukelti tokius šalutinius poveikius, kaip nevalingą seilėtekį, vyzdžio dydžio pokyčius bei kitus, su lygiųjų raumenų funkcijomis, susijusius pokyčius (Yadang et al., 2020).

Kita, rečiau, naudojama medžiaga – triheksifenidilis (THP), taip pat muskarininių receptorių antagonistas, naudojamas norint sumodeliuoti kognityvinius sutrikimus dėl šio selektyvesnio poveikio centrinei nervų sistemai (Huang et al., 2016). Klinikinėje praktikoje THP naudojamas gydant Parkinsono ligos simptomus ar vaistų sukeltą ekstrapiramidinį sindromą, tačiau jis taip pat gali sukelti ir šalutinius poveikius, tokius kaip atminties sutrikimai. Tyrimai rodo, kad THP paveikia tiek erdvinę, tiek darbinę atmintį (Fennig et al., 1987). Huang ir kt. (2016) tyrime buvo nustatyta, kad tris mėnesius trukusios THP injekcijos (0,3 ir 1 mg/kg) reikšmingai sutrikdė Sprague-Dawley žiurkių erdvinį mokymąsi ir atmintį. Tai parodė Morris vandens labirinto testo metu padidėjęs pabėgimo laikas.

Farmakologiniai modeliai turi daug pranašumų. Jie leidžia tiksliai valdyti poveikio laiką ir trukmę, todėl galima tirti tiek trumpalaikius, tiek ilgalaikius atminties procesus (Gilles & Ertlé, 2000). Jie taip pat leidžia paveikti specifines neurotransmiterių sistemas – pavyzdžiui, THP, kuris paveikia cholinerginę sistemą (More et al., 2016). Be to, šie modeliai yra palyginus nebrangūs, greitai įgyvendinami ir galimi pakartotiniai matavimai su tais pačiais gyvūnais, o tai mažina duomenų kintamumą. THP modelis yra pranašus, nes jis selektyviai veikia tik CNS muskarininius receptorių, todėl sukelia mažiau šalutinių poveikių nei skopolaminas (Giachetti et al., 1986; Spinks & Wasiak, 2011). Tačiau farmakologiniai modeliai turi ir apribojimų. Jie neatspindi Alzheimerio ligai būdingų patologinių požymių, tokių kaip amiloidinės plokštelės ar neurofibriliniai tinkleliai. Kai kurios medžiagos, leidžiamos didelėmis dozėmis, gali sukelti motorinius sutrikimus, kurie gali trukdyti įvertinti elgseną. Reakcijos į medžiagas gali skirtis priklausomai nuo gyvūno rūšies, linijos, medžiagos dozės ar injekcijos būdo, todėl būtinas kruopštus eksperimento planas (Rapaka et al., 2022). Dauguma farmakologinių modelių labiau atspindi ūminius nei lėtinius kognityvinius sutrikimus (More et al., 2016).

1.8. Su amžiumi susijusių pokyčių atminties modeliai

Natūralaus senėjimo modeliai yra nepakeičiami tiriant atminties sutrikimus, ypač siekiant suprasti sporadiškai pasireiškiančias ir vėlyvojoje stadijoje prasidedančias neurodegeneracines ligas (plačiausiai paplitusios Alzheimerio ligos rūšys) (Q.-Q. Xu et al., 2023). Skirtingai nei genetiniai ir farmakologiniai modeliai, kurie dažnai imituoja paveldimas ar ūmines ligos formas, natūralaus senėjimo modeliai atkartoja laipsnišką kognityvinių funkcijų blogėjimą, dažniausiai būdingą vyresnio amžiaus žmonėms. Šie modeliai yra unikalūs tuo, kad galima tirti su amžiumi susijusius ląstelinius ir molekulinis pokyčius, netrikdomus genetinių ar farmakologinių intervencijų (Brito et al., 2023).

Žiurkės plačiai taikomos senėjimo tyrimuose dėl gerai ištirtos gyvenimo trukmės ir kognityvinio profilio. Senomis laikomos žiurkės, kurioms daugiau nei 18 mėnesių. Joms būdingi nuoseklūs mokymosi ir atminties pokyčiai, kurie atsiskleidžia įvairių elgsenos testų rezultatuose

(Brito et al., 2023). Viena iš tyrimų Gallagher ir kt. (1993) parodė, kad 24 mėnesių amžiaus Long-Evans žiurkės Morris vandens labirinte ilgiau ieškojo platformos ir mažiau laiko praleido tikslinėje zonoje, tai atspindi sutrikusią erdvinę atmintį. Hamezah ir kt. (2017) tyrimas parodė, kad 27 mėnesių amžiaus Sprague-Dawley žiurkių erdvinis mokymasis ir atmintis yra reikšmingai prastesni nei 14 mėnesių amžiaus žiurkių. Taip pat smegenų struktūrų tūrių palyginimas parodė, kad 27 mėnesių žiurkių hipokampo ir dryžuotojo kūnai turi reikšmingai mažesni, o šoninių skilvelių tūris reikšmingai didesnis palyginus su 14 mėnesių amžiaus žiurkėmis.

Be žiurkių, natūralaus senėjimo tyrimuose naudojami ir kiti gyvūnai. Pavyzdžiui, pelėms irgi galima pritaikyti natūralaus senėjimo modelį (Brito et al., 2023). Gower ir Lamberty (1993) tyrimas su NMRI pelėmis atskleidė, kad nuo vidutinio (11-12 mėn.) pelių amžiaus (iki 22 mėn.) buvo matomi ryškūs erdvinės atminties atpažinimo ir išlaikymo procesų sutrikimai, kurie nepriklausė nuo lokomotorinio aktyvumo, sensomotorikos ar emocionalumo pokyčių. Magnusson ir kt. (2003) atliktas tyrimas naudojant Morris vandens labirinto testą parodė, kad reikšmingai sutrikusi darbinė atmintis pasireiškė C57BL/6JNia pelių grupėms, kurių amžius buvo 24 ir 26 mėnesiai.

Natūralaus senėjimo modeliai turi reikšmingų privalumų. Visų pirma, jie pasižymi aukštu fenotipiniu panašumu į žmogaus kognityvinių funkcijų prastėjimą, kuris susijęs su oksidaciniu stresu, neurouždegiminiais procesais, sinapsių disfunkcija ir mitochondrijų veiklos sutrikimu (Q.-Q. Xu et al., 2023). Kadangi dauguma demencijos formų yra vėlai pasireiškiančios ir nepaveldimos, šie modeliai labiau atitinka kliniškes situacijas nei genetiniai modeliai. Tačiau turi ir trūkumų. Senėjimas yra labai heterogeniškas – ne visiems gyvūnams būdingas vienodas kognityvinių funkcijų blogėjimas (Kennard & Woodruff-Pak, 2011). Senų gyvūnų priežiūra taip pat reikalauja daug laiko ir lėšų bei vietos. Be to, graužikams nebūdinga amiloido ir tau patologija, todėl šie modeliai nėra tinkami visapusiškam demencijos modeliavimui. Nepaisant tokių apribojimų, šie modeliai svariai papildo genetinius ir farmakologinius metodus, norint suprasti atminties sutrikimus, pasireiškiančius natūraliai senėjant (Brito et al., 2023; Jackson et al., 2017; Jaramillo-Rangel et al., 2023).

2. Medžiagos ir metodai

2.1. Laboratoriniai gyvūnai

Pirmame eksperimente buvo panaudota 26 dviejų mėnesių amžiaus C57BL/6J linijos pelių patinai: 10 laukinio tipo (angl. *wild-type*) ir 16 transgeninių APP/PS1 (B6;C3-Tg(APP^{swe},PSEN1^{dE9})85Dbo/Mmjax). Pelės buvo išveistos ir įsigytos iš specializuotos laboratorinių gyvūnų veisyklos („The Jackson laboratory“, Bar Harbor, JAV). Elgsenos tyrimai atlikti, kai pelės buvo 9 mėnesių amžiaus. Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos išduoto leidimo numeris G2-177.

Antrame eksperimente buvo panaudoti 48 Wistar klono 4 mėnesių amžiaus žiurkių patinai. Gyvūnai įsigyti iš Gyvybės mokslų centro Biologinių modelių skyriaus (Vilnius, Lietuva). Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos išduoto leidimo numeris G2-155.

Trečiame eksperimente buvo panaudoti 24 Wistar klono žiurkių patinai. Gyvūnai įsigyti iš Gyvybės mokslų centro Biologinių modelių skyriaus (Vilnius, Lietuva). Elgsenos tyrimai atlikti, kai žiurkės buvo 9 mėnesių (jauno amžiaus pabaigos), 15 mėnesių (vidutinio amžiaus) ir 22 mėnesių (vyresnio amžiaus). Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos išduoto leidimo numeris G2-177.

Visiems gyvūnams tyrimų metu maistas ir vanduo buvo prieinami *ad libitum* ir palaikomas 12 val. šviesos / 12 val. tamsos ciklas (šviesos laikas nuo 7.00 iki 19.00 val.). Pelės buvo laikomos grupėmis, užtikrinant ne mažesnę nei 70-80 cm² plotą vienai pelei. Žiurkės buvo laikomos grupėmis, užtikrinant ne mažesnę nei 350-450 cm² plotą vienai žiurkei. Visi tyrimai buvo atliekami remiantis Europos Parlamento ir Tarybos direktyva 2010/63/ES.

2.2. Naudotos medžiagos

Triheksifenidilis (THP, Sigma-Aldrich, Merck, Vokietija) buvo paruoštas šviežiai prieš pat eksperimentą, jį ištirpdant fiziologiniam tirpale. THP buvo leidžiamas po pilvaplovę, injekcijos tūris 2 ml/kg. Kontrolinei grupei buvo suleistas toks pat tūris fiziologinio tirpalo.

2.3. Elgsenos testai

Visų gyvūnų (ir pelių, ir žiurkių) elgsenos tyrimai buvo atliekami dienos metu (nuo 8 iki 15 val.). Prieš atliekant kitą elgsenos testą visada buvo daroma bent vienos dienos pertrauka. Kiekvienas elgsenos testas buvo filmuojamas virš labirinto įrengta vaizdo kamera. Atviro lauko testo vaizdo įrašų analizė buvo atliekama naudojant specializuotą elgsenos analizės programinę įrangą „Viewer“ („Biobserve GmbH“, Vokietija).

Prieš kiekvieno tyrimo pradžią, gyvūnai buvo paliekami vienai valandai laboratorinėje aplinkoje, kad adaptuotųsi prie pakeistos aplinkos. Eksperimentiniai paviršiai po kiekvieno gyvūno buvo valomi 30% etanoliu, taip sumažinant kitų gyvūnų kvapų (šlapimo, išmatų) įtaką eksperimentui. Tyrimo metu patalpoje būdavo tik tuo metu tiriami gyvūnai.

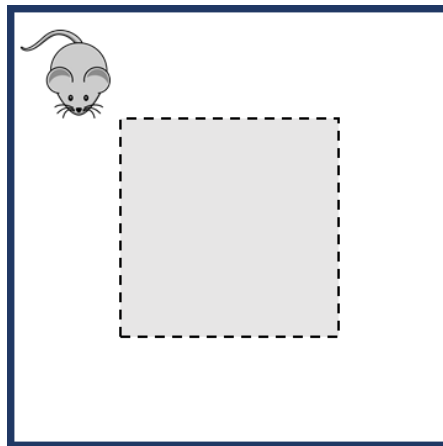
2.3.1. Atviro lauko testas

Atviro lauko labirintas (*angl.* Open field test – OF) pirmiausia buvo sukurtas graužikų emocionalumui matuoti, o dabar tai yra vienas iš plačiausiai naudojamų elgesio testų lokomotorinėms tendencijoms ir su nerimu susijusį elgesį matuoti (Seibenhener & Wooten, 2015). Šis testas grindžiamas graužikams būdingu nenoru lankytis atvirose, nežinomose ir ryškiai apšviestose vietose.

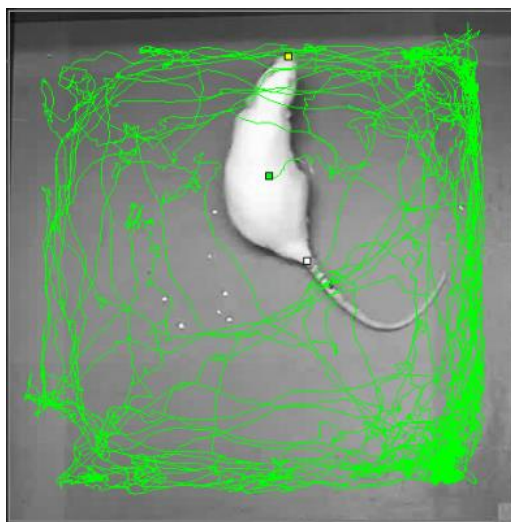
Pelių eksperimento atviro lauko testo labirintą sudaro kvadrato formos neskaidraus plastiko dėžė be dangčio, kurios sienų aukštis turėtų būti pakankamas, kad gyvūnas neiššoktų (matmenys: 40 cm × 40 cm × 30 cm). Centrinė labirinto dalis (20 cm × 20 cm) yra ryškiai apšviesta (~500 lx), tuo siekiama, kad būtų galima pamatuoti su nerimu susijusio elgesio parametrus (**1 pav.**). Įdėjus pelę į labirinto centrą, ji paliekama 10 minučių laisvai tyrinėti erdvę.

Žiurkių atviro lauko testo procedūra vyksta panašiai į pelių, tik labirinto matmenys yra didesni (48 cm × 48 cm × 48 cm), kadangi žiurkės yra didesni gyvūnai. Labirinto centras (16 × 16 cm) taip pat ryškiai apšviestas (~80 lx), o kampai – mažiau (~40-50 lx). Žiurkės patalpinamos į labirinto centrą ir paliekamos 30 minučių tyrinėti labirintą.

Pagrindinis parametras, kuris buvo vertinamas ir pelių, ir žiurkių tyrimų metu, buvo nueito kelio ilgis (**2 pav.**), o tai yra lokomotorines savybes atspindintis parametras (La-Vu et al., 2020).



1 pav. Atviro lauko testo schema. Kontūrinė linija pilkame fone pažymėta centrinė labirinto zona.



2 pav. Bendras žiurkės nueitas kelias (žalia linija) atviro lauko testo metu.

2.3.2. Naujo objekto atpažinimo testas

Naujo objekto atpažinimo testas (*angl.* Novel object recognition test – NOR) yra vienas iš populiariausių elgsenos testų, skirtų įvertinti graužikų atpažinimo atmintį. Pagrindinis tikslas – stebėti gyvūnų elgesį, kai jie vienu metu susiduria su pažįstamu ir nauju objektu (Antunes & Biala, 2012).

Pelių naujo objekto atpažinimo testas vykdomas V formos, iš dviejų sujungtų rankovių sudarytame labirinte (vienos rankos matmenys: 30 cm × 6 cm × 6 cm). Siekiant paskatinti pelių norą tyrinėti objektus, naudojamas mažas labirinto apšvietimas (~15 lx). Šis tyrimas vykdomas trimis etapais: habituacija (1), kai pelės tyrinėja tuščią labirintą, susipažinimas (2), kai pelės tyrinėja labirintą, kuriame yra du identiški objektai (T1), ir testas (3), kai vienas iš pažįstamų objektų yra pakeičiamas nauju, nežinomu pelei objektu (T2). Etapai vykdomi kas 24 val., o kiekvieno iš jų trukmė – 10 minučių (**3 pav.**).

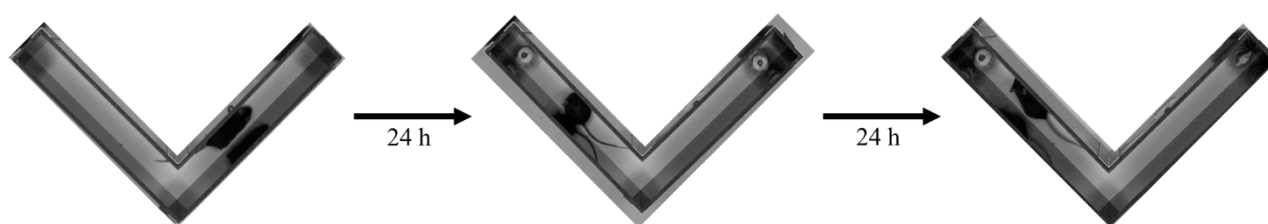
Atliekant šį testą su žiurkėmis naudojamas tas pats labirintas, kaip ir atviro lauko testo metu, tik sumažinamas apšvietimas (~20-30 lx prie objektų). Habituacijos (1) etapas, kai viso narvo žiurkės paliekamos kartu 30 minučių tyrinėti tuščią labirintą, atliekamas likus dienai iki susipažinimo (2) etapo. Susipažinimo (2) ir testo (3) etapų eiga tokia pati, kaip ir eksperimentų, vykdomų su pelėmis, tik pertrauka po susipažinimo etapo yra 15 minučių (**4 pav.**). Antrojo ir trečiojo etapų trukmė yra 3 minutės. Prieš kiekvieną testą tiriamieji objektai buvo valomi 30% etanolio tirpalu, o po to nuvalomi ir distiliuotu vandeniu, ir nusausinami, kad būtų pašalinti kitų gyvūnų kvapai.

Vaizdo įrašai analizuoti apmokyto stebėtojo, kuris buvo aklas eksperimento planui.

Pagrindinis parametras, vertinamas atlikus testo etapo analizę, yra pirmenybės naujam objektui teikimo procentas T2. Jis apskaičiuojamas pagal šią formulę:

$$NOP = \frac{t_n}{(t_s + t_f)} \times 100\% ;$$

kur NOP – pirmenybės naujam objektui teikimo procentas (*angl.* novel object preference), t_n – laikas, praleistas tyrinėjant naują objektą, t_f – laikas, praleistas tyrinėjant pažįstamą objektą. Pirmenybės teikimas naujam objektui parodo graužikų atpažinimo atminties gebėjimus. Gyvūnai, turintys sutrikusią atmintį, naują objektą tyrinėja tiek pat laiko, nei jau pažįstamą objektą. Šio testo metu taip pat galima tyrinėti kitus parametrus: bendrą objektų tyrinėjimo laiką ir priėjimų prie objektų skaičių. Šie parametrai parodo gyvūnų norą tyrinėti, jų lokomotorinį aktyvumą. Sumažėjęs fizinis/lokomotorinis aktyvumas yra siejamas su apatija, kuri būdinga demencijos tipo ligoms.



3 pav. Naujo objekto atpažinimo testo, atliekamo su pelėmis, schema. Pirmiausia, vykdomas habituacijos etapas, kurio metu pelė tyrinėja tuščią labirintą. Po 24 val. vykdomas antrasis – susipažinimo – etapas, kai pelė tyrinėja labirintą, kuriame yra du identiški objektai. Trečiojo etapo metu, po 24 val. pelė tyrinėja labirintą, kai vienas iš pažįstamų objektų yra pakeičiamas nauju.



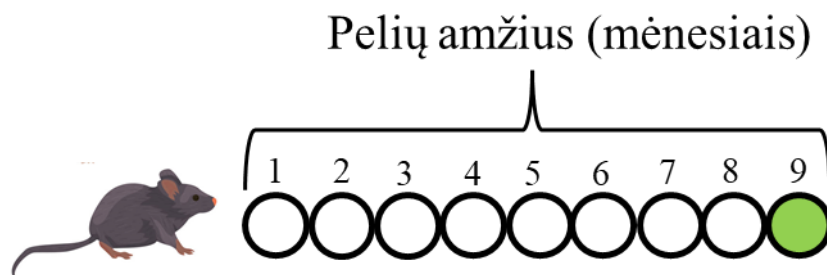
4 pav. Naujo objekto atpažinimo testo, atliekamo su žiurkėmis, schema. Habituacijos etapas, kurio metu viso narvo žiurkės kartu tyrinėja tuščią labirintą. Po 24 val. vyksta susipažinimo etapas – kai žiurkės analizuoja du vienodus objektus (viduryje), o po 15 min. vykdomas testas – kai vienas iš pažįstamų objektų pakeičiamas nauju ir nežinomu objektu (dešinėje).

2.4. Eksperimentų eiga

2.4.1. Genetinis atminties sutrikdymo modelis naudojant transgenines peles (APP/PS1)

Kadangi APP/PS1 transgeninėms pelėms Alzheimerio ligos patologiniai požymiai (amiloidinės plokštelės) pasireiškia, kai joms yra 6-7 mėnesiai, genetinio atminties sutrikdymo modelio tyrimas buvo pradėtas, kai pelėms buvo 9 mėnesiai. Atminties sutrikdymo modelio

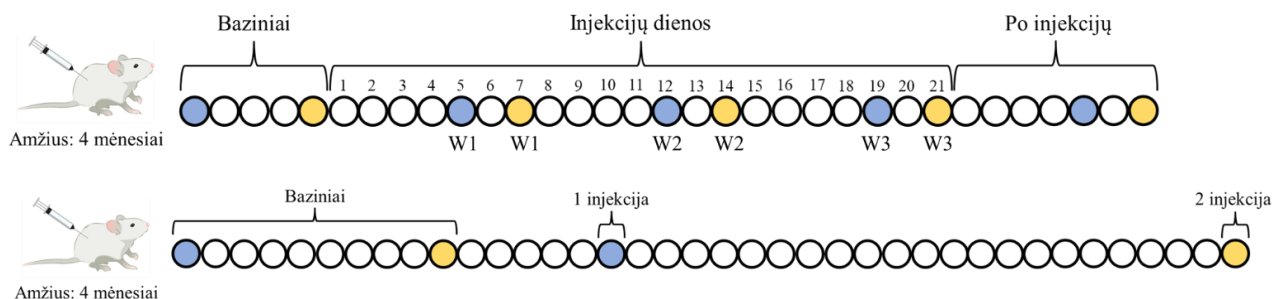
įvertinimui pasitelkiami du elgsenos testai: atviro lauko testas ir naujo objekto atpažinimo testas (5 pav.).



5 pav. Pirmojo eksperimento schema. Žalia spalva pažymėtas pelių amžiaus mėnuo, kai buvo atliekami atviro lauko ir naujo objekto atpažinimo elgsenos testai.

2.4.2. Farmakologinis atminties sutrikdymo modelis naudojant THP injekcijas

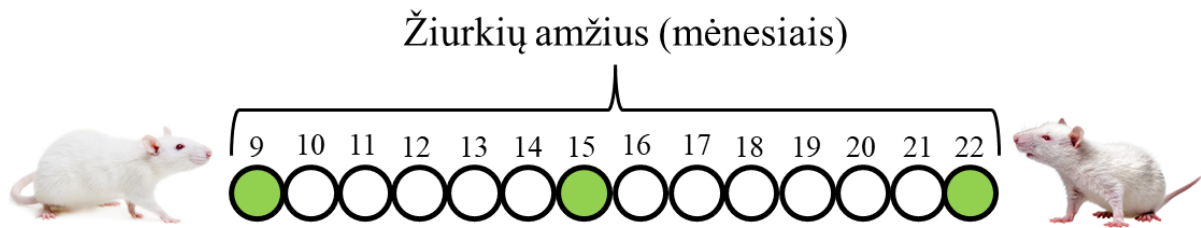
Farmakologinis tyrimas su triheksifenidiliu buvo pradėtas, kai žiurkės buvo 4 mėnesių amžiaus. Prieš tai žiurkės buvo atsitiktinai sugrupuotos į tris grupes ir kiekvieną dieną buvo suleidžiama arba fiziologinio tirpalo, arba 2 mg/kg THP, arba 4 mg/kg THP. Injekcijos buvo atliekamos 21 dieną, o maždaug kas 7 dienas buvo atliekami du elgsenos testai (atviro lauko testas ir naujo objekto atpažinimo testas, 6 pav.). Elgsenos testų dienomis injekcijos buvo atliekamos likus 30 minučių iki testo pradžios.



6 pav. Antrojo eksperimento schema. Viršuje pavaizduotas 21-os injekcijos tyrimo planas, kai kas savaitę buvo kartojami elgsenos testai (Baziniai – prieš prasidedant injekcijoms, W1 – po pirmos injekcijų savaitės, W2 – po antros injekcijų savaitės, W3 – po trečios injekcijų savaitės). Abu elgsenos testai buvo pakartoti po savaitės nuo injekcijų pabaigos, kad būtų galima stebėti, ar liko matomas THP poveikis. Apačioje pavaizduotas vienos injekcijos tyrimo planas. Mėlyna spalva pažymėta atviro lauko testo atlikimo diena, o geltona spalva – naujo objekto atpažinimo testo atlikimo diena.

2.4.3. Su amžiumi susijusių atminties pokyčių tyrimas

Šiame eksperimente visi testai (atviro lauko testas ir naujo objekto atpažinimo testas) buvo atlikti 3 kartus, žiurkėms esant 9 mėnesių (jauno amžiaus), 15 mėnesių (vidutinio amžiaus), 22 mėnesių (vyresnio amžiaus) (7 pav.). Tarp testų, kartą per savaitę, žiurkės buvo pratinamos prie rankų.



7 pav. Trečiojo eksperimento schema. Žalia spalva pažymėti žiurkių amžiaus mėnesiai, kurių metu buvo atliekami du – atviro lauko ir naujo objekto atpažinimo – elgsenos testai.

2.5. Statistinė analizė

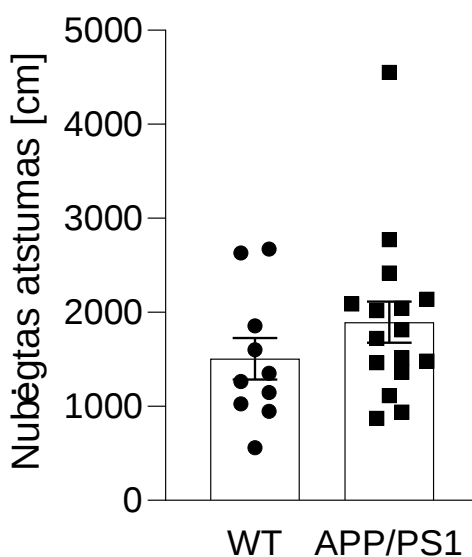
Statistinė duomenų analizė atlikta ir duomenys grafiškai atvaizduoti GraphPad Prism programa (8.4.3 versija). Duomenų normalumas – pasiskirstymas pagal normalųjį (Gauso) skirstinį – buvo įvertintas Shapiro-Wilk kriterijumi. Genetinio eksperimento atviro lauko ir naujo objekto atpažinimo testų rezultatų duomenų imčių poroms, kurios tenkina normalumo prielaidą ir yra nepriklausomos, buvo taikytas Stjudento *t* kriterijus nepriklausomoms imtims (*angl.* unpaired *t*-test). Jeigu duomenų imčių poros netenkina normalumo prielaidos ir yra nepriklausomos, buvo taikytas neparametrinis Mann-Whitney kriterijus. Farmakologinio eksperimento atviro lauko ir naujo objekto atpažinimo testų rezultatams analizuoti buvo taikoma dvifaktorė dispersinė analizė su pakartotinais matavimais (*angl.* two-way repeated measures ANOVA), lyginami kintamieji buvo laikas bei gydymo grupė. Su amžiumi susijusių pokyčių elgsenos testų duomenys buvo analizuoti naudojant vienfaktorę dispersinę analizę su pakartotinais matavimais (*angl.* one-way repeated measures ANOVA), lyginamas kriterijus – amžius. Pasirinktas reikšmingumo lygmuo $p < 0,05$. Kiekybiniai tyrimų duomenys pateikiami grafikuose nurodant jų vidutines vertes (vidurkius) ir standartines vidurkio paklaidas (*angl.* standard error of mean, SEM).

3. Rezultatai ir jų aptarimas

3.1. Genetinis atminties sutrikdymo modelis

3.1.1. Atviro lauko testas

Pirmiausia „Viewer“ programa buvo išanalizuotas pelių aktyvumas atviro lauko testo metu, kuriuo siekta įvertinti lokomotorinį elgesį. Nubėgtas atstumas tarp eksperimentinių grupių (laukinio tipo ir transgeninių pelių) buvo ištirtas, kai pelių amžius buvo 9 mėnesiai.

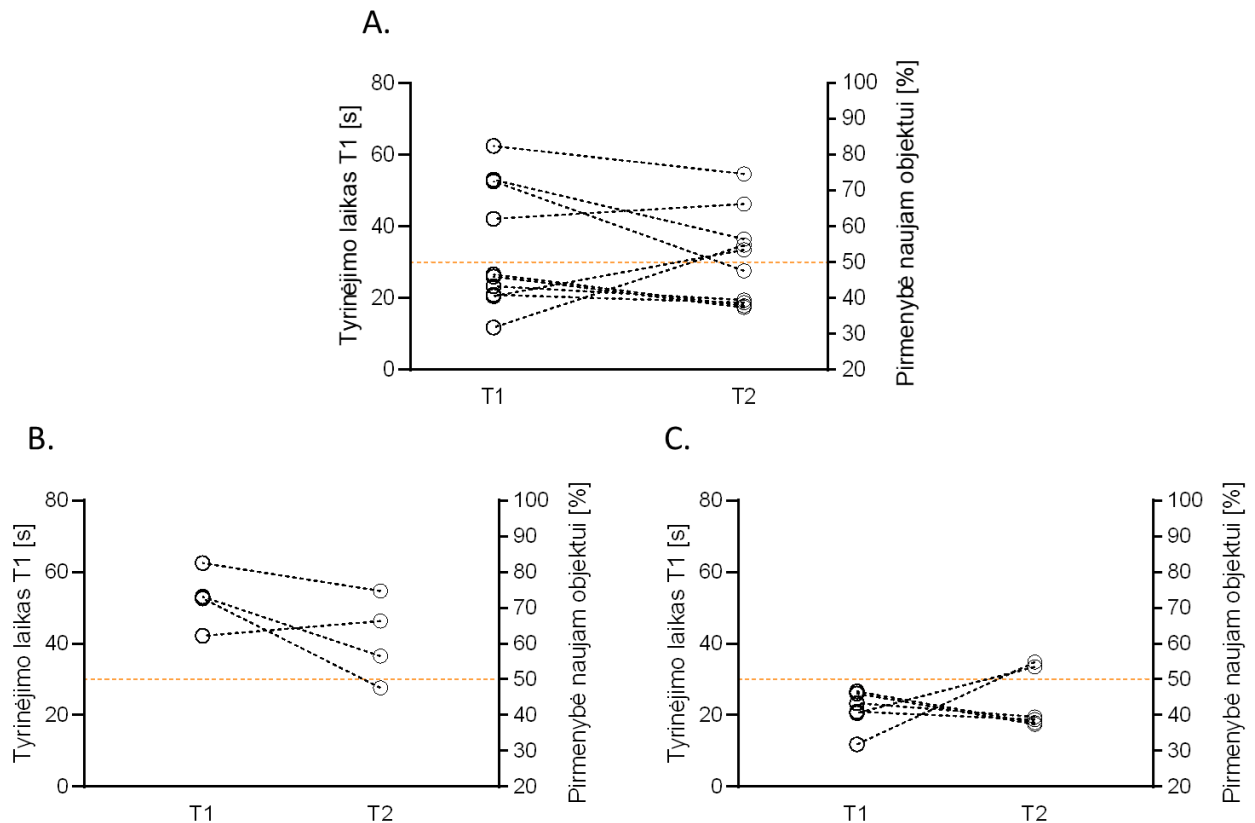


8 pav. Laukinio tipo (WT, n=10) ir transgeninių (APP/PS1, n=16) pelių nubėgtas atstumas (cm) atviro lauko testo metu. Duomenys pateikti individualiomis vertėmis $\pm$ SEM.

Mann-Whitney kriterijaus analizė parodė, kad tarp transgeninių pelių (APP/PS1) ir laukinio tipo pelių nubėgto atstumo atviro lauko testo metu reikšmingų skirtumų nėra ($U = 57$, $p = 0,241$) (**8 pav.**). Ankstesni lokomotorinio aktyvumo tyrimų rezultatai su transgeninėmis pelėmis yra prieštaringi. Yra pademonstruota, kad transgeninėms APP/PS1 pelėms būdingas padidėjęs lokomotorinis aktyvumas ir hiperaktyvumas (Campos et al., 2023; Hulshof et al., 2022), bet kai kurie tyrimai rodo, kad toks elgsenos požymis pastebimas tik iki tam tikro amžiaus (T. Wang et al., 2022). Nors hiperaktyvumas nepasireiškia žmonėms, sergantiems Alzheimerio liga, tokį pelių elgesį galima interpretuoti kaip ankstyvą nervų sistemos disfunkcijos požymį (Martinsson et al., 2022). Tačiau yra ir tyrimų, kuriuose pastebėtas sumažėjęs transgeninių pelių lokomotorinis aktyvumas. Ferguson ir kt. (2013) tyrimas parodė, kad APP/PS1 transgeninėms pelėms nuo 9 mėnesių iki tyrimo pabaigos (kai joms buvo 15 mėn.) buvo būdingas mažėjantis lokomotorinis aktyvumas atviro lauko teste.

3.1.2. Naujo objekto atpažinimo testas

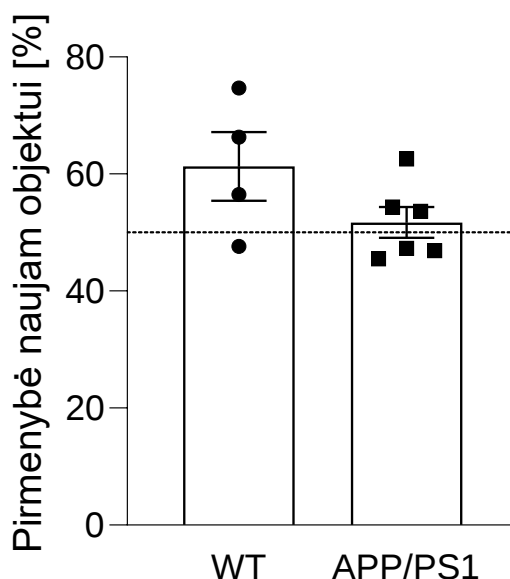
Naujo objekto atpažinimo testas buvo naudojamas ilgalaikės atminties ir bendro noro tyrinėti objektus įvertinimui. Naujo objekto atpažinimo testas atliktas, kai pelėms buvo 9 mėnesiai. Pirmiausia buvo svarbu patikrinti, ar visos pelės aktyviai tyrinėjo objektus, nes tik tokiu atveju galima įvertinti jų gebėjimą atpažinti naują objektą. Todėl buvo nuspręsta į tolimesnius rezultatus įtraukti tik tas peles, kurios susipažinimo fazės metu (T1) bent 30 sekundžių tyrinėjo abu objektus. Šis laiko kriterijus buvo nustatytas remiantis laukinio tipo pelių elgsena.



9 pav. Laukinio tipo (WT) pelių objektų tyrinėjimo laiko (s) susipažinimo fazės (T1) metu ryšys su naujam objektui teikiama pirmenybe T2 fazės metu (skaičiuojamas naujo objekto tyrinėjimo laiko ir bendro abiejų objektų tyrinėjimo laiko santykis, %): (A) visų pelių (n=10), (B) pelių, tyrinėjusių objektus ilgiau nei 30 sekundžių (n=4) ir (C) pelių, tyrinėjusių objektus mažiau nei 30 sekundžių (n=6). Geltona punktyrinė linija žymi ribą, kur tyrinėjimo laikas lygus 30 sekundžių ir naujam objektui teikiama pirmenybė lygi 50%. Ilgesnis negu 50% naujam objektui tyrinėti skiriamas laikas rodo pelės didesnę susidomėjimą nauju stimuliu palyginus su pažįstamu (formulė, pagal kurią skaičiuojama, pateikta 2.3.2. skyriuje). Duomenys pateikiami individualiomis vertėmis.

Pritaikius laiko kriterijų, iš visų laukinio tipo pelių (**9 pav. A.**) liko keturios, kurių objektų tyrinėjimo laikas susipažinimo fazės metu (T1) buvo daugiau nei 30 sekundžių (**9 pav. B.**). Taigi, tik tos laukinio tipo ir transgeninės pelės, kurios atitiko šį kriterijų, buvo įtrauktos į tolimesnę rezultatų analizę. O tos, kurių objektų tyrinėjimo laikas buvo mažesnis nei 30 sekundžių (**9 pav. C.**), buvo laikomos nepakankamai ištyrinėjusios objektus, kad kitą dieną galėtų atpažinti, kuris yra naujas, o kuris – pažįstamas. Naudojant tokį kriterijų yra užtikrinama panaši abiejų objektų

tyrinėjimo trukmė (susipažinimo fazėje) ir taip sumažinama atskirtis tarp individualių gyvūnų elgesio T2 testo metu ir klaidinga rezultatų interpretacija (Leger et al., 2013).

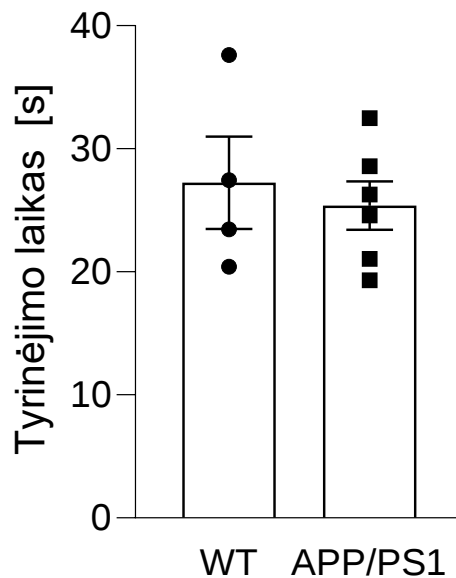


10 pav. Laukinio tipo (WT, n=4) ir transgeninių (APP/PS1, n=6) pelių pirmenybė naujam objektui (skaičiuojamas naujo objekto tyrinėjimo laiko ir bendro abiejų objektų tyrinėjimo laiko santykis, %) T2 testo metu. Punktyrinė linija žymi 50% ribą. Duomenys pateikti individualiomis ir vidutinėmis vertėmis $\pm$ SEM.

Nustatyta, kad transgeninės pelės nesidomėjo nauju objektu (pelės skyrė tiek pat laiko seno ir naujo objekto tyrinėjimui, t.y., pirmenybė naujam objektui buvo 50% (**10 pav.**). Deja, Stjudento *t* kriterijaus analizės reikšmingo skirtumo tarp grupių neparodė ($t(8) = 1,68$; $p = 0,132$) (**10 pav.**).

Įvairių tyrimų rezultatai rodo, kad APP/PS1 transgeninių pelių polinkis teikti pirmenybę naujam objektui varijuoja, tam įtakos gali turėti tokie veiksniai kaip amžius ar eksperimentinės sąlygos. Xu ir kt. (2021) eksperimentas parodė, kad 8 mėnesių transgeninių pelių diskriminacijos indeksas buvo reikšmingai mažesnis už laukinio tipo pelių diskriminacijos indeksą. Webster ir kt. (2013) nustatė, kad APP/PS1 transgeninių pelių diskriminacijos indeksas buvo reikšmingai mažesnis nei laukinio tipo pelių, kai jų amžius buvo 15 mėnesių, o joms būnant 7-11 mėnesių amžiaus reikšmingo skirtumo nebuvo matyti. Mūsų tyrimo atveju, galima matyti, kad stebimas transgeninių pelių polinkis mažiau tyrinėti naują objektą, bet reikšmingi skirtumai galbūt būtų matomi, jei grupių imties dydžiai būtų didesni ir/arba eksperimentas būtų pakartotas vyresnio amžiaus pelėms.

Nors pirmenybė naujam objektui parodo atpažinimo atmintį, svarbu įvertinti ir bendrą tyrinėjimo aktyvumą. Bendras laikas, kurį pelės praleido tyrinėdamos objektus testo metu, leidžia įvertinti jų motyvaciją ir galimus elgesio skirtumus, kurie nepriklauso nuo atminties gebėjimų.



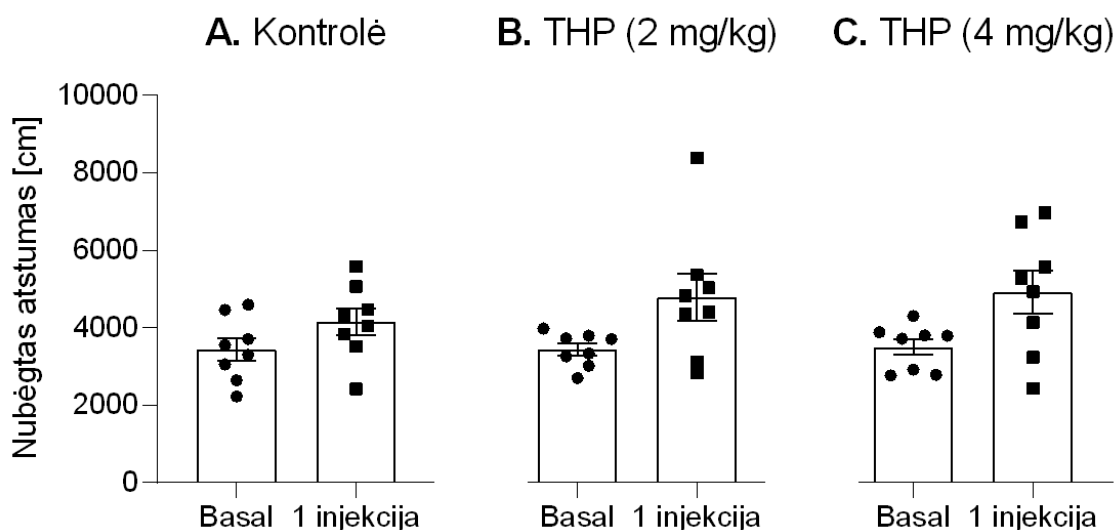
11 pav. Tyrinėjimo laiko (s) T2 testo metu palyginimas tarp laukinio tipo (WT, n=4) ir transgeninių (APP/PS1, n=6) pelių. Duomenys pateikti individualiomis ir vidutinėmis vertėmis $\pm$ SEM.

Stjudento t kriterijaus analizė neparodė reikšmingų skirtumų tarp transgeninių (APP/PS1) ir laukinio tipo pelių domėjimosi objektais naujo objekto atpažinimo testo metu ($t(8) = 0,48$; $p = 0,644$) (**11 pav.**). Tyrinėjimo laiko trukmės analizės rezultatai įvairiuose tyrimuose yra nenuoseklūs, pabrėžiama, kad amžius gali turėti įtakos gyvūno susidomėjimui objektais (Cohen & Stackman, 2015). Kadangi objektų tyrinėjimo trukmė tarp APP/PS1 transgeninių ir lauko tipo pelių nesiskyrė, tikėtina, kad pastebėta pirmenybės teikimo naujam objektui tendencija nėra susijusi su bendro aktyvumo ar motyvacijos skirtumais.

3.2. Farmakologinis atminties sutrikdymo modelis naudojant THP

3.2.1. Atviro lauko testas

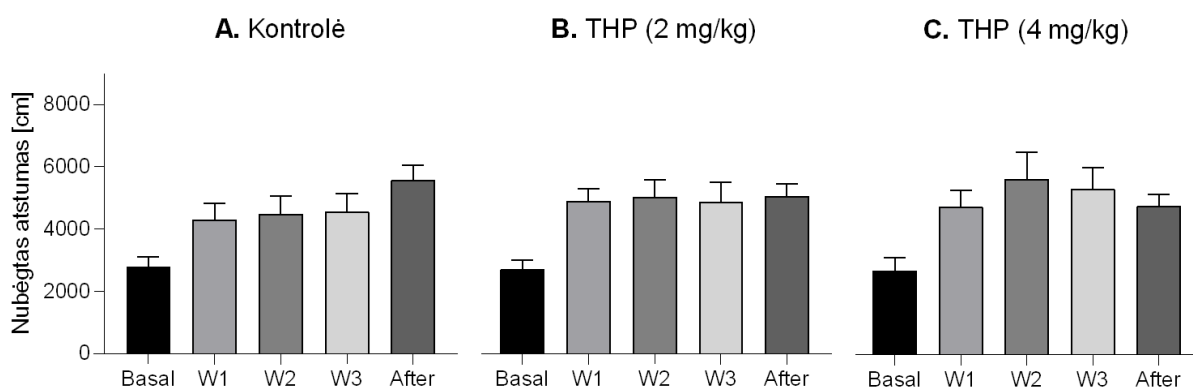
Siekiant įvertinti, ar viena THP injekcija turėjo poveikį bendram žiurkių aktyvumui, 30 min. prieš pradedant atviro lauko testą, žiurkėms buvo atlikta viena kontrolinė arba THP (2 mg/kg ar 4 mg/kg) injekcija. Pagrindinis matuotas parametras – nubėgtas atstumas, kuris leidžia įvertinti lokomotorinį žiurkės aktyvumą.



12 pav. Wistar žiurkių nubėgtas atstumas (cm) atviro lauko teste po vienos (A) fiziologinio tirpalo (kontrolė, $n=6$) arba (B) 2 mg/kg THP ($n=7$), arba (C) 4 mg/kg THP ($n=8$) injekcijos, atliktos 30 min. prieš testą. Duomenys pateikti individualiomis ir vidutinėmis vertėmis $\pm$ SEM.

Dvifaktorė dispersinė su pakartotinais matavimais ANOVA analizė parodė, kad žiurkių nubėgtas atstumas po 1 injekcijos visose grupėse statistiškai reikšmingai padidėjo (lyginamas kintamasis laikas: $F(1,21) = 12,72$; $p = 0,002$) (**12 pav.**). Deja, tarp kontrolinės ir THP gydytų grupių (2 ir 4 mg/kg THP) po vienos injekcijos nubėgtas atstumas reikšmingai nepakito (lyginama kintamųjų sąveika injekcija $\times$ grupė: $F(2,21) = 0,47$; $p = 0,632$) (**12 pav.**). Todėl galima daryti prielaidą, kad viena THP injekcija (2 mg/kg ar 4 mg/kg) neturėjo poveikio spontaniškam judėjimui atviro lauko testo metu. Šie rezultatai leidžia atmesti galimą bendro aktyvumo poveikį naujo objekto atpažinimo testo rezultatams.

Po vienos injekcijos poveikio įvertinimo, buvo analizuojami ir ilgalaikės THP intervencijos rezultatai. Siekiant nustatyti, ar kasdienės 2 mg/kg ir 4 mg/kg THP injekcijos (21 dieną iš eilės) turėjo įtakos bendram žiurkių lokomotoriniam aktyvumui, buvo atliktas atviro lauko testas, kurio metu fiksuotas nubėgtas atstumas.



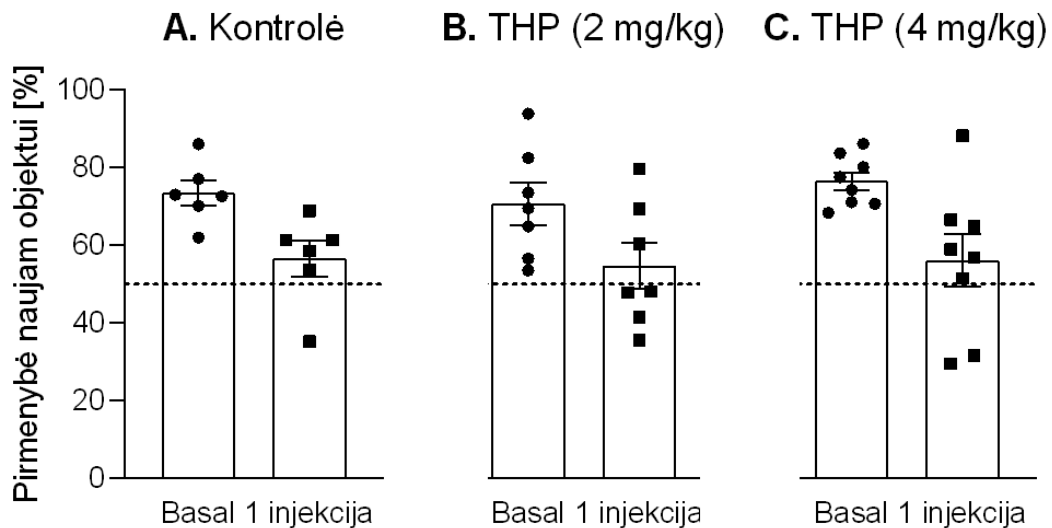
13 pav. Wistar žiurkių nubėgtas atstumas (cm) atviro lauko teste po 21 dieną trukusių kasdienių injekcijų arba (A) fiziologinio tirpalo (kontrolė, $n=8$), arba (B) 2 mg/kg THP ($n=8$), arba (C) 4

mg/kg THP (n=8) injekcijos. Nubėgtas atstumas buvo matuojamas penkiais laiko taškais: prieš injekcijų pradžią (Basal), po 1-os injekcijų savaitės (W1), po 2-os savaitės (W2), po 3-ios savaitės (W3) bei praėjus savaitei po paskutinės injekcijos (After). Duomenys pateikti vidutinėmis vertėmis $\pm$ SEM.

Dvifaktorė dispersinė su pakartotinais matavimais ANOVA analizė parodė, kad žiurkių nubėgtas atstumas reikšmingai pakito palyginus bazinį su gydymo metu bei po gydymo (W1, W2, W3, After) atliktais atviro lauko testo matavimais (lyginamas kintamasis laikas: $F(4,84) = 10,60$; $p < 0,001$) (**13 pav.**). Deja, tarp kontrolinės ir THP gydytų grupių (2 ir 4 mg/kg THP) po 21 injekcijos nubėgtas atstumas reikšmingai nesiskyrė (lyginama kintamųjų sąveika laikas $\times$ gydomoji grupė: $F(8,84) = 1,06$; $p = 0,4$) (**13 pav.**). Ilgalaikis gydymas THP nesutrikdė lokomotorinių savybių ar motyvacijos tyrinėti nepažįstamą aplinką, bet laikui bėgant visų grupių žiurkių lokomotorinis aktyvumas padidėjo. Lokomotorinio aktyvumo pokytis laike galėtų būti siejamas su žiurkių adaptacija prie eksperimentinių sąlygų – dažnesnis kontaktas su tyrėjo rankomis bei dažnesnis susidūrimas su atviro lauko testo aplinka – tai galimai lėmė drąsesnį elgesį ir aktyvesnį tyrinėjimą. Huang ir kt. (2016) atliko eksperimentą su Sprague-Dawley žiurkėmis, joms THP (dozės: 0,3 ir 1,0 mg/kg, i.p.) buvo leidžiamas 7 mėnesius. Praėjus savaitei nuo 7 mėnesius trukusio THP gydymo, buvo atliktas atviro lauko testas. Šio testo metu nubėgto atstumo skirtumų tarp kontrolinės ir THP gydytų žiurkių nebuvo pastebėta (Huang et al., 2016). Nors mūsų eksperimento gydymo laikotarpis buvo trumpesnis, THP dozės buvo 2 ir 4 kartus didesnės nei Huang ir kt. (2016) eksperimente, galima teigti, kad bendras aktyvumas naujo objekto atpažinimo testo rezultatams poveikio nedarė.

3.2.2. Naujo objekto atpažinimo testas

Įvertinus bendrą žiurkių lokomotorinį aktyvumą atviro lauko teste, toliau buvo analizuojamos kognityvinės funkcijos, pasitelkiant naujo objekto atpažinimo testą. Šis testas leidžia įvertinti trumpalaikę atmintį ir naujo stimulo atpažinimo gebėjimą, remiantis graužikų natūraliu polinkiu tyrinėti naujus dirgiklius. Toliau pateikiami rezultatai, atspindintys skirtingų dozių THP poveikį pirmenybei naujam objektui.

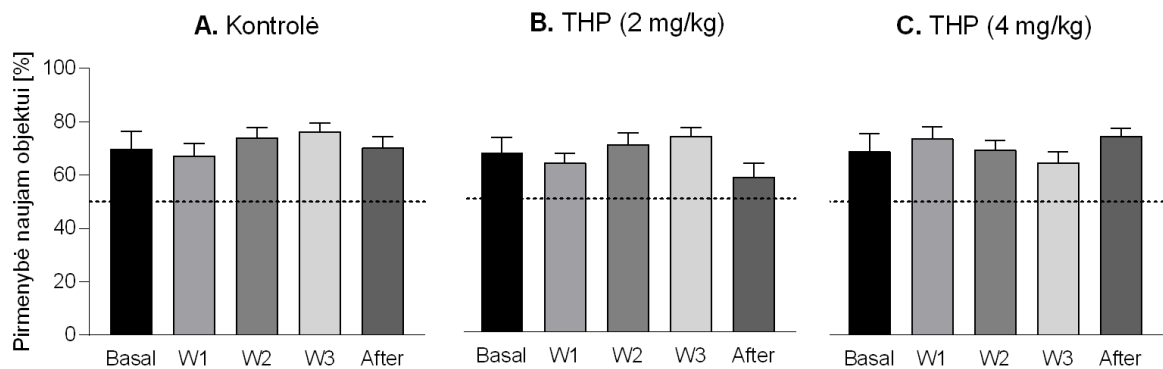


14 pav. Wistar žiurkių pirmenybė naujam objektui (skaičiuojamas naujo objekto tyrinėjimo laiko ir bendro abiejų objektų tyrinėjimo laiko santykis, %) naujo objekto atpažinimo teste po vienos (A) fiziologinio tirpalo (kontrolė, $n=6$) arba (B) 2 mg/kg THP ($n=7$), arba (C) 4 mg/kg THP ($n=8$) injekcijos, atliktos 30 min. prieš testą. Punktyrinė linija žymi 50% ribą. Duomenys pateikti individualiomis ir vidutinėmis vertėmis $\pm$ SEM.

Visos grupės, nepaisant kokią medžiagą (fiziologinį tirpalą ar THP) gavo, teikė didesnę nei 50% pirmenybę naujam objektui. Dvifaktorišės dispersinės su pakartotinais matavimais ANOVA analizės pagalba nustatyta, kad žiurkių pirmenybė naujam objektui po 1 injekcijos reikšmingai sumažėjo visose grupėse (lyginamasis kintamasis laikas: $F(1,18) = 17,95$; $p = 0,001$) (**14 pav.**). Tačiau, tarp kontrolinės ir THP gydytų grupių (2 ir 4 mg/kg THP) pirmenybė naujam objektui po vienos injekcijos reikšmingai nepakito (lyginama kintamųjų sąveika laikas $\times$ gydymo grupė: $F(2,18) = 0,11$; $p = 0,894$) (**14 pav.**). Žiurkių bendras objektų tyrinėjimo laikas naujo objekto atpažinimo T2 testo metu neparodytas, nes patikimų skirtumų tarp grupių nebuvo nustatyta (lyginama kintamųjų sąveika laikas $\times$ gydymo grupė: $F(2,18) = 0,75$; $p = 0,489$).

Vadinasi, kad viena THP dozė, nepriklausomai nuo koncentracijos, neturėjo reikšmingos įtakos žiurkių gebėjimui atpažinti naują objektą. Zhou ir kt. (2022) atlikto tyrimo rezultatai rodo, kad C57BL/6J pelėms suleidus net iki 8 mg/kg THP po pilvaplėvės, naujo objekto atpažinimo teste THP nesukėlė jokių atminties sutrikimų. Tikėtina, kad norint išgauti reikšmingesnius efektus, reikėtų padidinti injekcijų skaičių arba išbandyti didesnes THP koncentracijas. Pirmenybės naujam objektui sumažėjimas, kuris matomas visose grupėse, galėtų būti dėl to, kad injekcijos sukėlė stresinę atsaką žiurkėms, o tai turėjo neigiamą poveikį trumpalaikiai atminčiai. Siekiant sumažinti tokį poveikį ateities tyrimuose, būtų tikslinga prieš eksperimentą ilgiau pratinti gyvūnus prie žmogaus rankų ir fiziologinio tirpalo injekcijų, taip mažinant procedūrų sukeltą stresą.

Siekiant įvertinti ilgalaikį THP poveikį kognityvinėms funkcijoms, buvo atliktas naujo objekto atpažinimo testas po 21 dieną trukusių kasdienių injekcijų. Šis testas padėjo nustatyti, ar pakartotinai veikiant THP pasikeičia žiurkių gebėjimas atskirti naują objektą nuo pažįstamo.



15 pav. Wistar žiurkių pirmenybė naujam objektui (skaičiuojamas naujo objekto tyrinėjimo laiko ir bendro abiejų objektų tyrinėjimo laiko santykis, %) po 21 dieną trukusių kasdienių injekcijų arba (A) fiziologinio tirpalo (kontrolė, $n=8$), arba (B) 2 mg/kg THP ($n=8$), arba (C) 4 mg/kg THP ($n=8$) injekcijos. Elgesys buvo tiriamas penkiais laiko taškais: prieš injekcijų pradžią (Basal), po 1-os savaitės (W1), 2-os savaitės (W2), 3-ios savaitės (W3) bei praėjus savaitei po paskutinės injekcijos (After). Punkttyrinė linija žymi 50% ribą. Duomenys pateikti vidutinėmis vertėmis $\pm$ SEM.

Dvifaktorė dispersinė su pakartotinais matavimais ANOVA analizė parodė, palyginus bazinių ir po kiekvienos savaitės injekcijos grupių elgesį (W1, W2, W3, After), visų žiurkių pirmenybė naujam objektui nepakito (lyginamasis kintamasis laikas: $F(4,84) = 0,42$; $p = 0,794$) (**15 pav.**). Deja, tarp kontrolinės ir THP gydytų grupių (2 ir 4 mg/kg THP) po 21 injekcijos pirmenybė naujam objektui reikšmingai nesiskyrė (lyginama kintamųjų sąveika laikas $\times$ gydymo grupė: $F(8,84) = 1,67$; $p = 0,118$) (**15 pav.**). Žiurkių bendras objektų tyrinėjimo laikas naujo objekto atpažinimo T2 testo metu neparodytas, nes patikimų skirtumų tarp grupių nebuvo nustatyta (lyginama kintamųjų sąveika laikas $\times$ gydymo grupė: $F(8,84) = 1,66$; $p = 0,121$).

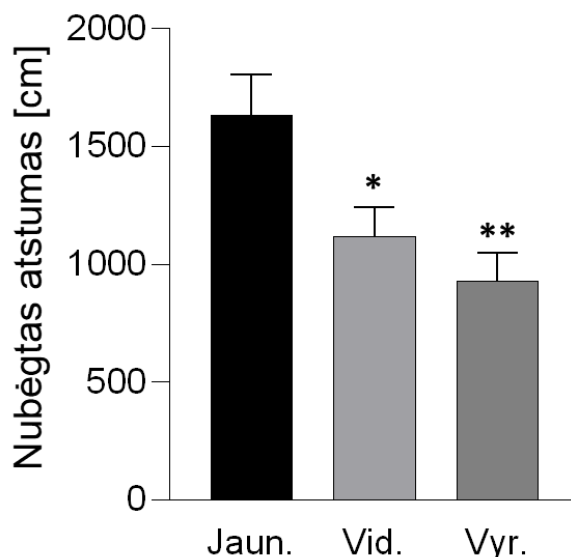
Darome išvadą, kad tris savaites trukusios THP injekcijos nepaveikė trumpalaikės žiurkių atminties. Statistiškai reikšmingų skirtumų nebuvimas reiškia, kad ši gydymo strategija nesukelia reikšmingų atminties sutrikimo pokyčių šio testo sąlygomis. Kita vertus, svarbu atkreipti dėmesį, kad literatūroje yra gana mažai tyrimų, kuriuose THP poveikis atminčiai būtų vertinamas būtent naudojant naujo objekto atpažinimo testą. Dauguma mokslininkų renka kitus kognityvinius elgsenos testus, tokius kaip Morris vandens labirintas (*angl.* Morris Water Maze), Pliuso labirinto testas (*angl.* Elevated Plus Maze) ar pasyvaus vengimo testas (*angl.* Passive avoidance test), kurie orientuoti į skirtingus atminties tipus ir su stresu susijusias reakcijas.

Norint tiksliau įvertinti galimą THP poveikį kognityvinėms funkcijoms, verta būtų papildyti tyrimą naujais elgsenos testais, galinčiais atskleisti ne tik naujo dirgiklio atpažinimą, bet ir erdvinę ar ilgalaikę atmintį. Taip pat galima svarstyti apie didesnės koncentracijos injekcijas, ilgesnį gydymo laikotarpį arba jautresnių analizės metodų naudojimą – pavyzdžiui, objekto tyrinėjimo dinamikos stebėjimą.

3.3. Su amžiumi susijusių pokyčių tyrimas

3.3.1. Atviro lauko testas

Vertinant su amžiumi susijusius elgsenos pokyčius, pirmiausia buvo analizuotas bendras lokomotorinis aktyvumas atviro lauko teste. Šis testas leidžia objektyviai įvertinti žiurkių fizinį aktyvumą, kuris gali kisti priklausomai nuo amžiaus.

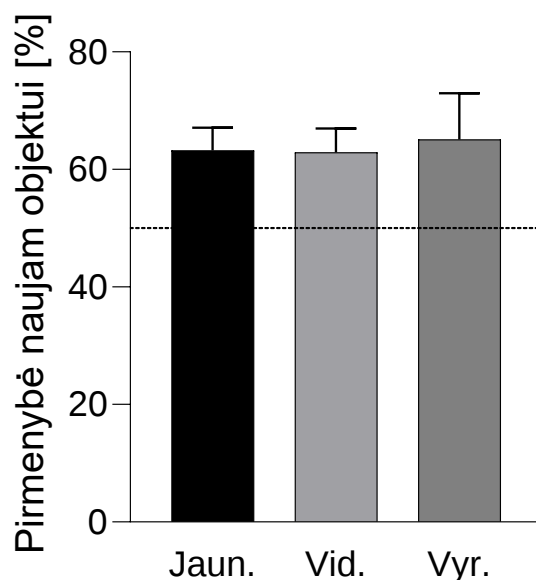


16 pav. Wistar žiurkių nubėgtas atstumas (cm) atviro lauko teste priklausomai nuo amžiaus. Palygintos trys amžiaus grupės: jaunos (9 mėn., Jaun., $n=8$), vidutinio amžiaus (15 mėn., Vid., $n=8$) ir vyresnio amžiaus (22 mėn., Vyr., $n=8$) žiurkės. Duomenys pateikti vidutinėmis vertėmis $\pm$ SEM. Pasirinktas reikšmingumo lygmuo $p<0,05$.

Vienfaktorė dispersinė ANOVA analizė parodė, kad vidutinio (15 mėn.) ir vyresnio amžiaus žiurkės (22 mėn.) nubėgo reikšmingai mažesnę atstumą, palyginus su jaunomis (9 mėn.) (lyginamasis kintamasis amžius: $F(2,23) = 10,83$; $p = 0,001$) atviro lauko testo metu (**16 pav.**). Febo ir kt. (2020) atlikto ilgo stebėjimo tyrimo su Fisher 344 žiurkėmis metu nustatė, kad nubėgtas atstumas reikšmingai sumažėjo palyginus jaunesnes (6 mėn.) ir vyresnio amžiaus (18 mėn.) žiurkes. Šie rezultatai leidžia daryti prielaidą, kad senėjimas turi neigiamą poveikį lokomotoriniam aktyvumui, o tai gali būti svarbus veiksnys vertinant ir kitas elgsenines funkcijas (Febo et al., 2020).

3.3.2. Naujo objekto atpažinimo testas

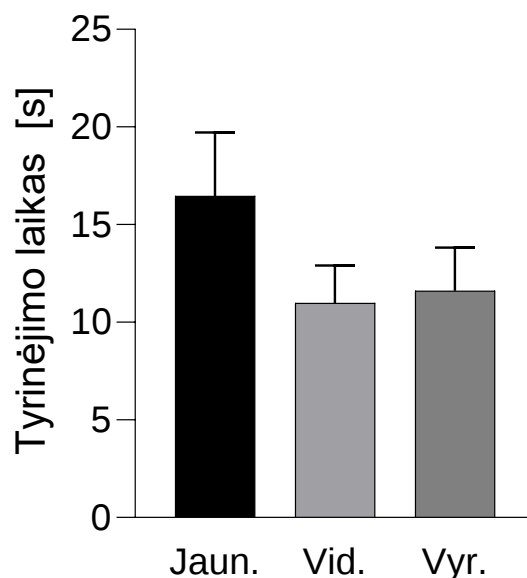
Įvertinus amžiaus įtaką žiurkių motoriniam aktyvumui, toliau buvo analizuojamos kognityvinės funkcijos, pasitelkiant naujo objekto atpažinimo testą.



17 pav. Wistar žiurkių pirmenybė naujam objektui (%) naujo objekto atpažinimo teste, vertinant skirtingas amžiaus grupes. Palygintos trys amžiaus grupės: jaunos (9 mėn., Jaun., $n=8$), vidutinio amžiaus (15 mėn., Vid., $n=8$) ir vyresnio amžiaus (22 mėn., Vyr., $n=8$) žiurkės. Punktyrinė linija žymi 50% ribą. Duomenys pateikti vidutinėmis vertėmis $\pm$ SEM.

Vienfaktorė dispersinė ANOVA analizė parodė, kad žiurkių pirmenybė naujam objektui skirtingais amžiaus laikotarpiais nepakito (lyginamasis kintamasis amžius: $F(2,23) = 0,06$; $p = 0,941$) (**17 pav.**). Šio tyrimo sąlygomis amžiaus poveikis trumpalaikiai atminčiai nebuvo pakankamas, jog pasireikštų reikšmingi elgsenos skirtumai. Aktoprak ir kt. (2013) atliko tyrimą su F344XBN (Fisher 344XBrown Norway) žiurkių patiniais ir palyginę jaunų (10 mėn.) ir vyresnių (28 mėn.) žiurkių elgseną naujo objekto atpažinimo teste, nustatė, kad pirmenybė naujam objektui tarp šių grupių taip pat nesiskyrė. Tačiau yra tyrimų, kurių metu buvo pastebėtas naujo objekto atpažinimo pablogėjimas tarp jaunų (3 mėn.) ir vyresnių (21-23 mėn.) Wistar žiurkių (de Lima et al., 2005). Iškyla klausimas, kodėl šio testo rezultatai tokie nevienareikšmiai. Pirma galima to priežastis yra eksperimento protokolas: Aktoprak ir kt. (2013) tyrime pasirinkta pertrauka tarp susipažinimo ir testo fazių buvo 50 min., o de Lima ir kt. (2005) – 24 val. pertrauka. Kita galima priežastis, kodėl skiriasi tyrėjų rezultatai yra skirtingų žiurkių linijų naudojimas. Žinoma, kad skirtingos graužikų linijos gali pasižymėti skirtingomis elgsenos tendencijomis (Aktoprak et al., 2013).

Vertinant naujo objekto atpažinimo rezultatus, be pirmenybės naujam objektui, svarbu taip pat atsižvelgti į bendrą tyrinėjimo laiką. Šis parametras leidžia įvertinti ne tik kognityvinius, bet ir motyvacinius aspektus, pavyzdžiui, kiek aktyviai žiurkės buvo įsitraukusios į užduotį.



18 pav. Wistar žiurkių objektų tyrinėjimo laikas (s) naujo objekto atpažinimo T2 testo metu, priklausomai nuo amžiaus. Palygintos trys amžiaus grupės: jaunos (9 mėn., Jaun., $n=8$), vidutinio amžiaus (15 mėn., Vid., $n=8$) ir vyresnio amžiaus (22 mėn., Vyr., $n=8$) žiurkės. Duomenys pateikti vidutinėmis vertėmis $\pm$ SEM.

Vienfaktorė dispersinė ANOVA analizė parodė, kad žiurkių objektų tyrinėjimo laikas naujo objekto atpažinimo testo metu skirtingais amžiaus laikotarpiais nepakito (lyginamasis kintamasis amžius: $F(2,23) = 1,47$; $p = 0,264$) (**18 pav.**). Kadangi skirtumų tarp grupių nenustatyta, galima daryti prielaidą, kad skirtingo amžiaus žiurkės buvo vienodai motyvuotos tyrinėti aplinką. Tai taip pat pagrindžia pirmenybės naujam objektui analizę – kadangi tyrinėjimo aktyvumas tarp grupių nesiskyrė, galima teigti, kad trumpalaikės atminties testo rezultatai nebuvo iškreipti dėl motyvacijos tyrinėti trūkumo. Jau minėtame, Aktoprak ir kt. (2013) tyrime, taip pat nebuvo rasta tyrinėjimo laiko skirtumų tarp amžiaus (buvo lyginamos 10 ir 28 mėnesių žiurkės) grupių.

Apibendrinant šių trijų skirtingų modelių – genetinio, farmakologinio ir su amžiumi susijusių pokyčių – rezultatus, galima teigti, kad šiomis eksperimentinėmis sąlygomis ryškių atpažinimo ar trumpalaikės atminties sutrikimų nenustatyta. Nei transgeninės pelės, nei ilgalaikį THP poveikį patyrusios žiurkės, nei vyresnio amžiaus gyvūnai naujo objekto atpažinimo teste neparodė reikšmingai sumažėjusios pirmenybės naujam objektui, palyginus su atitinkamomis kontrolinėmis grupėmis. Vis dėlto genetinio modelio atveju stebima tendencija mažesnei pirmenybei naujam objektui, reikšmingumas galėtų išryškėti, jei imtis būtų didesnė. Verta atsižvelgti į šį aspektą planuojant ateities tyrimus.

Atviro lauko testas, kurio metu vertinamas bendras lokomotorinis aktyvumas, reikšmingų skirtumų parodė tik su amžiumi susijusių pokyčių modelyje – vidutinio (15 mėn.) ir vyresnio (22 mėn.) amžiaus žiurkės nubėgo statistiškai reikšmingai mažesnę atstumą nei jaunos (9 mėn.). Tuo

tarpu genetiniame ir farmakologiniame modeliuose lokomotorinis aktyvumas tarp grupių reikšmingai nesiskyrė, taip galima interpretuoti, kad kognityvinių parametrų analizei fizinis aktyvumas neturėjo įtakos.

Šie rezultatai leidžia kelti klausimą dėl naujo objekto atpažinimo testo patikimumo norint aptikti subtilius kognityvinius pokyčius, ypač esant nedidelėms intims ar kai poveikis nėra ryškus. Taip pat svarbu atkreipti dėmesį, kad visi tyrimai buvo atlikti tik su pelių ir žiurkių patiniais, ateities tyrimams būtų reikalinga įtraukti abiejų lyčių gyvūnus. Negalima atmesti ir galimo procedūrinio streso poveikio, kurį galėjo sukelti injekcijos ar testų aplinka. Siekiant patikimiau įvertinti galimus atminties sutrikimus, būtų naudinga įtraukti papildomus elgsenos testus, tokius kaip Morris vandens labirinto testą (*angl.* Morris water maze) – erdvinės atminties, Y labirinto testą (*angl.* Y-maze) – spontaninių alternacijų ir pasyvaus vengimo testą (*angl.* passive avoidance test) – ilgalaikės atminties vertinimui.

Išvados

1. APP/PS1 transgeninių pelių genetinis modelis neparodė reikšmingų atpažinimo atminties sutrikimo požymių, tačiau stebima mažesnės pirmenybės teikimo naujam objektui tendencija, palyginus su laukinio tipo pelėmis. Lokomotorinis aktyvumas šiose pelėse nesiskyrė nuo laukinio tipo pelių.
2. Nei vienkartinės, nei 21 dieną kasdien kartotos THP injekcijos neturėjo reikšmingo poveikio trumpalaikiai atminčiai ir lokomotoriniam aktyvumui Wistar žiurkių patinams, vertinant pagal atviro lauko ir naujo objekto atpažinimo testus.
3. Su amžiumi susijusių pokyčių modelis parodė sumažėjusį lokomotorinį aktyvumą vyresnio amžiaus (22 mėn.) Wistar žiurkėse, tačiau trumpalaikės atminties pokyčių tarp amžiaus grupių nenustatyta.

Autoriaus asmeninis indėlis

„Genetinis atminties sutrikdymo modelis naudojant transgenines peles (APP/PS1)“ – duomenų analizė, pagalba su eksperimentais, duomenų vizualizacija.

„Farmakologinis atminties sutrikdymo modelis naudojant THP injekcijas“ – duomenų analizė, tyrimo vykdymas, duomenų vizualizacija.

„Su amžiumi susijusių atminties pokyčių tyrimas“ – pagalba su eksperimentu, duomenų vizualizacija.

VILNIAUS UNIVERSITETAS
GYVYBĖS MOKSLŲ CENTRAS

Elena Kavaliauskaitė

Magistro baigiamasis darbas

ATMINTIES SUTRIKIMO GYVŪNŲ MODELIAI

SANTRAUKA

Su amžiumi susiję kognityviniai sutrikimai, ypač demencija, tampa vis didesniu iššūkiu visuomenės sveikatai – šiuo metu pasaulyje ja serga apie 57 milijonus žmonių, o iki 2050 metų šis skaičius, prognozuojama, padidės tris kartus. Dažniausia demencijos forma – Alzheimerio liga, kuriai būdingas patologinis amiloido-beta ir tau baltymų kaupimasis smegenyse. Deja, iki šiol šios ligos ir kitų su amžiumi susijusių kognityvinių sutrikimų gydymas nėra sėkmingas, todėl būtina gilinti supratimą apie šių sutrikimų mechanizmus ir ieškoti naujų terapinių priemonių. Vienas pagrindinių būdų, kaip galima tirti atminties sutrikimus, analizuoti elgsenos, fiziologinius ir molekulinis pokyčius gyvoje sistemoje, yra naudojimas eksperimentinių gyvūnų modelių.

Šio magistro darbo tikslas – palyginti skirtingus atminties sutrikimų gyvūnų modelius. Darbo uždaviniai: įvertinti APP/PS1 transgeninių pelių genetinio modelio tinkamumą atminties sutrikimų tyrimui; sutrikdyti atmintį Wistar žiurkėms naudojant triheksifenidilio (THP) injekcijas ir ištirti jų poveikį gyvūnų elgsenai; įvertinti su amžiumi susijusių pokyčių poveikį Wistar žiurkių atminčiai ir jų elgsenai.

Kiekvieno modelio elgsenos pokyčiams įvertinti buvo panaudoti du testai – atviro lauko ir naujo objekto atpažinimo – kurie yra skirti lokomotorinio aktyvumo ir kognityvinių gebėjimų (atpažinimo, trumpalaikės atminties, noro tyrinėti nepažįstamą aplinką) įvertinimui.

APP/PS1 transgeninių pelių genetinis modelis neparodė reikšmingų atpažinimo atminties sutrikimo požymių, tačiau stebima mažesnės pirmenybės naujam objektui tendencija, palyginus su laukinio tipo pelėmis. Lokomotorinis aktyvumas šiose pelėse nesiskyrė nuo laukinio tipo pelių. Nei vienkartinės, nei 21 dieną kasdien kartotos THP injekcijos neturėjo reikšmingo poveikio Wistar žiurkių trumpalaikiai atminčiai ir lokomotoriniam aktyvumui. Su amžiumi susijusių pokyčių įvertinimas parodė sumažėjusį lokomotorinį aktyvumą vyresnio amžiaus (22 mėn.) žiurkėse, tačiau trumpalaikės atminties pokyčių tarp amžiaus grupių taip pat nenustatyta.

VILNIUS UNIVERSITY
LIFE SCIENCES CENTER

Elena Kavaliauskaitė

Master's thesis

ANIMAL MODELS OF MEMORY IMPAIRMENT

SUMMARY

Age-related cognitive impairment, particularly dementia, is becoming an increasing public health challenge, currently affecting around 55 million people worldwide and is projected to triple by 2050. The most common form of dementia is Alzheimer's disease, which is characterized by the pathological accumulation of amyloid-beta and tau proteins in the brain. However, no effective cure for this and other age-related cognitive impairments have been developed, which makes it necessary to deepen our understanding of the mechanisms of these diseases and continue research related to discovery of new therapeutic tools. One of the most important approaches to study memory impairments, analyze behavioral, physiological, and molecular changes in a living system is use of experimental animal models.

The aim of this Master's thesis is to compare different animal models of memory impairment. The objectives of the project were: to assess memory impairment in the transgenic APP/PS1 mice model; to induce memory impairment in Wistar rats using trihexyphenidyl (THP) injections and; to determine age-related memory impairment in healthy Wistar rats. Locomotor activity was studied to see if memory impairment was affected by this behavioural change.

Two behavioural tests – the open field test and the novel object recognition test – designed to investigate locomotor activity and cognitive abilities (recognition, short-term memory, exploratory behaviour), were used to assess animal behavior in each model.

The genetic model using APP/PS1 transgenic mice did not show any significant impairment in the recognition memory but showed a tendency towards a lower preference for the novel object when compared to wild-type mice. Locomotor activity of these mice did not differ from wild-type mice. Neither a single injection nor 21 once-daily THP injections had a significant effect on short-term memory and locomotor activity in rats. Analysis of age-related changes showed reduced locomotor activity in older (22-month-old) rats, however, there were no significant changes in short-term memory between age groups.

Literatūros sąrašas

- Agrawal, R., Tyagi, E., Saxena, G., & Nath, C. (2009). Cholinergic influence on memory stages: A study on scopolamine amnesic mice. *Indian Journal of Pharmacology*, 41(4), 192. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.56072>
- Akhtar, A., Gupta, S. M., Dwivedi, S., Kumar, D., Shaikh, Mohd. F., & Negi, A. (2022). Preclinical Models for Alzheimer's Disease: Past, Present, and Future Approaches. *ACS Omega*, 7(51), 47504–47517. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c05609>
- Aktoprak, I., Dinc, P., Gunay, G., & Adams, M. M. (2013). Novel object recognition is not affected by age despite age-related brain changes. *World Journal of Neuroscience*, 3(4), Article 4. <https://doi.org/10.4236/wjns.2013.34036>
- Alayba, A. M., Senan, E. M., & Alshudukhi, J. S. (2024). Enhancing early detection of Alzheimer's disease through hybrid models based on feature fusion of multi-CNN and handcrafted features. *Scientific Reports*, 14(1), 31203. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-82544-y>
- Alex, J. S. R., Roshini, R., Maneesha, G., Aparajeeta, J., Priyadarshini, B., Lin, C.-Y., & Lung, C.-W. (2025). Enhanced detection of mild cognitive impairment in Alzheimer's disease: A hybrid model integrating dual biomarkers and advanced machine learning. *BMC Geriatrics*, 25, 54. <https://doi.org/10.1186/s12877-025-05683-5>
- Antunes, M., & Biala, G. (2012). The novel object recognition memory: Neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cognitive Processing*, 13(2), 93–110. <https://doi.org/10.1007/s10339-011-0430-z>
- Asthana, M. K., Brunhuber, B., Mühlberger, A., Reif, A., Schneider, S., & Herrmann, M. J. (2016). Preventing the Return of Fear Using Reconsolidation Update Mechanisms Depends on the Met-Allele of the Brain Derived Neurotrophic Factor Val66Met Polymorphism. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 19(6), pyv137. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyv137>
- Azarpazhooh, M. R., Avan, A., Cipriano, L. E., Munoz, D. G., Sposato, L. A., & Hachinski, V. (2018). Concomitant vascular and neurodegenerative pathologies double the risk of dementia. *Alzheimer's & Dementia*, 14(2), 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2017.07.755>
- Bailey, C. H., Kandel, E. R., & Harris, K. M. (2015). Structural Components of Synaptic Plasticity and Memory Consolidation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(7), a021758. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021758>
- Bajo, R., Pusil, S., López, M. E., Canuet, L., Pereda, E., Osipova, D., Maestú, F., & Pekkonen, E. (2015). Scopolamine effects on functional brain connectivity: A pharmacological model of Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, 5(1), 9748. <https://doi.org/10.1038/srep09748>
- Banning, L. C. P., Ramakers, I. H. G. B., Rosenberg, P. B., Lyketsos, C. G., & Leoutsakos, J.-M. S. (2021). Alzheimer's disease biomarkers as predictors of trajectories of depression and apathy in cognitively normal individuals, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease dementia. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 36(1), 224–234. <https://doi.org/10.1002/gps.5418>
- Bartus, R. T., Dean, R. L., Beer, B., & Lippa, A. S. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science (New York, N.Y.)*, 217(4558), 408–414. <https://doi.org/10.1126/science.7046051>
- Bekris, L. M., Yu, C.-E., Bird, T. D., & Tsuang, D. W. (2010). Genetics of Alzheimer Disease. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 23(4), 213–227. <https://doi.org/10.1177/0891988710383571>
- Bellfy, L., & Kwapis, J. L. (2020). Molecular Mechanisms of Reconsolidation-Dependent Memory Updating. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), Article 18. <https://doi.org/10.3390/ijms21186580>

- Blokland, A. (2022). Cholinergic models of memory impairment in animals and man: Scopolamine vs. biperiden. *Behavioural Pharmacology*, 33(4), 231–237. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000670>
- Bott, N. T., Radke, A., Stephens, M. L., & Kramer, J. H. (2014). Frontotemporal dementia: Diagnosis, deficits and management. *Neurodegenerative Disease Management*, 4(6), 439–454. <https://doi.org/10.2217/nmt.14.34>
- Braidy, N., Muñoz, P., Palacios, A. G., Castellano-Gonzalez, G., Inestrosa, N. C., Chung, R. S., Sachdev, P., & Guillemín, G. J. (2012). Recent rodent models for Alzheimer's disease: Clinical implications and basic research. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 119(2), 173–195. <https://doi.org/10.1007/s00702-011-0731-5>
- Breijyeh, Z., & Karaman, R. (2020). Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*, 25(24), Article 24. <https://doi.org/10.3390/molecules25245789>
- Brito, D. V. C., Esteves, F., Rajado, A. T., Silva, N., Araújo, I., Bragança, J., Castelo-Branco, P., & Nóbrega, C. (2023). Assessing cognitive decline in the aging brain: Lessons from rodent and human studies. *Npj Aging*, 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41514-023-00120-6>
- Campos, H. C., Ribeiro, D. E., Hashiguchi, D., Glaser, T., Milanis, M. da S., Gimenes, C., Suchecki, D., Arida, R. M., Ulrich, H., & Monteiro Longo, B. (2023). Neuroprotective effects of resistance physical exercise on the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*, 17. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1132825>
- Cascella, M., & Al Khalili, Y. (2024). Short-Term Memory Impairment. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545136/>
- Chen, W. N., & Yeong, K. Y. (2020). Scopolamine, a Toxin-Induced Experimental Model, Used for Research in Alzheimer's Disease. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 19(2), 85–93. <https://doi.org/10.2174/1871527319666200214104331>
- Chen, Z.-R., Huang, J.-B., Yang, S.-L., & Hong, F.-F. (2022). Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*, 27(6), 1816. <https://doi.org/10.3390/molecules27061816>
- Chen, Z.-Y., & Zhang, Y. (2022). Animal models of Alzheimer's disease: Applications, evaluation, and perspectives. *Zoological Research*, 43(6), 1026–1040. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2022.289>
- Cohen, R. M., Rezai-Zadeh, K., Weitz, T. M., Rentsendorj, A., Gate, D., Spivak, I., Bholat, Y., Vasilevko, V., Glabe, C. G., Breunig, J. J., Rakic, P., Davtyan, H., Agadjanyan, M. G., Kepe, V., Barrio, J. R., Bannykh, S., Szekely, C. A., Pechnick, R. N., & Town, T. (2013). A Transgenic Alzheimer Rat with Plaques, Tau Pathology, Behavioral Impairment, Oligomeric A β , and Frank Neuronal Loss. *The Journal of Neuroscience*, 33(15), 6245–6256. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3672-12.2013>
- Cohen, S. J., & Stackman, R. W. (2015). Assessing Rodent Hippocampal Involvement in the Novel Object Recognition Task. A Review. *Behavioural Brain Research*, 285, 105–117. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.08.002>
- Connors, M. H., Teixeira-Pinto, A., Ames, D., Woodward, M., & Brodaty, H. (2023). Apathy and depression in mild cognitive impairment: Distinct longitudinal trajectories and clinical outcomes. *International Psychogeriatrics*, 35(11), 633–642. <https://doi.org/10.1017/S1041610222001089>
- Corder, E. H., Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D. E., Gaskell, P. C., Small, G. W., Roses, A. D., Haines, J. L., & Pericak-Vance, M. A. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science (New York, N.Y.)*, 261(5123), 921–923. <https://doi.org/10.1126/science.8346443>

- Cummings, J. (2019). The Role of Biomarkers in Alzheimer's Disease Drug Development. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1118, 29–61. https://doi.org/10.1007/978-3-030-05542-4_2
- de Lima, M. N. M., Laranja, D. C., Caldana, F., Bromberg, E., Roesler, R., & Schröder, N. (2005). Reversal of age-related deficits in object recognition memory in rats with l-deprenyl. *Experimental Gerontology*, 40(6), 506–511. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2005.03.004>
- De Plano, L. M., Calabrese, G., Conoci, S., Guglielmino, S. P. P., Oddo, S., & Caccamo, A. (2022). Applications of CRISPR-Cas9 in Alzheimer's Disease and Related Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8714. <https://doi.org/10.3390/ijms23158714>
- DeTure, M. A., & Dickson, D. W. (2019). The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 14, 32. <https://doi.org/10.1186/s13024-019-0333-5>
- DeVos, S. L., Miller, R. L., Schoch, K. M., Holmes, B. B., Kebodeaux, C. S., Wegener, A. J., Chen, G., Shen, T., Tran, H., Nichols, B., Zanardi, T. A., Kordasiewicz, H. B., Swayze, E. E., Bennett, C. F., Diamond, M. I., & Miller, T. M. (2017). Tau reduction prevents neuronal loss and reverses pathological tau deposition and seeding in mice with tauopathy. *Science Translational Medicine*, 9(374), eaag0481. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aag0481>
- Dolan, H., Crain, B., Troncoso, J., Resnick, S. M., Zonderman, A. B., & Obrien, R. J. (2010). Atherosclerosis, dementia, and Alzheimer disease in the Baltimore Longitudinal Study of Aging cohort. *Annals of Neurology*, 68(2), 231–240. <https://doi.org/10.1002/ana.22055>
- Dolphin, H., Dyer, A. H., McHale, C., O'Dowd, S., & Kennelly, S. P. (2023). An Update on Apathy in Alzheimer's Disease. *Geriatrics*, 8(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/geriatrics8040075>
- Dringenberg, H. C. (2020). The history of long-term potentiation as a memory mechanism: Controversies, confirmation, and some lessons to remember. *Hippocampus*, 30(9), 987–1012. <https://doi.org/10.1002/hipo.23213>
- Drummond, E., & Wisniewski, T. (2017). Alzheimer's Disease: Experimental Models and Reality. *Acta Neuropathologica*, 133(2), 155–175. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1662-x>
- Dubois, B., Hampel, H., Feldman, H. H., Scheltens, P., Aisen, P., Andrieu, S., Bakardjian, H., Benali, H., Bertram, L., Blennow, K., Broich, K., Cavado, E., Crutch, S., Dartigues, J.-F., Duyckaerts, C., Epelbaum, S., Frisoni, G. B., Gauthier, S., Genthon, R., ... Jack, C. R. (2016). Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer's & Dementia*, 12(3), 292–323. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.02.002>
- Dudai, Y., Karni, A., & Born, J. (2015). The Consolidation and Transformation of Memory. *Neuron*, 88(1), 20–32. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.004>
- Dudal, S., Bissantz, C., Caruso, A., David-Pierson, P., Driessen, W., Koller, E., Krippendorff, B.-F., Lechmann, M., Olivares-Morales, A., Paehler, A., Rynn, C., Türck, D., Van De Vyver, A., Wang, K., & Winther, L. (2022). Translating pharmacology models effectively to predict therapeutic benefit. *Drug Discovery Today*, 27(6), 1604–1621. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.03.009>
- Emmady, P. D., Schoo, C., & Tadi, P. (2025). Major Neurocognitive Disorder (Dementia). In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557444/>
- Febo, M., Rani, A., Yegla, B., Barter, J., Kumar, A., Wolff, C. A., Esser, K., & Foster, T. C. (2020). Longitudinal Characterization and Biomarkers of Age and Sex Differences in the Decline of Spatial Memory. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00034>
- Fennig, S., Levine, Y., Naisberg, S., & Elizur, A. (1987). The effect of trihexphenidyl (Artane) on memory in schizophrenic patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 11(1), 71–78. [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(87\)90033-9](https://doi.org/10.1016/0278-5846(87)90033-9)

- Ferguson, S. A., Sarkar, S., & Schmued, L. C. (2013). Longitudinal behavioral changes in the APP/PS1 transgenic Alzheimer's Disease model. *Behavioural Brain Research*, 242, 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.12.055>
- Forner, S., Kawauchi, S., Balderrama-Gutierrez, G., Kramár, E. A., Matheos, D. P., Phan, J., Javonillo, D. I., Tran, K. M., Hingco, E., da Cunha, C., Rezaie, N., Alcantara, J. A., Baglietto-Vargas, D., Jansen, C., Neumann, J., Wood, M. A., MacGregor, G. R., Mortazavi, A., Tenner, A. J., ... Green, K. N. (2021). Systematic phenotyping and characterization of the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Scientific Data*, 8, 270. <https://doi.org/10.1038/s41597-021-01054-y>
- Fowler, C. F., Goerzen, D., Devenyi, G. A., Madularu, D., Chakravarty, M. M., & Near, J. (2022). Neurochemical and cognitive changes precede structural abnormalities in the TgF344-AD rat model. *Brain Communications*, 4(2), fcac072. <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcac072>
- Frankland, P. W., Josselyn, S. A., & Köhler, S. (2019). The neurobiological foundation of memory retrieval. *Nature Neuroscience*, 22(10), 1576–1585. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0493-1>
- Funahashi, S. (2017). Working Memory in the Prefrontal Cortex. *Brain Sciences*, 7(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/brainsci7050049>
- Gallagher, M., Burwell, R., & Burchinal, M. (1993). Severity of spatial learning impairment in aging: Development of a learning index for performance in the Morris water maze. *Behavioral Neuroscience*, 107(4), 618–626. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.107.4.618>
- Gao, L., Zhang, Y., Sterling, K., & Song, W. (2022). Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease and its pharmaceutical potential. *Translational Neurodegeneration*, 11, 4. <https://doi.org/10.1186/s40035-022-00279-0>
- Giachetti, A., Giraldo, E., Ladinsky, H., & Montagna, E. (1986). Binding and functional profiles of the selective M1 muscarinic receptor antagonists trihexyphenidyl and dicyclomine. *British Journal of Pharmacology*, 89(1), 83–90. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1986.tb11123.x>
- Gilles, C., & Ertlé, S. (2000). Pharmacological models in Alzheimer's disease research. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 2(3), 247–255. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2000.2.3/cgilles>
- Goedert, K. M., & Willingham, D. B. (2002). Patterns of Interference in Sequence Learning and Prism Adaptation Inconsistent With the Consolidation Hypothesis. *Learning & Memory*, 9(5), 279–292. <https://doi.org/10.1101/lm.50102>
- Gower, A. J., & Lamberty, Y. (1993). The aged mouse as a model of cognitive decline with special emphasis on studies in NMRI mice. *Behavioural Brain Research*, 57(2), 163–173. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(93\)90132-A](https://doi.org/10.1016/0166-4328(93)90132-A)
- Gregory, C. A., Serra-Mestres, J., & Hodges, J. R. (1999). Early diagnosis of the frontal variant of frontotemporal dementia: How sensitive are standard neuroimaging and neuropsychologic tests? *Neuropsychiatry, Neuropsychology, and Behavioral Neurology*, 12(2), 128–135.
- Hagena, H., & Manahan-Vaughan, D. (2024). Interplay of hippocampal long-term potentiation and long-term depression in enabling memory representations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 379(1906), 20230229. <https://doi.org/10.1098/rstb.2023.0229>
- Hamezah, H. S., Durani, L. W., Ibrahim, N. F., Yanagisawa, D., Kato, T., Shiino, A., Tanaka, S., Damanhuri, H. A., Ngah, W. Z. W., & Tooyama, I. (2017). Volumetric changes in the aging rat brain and its impact on cognitive and locomotor functions. *Experimental Gerontology*, 99, 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.09.008>
- Hansen, D. V., Hanson, J. E., & Sheng, M. (2018). Microglia in Alzheimer's disease. *The Journal of Cell Biology*, 217(2), 459–472. <https://doi.org/10.1083/jcb.201709069>

- Harold, D., Abraham, R., Hollingworth, P., Sims, R., Gerrish, A., Hamshere, M., Singh Pahwa, J., Moskvina, V., Dowzell, K., Williams, A., Jones, N., Thomas, C., Stretton, A., Morgan, A., Lovestone, S., Powell, J., Proitsi, P., Lupton, M. K., Brayne, C., ... Williams, J. (2009). Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease, and shows evidence for additional susceptibility genes. *Nature Genetics*, 41(10), 1088–1093. <https://doi.org/10.1038/ng.440>
- Hasegawa, I., Hayashi, T., & Miyashita, Y. (1999). Memory retrieval under the control of the prefrontal cortex. *Annals of Medicine*, 31(6), 380–387. <https://doi.org/10.3109/07853899908998795>
- Head, E. (2013). A canine model of human aging and Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1832(9), 1384–1389. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.03.016>
- Holcomb, L., Gordon, M. N., McGowan, E., Yu, X., Benkovic, S., Jantzen, P., Wright, K., Saad, I., Mueller, R., Morgan, D., Sanders, S., Zehr, C., O'Campo, K., Hardy, J., Prada, C. M., Eckman, C., Younkin, S., Hsiao, K., & Duff, K. (1998). Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. *Nature Medicine*, 4(1), 97–100. <https://doi.org/10.1038/nm0198-097>
- Homberg, J. R., Adan, R. A. H., Alenina, N., Asiminas, A., Bader, M., Beckers, T., Begg, D. P., Blokland, A., Burger, M. E., Dijk, G. van, Eisel, U. L. M., Elgersma, Y., Englitz, B., Fernandez-Ruiz, A., Fitzsimons, C. P., Dam, A.-M. van, Gass, P., Grandjean, J., Havekes, R., ... Genzel, L. (2021). The continued need for animals to advance brain research. *Neuron*, 109(15), 2374–2379. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.07.015>
- Hou, Y., Dan, X., Babbar, M., Wei, Y., Hasselbalch, S. G., Croteau, D. L., & Bohr, V. A. (2019). Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nature Reviews. Neurology*, 15(10), 565–581. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0244-7>
- Huang, Y., Zhao, Z., Wei, X., Zheng, Y., Yu, J., Zheng, J., & Wang, L. (2016). Long-term trihexyphenidyl exposure alters neuroimmune response and inflammation in aging rat: Relevance to age and Alzheimer's disease. *Journal of Neuroinflammation*, 13(1), 175. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0640-5>
- Hulshof, L. A., Frajmund, L. A., van Nuijs, D., van der Heijden, D. C. N., Middeldorp, J., & Hol, E. M. (2022). Both male and female APPswe/PSEN1dE9 mice are impaired in spatial memory and cognitive flexibility at 9 months of age. *Neurobiology of Aging*, 113, 28–38. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2021.12.009>
- Ivanco, T. L. (2015). Long-Term Potentiation and Long-Term Depression. In J. D. Wright (Ed.), *International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences (Second Edition)* (pp. 358–365). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-097086-8.55034-X>
- Jack, C. R., Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., Haeberlein, S. B., Holtzman, D. M., Jagust, W., Jessen, F., Karlawish, J., Liu, E., Molinuevo, J. L., Montine, T., Phelps, C., Rankin, K. P., Rowe, C. C., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H. M., & Sperling, R. (2018). NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia : The Journal of the Alzheimer's Association*, 14(4), 535–562. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.018>
- Jackson, S. J., Andrews, N., Ball, D., Bellantuono, I., Gray, J., Hachoumi, L., Holmes, A., Latcham, J., Petrie, A., Potter, P., Rice, A., Ritchie, A., Stewart, M., Strejka, C., Yeoman, M., & Chapman, K. (2017). Does age matter? The impact of rodent age on study outcomes. *Laboratory Animals*, 51(2), 160–169. <https://doi.org/10.1177/0023677216653984>
- Janicki, S. C., & Schupf, N. (2010). Hormonal Influences on Cognition and Risk for Alzheimer Disease. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 10(5), 359–366. <https://doi.org/10.1007/s11910-010-0122-6>

- Jaramillo-Rangel, G., Chávez-Briones, M.-L., Ancer-Arellano, A., Miranda-Maldonado, I., & Ortega-Martínez, M. (2023). Back to the Basics: Usefulness of Naturally Aged Mouse Models and Immunohistochemical and Quantitative Morphologic Methods in Studying Mechanisms of Lung Aging and Associated Diseases. *Biomedicines*, 11(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11072075>
- Javonillo, D. I., Tran, K. M., Phan, J., Hingco, E., Kramár, E. A., da Cunha, C., Forner, S., Kawauchi, S., Milinkeviciute, G., Gomez-Arboledas, A., Neumann, J., Banh, C. E., Huynh, M., Matheos, D. P., Rezaie, N., Alcantara, J. A., Mortazavi, A., Wood, M. A., Tenner, A. J., ... LaFerla, F. M. (2022). Systematic Phenotyping and Characterization of the 3xTg-AD Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, 15. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.785276>
- Jaywant, A., DelPonte, L., Kanellopoulos, D., O'Dell, M. W., & Gunning, F. M. (2022). The Structural and Functional Neuroanatomy of Post-Stroke Depression and Executive Dysfunction: A Review of Neuroimaging Findings and Implications for Treatment. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 35(1), 3–11. <https://doi.org/10.1177/0891988720968270>
- Jellinger, K. A. (2020). Neuropathology of the Alzheimer's continuum: An update. *Free Neuropathology*, 1, 32–32. <https://doi.org/10.17879/freeneuropathology-2020-3050>
- Jones, D., Lowe, V., Graff-Radford, J., Botha, H., Barnard, L., Wiepert, D., Murphy, M. C., Murray, M., Senjem, M., Gunter, J., Wiste, H., Boeve, B., Knopman, D., Petersen, R., & Jack, C. (2022). A computational model of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Nature Communications*, 13(1), 1643. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29047-4>
- Jongsiriyanyong, S., & Limpawattana, P. (2018). Mild Cognitive Impairment in Clinical Practice: A Review Article. *American Journal of Alzheimer's Disease and Other Dementias*, 33(8), 500–507. <https://doi.org/10.1177/1533317518791401>
- Kalueff, A. V., Echevarria, D. J., & Stewart, A. M. (2014). Gaining translational momentum: More zebrafish models for neuroscience research. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 55, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.01.022>
- Kalueff, A. V., Stewart, A. M., Kyzar, E. J., Cachat, J., Gebhardt, M., Landsman, S., Robinson, K., Maximino, C., Herculano, A. M., Jesuthasan, S., Wisenden, B., Bally-Cuif, L., Lange, M., Vernier, P., Norton, W., Tierney, K., Tropepe, V., & Neuhauss, S. C. F. (2012). Time to recognize zebrafish 'affective' behavior. *Behaviour*, 149, 1019–1036. <https://doi.org/10.1163/1568539X-00003030>
- Kanatsu, K., & Tomita, T. (2017). Molecular mechanisms of the genetic risk factors in pathogenesis of Alzheimer disease. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, 22(1), 180–192. <https://doi.org/10.2741/4480>
- Kennard, J. A., & Woodruff-Pak, D. S. (2011). Age sensitivity of behavioral tests and brain substrates of normal aging in mice. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 3, 9. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2011.00009>
- Khan, I., & De Jesus, O. (2025). Frontotemporal Lobe Dementia. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559286/>
- Khan, S., Barve, K. H., & Kumar, M. S. (2020). Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. *Current Neuropharmacology*, 18(11), 1106–1125. <https://doi.org/10.2174/1570159X18666200528142429>
- Kim, B., Noh, G. O., & Kim, K. (2021). Behavioural and psychological symptoms of dementia in patients with Alzheimer's disease and family caregiver burden: A path analysis. *BMC Geriatrics*, 21, 160. <https://doi.org/10.1186/s12877-021-02109-w>
- Korczyn, A. D., Vakhapova, V., & Grinberg, L. T. (2012). Vascular dementia. *Journal of the Neurological Sciences*, 322(1–2), 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2012.03.027>

- Kowalski, K., & Mulak, A. (2019). Brain-Gut-Microbiota Axis in Alzheimer's Disease. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 25(1), 48–60. <https://doi.org/10.5056/jnm18087>
- Kumar, A., Sidhu, J., Lui, F., & Tsao, J. W. (2025). Alzheimer Disease. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499922/>
- La-Vu, M., Tobias, B. C., Schuette, P. J., & Adhikari, A. (2020). To Approach or Avoid: An Introductory Overview of the Study of Anxiety Using Rodent Assays. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.00145>
- Lee, J. W., & Jung, M. W. (2025). Memory consolidation from a reinforcement learning perspective. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 18, 1538741. <https://doi.org/10.3389/fncom.2024.1538741>
- Leger, M., Quiedeville, A., Bouet, V., Haelewyn, B., Boulouard, M., Schumann-Bard, P., & Freret, T. (2013). Object recognition test in mice. *Nature Protocols*, 8(12), 2531–2537. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.155>
- Liu, J., Zhang, H., Yu, T., Ren, L., Ni, D., Yang, Q., Lu, B., Zhang, L., Axmacher, N., & Xue, G. (2021). Transformative neural representations support long-term episodic memory. *Science Advances*, 7(41), eabg9715. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abg9715>
- Lüscher, C., & Malenka, R. C. (2012). NMDA Receptor-Dependent Long-Term Potentiation and Long-Term Depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(6), a005710. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005710>
- Lynch, M. A. (2004). Long-Term Potentiation and Memory. *Physiological Reviews*, 84(1), 87–136. <https://doi.org/10.1152/physrev.00014.2003>
- Magnusson, K. R., Scruggs, B., Aniya, J., Wright, K. C., Ontl, T., Xing, Y., & Bai, L. (2003). Age-related deficits in mice performing working memory tasks in a water maze. *Behavioral Neuroscience*, 117(3), 485–495. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.117.3.485>
- Malenka, R. C., & Bear, M. F. (2004). LTP and LTD: An Embarrassment of Riches. *Neuron*, 44(1), 5–21. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.09.012>
- Martinsson, I., Quintino, L., Garcia, M. G., Konings, S. C., Torres-Garcia, L., Svanbergson, A., Stange, O., England, R., Deierborg, T., Li, J. Y., Lundberg, C., & Gouras, G. K. (2022). *Aβ/APP-induced hyperexcitability and dysregulation of homeostatic synaptic plasticity in models of Alzheimer's disease* (p. 2022.01.25.477711). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2022.01.25.477711>
- Martorana, A., & Koch, G. (2014). “Is dopamine involved in Alzheimer's disease?” *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6, 252. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00252>
- Mayes, A. R. (2002). Memory Disorders, Organic. In V. S. Ramachandran (Ed.), *Encyclopedia of the Human Brain* (pp. 759–772). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227210-2/00199-0>
- McGaugh, J. L. (2000). Memory—A Century of Consolidation. *Science*, 287(5451), 248–251. <https://doi.org/10.1126/science.287.5451.248>
- Merdes, G., Soba, P., Loewer, A., Bilic, M. V., Beyreuther, K., & Paro, R. (2004). Interference of human and Drosophila APP and APP-like proteins with PNS development in Drosophila. *The EMBO Journal*, 23(20), 4082–4095. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600413>
- Mhatre, S. D., Paddock, B. E., Saunders, A. J., & Marenza, D. R. (2013). Invertebrate models of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 33(1), 3–16. <https://doi.org/10.3233/JAD-2012-121204>
- More, S. V., Kumar, H., Cho, D.-Y., Yun, Y.-S., & Choi, D.-K. (2016). Toxin-Induced Experimental Models of Learning and Memory Impairment. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/ijms17091447>

- Mukherjee, P., Roy, S., Ghosh, D., & Nandi, S. K. (2022). Role of animal models in biomedical research: A review. *Laboratory Animal Research*, 38(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s42826-022-00128-1>
- Nabavi, S., Fox, R., Proulx, C. D., Lin, J. Y., Tsien, R. Y., & Malinow, R. (2014). Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature*, 511(7509), 348–352. <https://doi.org/10.1038/nature13294>
- Nestler, E. J., & Hyman, S. E. (2010). Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nature Neuroscience*, 13(10), 1161–1169. <https://doi.org/10.1038/nn.2647>
- Neumaier, F., Zlatopolskiy, B. D., & Neumaier, B. (2021). Drug Penetration into the Central Nervous System: Pharmacokinetic Concepts and In Vitro Model Systems. *Pharmaceutics*, 13(10), 1542. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13101542>
- Nichols, E., Steinmetz, J. D., Vollset, S. E., Fukutaki, K., Chalek, J., Abd-Allah, F., Abdoli, A., Abualhasan, A., Abu-Gharbieh, E., Akram, T. T., Hamad, H. A., Alahdab, F., Alanezi, F. M., Alipour, V., Almustanyir, S., Amu, H., Ansari, I., Arabloo, J., Ashraf, T., ... Vos, T. (2022). Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: An analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Public Health*, 7(2), e105–e125. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(21\)00249-8](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00249-8)
- Ober, B. A. (2014). Memory, Explicit/Implicit. In M. J. Aminoff & R. B. Daroff (Eds.), *Encyclopedia of the Neurological Sciences (Second Edition)* (pp. 1042–1044). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385157-4.00455-3>
- Olney, N. T., Spina, S., & Miller, B. L. (2017). Frontotemporal Dementia. *Neurologic Clinics*, 35(2), 339–374. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2017.01.008>
- Onos, K. D., Sukoff Rizzo, S. J., Howell, G. R., & Sasner, M. (2016). Toward more predictive genetic mouse models of Alzheimer's disease. *Brain Research Bulletin*, 122, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2015.12.003>
- Orsini, C. A., & Maren, S. (2012). Neural and cellular mechanisms of fear and extinction memory formation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(7), 1773–1802. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.12.014>
- Ortega-de San Luis, C., & Ryan, T. J. (2022). Understanding the physical basis of memory: Molecular mechanisms of the engram. *The Journal of Biological Chemistry*, 298(5), 101866. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101866>
- Petersen, R. C. (2016). Mild Cognitive Impairment. *Continuum : Lifelong Learning in Neurology*, 22(2 Dementia), 404–418. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000313>
- Poceviciute, I., Brazaityte, A., Buisas, R., & Vengeliene, V. (2025). Scopolamine animal model of memory impairment. *Behavioural Brain Research*, 479, 115344. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2024.115344>
- Pomara, N., Willoughby, L. M., Wesnes, K., & Sidtis, J. J. (2004). Increased Anticholinergic Challenge-Induced Memory Impairment Associated with the APOE-ε4 Allele in the Elderly: A Controlled Pilot Study. *Neuropsychopharmacology*, 29(2), 403–409. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300305>
- Prajapat, M., Kaur, G., Choudhary, G., Pahwa, P., Bansal, S., Joshi, R., Batra, G., Mishra, A., Singla, R., Kaur, H., Prabha, P. K., Patel, A. P., & Medhi, B. (2023). A systematic review for the development of Alzheimer's disease in in vitro models: A focus on different inducing agents. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 15, 1296919. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2023.1296919>
- Prasad, S., Katta, M. R., Abhishek, S., Sridhar, R., Valisekka, S. S., Hameed, M., Kaur, J., & Walia, N. (2023). Recent advances in Lewy body dementia: A comprehensive review. *Disease-a-Month*, 69(5), 101441. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2022.101441>

- Prüßing, K., Voigt, A., & Schulz, J. B. (2013). *Drosophila melanogaster* as a model organism for Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 8, 35. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-35>
- Puzzo, D., Lee, L., Palmeri, A., Calabrese, G., & Arancio, O. (2014). Behavioral assays with mouse models of Alzheimer's disease: Practical considerations and guidelines. *Biochemical Pharmacology*, 88(4), 450–467. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.01.011>
- Quentin, R., King, J.-R., Sallard, E., Fishman, N., Thompson, R., Buch, E. R., & Cohen, L. G. (2019). Differential Brain Mechanisms of Selection and Maintenance of Information during Working Memory. *Journal of Neuroscience*, 39(19), 3728–3740. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2764-18.2019>
- Race, E., & Verfaellie, M. (2012). Amnesia and the Brain. In V. S. Ramachandran (Ed.), *Encyclopedia of Human Behavior (Second Edition)* (pp. 125–129). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375000-6.00021-5>
- Rakowska, M., Bagrowska, P., Lazari, A., Navarrete, M., Abdellahi, M. E. A., Johansen-Berg, H., & Lewis, P. A. (2022). Cueing motor memory reactivation during NREM sleep engenders learning-related changes in precuneus and sensorimotor structures (p. 2022.01.27.477838). *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2022.01.27.477838>
- Rapaka, D., Adiukwu, P. C., & Bitra, V. R. (2022). Experimentally induced animal models for cognitive dysfunction and Alzheimer's disease. *MethodsX*, 9, 101933. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2022.101933>
- Rascovsky, K., Hodges, J. R., Knopman, D., Mendez, M. F., Kramer, J. H., Neuhaus, J., van Swieten, J. C., Seelaar, H., Dopper, E. G. P., Onyike, C. U., Hillis, A. E., Josephs, K. A., Boeve, B. F., Kertesz, A., Seeley, W. W., Rankin, K. P., Johnson, J. K., Gorno-Tempini, M.-L., Rosen, H., ... Miller, B. L. (2011). Sensitivity of revised diagnostic criteria for the behavioural variant of frontotemporal dementia. *Brain*, 134(9), 2456–2477. <https://doi.org/10.1093/brain/awr179>
- Raz, L., Knoefel, J., & Bhaskar, K. (2016). The neuropathology and cerebrovascular mechanisms of dementia. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 36(1), 172–186. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.164>
- Rocha-Martins, M., Cavaleiro, G. R., Matos-Rodrigues, G. E., & Martins, R. a. P. (2015). From Gene Targeting to Genome Editing: Transgenic animals applications and beyond. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 87, 1323–1348. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201520140710>
- Roy, D. S., Arons, A., Mitchell, T. I., Pignatelli, M., Ryan, T. J., & Tonegawa, S. (2016). Memory retrieval by activating engram cells in mouse models of early Alzheimer's disease. *Nature*, 531(7595), 508–512. <https://doi.org/10.1038/nature17172>
- Sagalajev, B., Lennartz, L., Vieth, L., Gunawan, C. T., Neumaier, B., Drzezga, A., Visser-Vandewalle, V., Endepols, H., & Sesia, T. (2023). TgF344-AD Rat Model of Alzheimer's Disease: Spatial Disorientation and Asymmetry in Hemispheric Neurodegeneration. *Journal of Alzheimer's Disease Reports*, 7(1), 1085–1094. <https://doi.org/10.3233/ADR-230038>
- Sanders, A. E., Schoo, C., & Kalish, V. B. (2025). Vascular Dementia. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430817/>
- Santos, C. Y., Snyder, P. J., Wu, W.-C., Zhang, M., Echeverria, A., & Alber, J. (2017). Pathophysiologic relationship between Alzheimer's disease, cerebrovascular disease, and cardiovascular risk: A review and synthesis. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, 7, 69–87. <https://doi.org/10.1016/j.dadm.2017.01.005>
- Saraceno, C., Musardo, S., Marcello, E., Pelucchi, S., & Di Luca, M. (2013). Modeling Alzheimer's disease: From past to future. *Frontiers in Pharmacology*, 4, 77. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00077>

- Sasaguri, H., Nilsson, P., Hashimoto, S., Nagata, K., Saito, T., De Strooper, B., Hardy, J., Vassar, R., Winblad, B., & Saido, T. C. (2017). APP mouse models for Alzheimer's disease preclinical studies. *The EMBO Journal*, 36(17), 2473–2487. <https://doi.org/10.15252/embj.201797397>
- Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D., George-Hyslop, P. H., Pericak-Vance, M. A., Joo, S. H., Rosi, B. L., Gusella, J. F., Crapper-MacLachlan, D. R., & Alberts, M. J. (1993). Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*, 43(8), 1467–1472. <https://doi.org/10.1212/wnl.43.8.1467>
- Seibenhener, M. L., & Wooten, M. C. (2015). Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 96, 52434. <https://doi.org/10.3791/52434>
- Shaikh, A., Ahmad, F., Teoh, S. L., Kumar, J., & Yahaya, M. F. (2023). Targeting dopamine transporter to ameliorate cognitive deficits in Alzheimer's disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 17, 1292858. <https://doi.org/10.3389/fncel.2023.1292858>
- Shineman, D. W., Basi, G. S., Bizon, J. L., Colton, C. A., Greenberg, B. D., Hollister, B. A., Lincecum, J., Leblanc, G. G., Lee, L. (Bobbi) H., Luo, F., Morgan, D., Morse, I., Refolo, L. M., Riddell, D. R., Searce-Levie, K., Sweeney, P., Yrjänheikki, J., & Fillit, H. M. (2011). Accelerating drug discovery for Alzheimer's disease: Best practices for preclinical animal studies. *Alzheimer's Research & Therapy*, 3(5), 28. <https://doi.org/10.1186/alzrt90>
- Silva, M. V. F., Loures, C. de M. G., Alves, L. C. V., de Souza, L. C., Borges, K. B. G., & Carvalho, M. das G. (2019). Alzheimer's disease: Risk factors and potentially protective measures. *Journal of Biomedical Science*, 26, 33. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>
- Singh, S. K., Srivastav, S., Yadav, A. K., Srikrishna, S., & Perry, G. (2015). Overview of Alzheimer's Disease and Some Therapeutic Approaches Targeting A β by Using Several Synthetic and Herbal Compounds. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, e7361613. <https://doi.org/10.1155/2016/7361613>
- Spinks, A., & Wasiak, J. (2011). Scopolamine (hyoscine) for preventing and treating motion sickness. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2011(6), CD002851. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002851.pub4>
- Squire, L. R., & Dede, A. J. O. (2015). Conscious and Unconscious Memory Systems. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(3), a021667. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021667>
- Squire, L. R., & Zola, S. M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(24), 13515–13522. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.24.13515>
- St Louis, E. K., & Boeve, B. F. (2017). REM Sleep Behavior Disorder: Diagnosis, Clinical Implications, and Future Directions. *Mayo Clinic Proceedings*, 92(11), 1723–1736. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.09.007>
- Tag, S. H., Kim, B., Bae, J., Chang, K.-A., & Im, H.-I. (2022). Neuropathological and behavioral features of an APP/PS1/MAPT (6xTg) transgenic model of Alzheimer's disease. *Molecular Brain*, 15(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s13041-022-00933-8>
- Tay, J., Lisiecka-Ford, D. M., Hollocks, M. J., Tuladhar, A. M., Barrick, T. R., Forster, A., O'Sullivan, M. J., Husain, M., de Leeuw, F.-E., Morris, R. G., & Markus, H. S. (2020). Network neuroscience of apathy in cerebrovascular disease. *Progress in Neurobiology*, 188, 101785. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101785>
- Taylor, J.-P., McKeith, I. G., Burn, D. J., Boeve, B. F., Weintraub, D., Bamford, C., Allan, L. M., Thomas, A. J., & O'Brien, J. T. (2020). New evidence on the management of Lewy body dementia. *The Lancet. Neurology*, 19(2), 157–169. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30153-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30153-X)

- Theleritis, C., Politis, A., Siarkos, K., & Lyketsos, C. G. (2014). A review of neuroimaging findings of apathy in Alzheimer's disease. *International Psychogeriatrics*, 26(2), 195–207. <https://doi.org/10.1017/S1041610213001725>
- Tini, G., Scagliola, R., Monacelli, F., La Malfa, G., Porto, I., Brunelli, C., & Rosa, G. M. (2020). Alzheimer's Disease and Cardiovascular Disease: A Particular Association. *Cardiology Research and Practice*, 2020, 2617970. <https://doi.org/10.1155/2020/2617970>
- Trejo-Lopez, J. A., Yachnis, A. T., & Prokop, S. (2022). Neuropathology of Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics*, 19(1), 173–185. <https://doi.org/10.1007/s13311-021-01146-y>
- Van Cauwenberghe, C., Van Broeckhoven, C., & Sleegers, K. (2016). The genetic landscape of Alzheimer disease: Clinical implications and perspectives. *Genetics in Medicine*, 18(5), 421–430. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.117>
- Walker, D. K. (2004). The use of pharmacokinetic and pharmacodynamic data in the assessment of drug safety in early drug development. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 58(6), 601–608. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2004.02194.x>
- Wang, R., & Reddy, P. H. (2017). Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57(4), 1041–1048. <https://doi.org/10.3233/JAD-160763>
- Wang, T., Chen, Y., Zou, Y., Pang, Y., He, X., Chen, Y., Liu, Y., Feng, W., Zhang, Y., Li, Q., Shi, J., Ding, F., Marshall, C., Gao, J., & Xiao, M. (2022). Locomotor Hyperactivity in the Early-Stage Alzheimer's Disease-like Pathology of APP/PS1 Mice: Associated with Impaired Polarization of Astrocyte Aquaporin 4. *Aging and Disease*, 13(5), 1504. <https://doi.org/10.14336/AD.2022.0219>
- Wang, X., Zhang, J.-B., He, K.-J., Wang, F., & Liu, C.-F. (2021). Advances of Zebrafish in Neurodegenerative Disease: From Models to Drug Discovery. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.713963>
- Webster, S. J., Bachstetter, A. D., & Van Eldik, L. J. (2013). Comprehensive behavioral characterization of an APP/PS-1 double knock-in mouse model of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*, 5(3), 28. <https://doi.org/10.1186/alzrt182>
- Whalley, K. (2015). Pain or pleasure? *Nature Reviews Neuroscience*, 16(6), 316–316. <https://doi.org/10.1038/nrn3975>
- Wilcock, D. M., & Lamb, B. T. (2024). The importance of continuing development of novel animal models of Alzheimer's disease and Alzheimer's disease and related dementias. *Alzheimer's & Dementia*, 20(7), 5078–5079. <https://doi.org/10.1002/alz.14105>
- Wong, E. C., & Chui, H. C. (2022). Vascular Cognitive Impairment and Dementia. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 28(3), 750–780. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000001124>
- Xu, L., Zhou, Y., Hu, L., Jiang, H., Dong, Y., Shen, H., Lou, Z., Yang, S., Ji, Y., Ruan, L., & Zhang, X. (2021). Deficits in N-Methyl-D-Aspartate Receptor Function and Synaptic Plasticity in Hippocampal CA1 in APP/PS1 Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.772980>
- Xu, Q.-Q., Yang, W., Zhong, M., Lin, Z.-X., Gray, N. E., & Xian, Y.-F. (2023). Animal models of Alzheimer's disease: Preclinical insights and challenges. *Acta Materia Medica*, 2, 192–215. <https://doi.org/10.15212/AMM-2023-0001>
- Yadang, F. S. A., Nguézeye, Y., Kom, C. W., Betote, P. H. D., Mamat, A., Tchokouaha, L. R. Y., Taiwé, G. S., Agbor, G. A., & Bum, E. N. (2020). Scopolamine-Induced Memory Impairment in Mice: Neuroprotective Effects of Carissa edulis (Forssk.) Valh (Apocynaceae) Aqueous Extract. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2020, 6372059. <https://doi.org/10.1155/2020/6372059>

- Zheng, Q., & Wang, X. (2024). Alzheimer's disease: Insights into pathology, molecular mechanisms, and therapy. *Protein & Cell*, 16(2), 83–120. <https://doi.org/10.1093/procel/pwae026>
- Zhou, J. C., Jiang, J. B., Guo, H., Yang, S. R., Liu, C. F., Qu, W. M., Huang, Z. L., & Ding, F. F. (2022). Trihexyphenidyl increases delta activity in non-rapid eye movement sleep without impairing cognitive function in rodent models. *Neuropharmacology*, 218, 109217. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.109217>
- Zlotnik, G., & Vansintjan, A. (2019). Memory: An Extended Definition. *Frontiers in Psychology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.02523>