

U $\frac{11}{821}$

15.00.01

ԵՐԵՎԱՆԻ ՄԽԻԹԱՐ ՀԵՐԱՑՈՒ ԱՆՎԱՆ ՊԵՏԱԿԱՆ ԲԺՇԿԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ՄԱՐԳԱՐՅԱՆ ՏԻԳՐԱՆ ՍՈՒՐԻԿԻ

ԹԹԵՆԻ ՍԵՎԻ ՏԵՐԵՎՆԵՐԻ ՆՅԱՐԴԱՊԱՇՏՊԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ
ՈՒՄՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՂԵՂԻ ՏԵՂԱՅԻՆ ԻՇԵՄԻԱՅԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

ԺԵ.00.01 – «Դեղագիտություն» մասնագիտությամբ
դեղագործական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության
ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2014

ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
МХИТАРА ГЕРАЦИ

МАРГАРЯН ТИГРАН СУРИКОВИЧ

ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ЛИСТЬЕВ
ШЕЛКОВИЦЫ ЧЕРНОЙ ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук
по специальности 15.00.01 – «фармацевтика»

ЕРЕВАН – 2014

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երեւանի Մ. Դերացու անվան պետական բժշկական համալսարանում

Գիտական ղեկավար՝ բժշկական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Յ.Վ. Թովչյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ ղեղազործական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Ա.Ս. Խաչատրյան

բժշկական գիտությունների թեկնածու Ա.Ս. Գրիգորյան

Առաջատար կազմակերպություն L. Սնջոյանի անվան նուրբ օրգանական քիմիայի ինստիտուտ:

Պաշտպանությունը կայանալու է 2014թ-ի հոկտեմբերի 20-ին ժամը 16:00-ին Երեւանի Մ. Դերացու անվան ԵՊԲՀ գործող ԲՈՅ-ի 026 «Տեսական բժշկություն» մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, 375025, գ. Երեւան, Կորյունի 2)

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ԵՊԲՀ գրադարանում Սեղմագիրն առաքված է 2014թ. սեպտեմբերի 19-ին:

Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար՝ *Ս. Տաթևյան* կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Ա.Ս. Տեր-Մարկոսյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном медицинском университете им. М. Гераци

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор А.В. Топчян

Официальные оппоненты: доктор фармацевтических наук, профессор А.С. Хачатрян

кандидат медицинских наук, А.С. Григорян

Ведущая организация: Институт тонкой органической химии им. А. Мнджояна

Защита состоится 20 октября 2014 г. в 16:00, на заседании специализированного совета 026 "Теоретическая медицина" ВАК при ЕрГМУ им. М. Гераци (РА, 375025, г. Ереван, ул. Корюна 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке при ЕрГМУ им. М. Гераци

Автореферат разослан 19 сентября 2014г.

Ученый секретарь специализированного совета



Ս. Տաթևյան

доктор биологических наук, профессор А.С. Тер-Маркосян

11-821

Աշխատանքի ընդհանուր բնութագիրը

Թեմայի արդիականությունը: Համաձայն Առողջապահության

Համաշխարհային Կազմակերպության վիճակագրական տվյալների Հայաստանի Հանրապետությունում, ինչպես եւ ողջ աշխարհում գլխուղեղաճեղքային հիվանդությունները մարդկանց մոտ հանդիսանում են մահացության երրորդ պատճառը սրտանոթային հիվանդություններից եւ քաղցկեղից հետո (WHO, 2014): Յուրաքանչյուր տարի գրանցվում են գլխուղեղի կաթվածի (ԳԿ) միլիոնավոր դեպքեր, որոնց 2/3-ը զարգանում է մինչեւ 70 տարեկան հասակում (Strong, K, et al., 2007): Ավելին, հիվանդների մոտ 1/3-ը, ովքեր կենդանի են մնում 6 ամսվա ընթացքում դառնում են անաշխատունակ, որոնց մեծ մասն էլ այլ անձանց խնամքի կարիք են ունենում (Allen, CL and Bayraktutan, U, 2009; Warlow, CP, 1998): Այդ պատճառով այն հասարակության համար հանդիսանում է կարևոր սոցիալական և տնտեսական խնդիր: Միևնույն ժամանակ ԳԿ-ների աճի միտումը 21-րդ դարում զնահատվում է 12-35% (Strong, K, et al., 2007):

ԳԿ-ների գլխավոր երկու պատճառներն են ուղեղի իշեմիան և հեմոռագիան: Ընդ որում դրանց 80-85%-ը բաժին է ընկնում իշեմիկ կաթվածներին, որոնք զարգանում են գլխավորապես միջին ուղեղային զարկերակի (ՄՈՒԶ) եւ/կամ նրա ճյուղերի թրոմբիկ կամ էմբոլիկ խցանման հետևանքով (Durukan, A and Tatlisumak, T, 2007; Green, AR, 2008):

Մարդկանց մոտ ինսուլտը կարող է հետևանք դառնալ վերջույթների կաթվածի, զգացողական դեֆիցիտի, հիշողության եւ ուսուցման նվազման, դեմենցիայի եւ դեպրեսիայի զարգացման (Mendis, S, 2010), եւ չնայած գիտության զարգացմանը, իշեմիկ ինսուլտի բուժման արդյունավետությունը դեռեւս սահմանափակ է (Alberts, MJ and Ovbiagele, B, 2007; Goldstein, LB, 2007):

Իշեմիայի պաթոգենեզը դեռեւս լիովին պարզաբանված չէ: Արնամատակարարման նվազումը հանգեցնում է իշեմիկ կասկադի ձևավորման, որն իր մեջ է ընդգրկում մի շարք փոխկապակցված պաթոգենետիկ օղակներ: Այդ պաթոգենետիկ ուղում զարգանում է դրդող ամինաթթուների էքսալտոտոքսիկ ազդեցություն (Kobayashi, H et al., 2001), ներքջջային Ca²⁺-ի ավելացում (Xiao, ZY et al., 2006), թթվածնի ակտիվ ձեւերի գերառաջացում (Chan, PH, 2001; Wang, Q et al., 2007), բորբոքում (Liou, KT et al., 2003; Liu, YG et al., 2010), ապոպտոզ (Singhal, A et al., 2011) եւ այլն: Արդյունքում, նեյրոնների իշեմիկ վնասման ժամանակ զարգացող ներքջջային այտուցը, միտոքոնդրիալ դիսֆունկցիան եւ բջջաթաղանթի վնասումը/քայքայումը հանգեցնում են նեյրոնների մահվան նեկրոզի կամ ապոպտոզի ճանապարհով (Singhal, A et al., 2011):

ԳԿ-ի բուժման երկու հիմնական մոտեցումներն են՝ ռեպերֆուզիան և նեյրոպրոտեկցիան (Fisher, M, 2011): Միակ ղեղամիջոցը, որը հաստատված է կլինիկական կիրառման համար ռեկոմբինանտ հյուսվածքային պլազմինոգենի ակտիվացնող գործոնն է (ռՀՊԱԳ) (1995): Ընդ որում, այն հիվանդների միայն 4-5%-ին է հասանելի դառնում՝ կարճ թերապեւտիկ պատուհան ունենալու պատճառով, բացի այդ, անհրաժեշտություն է առաջանում լրացուցիչ հետազոտությամբ հաստատել, որ կաթվածն իշեմիկ է այլ ոչ թե հեմոռագիկ (Green, AR, 2008):

Նեյրոպրոտեկտորների կիրառությունն ուղղված է պահպանելու նեյրոնները՝ իշեմիայի հետևանքով զարգացող ախտածնական օղակների վրա ազդելով: Այդ նպատակի իրագործման համար կիրառվում են կալցիումի անտագոնիստներ, մատրիումական մոլանցքների պաշարիչներ, գլյուտամատային ընկալիչների պաշարիչներ, ապոպտոզ ընկճողներ, զամմա ամինակարագաթթվի (ԳԱԿԹ) համակարգի խթանիչներ, հակառադիկալային միջոցներ, թաղանթային անոթազանցող միջոցներ: Մինչ այժմ փորձարկվել են 1000-ից ավելի միացություններ (O'Collins, VE et al., 2006): ԵՎ չնայած նեյրոպրոտեկտորների կլինիկական կիրառման հավաստի

արդյունավետության բացակայությանը, նոր միացությունների ուսումնասիրությունները շարունակվում են:

Թթենի սելը (*Morus nigra*) բազմամյա ծառ է, որը լայն տարածում ունի հայկական ֆլորայում: Թթենու տերեւները օժտված են հակաօքսիդանտային, հակառիտմալային, հակաբորբոքային, հիպոլիպիդեմիկ հատկություններով (Doi, K et al., 2000; Lee, CY et al., 2007): Ավելին, բազմաթիվ *in vitro* եւ *in vivo* հետազոտությունների համաձայն թթենու տերեւները նվազեցնում են օքսիդատիվ սթրեսը (Doi, K et al., 2000), ցուցաբերում են հիպոգլիկեմիկ (Kim, GN et al., 2011; Park, JM et al., 2009), հակաաթերոգեն (Chan, KC et al., 2009; Yang, MY et al., 2011) եւ նյարդապաշտպան (Lee, CY et al., 2007) ազդեցություն:

Չայկական ֆլորայում աճող թթենի սելի տերեւները, ըստ մասս-սպեկտրոսկոպիկ հետազոտության տվյալների, պարունակում են զգալի քանակությամբ տենցիալ եւ պայմանական տենցիալ տարրեր (Кочикян, А, 2011), հարուստ են նեյրոակտիվ ամինաթթուներով (ասպարագինաթթու, գլյուտամինաթթու, գլիցին, ԳԱԿԹ), եւ *in vitro* պայմաններում ցուցաբերում են արտահայտված հակաօքսիդանտային ազդեցություն (Кочикян, А et al., 2010):

Չետազոտության նպատակն ու խնդիրները: Աշխատանքի նպատակն է ուսումնասիրել թթենի սելի տերեւների ջրային լուծամզվածքի (ԹՍՄՆ) նյարդապաշտպան ազդեցությունը ուղեղի իշեմիկ ախտահարման ժամանակ: Այդ նպատակի իրագործման համար մեր կողմից առաջադրվել են հետևյալ խնդիրները.

- հանուկների ստացման տեխնոլոգիական օպտիմալ պայմանների մշակում,
- ԹՍՄՆ-ում նեյրոակտիվ ամինաթթուների քանակական որոշում,
- ԹՍՄՆ-ի կիրառման պայմաններում գլխուղեղի կառուցվածքային փոփոխությունների ուսումնասիրում առնետների մոտ ուղեղի իշեմիկ ախտահարման ժամանակ,
- նեյրոակտիվ ամինաթթուների քանակական փոփոխությունների ուսումնասիրում ուղեղի տեղային իշեմիայի պայմաններում ԹՍՄՆ-ի կիրառման ժամանակ,
- ԹՍՄՆ-ի ազդեցության ուսումնասիրում առնետների վարքի և հիշողության վրա ուղեղի տեղային իշեմիայի պայմաններում:

Գիտական նորություն: Կատարված հետազոտություններում ցույց է տրվել, որ հայկական ֆլորայում աճող թթենի սելի տերեւները հարուստ են նեյրոակտիվ ամինաթթուներով: Մշակվել է նոր եղանակ բույսերում ամինաթթուների որոշման համար: Կատարվել է ԳԱԿԹ-ի քանակական ավելացում թթենու տերեւներում (ԹՍ) գլյուտամինաթթվի ֆերմենտատիվ ձեւափոխման արդյունքում: Ցույց է տրվել, որ ԹՍՄՆ-ն ցուցաբերում է հակաիշեմիկ ազդեցություն ուղեղի տեղային իշեմիայի պայմաններում: Ապացուցվել է, որ ԹՍՄՆ-ն կանխում է հետիշեմիկ շրջանում զարգացող գլյուտամատային էքսայտոտոքսիկությունը, ինչպես նաեւ ԳԱԿԹ-ի քանակական նվազումը: Միեւնույն ժամանակ, վեր է հանվել այն, որ ԹՍՄՆ-ն կանխում է իշեմիայի հետեւանցով զարգացող վարքային խանգարումները՝ ցուցաբերելով տազնապամարիչ ազդեցություն եւ նպաստելով շարժողական ակտիվության բարձրացմանը:

Գիտագործնական նշանակությունը:

Գլխուղեղի կաթվածի հետեւանցով զարգացող խնդիրները, աճի միտումներն ու արդյունավետ բուժման բացակայությունը խթան են հանդիսանում նոր միջոցների փնտրմանը ողջ աշխարհում: Բուսական ծագման միջոցները հիմք են հանդիսացել սինթետիկ միջոցների ստեղծման համար դեռեւս չեն կորցրել իրենց

նշանակությունը եւ լայնորեն կիրառվում են տարբեր հիվանդությունների ու իրավիճակների կարգավորման եւ բուժման համար: Ստացված արդյունքները կարող են նպաստել գլխուղեղի կաթվածի բուժմանն ուղղված միջոցների ստեղծմանը: Ինչպես նաեւ կիրառված մեթոդները կարող են օգտագործվել այլ հետազոտություններում:

Ատենախոսության նախնական փորձաքննությունը:

Ատենախոսությունը նախնական փորձաքննության է ենթարկվել ԵՊԲ-ի գիտակրողի հիմնադր խորհրդում 2012թ. նոյեմբերի 7-ին, արձանագրություն թիվ 8:

Չրապարակումները:

Ատենախոսության թեմայով տպագրվել է 4 հոդված:

Ատենախոսության կառուցվածքը:

Ատենախոսությունը շարադրված է 108 տպագրական էջերի վրա եւ բաղկացած է հետեւյալ բաժիններից. ներածություն, գրական ակնարկ, հետազոտության նյութն ու մեթոդները, արդյունքներ եւ վերլուծություն, քննարկում եւ ամփոփում, եզրակացություններ, գրականության ցանկ: Աշխատանքը պարունակում է 17 նկար եւ 22 աղյուսակ: Օգտագործված գրականության ցանկը ներառում է 222 աղբյուր:

ՉԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ՆՅՈՒԹՆ ՈՒ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

1. Բույսի հավաքն ու չորացումը

Թթենի սելի տերեւները հավաքվել են Արմավիրի մարզի Արմավիր քաղաքից պտղաբերության շրջանում: Հավաքից հետո տերեւները չորացվել են ստվերում, հողմահարվող տարածքում, ապա մանրացվել ըստ ֆարմակոպեայի պահանջների: Ջրային լուծամզվածքի պատրաստման համար մանրեցված տերեւները անց են կացվել N 60 մաղով:

2. Լուծամզվածքի ստացումը

Ջրային լուծամզվածքը պատրաստվել է 1:10 հարաբերությամբ՝ ջրաբաղնիսում 3 ժամ տեւողությամբ, 40±5 °C ջերմաստիճանում, անաէրոբ պայմաններում: Թրմումից հետո լուծամզվածքը քամվել է թանգիֆով եւ քամվածքը կիրառվել հետազոտության համար:

3. Ամինաթթուների քանակական որոշումը

Ամինաթթուների քանակական որոշումը կատարվել է բարձրարդյունավետ հեղուկային քրոմատագրության միջոցով ըստ *Pearson SJ. et al.* (Pearson, SJ et al., 1991), եւ *Rowley HL. et al.* (Rowley, HL et al., 1995):

Չեղուկ ֆազան. pH5.6 ֆոսֆատային բուֆեր եւ մեթանոլ 25:1 ծավալային հարաբերակցությամբ:

Աշտարակը. Phenomenex C18, 5 մկմ, 150մմ, 4.6 մմ

Չետեկտոր. էլեկտրաքիմիական դետեկտոր ДЭ-108, Биохром, Россия

4. Թթենի սելի տերեւներում ԳԱԿԹ-ի ավելացումը անաէրոբ պայմաններում

Մանրեցված թթենու սելի տերեւները (N60 մաղով անցկացնելուց հետո) խառնվել են գլյուտամինաթթվի լուծույթի հետ (1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.125%) 1:10 հարաբերությամբ: Ստացված խառնուրդը ինկուբացվել է ջրաբաղնիսում 40°C ջերմաստիճանում, անաէրոբ պայմաններում: 3 ժամ անց խառնուրդը եռացվել է 5 ռոպե տեւողությամբ ֆերմենտների դեմատուրացիայի նպատակով, լուծամզվածքը քամվել է թանգիֆով եւ քամվածքը կիրառվել հետազոտության համար: ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիայի որոշումը կատարվել է վերը նշված եղանակով:

5. Սորիսի ջրային լողավազան

Կենդանիների տարածական հիշողության ուսումնասիրությունը կատարվել է Սորիսի ջրային լողավազան (USL) թեստում (Morris R., 1981, Vorhees CV. & Williams MT., 2006):

6. Բարձրացված խաչածեւ լաբիրինթոս

Կենդանիների վարքի ուսումնասիրությունը կատարվել է բարձրացված խաչածեւ լաբիրինթոս (ԲԽՆ) թեստում: ԲԽՆ թեստը կրծողների վարքի գնահատման եղանակ է եւ այն վախիղացված է դեղաբանական միջոցների տազնապամարիչ ազդեցությունը գնահատելու, ինչպես նաև ուղեղի հատվածներն ու մեխանիզմները բացահայտելու համար, որոնց հիմքում ընկած է տազնապ կախյալ վարքագիծը (Walf, AA and Frye, CA, 2007):

ԹՄՏԼ-ի տազնապամարիչ ազդեցության ուսումնասիրման համար օգտագործվել է 8մլ/կգ եւ 40մլ/կգ դեղաչափերը, որը տրվել է *per os* ճանապարհով 3 օր շարունակ, օրական 1 անգամ՝ սկսած ՄՈՒՁ-ի կապումից 1.5 ժամ անց:

ԲԽՆ եւ ՄՏԼ թեստերում ուսումնասիրվող ցուցանիշները գրանցվել են Smart Junior ծրագրի միջոցով:

7. Պասիվ խուսափման ռեֆլեքս

Կենդանիների պայմանական ռեֆլեքսային հիշողությունը ուսումնասիրվել է պասիվ խուսափման ռեֆլեքսի մոդելի վրա (Ader et al., 1972):

8. Ուղեղի տեղային իշեմիայի մոդելավորումը

Ուղեղի տեղային իշեմիայի մոդելավորումը կատարվել է ձախ ՄՈՒՁ-ի կապման միջոցով ըստ Tamura et al. (1981) կողմից առաջադրված մեթոդի՝ մոդիֆիկացված Topchyan et al. (1996) կողմից: Վիրահատությունները կատարվել են ընդհանուր անզգայացման պայմաններում՝ քլորալ հիդրատ 400մգ/կգ, ներորովայնային:

9. Սորիսի լողավազանի հետազոտություններ

Գլխատելուց հետո անջատվել է ստուգիչ և փորձարարական խմբերի առնետների գլխուղեղները: Ֆորմալդեհիդի 7%-անոց լուծույթում ֆիքսացիայից հետո պատրաստվել են պարաֆինային բլոկներ: 5-7 մկմ հաստությամբ միկրոտոմային պարաֆինային կտրվածքները ներկվել են լուբսոլով եւ հեմատաքսիլին-եռզինով:

10. Կենդանիները

Փորձերն իրականացվել են թվով 120 անցեղ, սպիտակ արու առնետների վրա (240-260գ): Բոլոր կենդանիները պահվել են լաբորատոր վիճարկումում՝ սննդի եւ ջրի անսահմանափակ առկայության եւ 12/12 լույս/մութ ռեժիմի պայմաններում, յուրաքանչյուր վանդակում առավելագույնը 6 առնետ: Հետազոտության համար կենդանիները բաժանվել են երեք խմբի՝ հսկիչ խումբ/նորմա (կեղծ վիրահատված առնետներ), հսկիչ խումբ (իշեմիկ առնետներ), փորձարարական խումբ (իշեմիկ առնետներ, որոնք ստացել են ԹՄՏԼ): Չախ ՄՈՒՁ-ի կապումից 1 ժամ անց *per os* ճանապարհով զոնդի միջոցով փորձարարական խմբի առնետներին տրվել է ԹՄՏԼ օրական մեկ անգամ, երեք օր շարունակ, իսկ հսկիչ եւ կեղծ հսկիչ խմբի առնետներին տրվել է թորած ջուր: Ուսումնասիրությունները կատարվել են ՄՈՒՁ-ի կապումից 6 եւ 12 օր անց:

Տվյալների վիճակագրական վերլուծությունը: Ուսումնասիրված ցուցանիշների համար ստուգվել է բաշխումների նորմալությունը Կոլմոգորով Սմիրնով թեստով: Քանի որ նորմալությունը չի ժխտվել, կիրառվել են պարամետրիկ թեստեր. Ստյուդենտի տ թեստի տարբերակները եւ ԱՆՕՎԱ եղանակը:

ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄ

1. Բույսերում նեյրոակտիվ ամինաթթուների քանակական և որակական բաղադրությունը

Թթենի սեւի տերեւները պարունակում են զգալի քանակությամբ ԳԱԿԹ (1.113 մգ/գ), գլյուտամինաթթու (0.824մգ/գ), ասպարազինաթթու (0.222 մգ/գ) եւ գլիցին (0.058 մգ/գ): Տաուրինը, որը գլխավորապես պարունակվում է կենդանական ծագման օրգանիզմներում, ԹՄՏ-ում չի հայտնաբերվել:

Վերլուծելով գրականության տվյալները՝ հետագա դեղաչափավորումը կատարվել է ըստ ԳԱԿԹ-ի: Հետազոտության համար ընտրվել է երկու դեղաչափ՝ 8մլ/կգ (0.9մգ/կգ ըստ ԳԱԿԹ-ի), 40 մլ/կգ (4.5մգ/կգ ըստ ԳԱԿԹ-ի) (լուծանման ժամանակ պատրաստվել է 1:10 հարաբերակցությամբ):

2. Թթենի սեւի տերեւներում ԳԱԿԹ-ի ավելացումը անաէրոբ պայմաններում

Գլյուտամինաթթվի միջավայրում ԹՄՏ-ի անաէրոբ ինկուբացիայի պայմաններում տեղի է ունենում ԳԱԿԹ-ի քանակական ավելացում (*Աղյուսակ 1*), ինչը վկայում է այն մասին, որ թթենու չոր տերեւներում առկա է գլյուտամատ դեկարբօքսիլազան, որը գտնվում է պասիվ վիճակում եւ համապատասխան պայմաններում այն ակտիվանում է:

Աղյուսակ 1

ԳԱԿԹ-ի եւ գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիաները ինկուբացիայից հետո

(n=6)	Գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիան ինկուբացված միջավայրում			
	0%	0.5%	0.25%	0.125%
ԳԱԿԹ*	1,113±0.056	6,235±0.121	4,633±0.132	2,561±0.072
Գլյուտամինաթթու*	0,824±0.072	18,513±0.252	8,3±0.103	5,004±0.088

*մգ/գ վերահաշվարկված չոր զանգվածում

Հաշվի առնելով ԳԱԿԹ-ի ելքի եւ գլյուտամինաթթվի մնացորդի հարաբերական բարձր արժեքը (0.55) 0.25% գլյուտամինաթթվի լուծույթով ԳԱԿԹ-ով հագեցված ԹՄՏԼ-ն (ԳՀԹՄՏԼ) կիրառվել է ուսումնասիրելու վերջինիս նյարդապաշտպան եւ տազնապամարիչ ազդեցությունը առնետների վրա գլխուղեղի տեղային իշեմիայի մոդելում (8մլ/կգ դեղաչափով, լուծանման ժամանակ պատրաստվել է 1:10 հարաբերակցությամբ):

3. Ուսուցում եւ հիշողություն

Գլխուղեղի տեղային իշեմիայի պայմաններում տարածական հիշողության հետազոտումը ՄՏԼ թեստում

Ուսուցման ստուգման հաջորդ օրը հսկիչ խմբի առնետների մոտ կատարվել է կեղծ վիրահատությունը, իսկ իշեմիկ խմբի մոտ՝ ՄՈՒՁ-ի կապում: Վիրահատությունից 6 եւ 12 օր անց հետազոտվել է առնետների տարածական հիշողությունը: Գրանցված արդյունքները ներկայացված են Աղյուսակ 2-ում (արդյունքները ներկայացված են M±SEM տեսքով):

Արդյունքները ցույց են տալիս, որ իշեմիկ եւ հսկիչ խմբերում թիրախային հատվածում անցկացրած ժամանակի, անցած ճանապարհի եւ միջին արագություն ցուցանիշների հավաստի տարբերություն չկա (*Աղյուսակ 2*): Հետազոտության 12րդ օրը հսկիչ եւ իշեմիկ խմբերում գրանցվում է տարածական հիշողության նվազում՝ պայմանավորված թիրախային հատվածում անցկացրած ժամանակի նվազմամբ ($p<0.07$):

Այսինքն, ՄՈՒՁ-ի կապման հետեւանքով զարգացող իշեմիան տարածական հիշողության խանգարում չի առաջացնում հետիշեմիկ շրջանի 6րդ օրը: 12րդ օրը գրանցված տարածական հիշողության նվազումը կարող է պայմանավորված լինել կենդանիների մոտ թեստի նկատմամբ տոլերանտության զարգացմամբ:

Աղյուսակ 2

Մորիսի ջրային լողավազան թեստում առնետների անցած ճանապարհը, տարբեր հատվածներում անցկացրած ժամանակը, միջին արագությունը իշեմիայից 6 եւ 12 օր անց:

	Անցած ճանապարհի (սմ)	ՀսԱմ	ՀսԱԵ	ՀվԱԵ	ՀվԱՄ	միջին արագություն (սմ/վ)
հսկիչ 6րդ օր (n=9)	442,9±39,50	12,85±1,00	4,99±1,077	5,92±1,73	6,35±1,44	14,76±1,32
իշեմիա 6րդ օր (n=8)	467,9±29,79	11,44±0,53	8,32±0,87	4,79±0,66	5,45±0,67	15,60±0,99
հսկիչ 12րդ օր (n=9)	514,9±32,68	9,19±0,82*	5,48±0,26	6,77±1,32	8,56±1,29	17,16±1,09
իշեմիա 12րդ օր (n=8)	500,8±31,12	9,00±0,66**	5,32±0,37	7,70±1,06	7,98±1,02	16,69±1,04

*p<0.01 համեմատած 6-րդ օրվա հսկիչ խմբի ցուցանիշի հետ

**p<0.01 համեմատած 6-րդ օրվա իշեմիկ խմբի ցուցանիշի հետ

Գլխուղեղի տեղային իշեմիայի պայմաններում պայմանական ռեֆլեքսային հիշողության հետազոտումը պասիվ խուսափման ռեֆլեքս թեստում

Պայմանական ռեֆլեքսի ձեւավորման ստուգման հաջորդ օրը հսկիչ խմբի առնետների մոտ կատարվել է կեղծ վիրահատություն, իսկ իշեմիկ խմբի մոտ՝ ՄՈւԶ-ի կապում: Հետազոտության 6րդ եւ 12րդ օրերում իշեմիկ խմբի առնետների մոտ, համեմատած հսկիչ խմբի հետ, հետազոտվող ցուցանիշի հավաստի փոփոխություն չի գրանցվել: Այսինքն, ՄՈւԶ-ի կապման հետեւանքով զարգացող իշեմիան պայանական ռեֆլեքսային հիշողության փոփոխություն չի առաջացնում:

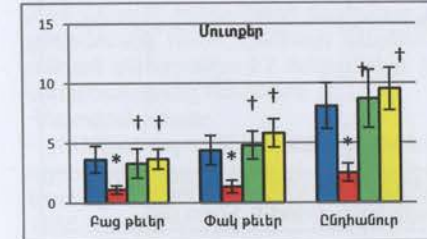
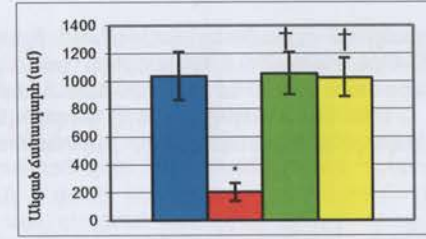
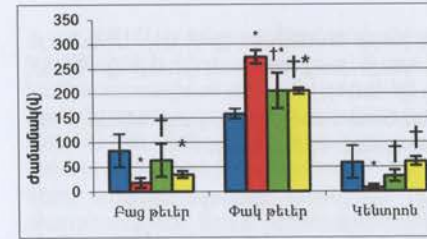
4. Առնետների վարքային տեղաշարժերը եւ դրանց համուղղումը ԹՄՏԼ-ով ՄՈւԶ-ի կապման պայմաններում իշեմիայից 6 եւ 12 օր անց, ԲԽԼ թեստում:

Առնետների վարքային տեղաշարժերը եւ դրանց համուղղումը ԹՄՏԼ-ով ՄՈւԶ-ի կապման պայմաններում իշեմիայից 6 օր անց:

Հետիշեմիկ շրջանի 6-րդ օրը ՄՈՒԶ-ի կապման հետեւանքով իշեմիկ խմբի առնետների մոտ զարգանում է տագնապ, որն արտահայտվում է բաց թելերում եւ կենտրոնում անցկացրած ժամանակի նվազմամբ ($p<0.001$), փակ թելերում անցկացրած ժամանակի ավելացմամբ ($p<0.001$), ինչպես նաեւ մուտքերի նվազմամբ՝ թե՛ բաց թելեր, թե՛ փակ թելեր, եւ թե ընդհանուր ($p<0.001$): Նվազում է նաեւ շարժողական ակտիվությունը, որն արտահայտվում է անցած ճանապարհի նվազմամբ ($p<0.01$) (Տկար 1):

Հետիշեմիկ շրջանի 6-րդ օրը փորձարարական-1 խմբում (8մլ/կգ) գրանցվել են հետեւյալ արդյունքները. բաց թելերում եւ կենտրոնում անցկացրած ժամանակը մեծանում է 3.5 եւ 4 անգամ, իսկ փակ թելերում անցկացրած ժամանակը՝ փոքրանում իշեմիկ խմբի համեմատ ($p<0.01$): Միեւնույն ժամանակ մուտքերի քանակը դեպի բաց եւ փակ թելեր ավելանում է 3 անգամ ($p<0.01$), ինչպես նաեւ մեծանում է անցած ճանապարհն ու միջին արագությունը՝ գերազանցելով իշեմիկ խմբի ցուցանիշը ($p<0.01$): Ընդ որում, բացի կենտրոնում եւ փակ թելերում անցկացրած ժամանակից, մյուս ցուցանիշները մոտենում են նորմայի սահմաններին ($p>0.05$):

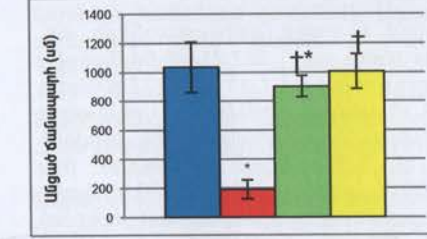
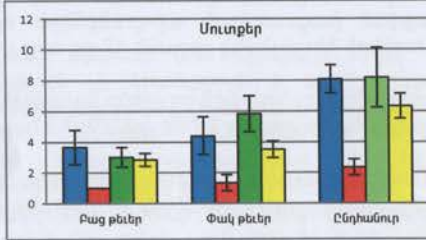
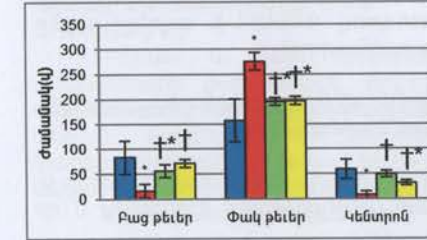
Հետիշեմիկ շրջանի 6-րդ օրը փորձարարական-2 խմբում (40մլ/կգ) գրանցված բոլոր ցուցանիշները, բացի կենտրոնում անցկացրած ժամանակից, որտեղ գրանցվում է աճ ($p<0.05$), չեն տարբերվում փորձարարական-1 խմբի 6-րդ օրվա ցուցանիշներից ($p>0.05$):



Տկար 1. Առնետների վարքի փոփոխությունը ուղեղի տեղային իշեմիայի պայմաններում ԹՄՏԼ-ի ազդեցությամբ հետիշեմիկ շրջանի 6-րդ օրը
*p<0.05 համեմատած հսկիչ խմբի հետ
†p<0.05 համեմատած իշեմիկ խմբի հետ
■ նորմա ■ իշեմիա, ■ իշեմիա + 2մլ ԹՄՏԼ
■ իշեմիա + 10մլ ԹՄՏԼ

Առնետների վարքային տեղաշարժերը եւ դրանց համուղղումը ԹՄՏԼ-ով ՄՈւԶ-ի կապման պայմաններում իշեմիայից 12 օր անց

Հետիշեմիկ շրջանի 12-րդ օրը ՄՈՒԶ-ի կապման հետեւանքով իշեմիկ խմբի առնետների մոտ զարգանում է տագնապ, որն արտահայտվում է բաց թելերում եւ կենտրոնում անցկացրած ժամանակի նվազմամբ ($p<0.001$), փակ թելերում անցկացրած ժամանակի ավելացմամբ ($p<0.001$), ինչպես նաեւ մուտքերի նվազմամբ՝ թե՛ բաց թելեր, թե՛ փակ թելեր, եւ թե ընդհանուր ($p<0.001$): Նվազում է նաեւ շարժողական ակտիվությունը, որն արտահայտվում է անցած ճանապարհի նվազմամբ ($p<0.01$) (Տկար 2):

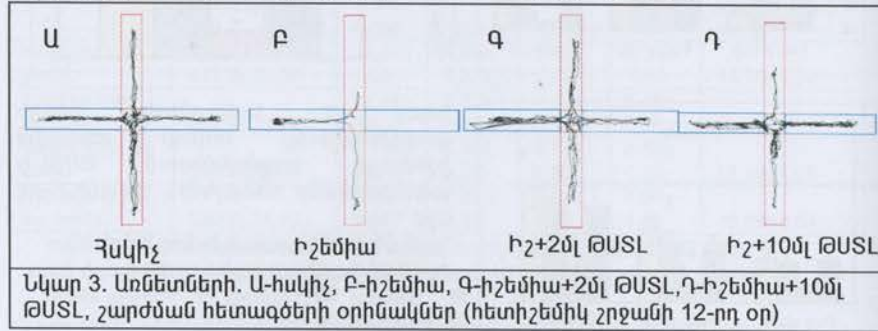


Տկար 2. Առնետների վարքի փոփոխությունը ուղեղի տեղային իշեմիայի պայմաններում ԹՄՏԼ-ի ազդեցությամբ հետիշեմիկ շրջանի 12-րդ օրը (M±SEM)
*p<0.05 համեմատած հսկիչ խմբի հետ
†p<0.05 համեմատած իշեմիկ խմբի հետ
■ նորմա, ■ իշեմիա, ■ իշեմիա + 2մլ ԹՄՏԼ
■ իշեմիա + 10մլ ԹՄՏԼ

Փորձարարական խմբերում գրանցվել են հետեւյալ արդյունքները. բաց թելերում եւ կենտրոնում անցկացրած ժամանակը մեծանում է, իսկ փակ թելերում

անցկացրած ժամանակը՝ փոքրանում, իշեմիկ խմբի համեմատ ($p < 0.01$): Միեւնույն ժամանակ ավելանում է մուտքերի քանակը դեպի բաց եւ փակ թեւեր ($p < 0.01$), ինչպես նաեւ մեծանում է անցած ճանապարհը ($p < 0.01$):

ԲխԼ թեստի արդյունքները վերլուծվել են Smart Junior ծրագրով: Նկար 3-ում ներկայացված են կենդանիների շարժման հետազոտիչի օրինակներ:



Նկար 3. Առնետների. Ա-հսկիչ, Բ-իշեմիա, Գ-իշեմիա+2ժ ԹՄՏԼ, Դ-իշեմիա+10ժ ԹՄՏԼ, շարժման հետազոտիչի օրինակներ (հետիշեմիկ շրջանի 12-րդ օր)

Քանի որ, կիրառված բարձր եւ ցածր դեղաչափերը միանման են ազդում կենդանիների վարքային փոփոխությունների վրա եւ որոշվեց հետագա ուսումնասիրություններում կիրառել հետազոտված համեմատական ցածր դեղաչափը՝ 8մլ/կգ

ԳԱԿԹ-ով հարստացված ԹՄՏԼ-ի ազդեցությունը առնետների վարքային տեղաշարժերի վրա ՄՈւԶ-ի կապման պայմաններում իշեմիայից 6 օր անց

Ի տարբերություն ԹՄՏԼ-ի, ԳՀԹՄՏԼ-ը ընդունած առնետների ԲխԼ-ի ելքային ցուցանիշները հավաստիորեն չեն տարբերվում իշեմիկ խմբի ցուցանիշներից: Այսինքն, մեր մոդելում ԳՀԹՄՏԼ-ն չի ցուցաբերում տազնապամարիչ ազդեցություն, ինչի պատճառը կարող է հանդիսանալ գլյուտամինաթթվի մեծ քանակությունը: Ստացված բացասական արդյունքների պատճառով ԳՀԹՄՏԼ-ի ազդեցությունը առնետների հետիշեմիկ շրջանի 12-րդ օրը չի ուսումնասիրվել:

5. Առնետների գլխուղեղի տարբեր հատվածներում ամինաթթուների տեղաշարժերը եւ դրանց համուղղումը ԹՄՏԼ-ով ՄՈւԶ-ի կապման պայմաններում

Առնետների գլխուղեղի տարբեր հատվածներում ամինաթթուների տեղաշարժերը եւ դրանց համուղղումը ԹՄՏԼ-ով ՄՈւԶ-ի կապման պայմաններում իշեմիայից 6 օր անց:

Հիպոթալամիկ շրջան

Հետիշեմիկ շրջանի 6-րդ օրը գրանցվում է դրող ամինաթթուների ած. ասպարազինաթթվի կոնցենտրացիան ավելանում է 367.21±30.64մկգ/գ-ից 509.25±26.86մկգ/գ ($p < 0.0001$), գլյուտամինաթթուն հասնում է 1113.38±27.83մկգ/գ մակարդակին, որը գերազանցում է նորման 1.16 անգամ ($p < 0.0001$): Արգելակող ամինաթթուների կոնցենտրացիաների փոփոխությունները համանման չեն. գլիցինի քանակները 121.27±21.92մկգ/գ-ից նվազում են 3.36 անգամ ($p < 0.0001$), իսկ տաուրինին ավելանում 1.95 անգամ ($p < 0.0001$)՝ կազմելով 617.28±30.55մկգ/գ: Ամենամեծ տեղաշարժը գրանցվում է ԳԱԿԹ-ի պարագայում. իշեմիայի արդյունքում ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիան նվազում է 9 անգամ ($p < 0.0001$)՝ կազմելով 40.84±6.72մկգ/գ:

ԹՄՏԼ-ի եռօրյա ներմուծման արդյունքում իշեմիայի 6-րդ օրը, համեմատած իշեմիկ խմբի հետ, ասպարազինաթթվի եւ գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիաները համապատասխանաբար նվազում են 1.6 եւ 1.34 անգամ ($p < 0.01$), իսկ նորմայի հետ համեմատած՝ տարբերությունները հավաստի չեն (319.34±82.33մկգ/գ եւ 828.14±160.45մկգ/գ, համապատասխանաբար): Գլիցինի կոնցենտրացիան (80.11±23.18մկգ/գ) ավելանում է 2.22 անգամ ($p < 0.0001$) համեմատած իշեմիայի հետ, սակայն նորմայի համեմատ մնում է ցածր մակարդակի վրա ($p < 0.001$): Ի տարբերություն մյուս ամինաթթուների, այս դեպքում տաուրինի կոնցենտրացիան (243.41±23.44մկգ/գ) նվազում է 1.3 անգամ կեղծ հսկիչ խմբի համեմատ ($p < 0.001$) եւ 2.54 անգամ՝ հսկիչ խմբի համեմատ ($p < 0.0001$): ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիան ԹՄՏԼ-ի ընդունումից հետո իշեմիայի պայմաններում կազմում է 349.41±46.9մկգ/գ, որը 8.5 անգամ գերազանցում է հսկիչ խմբի ցուցանիշը ($p < 0.0001$), իսկ նորմայի համեմատ տարբերությունը հավաստի չէ:

Հիպոկամպ ծախ

Այստեղ հետիշեմիկ շրջանի 6-րդ օրը ասպարազինաթթվի եւ գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիաները հավաստիորեն չեն փոխվում համեմատած նորմայի հետ՝ համապատասխանաբար կազմելով 260.34±8.46մկգ/գ եւ 1355.81±52.68մկգ/գ: Ի տարբերություն դրող ամինաթթուների՝ արգելակող ամինաթթուների կոնցենտրացիաները հավաստիորեն նվազում են. գլիցինինը 94.66±8.5մկգ/գ-ից դառնում է 47.81±4.55մկգ/գ, տաուրինի կոնցենտրացիան 788.34±111.6մկգ/գ-ից նվազում է մինչեւ 577.22±47.45մկգ/գ ($p < 0.001$), իսկ ԳԱԿԹ-ինը 174.78±10.26մկգ/գ-ից նվազում է մինչեւ 26.3±1.58մկգ/գ ($p < 0.001$):

ԹՄՏԼ-ի ներմուծման պայմաններում իշեմիայի 6-րդ օրը ծախ հիպոկամպում ասպարազինաթթվի քանակական տեղաշարժ չի գրանցվում, սակայն 1.31 անգամ նվազում է գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիան ($p < 0.001$): Գլիցինի եւ տաուրինի կոնցենտրացիաներն աճում են համապատասխանաբար 1.4 եւ 1.1 անգամ ($p < 0.001$), սակայն մնում են նորմայից ցածր մակարդակի վրա ($p < 0.001$): ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիան աճում է 6.38 անգամ կազմելով 166.29±25.63մկգ/գ եւ հասնում նորմայի սահմաններին ($p > 0.05$):

Հիպոկամպ աջ

Ինչպես եւ ծախ հիպոկամպում, այստեղ եւս իշեմիայի 6-րդ օրն ասպարտատի քանակական փոփոխություն չի գրանցվում, ի տարբերություն գլյուտամատի, որի կոնցենտրացիան հավաստիորեն ավելանում է ընդամենը 1.1 անգամ՝ կազմելով 1477.05±74.3մկգ/գ: Գլիցինի, տաուրինի եւ ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիաները նվազում են ($p < 0.001$) համապատասխանաբար 1.56, 1.19, 2.7 անգամ՝ կազմելով 61.48±4.99մկգ/գ, 578.86±46.06մկգ/գ եւ 67.23±16.58մկգ/գ:

ԹՄՏԼ-ի ազդեցության տակ հետիշեմիկ շրջանի 6-րդ օրը գրանցվում է գլյուտամինաթթվի նվազում 1.34 անգամ հսկիչ խմբի ($p < 0.001$) եւ 1.28 անգամ նորմայի համեմատ ($p < 0.001$): Սակայն գրանցվում է ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիայի ավելացում 2.48 անգամ ի համեմատ հսկիչ խմբի ($p < 0.001$)՝ կազմելով 165.75±34.25մկգ/գ, որը գտնվում է նորմայի սահմաններում ($p > 0.05$):

Միեւնույն ժամանակ ասպարազինաթթվի, գլիցինի եւ տաուրինի կոնցենտրացիաների հավաստի փոփոխություն չի գրանցվում:

Ձախ կիսագնդի կեղևի քունքային հատված (կեղևի ծախ)

Հետիշեմիկ շրջանի 6-րդ օրը իպսիլատերալ կեղևում տեղի է ունենում բոլոր նեյրոակտիվ ամինաթթուների կոնցենտրացիաների փոփոխություն. գլյուտամինաթթվի, գլիցինի, տաուրինի, ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիաները նվազում են 1.54, 2.22, 1.65, 8.79 անգամ ($p < 0.001$), իսկ ասպարազինաթթվի կոնցենտրացիան ավելանում է 1.37 անգամ ($p < 0.001$)՝ համապատասխանաբար կազմելով 1092.3±57.04մկգ/գ, 64.18±3.07մկգ/գ, 425.74±20.33մկգ/գ, 24.46±5.21մկգ/գ, 502.68±24.63մկգ/գ:

ԹUSL-ի ներմուծման պայմաններում ասպարազինաթթվի կոնցենտրացիան հետիշենիկ շրջանի 6-րդ օրը կազմում է 350.9±45.2մկգ/գ, որը հսկիչ խմբի համապատասխան ցուցանիշից փոքր է 1.43 անգամ ($p<0.001$), իսկ նորմայի հետ համեմատած տարբերությունը հավաստի չէ: Գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիան մնում է հսկիչ խմբի մակարդակին ($p>0.05$), իսկ գլիցինը նվազում է 1.13 անգամ ($p<0.05$): Տաուրինի կոնցենտրացիան գերազանցում է հսկիչ խմբի ցուցանիշը 1.32 անգամ ($p<0.01$), իսկ ԳԱԿԹ-ինը՝ 5.08 անգամ ($p<0.001$)՝ երկու դեպքում էլ ցածր մնալով կեղծ հսկիչ (նորմա) խմբի ցուցանիշներից:

Աջ կիսագնդի կեղեւի քունքային հատված (կեղեւ աջ)

Չետիշենիկ շրջանի 6-րդ օրը կոնտրալատերալ կիսագնդի կեղեւում ներյուակտիվ ամինաթթուների կոնցենտրացիաների փոփոխությունները համեմատված են իպսիլատերալ կիսագնդի փոփոխությունների հետ՝ բացի ասպարազինաթթվից, որի կոնցենտրացիան աճում է 1.27 անգամ՝ կազմելով 489±45.98մկգ/գ ($p<0.001$), մյուս ամինաթթուների՝ գլյուտամինաթթվի, գլիցինի, տաուրինի, ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիաները համապատասխանաբար նվազում են 1.53, 2.43, 1.32, 5.14 անգամ ($p<0.001$)՝ համապատասխանաբար կազմելով 969.92±45.45մկգ/գ, 50.81±6.48մկգ/գ, 484.88±25.08մկգ/գ, 35.74±1.63մկգ/գ:

Փորձարարական խմբում ԹUSL ստացած առնետների մոտ իշեմիայից 6 օր անց ասպարազինաթթվի կոնցենտրացիան 1.89 եւ 1.49 անգամ ցածր է հսկիչ խմբի 6-րդ օրվա եւ նորմայի ցուցանիշների համեմատ ($p<0.001$): Գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիան կազմում է 938.78±30.97մկգ/գ, ինչը հավաստիորեն չի տարբերվում հսկիչ խմբում գրանցված ցուցանիշից եւ 1.58 անգամ նվազ է նորմայից ($p<0.001$): Գլիցինի կոնցենտրացիան գրանցվել է 43.19±5.61մկգ/գ, որը 1.19 անգամ նվազ է ԹUSL չստացած առնետների մոտ գրանցված ցուցանիշներից ($p<0.05$): Տաուրինի գրանցված 532.61±29.65մկգ/գ կոնցենտրացիան գերազանցում է հսկիչ խմբի ցուցանիշը 1.11 անգամ ($p<0.01$)՝ մնալով 1.19 անգամ ցածր նորմայից ($p<0.01$): ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիան գրանցվել է 116.75±5.46մկգ/գ, ինչը գերազանցում է հսկիչ խմբի 6-րդ օրվա ցուցանիշը 3.25 անգամ ($p<0.001$), սակայն նորմայի համեմատ նվազ է 1.58 անգամ ($p<0.001$):

Կեղեւի ճակատային հատված (կեղեւ դիմային):

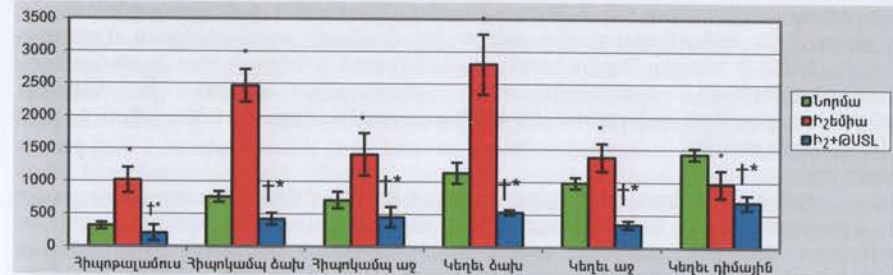
Ասպարազինաթթվի կոնցենտրացիան պահպանվում է նորմայի սահմաններում (368.92±30.99մկգ/գ, $p>0.05$): Գլյուտամինաթթվի, գլիցինի, տաուրինի եւ ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիաները համապատասխանաբար նվազում են 1999.74±104.4, 128.07±9.75, 771.24±50.02, 177.9±4.53մկգ/գ-ից մինչեւ 1242.31±64.88, 43.99±3.46, 601.58±25.05, 58.05±11.8մկգ/գ ($p<0.001$):

ԹUSL-ի ներմուծման պայմաններում գրանցվում է բոլոր ներյուակտիվ ամինաթթուների կոնցենտրացիայի աճ իշեմիկ խմբի համեմատ: Ասպարազինաթթվի կոնցենտրացիան ավելանում է 1.12 անգամ ($p<0.01$), որը գերազանցում է նորման 1.11 անգամ: Տաուրինի կոնցենտրացիան մեծանում է 1.25 անգամ ($p<0.001$), իսկ նորմայի հետ համեմատած տարբերությունը հավաստի չէ:

Գլյուտամինաթթվի, գլիցինի եւ ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիաները գերազանցում են իշեմիկ խմբի ցուցանիշները համապատասխանաբար 1.16, 1.6, 2.48 անգամ ($p<0.001$), սակայն նորմայի համեմատ մնում են ցածր մակարդակի վրա ($p<0.01$):

ԹUSL-ի ազդեցությունը էքսայտոտորսիկոլոթյան Գործակցի (ԷԳ) վրա

Չետիշենիկ շրջանի 6-րդ օրը ՄՈՒԶ-ի կապման հետեւանքով իշեմիկ խմբում ԷԳ-ը հավաստիորեն գերազանցում է նորմայի ցուցանիշը գլխուղեղի բոլոր հատվածներում՝ բացառությամբ կեղեւի դիմային հատվածի: ԹUSL-ի ներմուծման պայմաններում ԷԳ-ը հետազոտված բոլոր հատվածներում հավաստիորեն ավելի ցածր է՝ համեմատած թե կեղծ հսկիչ խմբի եւ թե իշեմիկ խմբի հետ (նկար 4):



Նկար 4. ԷԳ-ի փոփոխությունները առնետների գլխուղեղի տարբեր հատվածներում հետիշենիկ շրջանի 6-րդ օրը

* $p<0.05$ համեմատած հսկիչ խմբի հետ, † $p<0.05$ համեմատած իշեմիկ խմբի հետ

Առնետների գլխուղեղի տարբեր հատվածներում ամինաթթուների տեղաշարժերը եւ դրանց համոլոլոլը ԹUSL-ով ՄՈՒԶ-ի կապման պայմաններում իշեմիայից 12 օր անց:

Չիպոթալամիկ շրջան

Չիպոթալամիկ շրջանում հետիշենիկ շրջանի 12-րդ օրը ասպարազինաթթվի եւ գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիաները, նորմայի հետ համեմատած, ավելանում են համապատասխանաբար 1.46 եւ 1.47 անգամ ($p<0.001$): Միեւնույն ժամանակ գլիցինի, տաուրինի եւ ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիաները, նորմայի հետ համեմատած, նվազում են համապատասխանաբար 4.17, 2.03 եւ 6.13 անգամ ($p<0.001$): ԹUSL-ի ներմուծման պայմաններում ասպարազինաթթվի կոնցենտրացիան մնում է նույն մակարդակի վրա համեմատած իշեմիայի հետ: Գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիան ավելանում է՝ գերազանցելով նորմայի ցուցանիշը 1.4 անգամ ($p<0.001$): ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիան համեմատած իշեմիկ խմբի հետ, ավելանում է 4.6 անգամ ($p<0.001$), սակայն նորմայի հետ համեմատած մնում է ցածր մակարդակի վրա ($p<0.001$):

Չիպոկամպ

Չախ եւ աջ հիպոկամպերում իշեմիայի հետեւանքով զարգացող ամինաթթուների քանակական տեղաշարժերը համեմատված են ասպարազինաթթվի կոնցենտրացիան մնում է նույն մակարդակին ($p>0.05$), իսկ գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիան, չնայած քիչ քանակով, սակայն հավաստիորեն, ավելանում է: Երկու հատվածներում էլ գլիցինի, տաուրինի եւ ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիաները նվազում են ($p<0.001$): ԹUSL-ի ներմուծումը երկու դեպքում էլ ասպարազինաթթվի քանակական տեղաշարժ չի առաջացնում, սակայն ավելացնում է գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիան 1.39 անգամ համեմատած իշեմիկ խմբի հետ ($p<0.001$): Գլիցինի կոնցենտրացիան, համեմատած իշեմիկ խմբի հետ, Չախ հիպոկամպում մնում է նույն մակարդակին, իսկ աջ հիպոկամպում ավելանում է՝ հասնելով նորմայի մակարդակին ($p>0.05$): Տաուրինի կոնցենտրացիան իշեմիկ խմբի հետ համեմատած ավելանում է ($p<0.001$), ընդ որում, աջ հիպոկամպում այն հասնում է նորմայի սահմաններին ($p>0.05$): ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիաները Չախ եւ աջ հիպոկամպերում ավելանում է համեմատած իշեմիայի ($p<0.001$) եւ հասնում նորմայի սահմաններին ($p>0.05$):

Կեղև ծախ

Իշեմիայի հետեւանքով ասպարազինաթթվի, գլիցինի եւ ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիաները, նորմայի հետ համեմատած, նվազում են

համապատասխանաբար 1.5, 2.22 եւ 5.29 անգամ ($p < 0.001$), իսկ գլյուտամինաթթվի եւ տաուրինի կոնցենտրացիանը մնում են նորմայի սահմաններում ($p > 0.05$):

ԹUSL-ի եռօրյա ներմուծման պայմաններում իշեմիայի հետ համեմատած, ասպարազինաթթվի, գլյուտամինաթթվի, տաուրինի, գլիցինի եւ ՉԱԿԹ-ի կոնցենտրացիաները ավելանում են համապատասխանաբար 1.98, 1.5, 1.1, 1.1, 3.95 անգամ ($p < 0.01$):

Կեղեւ աջ

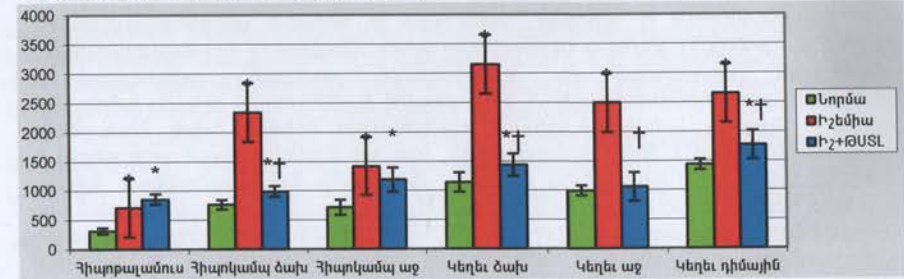
Կոնտրալատերալ կիսագնդի կեղեւում իշեմիկ խմբում ասպարազինաթթվի եւ գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիաների փոփոխություն չի գրանցվել նորմայի համեմատ ($p > 0.05$), սակայն գրանցվել է գլիցինի, տաուրինի եւ ՉԱԿԹ-ի քանակների նվազում համապատասխանաբար 2, 1.19 եւ 5.29 անգամ ($p < 0.01$): Փորձարարական խմբում ասպարազինաթթվի քանակական փոփոխություն տեղի չի ունենում ($p > 0.05$), սակայն հավաստիորեն աճում են գլյուտամինաթթվի, գլիցինի, տաուրինի եւ ՉԱԿԹ-ի կոնցենտրացիաները իշեմիայի համեմատ համապատասխանաբար 1.38, 1.32, 1.25, եւ 4.57 անգամ ($p < 0.001$): Միեւնույն ժամանակ ՉԱԿԹ-ի եւ գլիցինի կոնցենտրացիաները մնում են նորմայից ցածր՝ համապատասխանաբար 1.16 եւ 1.51 ($p < 0.01$):

Կեղեւ դիմային

Ինչպես եւ կեղեւի մյուս հատվածներում, այստեղ էլ գլյուտամինաթթվի քանակները իշեմիայի արդյունքում չեն փոփոխվում ($p > 0.05$) բացի ասպարազինաթթվից, որի կոնցենտրացիան ավելանում է 1.34 անգամ ($p < 0.01$), մնացած ամինաթթուների կոնցենտրացիաները նվազում են (գլիցին՝ 2.13, տաուրին՝ 1.14, ՉԱԿԹ՝ 3.87 անգամ, $p < 0.01$): ԹUSL-ի ներմուծման պարագայում ասպարազինաթթվի քանակները իշեմիայի համեմատ մնում են նույն մակարդակին ($p > 0.05$), իսկ գլյուտամինաթթվի, գլիցինի, տաուրինի եւ ՉԱԿԹ-ի կոնցենտրացիաները իշեմիայի համեմատ համապատասխանաբար ավելանում են 1.31, 2, 1.23 եւ 3.89 անգամ ($p < 0.001$):

ԹUSL-ի ազդեցությունը ԷԳ-ի վրա

Չետիշեմիկ շրջանի 12-րդ օրը ՄՈՒԶ-ի կապման հետեւանքով իշեմիկ խմբում ԷԳ-ն հավաստիորեն գերազանցում է նորմայի ցուցանիշը գլխուղեղի բոլոր հատվածներում: ԹUSL-ի ներմուծման պայմաններում ԷԳ-ը ձախ հիպոկամպում եւ կեղեւի հետազոտված բոլոր հատվածներում հավաստիորեն ավելի ցածր է համեմատած իշեմիկ խմբի հետ, իսկ հիպոթալամիկ շրջանում եւ աջ հիպոկամպում տարբերությունը հավաստի չէ (Նկար 5):



Նկար 5. ԷԳ-ի փոփոխությունները առնետների գլխուղեղի տարբեր հատվածներում իշեմիկ շրջանի 12-րդ օրը
* $p < 0.05$ համեմատած հսկիչ խմբի հետ, † $p < 0.05$ համեմատած իշեմիկ խմբի հետ

ՄՈՒԶ-ի կապման հետեւանքով զարգացող իշեմիայի ժամանակ գլխուղեղի տարբեր հատվածներում ներյուսակտիվ ամինաթթուների տեղաշարժերը համեմատ չեն, այսինքն կախված գլխուղեղի առանձին կառույցների կառուցվածքից՝ պատասխանը հանդեպ խնտաբանական փոփոխությունները տարբեր են: Այսպես, գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիայի ավելացում հետիշեմիկ շրջանի 6-րդ օրը գրանցվում է հիպոթալամիկ շրջանում եւ աջ հիպոկամպում: Միեւնույն ժամանակ ձախ հիպոկամպում այն մնում է նորմայի սահմաններում, իսկ կեղեւի բոլոր հատվածներում՝ նվազում է: Չետիշեմիկ շրջանի 12-րդ օրը գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիան ավելանում է՝ կեղեւներում հասնելով նորմայի սահմաններին, իսկ հիպոթալամիկ շրջանում եւ հիպոկամպներում՝ գերազանցելով նորմայի ցուցանիշները: ԹUSL-ի ներմուծումը իշեմիայի 6-րդ օրը նվազեցնում է գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիան հետազոտված բոլոր հատվածներում նորմայից ցածր: Միեւնույն ժամանակ, ԹUSL-ի կիրառման ժամանակ իշեմիայի 12-րդ օրը գրանցվում է գլյուտամինաթթվի քանակական աճ գլխուղեղի բոլոր հատվածներում, որը գերազանցում է իշեմիկ խմբի 12-րդ օրվա ցուցանիշը:

Իշեմիայի հետեւանքով հետազոտված բոլոր հատվածներում գրանցվում է ՉԱԿԹ-ի կոնցենտրացիայի նվազում թե իպսիլատերալ եւ թե կոնտրալատերալ կիսագնդերում: ՉԱԿԹ-ի կոնցենտրացիայի ամենամեծ տատանումը գրանցվում է հիպոթալամիկ շրջանում (9.02 անգամ) ապա իպսիլատերալ կեղեւում (8.59 անգամ) եւ հիպոկամպում (6.65 անգամ): Կոնտրալատերալ կեղեւում եւ հիպոկամպում ՉԱԿԹ-ի նվազումը կազմում է համապատասխանաբար 5.17 եւ 2.69 անգամ, իսկ կեղեւի դիմային հատվածում՝ 3.06 անգամ: Չետիշեմիկ շրջանի 12րդ օրը, 6րդ օրվա հետ համեմատած, ՉԱԿԹ-ի ավելացում գրանցվում է միայն հիպոթալամիկ շրջանում (1.47 անգամ) եւ ձախ հիպոկամպում (1.66 անգամ):

6. ԹUSL-ի ազդեցությունը առնետների գլխուղեղի կառուցվածքային փոփոխությունների վրա իշեմիկ շրջանի 6րդ եւ 12րդ օրերում

Չետիշեմիկ շրջանի 6-րդ օրը իշեմիկ առնետների մոտ իպսիլատերալ կիսագնդի կեղևի retrosplenial granular (RSG), retrosplenial agranular (RSA), occipital, area 2, mediomed (Oc2MM), occipital, area 2, mediat (Oc2ML), occipital, area 2, lateral (Oc2L), Parietal cortex area 1 (Par1), piriform cortex (Pir) հատվածներում հայտնաբերվում են լամինար եւ տրանսկորտիկալ նեկրոզներ (n=3): Ենթակեղևի սպիտակ նյութում, ընդգրկելով external capsula (ec) հատվածը և ավելի խորը ենթակեղևային հատվածներ, հայտնաբերվում են օջախային կոպիտ գլիոզի դաշտեր (n=3): Ներյոնալ նեկրոտիկ փոփոխությունները ընդգրկում են հիպոկամպի CA1, CA3, (n=3) polymorph layer dental girus (PoDG) (n=2) գոտիները:

Իպսիլատերալ կիսագնդի սուպրապենդիմալ հատվածներում հայտնաբերվում են լեյկոցիտար ինֆիլտրատներ: Իպսիլատերալ կիսագնդի անոթները սակավարյուն են մազնոթների և ներյոնների շուրջն այսուցով: Կոնտրալատերալ կիսագնդի կեղևում լամինար նեկրոզները հանդիպում են Pir, Oc2MM, Oc2ML հատվածներում: Կոնտրալատերալ կիսագնդում անոթները լայնացած են գերարյուն, պերիվասկուլյար, պերիցիտալ այսուցով:

Չետիշեմիկ շրջանի 12-րդ օրը առաջացած կառուցվածքային փոփոխությունները պահպանվում են, սակայն ի տարբերություն հետիշեմիկ շրջանի 6-րդ օրվա այստեղ իպսիլատերալ կիսագնդի սուպրապենդիմալ հատվածներում հայտնաբերված լեյկոցիտար ինֆիլտրատների շուրջը ի հայտ են գալիս դեմիելինիզացիայի մանր օջախներ, ինչպես նաեւ իպսիլատերալ կիսագնդի կեղևի կենտրոնում՝ perirhinal (PRh) գոտում (n=2), եւ Pir հատվածում հայտնաբերվում են ներյոնոֆագիայի եզակի օջախներ:

Հետիշենիկ շրջանի 6-րդ օրը փորձարարական խմբի առնետների մոտ լամինար նեկրոզներ հանդիպում են իպսիլատերալ կեղևի Oc2MM, Oc2ML շրջաններում, իսկ PRh և Pir շրջաններում առկա են միայն լամինար նեկրոզներ (n=2): Իպսիլատերալ կիսագնդի անոթները սակավարյուն են՝ մազանոթների և նեյրոնների շուրջն ախտոցով:

Կոնտրալատերալ կիսագնդի կեղևի Oc2MM, Parl, Pir, PRh, temporal area 3 (Te3) գոտիներում առկա են փոքր լամինար նեկրոզի օջախներ, դեմիելինիզացիան բացակայում է՝ սպիտակ նյութում թույլ արտահայտված գլիոզով:

Կոնտրալատերալ կիսագնդում անոթները լայնացած են գերարյուն, փափուկ ուղեղանյութում նկատվում են մանր օջախային լիմֆոցիտար ներսփռումներ՝ պերիվասկուլյար, պերիցիտար թույլ արտահայտված ախտոցով:

Հետիշենիկ շրջանի 12-րդ օրը փորձարարական խմբի առնետների մոտ լամինար նեկրոզներ նկատվում են և կոնտրա- և իպսիլատերալ կեղևների RSG (n=2), RSA, Oc2MM (n=3) գոտիներում, ինչպես նաև իպսիլատերալ կիսագնդի Pir (n=1), PRh, Oc2ML (n=3) հատվածներում: Հիպոկամպը 2 կողմերում էլ լավ պահպանված է, փոքր նեկրոտիկ օջախ հայտնաբերվում է իպսիլատերալ կիսագնդի CA3 գոտում (n=3):

Իպսիլատերալ կիսագնդի անոթները սակավարյուն են՝ մազանոթների և նեյրոնների շուրջն ախտոցով: Կոնտրալատերալ կիսագնդի կեղևում լամինար նեկրոզները հանդիպում են Pir, Oc2MM, RSA հատվածներում: Կոնտրալատերալ կիսագնդում անոթները լայնացած են գերարյուն, պերիվասկուլյար, պերիցիտար ախտոցով: Դեմիելինիզացիան բացակայում է:

Ամփոփում

Համաձայն Առողջապահության Համաշխարհային Կազմակերպության գեկույցների՝ Հայաստանի Հանրապետությունում գլխուղեղանոթային հիվանդությունները մարդկանց մոտ հանդիսանում են մահացության երրորդ պատճառը՝ սրտամոթային հիվանդություններից եւ քաղցկեղից հետո: Յուրաքանչյուր տարի մոտավորապես 15 միլիոն մարդու մոտ գրանցվում է ԳԿ, որից 5 միլիոնը մահանում են, իսկ հիվանդների մոտ 1/3-ը, ովքեր կենդանի են մնում 6 ամիսների ընթացքում, դառնում են անաշխատունակ, որոնց մեծ մասն էլ այլ անձանց խնամքի կարիք են ունենում: Այդ պատճառով այն հասարակության համար հանդիսանում է կարևոր սոցիալական և տնտեսական խնդիր:

ԳԿ-ների հետևանքով զարգացող խնդիրները, աճի միտումներն ու արդյունավետ բուժման բացակայությունը խթան են հանդիսանում նոր միջոցների փնտրմանը ողջ աշխարհում: Բուսական ծագման միջոցները, որոնք հիմք են հանդիսացել սինթետիկ միջոցների ստեղծման համար, դեռևս չեն կորցրել իրենց նշանակությունը եւ լայնորեն կիրառվում են տարբեր հիվանդությունների ու իրավիճակների կարգավորման եւ բուժման համար:

Թթենու օգտակարության մասին հայտնի է եղել վաղ ժամանակներից եւ գիտության ներկայիս զարգացումը նպաստում է թթենու ազդեցության մեխանիզմների բացահայտմանը եւ կիրառման նոր ոլորտների հայտնաբերմանը: Հաշվի առնելով այն, որ ԹՏ-ում պարունակվում է զգալի քանակությամբ ԳԿԿԹ, որը կարելի էր նշանակություն ունի կենդանական եւ բուսական աշխարհում որպես հզոր հակաօքսիդանտ միջոց, մեր կողմից առաջադրվել է ուսումնասիրել ԹՏ-ի ազդեցությունը գլխուղեղի տեղային իշեմիայի պայմաններում:

Այդ նպատակով հետազոտվել է ԹՏ-ում նեյրոակտիվ ամինաթթուների պարունակությունը, ըստ որի հայկական Ֆլորայում աճող ԹՏ-ը պարունակում են 1.133մգ/գ ԳԿԿԹ: Հետագա ուսումնասիրությունների համար դեղաչափավորումները կատարվել են ըստ ԳԿԿԹ-ի (750-1500մգ/75կգ օրական):

Տազնապը, որն իշեմիայի ժամանակ հանդիսանում է բնութագրական փոփոխություն, ուսումնասիրվել է դեղաչափի ճշգրտման համար: Ստացված արդյունքների համաձայն կիրառված բարձր՝ 40մլ/կգ, եւ ցածր՝ 8մլ/կգ, դեղաչափերը միանման են ազդում կենդանիների վարքային փոփոխությունների վրա: Այդ պատճառով հետագա ուսումնասիրություններում կիրառվել է հետազոտված համեմատական ցածր դեղաչափը՝ 8մլ/կգ:

Հետազոտության արդյունքները ցույց են տալիս նաեւ, որ ԹՏ-ում առկա է գլյուտամատ դեկաբոքսիլազա, որը կարելի է կիրառել «էնդոգեն» ճանապարհով ԳԿԿԹ-ի ավելացման նպատակով: Ենթադրվում է, որ «էնդոգեն» ճանապարհով ԳԿԿԹ-ով հարստացված ԹՏ-ը կարող են արդյունավետ կիրառություն ունենալ: Համաձայն հետազոտության ստացված արդյունքների ԳԿԿԹ-ը չի ցուցաբերում տագնապամարիչ ակտիվություն եւ չի ազդում կառուցվածքային փոփոխությունների վրա: Մեր կարծիքով բացասական արդյունքի հետեւանք կարող է հանդիսանալ մնացորդային գլյուտամինաթթվի բարձր կոնցենտրացիան:

Հետազոտվել է նաեւ իշեմիայի պայմաններում կենդանիների տարածական եւ ռեֆլեքսային հիշողության փոփոխությունները, սակայն վերջիններիս հավաստի տարբերություններ մեր կիրառված թեստերում չի գրանցվել:

ԲնL թեստում ԹՏ-ը ցուցաբերում է արտահայտված տագնապամարիչ ազդեցություն ինչպես հետիշենիկ շրջանի 6-րդ օրը, այնպես էլ հետիշենիկ շրջանի 12-րդ օրը: Այս արդյունքները հիմք հանդիսացան ուսումնասիրելու ԹՏ-ի ազդեցությունը նեյրոակտիվ ամինաթթուների տեղաշարժերի վրա գլխուղեղի տեղային իշեմիայի պայմաններում:

Հետազոտության այդուրեքները վկայում են, որ հետիշենիկ շրջանի 6-րդ եւ 12-րդ օրերում գլխուղեղի հետազոտված գրեթե բոլոր հատվածներում գրանցվում է էքսայտոտոքսիկության զարգացում, որն արտահայտվում է Գ-ի ավելացմամբ:

ԹՏ-ի կիրառումը իշեմիայի 6-րդ օրը հիպոկամպերում նվազեցնում է գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիան նորմայի համեմատ, իսկ 12-րդ օրը գլյուտամինաթթվի քանակը գերազանցում է նույնիսկ իշեմիկ խմբի ցուցանիշը: Միեւնույն ժամանակ հիպոկամպերում ԹՏ-ի կիրառումը կանխում է ԳԿԿԹ-ի նվազումը:

Կեղևի հետազոտված բոլոր հատվածներում իշեմիայի արդյունքում 6րդ օրը գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիան նվազում է եւ վերականգնվում է նորմայի սահմաններին 12-րդ օրը, իսկ ԳԿԿԹ-ի նվազումը՝ չի վերականգնվում: ԹՏ-ի կիրառման ժամանակ 6-րդ օրը գլյուտամինաթթվի կոնցենտրացիան նվազում է ինչպես եւ իշեմիկ խմբում, սակայն 12-րդ օրը ավելանում է գերազանցելով նորմայի սահմանները: Միեւնույն ժամանակ ԳԿԿԹ-ի կոնցենտրացիան կեղևներում նվազում է, բայց ոչ այդքան արտահայտված ինչքան իշեմիկ խմբում: Այսինքն, կեղևը, լինելով իշեմիայի/հիպոքսիայի հանդեպ ավելի զգայուն հատված, ավել շատ է «տուժում» իշեմիայից եւ շտկումն ավելի թույլ է արտահայտված: Կարելի է ենթադրել, որ «առաջնային» պաշտպանությունն ուղղված է ենթակեղեւային կառույցներին:

Ընդհանրացնելով կարելի է ասել, որ ԹՏ-ը կանխում են գլխուղեղի իշեմիայի հետեւանքով ԳԿԿԹ-ի նվազումը ուղեղի հետազոտված բոլոր կառույցներում:

Հետագայում հետազոտվել է ԹՏ-ի ազդեցությունը առնետների գլխուղեղի կառուցվածքային փոփոխությունների վրա: Ըստ որի, հետիշենիկ շրջանի 6-րդ եւ 12-րդ օրերում ձախ ՄՈՒՁ-ի կապման հետեւանքով զարգացած կառուցվածքային փոփոխությունները ընդգրկում են ոչ միայն իպսիլատերալ, այլ նաեւ կոնտրալատերալ կիսագնդը («համր» նեկրոզներ): Ընդ որում, կոնտրալատերալ կիսագնդի կառուցվածքային փոփոխությունները ընդգրկում են միայն կեղևային հատվածը: Այս փոփոխությունների վարքային արտահայտումը դրսևորվում է

տազնապի զարգացմամբ եւ շարժողական ակտիվության նվազմամբ: ԹUSL-ի եռօրյա ներմուծումը նվազեցնում է իշեմիայի հետեւանքով զարգացող կառուցվածքային փոփոխությունների ծավալը: Հատկանշական է, որ հիպոկամպալ պաշտպանությունն ավելի լավ է արտահայտված քան կեղեւայինը, ինչի մասին ենթադրել էինք ամինաթթուների տեղաշարժերից ելնելով:

Միեւնույն ժամանակ զԱԿԹ/գլյուտամատային համակարգի հավասարակշռության պահպանումը եւ մասնավորապես հիպոկամպալ պաշտպանությունը կարող է բացատրել ԹS-ի տազնապամարիչ ակտիվության դրսեւորումը:

Ընդհանրացնելով կարելի է ասել, որ ԹS-ը *in vivo* ցուցաբերում են նյարդապաշտպան ազդեցություն եւ միեւնույն ժամանակ կանխում են գլխուղեղի իշեմիայի հետեւանքով զարգացող հոգեւնյարդաբանական փոփոխությունները եւ շարժողական ակտիվության նվազումը:

Եզրակացություն

1. Թթենի սեւի տերեւները, որի ջրային լուծամզվածքը նպաստում է տեղային իշեմիային բնորոշ նեյրոքիմիական, կառուցվածքային եւ վարքային տեղաշարժերի կանխմանը, օժտված է նյարդապաշտպան ազդեցությամբ:
2. Մշակվել են թթենի սեւի տերեւների լուծամզման, լուծամզվածքի դեղաչափավորման եւ բարձրարդյունավետ հեղուկային քրոմատագրով լուծամզվածքում նեյրոակտիվ ամինաթթուների քանակական որոշման եղանակներ:
3. Հայկական ֆլորայում աճող թթենի սեւի տերեւներում հայտնաբերվել են զգալի քանակությամբ նեյրոակտիվ ամինաթթուներ, հատկապես գամմա ամինակարազաթթու (1.113 ± 0.056 մգ/գ) եւ գլյուտամինաթթու (0.824 ± 0.072 մգ/գ):
4. Թթենի սեւի տերեւների լուծամզվածքի ստացման մշակված պայմանները ապահովում են գլյուտամատ դեկարբօքսիլազայի ակտիվության պահպանումը, ինչը հիմք է հանդիսանում գամմա ամինակարազաթթվով հարստացված լուծամզվածքների ստացման համար:
5. Թթենի սեւի տերեւների ջրային լուծամզվածքի եռօրյա կիրառումը (8մլ/կգ/օր եւ 40մգ/կգ/օր դեղաչափով) կանխում է տեղային իշեմիայով մակածված տազնապի զարգացումը եւ պահպանում առնետների ընդհանուր շարժողական ակտիվությունը:
6. Տեղային իշեմիայի պայմաններում թթենի սեւի տերեւների ջրային լուծամզվածք ստացած առնետների ուղեղային հյուսվածքներում կանխվում են գլխուղեղի իշեմիայի հետեւանքով զարգացող նեյրոակտիվ ամինաթթուների, ինչպես նաեւ գամմա ամինակարազաթթու/գլյուտամինաթթու հարաբերակցության տեղաշարժերը:
7. Ստացված տվյալները հիմք են հանդիսանում առաջարկելու թթենի սեւի տերեւների ջրային լուծամզվածքը՝ որպես իշեմիայի հետեւանքով զարգացող խանգարումների կանխարգելման նոր միջոցների ստացման աղբյուր կիրառելու համար:

Ատենախոսության թեմայով տպագրված գիտական աշխատանքների ցանկ

1. Մարգարյան Ս.Ս., Քարամյան Ա.Տ., Ղոչիկյան Ա.Տ., Ենկոյան Կ.Բ., Թոփչյան Հ.Վ. Թթենի սեւի տերեւների հանուկի ազդեցությունը առնետների գլխուղեղի տարբեր հատվածներում նեյրոակտիվ ամինաթթուների քանակական տեղաշարժերի եւ տազնապ կախյալ վարքագծի վրա միջին ուղեղային զարկերակի կապման հետեւանքով զարգացած տեղային իշեմիայի պայմաններում // Բժշկություն, գիտություն եւ կրթություն, 2011, Թ.9, էջ 20-28
2. Մարգարյան Ս.Ս., Մխիթարյան Ա.Գ., Քարամյան Ա.Տ., Ենկոյան Բ.Ջ., Ենկոյան Կ.Բ., Թոփչյան Հ.Վ. Թթենի սեւի տերեւների հանուկի նյարդապաշտպան ազդեցությունը հետիշեմիկ շրջանի 12-րդ օրը IN VIVO պայմաններում // Բժշկություն, գիտություն եւ կրթություն, 2011, Թ.10, էջ 14-22
3. Մարգարյան Ս.Ս. Թթենու (Morus) տերեւների քիմիական կազմը, դեղաբանական նշանակությունը եւ կիրառումը // Медицинский вестник Эребуни, 2 (50), 2012, стр. 53-63
4. Մարգարյան Ս.Ս. Տարածական հիշողության հետազոտումը առնետների մոտ գլխուղեղի տեղային իշեմիայի պայմաններում միջին ուղեղային զարկերակի կապման մոդելում // Տարեկան հաշվետու գիտաժողով. Գիտական հոդվածների ժողովածու, 2012, էջ 98-104

МАРГАРЯН ТИГРАН СУРИКОВИЧ
ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ЛИСТЬЕВ ШЕЛКОВИЦЫ
ЧЕРНОЙ ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Резюме

Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения в Республике Армения цереброваскулярные заболевания занимают третье место среди причин смерти после сердечно-сосудистых заболеваний и рака. Ежегодно 15 миллионов человек во всем мире страдают инсультом головного мозга, среди которых порядка 5 миллионов умирают, и еще 5 миллионов нуждаются в помощи окружающих, тем самым являясь социально-экономическим грузом для общества.

До 80-85 процентов всех случаев ишемического инсульта – результат тромботической или эмболической окклюзии крупной мозговой артерии (средней мозговой артерии чаще всего) или ее ветвей.

Последствия, возникающие при ишемии головного мозга, а также отсутствие эффективного лечения, способствуют поиску новых терапевтических средств для лечения ишемии во всем мире.

Растительные средства, которые стали основой для получения синтетических препаратов до сих пор широко применяются для профилактики и лечения различных состояний и болезней.

О пользе шелковицы было известно с древних времен. Нынешние достижения науки способствуют выявлению механизмов действия шелковицы и открытию новых сфер ее применения. В листьях шелковицы (ЛШ) содержится большое количество гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), которая имеет мощное антистрессогенное значение в растительном и животном мире. Поэтому нами было предложено изучение нейропротекторной активности водного экстракта ЛШ черной при ишемических поражениях головного мозга крыс.

Результаты проведенных исследований показали, что растущие в армянской флоре листья шелковицы черной в значительных количествах содержат нейроактивные аминокислоты, в частности, ГАМК, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту и глицин. В экспериментах использовались различные концентрации экстракта, которые дозировались исходя из содержания ГАМК (1.133мг/г) по схеме 1500мг/70кг. В качестве исходного показателя дозирования был выбран тест тревожности, который является типичным симптомом ишемии головного мозга и легко изучаем.

Результаты исследований показали, что используемые дозировки (8 мл/кг и 40мл/кг) одинаково влияют на изменение поведения животных в приподнятом крестообразном лабиринте.

Было показано, что в высушенных листьях шелковицы черной активность глутамат декарбоксилазы сохраняется, что может использоваться в целях количественного увеличения эндогенного ГАМК. Однако обогащенный ГАМК экстракт листьев не проявил антитревожной активности и не повлиял на

структурные изменения мозга. По нашему мнению, полученный отрицательный эффект обусловлен высокой остаточной концентрацией глутаминовой кислоты.

Также было изучено изменения пространственной и рефлексорной памяти животных при ишемии, но не было выявлено достоверного различия в используемых тестах.

Результаты исследований выявили, что трехдневное применение экстракта ЛШ черной у крыс на 6 и 12-ый день препятствует развитию тревожности и уменьшению локомоторной активности, развивающихся в результате ишемии головного мозга. Эти результаты послужили основой для изучения действия ЭЛШЧ на изменения нейроактивных аминокислот при локальном поражении мозга. Результаты исследования свидетельствуют о том, что на 6 и 12-ый день в исследуемых частях головного мозга отмечалось развитие эксайтотоксичности, которое выражалось увеличением индекса ЭГ.

Применение ЭЛШЧ на 6-ой день ишемии приводил к снижению концентрации глутаминовой кислоты в гиппокампе ниже нормы, а на 12-ый день количество глутаминовой кислоты превысило показатель ишемической группы. Одновременно использование ЭЛШЧ предотвращало снижение ГАМК.

В результате ишемии во всех исследуемых областях коры на 6-ой день концентрация глутаминовой кислоты понизилась и восстановилась до нормы на 12-ый день.

Пониженная концентрация ГАМК не восстанавливается. При применении ЭЛШЧ также как и в ишемической группе, на 6-ой день концентрация глутаминовой кислоты понизилась, однако на 12-ый день повысилось, превосходя норму. В то же время концентрация ГАМК в коре понизилась, но не так выражено, как в ишемической группе. Кора головного мозга, будучи более чувствительной к ишемии/гипоксии, более выражено поражается вследствие ишемии, а ее восстановление происходит слабее. Можно предположить, что первичная защита направлена на подкорковые структуры.

В дальнейшем было исследовано влияние ЭЛШЧ на структурные изменения головного мозга крыс. Обобщая полученные данные, можно с уверенностью предположить, что трехдневное применение экстракта листьев шелковицы черной у крыс при локальной ишемии в разных частях головного мозга (гиппокамп, гипоталамическая область, кора) регулирует количественные сдвиги нейроактивных аминокислот, способствуя сохранению тканей головного мозга.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что водный экстракт листьев шелковицы черной *in vivo* обладает нейропротекторным действием при локальной ишемии головного мозга.

TIGRAN S. MARGARYAN

INVESTIGATION OF NEUROPROTECTIVE EFFECT OF *MORUS n.* LEAVES IN
CONDITIONS OF FOCAL CEREBRAL ISCHEMIA

SUMMARY

According to World Health Organization reports cerebrovascular diseases are the third cause of death in Armenia after cardiovascular diseases and cancer. Annually, 15 million people worldwide suffer a stroke. Of these, 5 million die and another 5 million are left permanently disabled, placing a burden on family and community.

Ischemic stroke accounts for about 80-85 percent of all cases and results from a thrombotic or embolic occlusion of a major cerebral artery (most often middle cerebral artery) or its branches.

The problems arising after cerebral ischemia and absence of effective treatments contribute to the search for new therapeutic agents for treating ischemia worldwide.

Herbal remedies that were the basis for the production of synthetic drugs are still widely used for the prevention and treatment of various conditions and diseases.

The benefits of Mulberry have been known since ancient times and present achievements of science contribute to the identification of mechanisms of action and the discovery of new applications. Taking into account, that mulberry leaves (ML) contains a large amount of GABA, which is powerful antistressogen in plants and animals, we proposed to investigate the neuroprotective activity of aqueous extract of *Morus n.* leaves (MLE) in rats under focal cerebral damage.

MLE was given orally 1 hour after left middle cerebral artery occlusion for three days. The results were investigated on 6th and 12th day after ischemia.

The results showed, that leaves of *Morus n.* gaining in Armenia flora contain significant amounts of neuroactive amino acids, particularly gamma aminobutyric acid, glutamic acid, aspartic acid and glycine. For further investigations dosing were carried out based on the content of the GABA (1.133mg/g): 1500mg/70kg/day. Because the anxiety is a typical marker of brain ischemia and is easily being studied, it was decided to apply the change in anxiety as a baseline for adjustment of dosing.

The results of our study revealed that the three-day use of an extract of black mulberry leaves in rats on the 6th and 12th day of the study prevents the development of anxiety and a decrease in locomotor activity, developing as a result of cerebral ischemia.

The results showed that the used dosages (8ml/kg/day and 40ml/kg/day) equally affect on animals' behavior changes in elevated plus maze test. It was decided to continue to use the low-dose: 8ml/kg/day.

It was also revealed that the dried leaves of the black mulberry saved glutamate decarboxylase activity, which can be used to increase amount of GABA, the use of which can be more efficient. However, further studies were negative: leaf

extract enriched with GABA did not reveal anti-anxiety activity and does not affect the structural changes in the brain. We consider that the negative result may be due to the high concentration of residual glutamate.

It was also studied changes in spatial memory and passive avoidance of animals during ischemia, but no significant differences were shown in the used models.

Based on obtained results influence of ML extract on changes of neuroactive amino acids in the focal cerebral ischemia were investigated. The study results showed development of excitotoxicity, which was expressed by increasing of the index of excitotoxicity in the studied parts of the brain at 6th and the 12th day of investigation.

Some intrigued results were noted after measuring the changes of glutamic acid and GABA. Interestingly, the use of extract of ML on the 6th day of ischemia in hippocampus leads to decrease in the concentration of glutamic acid compared to the control group, and on the 12th day the amount of glutamic acid was even higher than in the ischemic group. At the same time the use of ML extract prevents decrease of GABA concentration.

As a result of ischemia in all investigated areas of the brain cortex the concentration of glutamic acid decreased on the 6th day and restored to normal levels on the 12th day. On the 6th day after ischemia, as well as after ML extract application, the concentration of glutamic acid was down regulated, but on the 12th day increased, exceeding to the norm. At the same time, the concentration of GABA in the cerebral cortex was reduced but not as much significant as in ischemic group. The brain cortex, which is sensitive to ischemia/hypoxia was more affected by ischemia and its restoration becomes weaker. It can be assumed that primary protection aimed to subcortical structures.

Further, the influence of ML extract on structural changes of rat brain was investigated. Summarizing study results it can be stated that the three-day use of an extract of black mulberry leaves regulates the quantitative changes of neuroactive amino acids, contributing to the protection of brain tissue (hippocampus, hypothalamic area, cortex) under focal cerebral damage.

These results indicated that the water extract of black mulberry leaves *in vivo* exhibits neuroprotective properties in local cerebral ischemia.



