



• Փորձարարական և տեսական հոդվածներ • Экспериментальные и теоретические статьи •
• Experimental and Theoretical articles •

Биол. журн. Армении, 4 (61), 2009

ФЕРМЕНТОТЕРАПИЯ В СОЧЕТАНИИ С ЙОДМЕТИЛАТОМ 2-(ДИМЕТИЛАМИНО) ЭТИЛОВОГО ЭФИРА N-(N-МЕТОКСИБЕНЗОИЛ)-DL-ФЕНИЛАЛАНИНА ПРИ ОРГАНИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ СПИННОГО МОЗГА

Т.С. ХАЧАТРЯН¹, В.О. ТОПУЗЯН², И.Р. КАРАПЕТЯН²,
Э. Ю. АРУТЮНЯН³ Т.К. КИПРИАН¹

¹Институт физиологии им. Л. А. Орбели НАН РА,

²Институт тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна НАН РА²,

³Ереванский базовый медицинский колледж № 1

Обсуждается вопрос применения протеолитических ферментов трипсина и химотрипсина в сочетании с одним из эфиров холина йодметилатом 2-(диметиламино) этилового эфира N-(n-метоксибензоил)-DL-фенилаланина у крыс в норме и в условиях 2/3 перерезки спинного мозга. Результаты исследований свидетельствуют о протекторном эффекте данного комплекса препаратов на фоновую и вызванную электрическую активность одиночных мотонейронов вентрального рога спинного мозга крыс в условиях 2/3 его перерезки. Регистрация и анализ вызванной активности одиночных мотонейронов спинного мозга проводились посредством специальных компьютерных программ в режиме on-line.

Трипсин, химотрипсин, йодметилат 2-(диметиламино) этилового эфира N-(n-метоксибензоил)-DL-фенилаланина - мотонейроны - фоновая активность - вызванная активность - спинной мозг

Ուսումնասիրվել է յոդմեթիլատ 2-(դիմեթիլամինո) էթիլ N-(n-մետոքսիբենզոիլ)-DL-ֆենիլալանինի էթերի և պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների՝ տրիպսին, քիմոտրիպսինի համակցված ազդեցությունը առնետների ողնուղեղի առանձին շարժանեյրոնների էլեկտրական ակտիվության փոփոխության վրա նորմայում և ողնուղեղի 2/3-ի հատման ժամանակ: Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս յոդմեթիլատ 2-(դիմեթիլամինո) էթիլ N-(n-մետոքսիբենզոիլ)-DL-ֆենիլալանինի էթեր և պրոտեոլիտիկ ֆերմենտներ ստացող առնետների մոտ ողնուղեղի առանձին շարժանեյրոնների ֆոնային և հրահրված ակտիվության ստույգ բարելավումը: Ողնուղեղի առանձին շարժանեյրոնների էլեկտրական ակտիվության գրանցումը կատարված էր on-line ռեժիմում:

Տրիպսին, քիմոտրիպսին, յոդմեթիլատ 2-(դիմեթիլամինո) էթիլ N-(n-մետոքսիբենզոիլ)-DL-ֆենիլալանինի էթեր - շարժանեյրոններ - ֆոնային ակտիվություն - հրահրված ակտիվություն - ողնուղեղ

In these series of investigations the issue of using one of choline esters, namely iodmethyleate 2-(dimethylamino) ethyl N-(n-metoxibenzoil)-DL-phenilalanyn ester combined with proteolytic enzymes - trypsin and chimotrypsin on rats in norm and with the 2/3 section of spinal cord is discussed.

The obtained results show the protective effect of proteolytic enzymes and iodmethyle 2-(dimethylamino) ethyl N-(n-metoxibenzoil)-DL-phenilalanyn ester on background and evoked activity of single spinal motoneurons of rats with the 2/3 section of spinal cord. The registration and analysis of the evoked activity of single motoneurons of spinal cord of rats is done by means of the special computer programs in on-line mode.

Trypsin, chimotrypsin, iodmethyle 2 – (dimeylamino) ethyl N–(n–metoxybenzoil)–DL–fenilalanyn – motoneurons - background activity - evoked activity - spinal cord

Одной из актуальных проблем современной теоретической и экспериментальной биологии и медицины является проблема состояния восстановительных процессов при повреждениях спинного мозга (СМ) у млекопитающих при воздействии различных препаратов [3]. Однако стойкость соматических и вегетативных нейрогенных нарушений является причиной инвалидизации большинства больных с поражениями СМ и нарушением проводимости нервных импульсов [1-5, 8]. С точки зрения синтеза и биологической активности роль производных холина – холиновых эфиров в корригировании вышеуказанных нарушений не второстепенна [6]. Согласно результатам исследований последних лет [11], холиновыми эфирами осуществляется ряд важнейших функций в организме человека и животных. Вместе с тем продолжают отсутствовать сведения относительно применения эфиров холина при спинномозговых повреждениях различной степени выраженности и результатов их действия на мотонейроны (МН) СМ. Ферментные препараты также оказывают протекторный эффект при повреждениях СМ [5]. Особая роль в данном аспекте принадлежит ферментным препаратам, в особенности протеолитическим ферментам трипсину и химотрипсину, что нашло своё подтверждение в ряде исследований [9, 10].

Исходя из поиска оптимальных средств, стимулирующих и благоприятствующих росту волокон повреждённых путей СМ и с учётом вышеотмеченных особенностей холиновых эфиров и протеолитических ферментов, нами предпринята попытка исследовать действие одного из холиновых эфиров йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира N-(n-метоксибензоил)-DL-фенилаланина (ДЭФ), синтезированного в Институте тонкой органической химии им. А.Л. Мнджояна НАН РА под руководством д. х. н. Топузяна В.О., в сочетании с протеолитическими ферментами трипсином и химотрипсином на одиночные МН СМ крыс в норме и при его экспериментальных повреждениях, таких как 2/3 перерезки СМ.

Материал и методика. Эксперименты проведены на 50 белых крысах – самцах, массой 200–230 г, разделённых на 3 экспериментальные группы: 1-я – 10 экз. – интактные животные; 2-я – 20 экз. – животные с 2/3 перерезкой СМ на уровне Т8 – Т9; 3-я – 20 экз. – животные с 2/3 перерезкой СМ на уровне Т8–Т9, получавшие в течение 1 месяца инъекции сочетанного комплекса ДЭФ и протеолитических ферментов трипсина и химотрипсина (доза 200 мкг/кг –ДЭФ; 32 ЕД/кг – трипсина; 32 ЕД/кг – химотрипсина, каждое животное индивидуально) в место повреждения СМ. Дачу препаратов проводили в следующей последовательности: сначала вводили ДЭФ, затем трипсин, а спустя 30–40 мин – химотрипсин в вышеуказанных дозах. После завершения дачи препаратов и предварительных

клинических наблюдений производили экстраклеточную регистрацию спонтанной фоновой активности (ФА) одиночного МН вентрального рога СМ крыс. В ответ на раздражение седалищного нерва производили экстраклеточную регистрацию вызванной электрической активности (ВА) данного МН. Отведение активности исследуемых МН проводили стеклянными микроэлектродами с диаметром кончика 1–2 мкм, заполненными 2 М раствором NaCl, в дорзовентральном направлении в сером веществе передних рогов поясничного отдела СМ в области МН (IX пластина по Рекседу). Регистрацию ФА и ВА одиночных МН проводили с помощью специально разработанной программы, обеспечивающей в режиме on-line селекцию спайков посредством амплитудной дискриминации спайков и последующим построением кумулятивной импульсной диаграммы для выбора необходимого режима записи ФА и ВА одиночного МН. Анализ полученных данных осуществляли по подробно описанному алгоритму [7].

Результаты и обсуждение. На рис. 1 приведены примеры кумулятивных (рис. 1, пункты 1–3, а, б) и суммированных (рис. 1, пункты 1–3, в) престоимых и постстимульных диаграмм ФА и ВА одиночного МН СМ (глубина 1200 мкм) у интактных животных (пункт 1, а, б, в); у животных с 2/3 перерезкой СМ (глубина 1200 мкм, пункт 2, а, б, в); у животных с 2/3 перерезкой СМ, получавших сочетанный комплекс трипсина, химо-трипсина и ДЭФ в течение 1 месяца в место повреждения СМ (глубина 1200 мкм, пункт 3, а, б, в).

Как видно из рис.1, последствия 2/3 перерезки СМ проявляются в виде урежения вызванной пачечной активности одиночного МН по сравнению с нормой. Этот эффект хорошо виден на кумулятивной престоимой диаграмме (рис. 1, пункт 2, а), где имеет место уменьшение числа импульсов в пачке, и на престоимой части суммированной (17 исп.) диаграммы (рис. 1, пункт 2, в). Что касается постстимульного ответа МН, очевидно также урежение постстимульного вызванного импульсного потока (рис. 1, пункт 2, б). После введения сочетанного комплекса трипсина, химо-трипсина и ДЭФ у крыс с 2/3 перерезкой СМ происходит резкое учащение как престоимой, так и постстимульной активности МН, сопровождающееся исчезновением пачечной активности (рис. 1, пункт 3, а, б, в) и приближающееся по своим показателям к картине ВА у интактных животных (рис. 1, пункт 1, а, б, в).

Анализируя проведенные исследования, можно прийти к выводу о том, что в целом имеется положительный эффект от применения сочетанного комплекса трипсина, химо-трипсина и ДЭФ при органических повреждениях СМ у крыс и наблюдается наличие стойких положительных результатов. Таким образом, результаты данного исследования свидетельствуют об эффективном действии сочетанного комплекса трипсина, химо-трипсина и ДЭФ на ФА и ВА одиночных МН СМ крыс при его органических повреждениях. Результаты ранее проведенных исследований по изучению действия холиновых производных [12, 13, 17, 18] и ферментных препаратов [9, 14–16, 19], а также настоящие данные по изучению действия сочетанного комплекса трипсина, химо-трипсина и ДЭФ на ФА и ВА одиночных МН поврежденного СМ крыс позволяют сделать заключение о протекторном действии сочетанного комплекса трипсина, химо-трипсина и ДЭФ после 2/3 перерезки СМ.

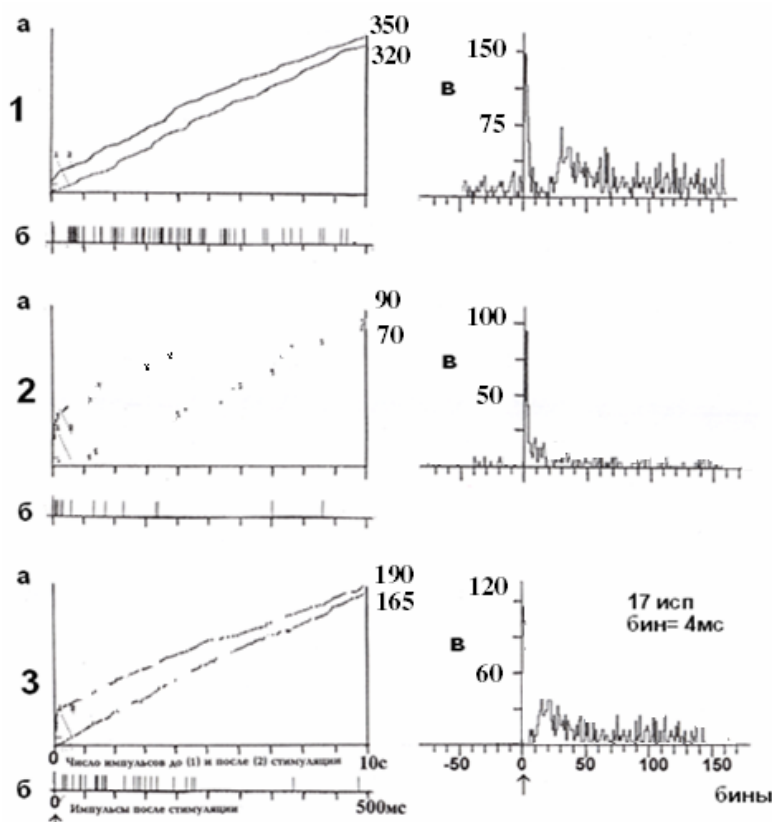


Рис. 1. Куммулятивные (а) и суммированные (в) пре- и постстимульные диаграммы внеклеточной фоновой и вызванной активности одиночного мотонейрона (глубина 1200 мкм) вентрального рога спинного мозга крыс в норме (рис. 1, пункт 1 а, б, в); одиночного мотонейрона (глубина 1200 мкм) вентрального рога спинного мозга крыс при 2/3 перерезки спинного мозга (рис. 1, пункт 2 а, б, в) и одиночного мотонейрона (глубина 1200 мкм) вентрального рога спинного мозга у крыс, получавших в течение 1 месяца ежедневно инъекции сочетанного комплекса трипсина, хитотрипсина и йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира N-(p- метоксибензоил)-DL-фенилаланина в место повреждения (рис. 1, пункт 3 а, б, в). На «а»: ордината – число импульсов до и после стимуляции нерва, абсцисса – время регистрации импульсного потока. На «б»: картина импульсного потока после стимуляции нерва в избранном интервале времени. На «в»: ордината – процент импульсов (в бинах) от числа проб, абсцисса – последовательность бинов

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреасян А.С., Хачатрян Т.С.Ж. Вестник МАНЭБ, 12, 4, с. 207–209, 2007.
2. Матинян Л.А., Андреасян А.С., Киприян Т.К., Хачатрян Т.С.Ж. Вопросы теоретической и клинической медицины, 6, 4 (30), с. 5–7, 2003,
3. Матинян Л.А., Нагапетян Х.О., Андреасян А.С., Киприян Т.К., Хачатрян Т.С.Ж. Вестник МАНЭБ, 12, 4, вып. 2, с. 157–159, 2007.
4. Матинян Л.А., Андреасян А.С. Изд. АН АрмССР, с. 31–49, 1973.

5. Мнджоян О.Л., Топузян В.О.Ж. Успехи химии, *L*, вып. 12, с. 2198–2211, 198.
6. Хачатрян Т.С., Матинян Л.А., Андреасян А.С., Киприян Т.К.Ж. Вопросы теоретической и клинической медицины, 1, с. 40–45. 2002.
7. Хачатрян Т.С. Ж. Биолог. журн. Армении, 59, 3–4, 198–202, 2007.
8. Babu R.C., Namasivayam A. J. Synapse, 6, 62, pp. 432–447, 2008,
9. Brown M., Davies I.M., Moffat C.F., Redshaw J., Craft J.A. J. Mar. Environ. Res., 3, 57, pp. 155–169, 2004.
10. Davies I.M., Moffat C.F., Redshaw J. J. Mar. Environ. Res., 2005, 2, 69, pp. 338–339.
11. De Almeida H.L., Fiss R.C. J. Dermatol. Online. J., 11, 14, p.18. 2008.
12. Fawcett J.V. J. Rehabil. Med., 9, 40, pp. 780–782, 2008.
13. Grigoryan H.A., Hambardzumyan A.A., Mkrtchyan M.V., Topuzyan V.O., Halebyan G.P., Astryan R.S. J. Chem. Biol. Interact., 1, 171, pp. 108–116, 2008.
14. Holmes–McNary M.Q., Cheng W.L., Mar M.H., Fussel S., Zeisel S.H. J. Am. J. Clin. Nutr., 4, № 64, pp. 572–576, 1996.
15. Holstege J.C., de Graaf W., Hossaini M., Cano S.C., Jaarsma D., van den Akker E., Deschamps J.J. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 17, 105, pp. 6338–6343, 2008.
16. Iasi J.F., Vecchione A.M., Zimmer M.P., Caggiano M.P. J. Neurotrauma, 11, 24, pp. 1743–1759, 2007.
17. Moon C., Lee T.K., Kim H., Ahn M., Lee Y., Kim M.D., Sim K.B., Shin T. J. Vet. Med. Sci., 9, 70, pp. 937–941, 2008.
18. Qu S., Le W., Zhang X., Xie W., Zhang A., Ondo W. G. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 9, 66, 5, pp. 383–388, 2007.
19. Werner S.R., Dotzlauf J.E., Smith R.C. J. BMS Neurosci., 9, p. 83. 2008.

Поступила 02.03.2009.