



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4(63), 2011

**ՊՐՈԼԻՆՈՎ ՀԱՐՈՒՍՏ ՊՈԼԻՊԵՊՏԻԴԻ ԵՎ ՆՐԱ ԱԾԱՆՑՅԱԼԻ
ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՐՈՇ ՑԻՏՈԿԻՆՆԵՐԻ ԵՎ
ԻՄՈՆԳԼՈԲՈՒԼԻՆՆԵՐԻ ՄԱԿԱՐԴԱԿԻ ՎՐԱ**

Ա.Մ. ԲԱԴԱԼՅԱՆ¹, Խ.Վ. ԲԱԴԱԼՅԱՆ², Մ.Ա. ՍԱՐԳՍՅԱՆ², Ա.Ա. ԳԱԼՈՑԱՆ¹

¹ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտ

²Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան
asya.badalyan@mail.ru

Ուսումնասիրվել է հիպոթալամուսի պրոլինոլ հարուստ պոլիպեպտիդի և նրա ածանցյալի ազդեցությունը ցիտոկինների և իմունոգլոբուլինների մակարդակի վրա: Ցույց է տրվել, որ ինչպես գալարմինը, այնպես էլ նրա ածանցյալը, բարձրացնում են ցիտոկինների և իմունոգլոբուլինների կոնցենտրացիան:

Գալարմին - իմունոգլոբուլին - ցիտոկին - ինտերլեյկին

Исследовано влияние пролином богатых полипептидов гипоталамуса-галармина и его аналога на уровень цитокинов и иммуноглобулинов. Показано, что галармин, а также его аналог d15-галармин повышают концентрацию цитокинов и иммуноглобулинов.

Галармин – иммуноглобулин – цитокин – интерлейкин

The effect of proline-rich polypeptides of the hypothalamus - galarmin and its analogue - on the level of cytokines and immunoglobulins was investigated. It is shown that galarmin, as well as its analogue d15-galarmin, increase the concentration of cytokines and immunoglobulins.

Galarmin – immunoglobulin – cytokine – interleukin

Մակրո- և միկրոօրգանիզմների (հիվանդության հարուցիչի) փոխազդեցության դեպքում հիվանդության ելքը կախված է առաջինիս իմունոլոգիական ռեակտիվությունից: Այն որոշում է ոչ միայն տվյալ հիվանդության առաջացումը, այլ նաև կլինիկական ընթացքի յուրահատկությունը: Բնութագրողիտար համակարգի բջջային տարրերի փոխազդեցությունը օրգանիզմի հակաինֆեկցիոն ռեզիստենտության զարգացման պրոցեսում վճռորոշ դիրք է զբաղում [1]: Ֆագոցիտային պրոցեսում մակրոֆագերը սկսում են արտադրել նախաբորբոքային ցիտոկիններ՝ ինտերլեյկին (IL)-1, -6, -8, TNF- α , ինտերֆերոն- α և այլն, որոնց արտազատումից և մեկը մյուսի ու թիրախ բջջի հետ փոխազդեցությունից են կախված ողջ պաթոլոգիական պրոցեսները [9]:

Ուղեղը ոչ միայն կարգավորում է իմուն համակարգի ֆունկցիաները, այլ նաև այդ համակարգի օրգաններից մեկն է [4]: Հիպոթալամուսի նեյրոսեկրետոր նեյրոններում (N.Paraventricularis and N. Supraopticus) նոր ցիտոկինների (PRP- proline rich peptides) և մի շարք ինտերլեյկինների կենսասինթեզի տվյալները վկայում են, որ հիպոթալամուսի նեյրոսեկրետոր կորիզը կենտրոն է հանդիսանում ուղեղի նեյրոսեկրետոր իմուն համակարգի համար [5,7]:

Շատ այլ իմունոմոդուլյատորների առկայությունը վկայում է, որ հիպոթալամուսի նեյրոսեկրետոր բջիջները կարող են համարվել որպես նեյրոսեկրետոր իմուն համակարգի բջիջներ: Նրանք սինթեզում են իմունոմոդուլյատորներ, որոնք նեյրոսեկրետոր իմուն համակարգի ազդանշանային մոլեկուլներ են: Հատուկ հետաքրքրություն է ներկայացնում նեյրոհիպոֆիզի և հիպոթալամուսի նեյրոսեկրետոր գրանուլներից անջատված պոլիպեպտիդ գալարմինը և նրա ածանցյալ d15-գալարմինը [6]:

Այս հետազոտության նպատակը սպիտակ մկների օրգանիզմի իմունոլոգիական ցուցանիշների վրա գալարմինի և նրա ածանցյալի ազդեցության ուսումնասիրումն է:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտության համար վերցվել են 18-20 գ մարմնի զանգվածով ոչ գծային սպիտակ մկներ, որոնց ներկանային ներարկվել է 16 գամմա բաժնեչափով գալարմին և 24, 48, 96 ժ, 10 օր և 30 օր հետո սրտից վերցվել է արյուն՝ որոշելու օրգանիզմի իմուն կարգավիճակի ցուցանիշներ. արյան շիժուկում ինտերլեյկին (IL)-1- α ,-4,-8-ի, TNF- α -ի, IgG -ի, IgM-ի պարունակությունը:

Նույն ցուցանիշները որոշվել են նաև 18-20 գ մարմնի զանգվածով ոչ գծային սպիտակ մկներին նույն բաժնեչափով d15-գալարմին ներարկելուց հետո:

Ցիտոկինների և իմունոգլոբուլինների մակարդակը գնահատվել է իմունոֆերմենտատիվ անալիզի մեթոդով՝ համապատասխանաբար “IFA-BECT” և “BioSystems կոդ 31075” ռեագենտների օգտագործմամբ: Արդյունքները որոշվել են իմունոֆերմենտատիվ անալիզատորի միջոցով: Ցիտոկինների քանակությունը (պգ/մլ) հաշվարկվել է տրամաչափիչ կորի կառուցման միջոցով: Արդյունքները չափվել են սպեկտրոֆոտոմետրով 450 նմ ալիքի երկարությամբ:

Պրոլինով հարուստ պեպտիդի (ՊՀՊ) առաջնային կառուցվածքը ուսումնասիրվել է մաս-սպեկտրալ անալիզի միջոցով և ունի հետևյալ կառուցվածքը՝ Ala-Gly-Ala-Pro-Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Ala-Gln-Pro-Gly-Val-Tyr [4,6]:

Արդյունքներ և քննարկում: Սպիտակ մկների արյան շիժուկում 16 մկգ բաժնեչափով գալարմին ներարկելուց հետո որոշվել է վերջինիս ազդեցությունը իմունոգլոբուլինների (հումորալ օղակ) և ցիտոկինների (բջջային օղակ) կոնցենտրացիայի վրա:

Ադ. 1-ից երևում է, որ գալարմինի ազդեցությամբ հակամարմինների մակարդակի բարձրացում է դիտվում ներարկումից 24 ժ հետո, որն ավելի ցայտուն է արտահայտված իմունոգլոբուլին M-ի դեպքում՝ մոտ 7 անգամ (1.7-ից դարձել է 11.72), և այդ բարձր մակարդակը պահպանվում է դեռևս տասն օր անց:

Ստացված տվյալներով ինտերլեյկինների մակարդակն ունի հակում դեպի նորմայից բարձրացման:

Նախաբորբոքային ցիտոկիններից ուսումնասիրվել է TNF- α -ն, IL-1- α -ն և IL-8-ը: TNF- α -ն իրականացնում է կարգավորիչ և էֆեկտոր ֆունկցիա բորբոքման և իմուն պատասխանի մեջ: TNF- α -ի տեղային պրոդուկցիան ապահովում է գրանուլոցիտների հեմոտաքսիսը, ֆագոցիտոզի ուժեղացումը [2, 8]

Աղյուսակ 1. Գալարմինի ազդեցությունը սպիտակ մկների արյան շիժուկի իմունալոգիական ցուցանիշների վրա տարբեր ժամանակահատվածներում, $M \pm m$

Իմունալոգ. ցուցանիշներ	Նորմա n=5	Գալարմին ներակելուց հետո				
		24 ժամ	48 ժամ	96 ժամ	10 Օր	30 Օր
Ig G (մգ/դլ)	502 $\pm$ 10.098	886 $\pm$ 57.69	1113 $\pm$ 66.17	1006 $\pm$ 56.80	1151 $\pm$ 60.22	600 $\pm$ 34.93
Ig M (մգ/դլ)	1.7 $\pm$ 0.298	11.72 $\pm$ 0.980	13.5 $\pm$ 1.07	14.5 $\pm$ 0.73	13.6 $\pm$ 0.597	2.0 $\pm$ 0.17
TNF-a (պգ/մլ)	0.9-7.52	14.4 $\pm$ 0.787	13.7 $\pm$ 0.661	13.1 $\pm$ 0.681	16.1 $\pm$ 1.32	7.05 $\pm$ 0.109
IL 1-a (պգ/մլ)	8.0 $\pm$ 0.808	89.0 $\pm$ 4.55	90.0 $\pm$ 5.06	20.2 $\pm$ 0.406	10.2 $\pm$ 0.75	9.3 $\pm$ 0.394
IL – 8 (պգ/մլ)	14.4 $\pm$ 0.453	76.5 $\pm$ 4.58	100.6 $\pm$ 3.359	194.5 $\pm$ 13.263	55.5 $\pm$ 2.75	14.0 $\pm$ 0.352
IL – 4 (պգ/մլ)	8.4 $\pm$ 0.834	11.2 $\pm$ 0.685	46.0 $\pm$ 2.13	12.9 $\pm$ 0.963	13.7 $\pm$ 0.711	9.1 $\pm$ 0.597

Ig G՝ իմունոգլոբուլին- G IL-8՝ ինտերլեյկին-8
 Ig M՝ իմունոգլոբուլին- M IL-1a՝ ինտերլեյկին- 1aIL-4՝ ինտերլեյկին -4
 TNF-a (Tumor necrosis fator)՝ ուռուցքի նեկրոզի ֆակտոր

Աղ. 1-ից երևում է, որ TNF- α -ի մակարդակն ավելացել է գալարմինի ազդեցությամբ: TNF- α -ն ինդուկցում է IL-1- α -ի արտադրությունը՝ ցուցաբերելով TNF- α -ի հետ սիներգիկ ազդեցություն: IL-1- α -ի մակարդակի բարձրացումը անհրաժեշտ է արդյունավետ պաշտպանության համար [1,2]: Հաստատվել են IL-1- α -ի մակարդակի բարձրացման տվյալներ (մոտ տասն անգամ)՝ համեմատած ստուգիչի ցուցանիշների:

TNF- α -ն համարվում է նաև IL-8-ի ինդուկտոր, որը նեյտրոֆիլների կարևոր ակտիվատոր է՝ առաջ բերելով վերջիններիս մասսայական միգրացիան դեպի բորբոքային օջախ և նրանց դեգրանուլյացիան [1]: IL-8-ը բարձրացնում է նեյտրոֆիլների ունակությունը ազդեցիկի նկատմամբ, որը օրինաչափ պետք է ուղեկցվի նրանց ֆագոցիտար ակտիվության բարձրացմամբ [3]: Հաստատված է, որ IL-8-ի պարունակությունը արյան շիճուկում մի քանի անգամ բարձր է գալարմին ստացած կենդանիների մոտ:

Գալարմին ներարկելուց 48 և 96 ժ հետո գալարմին ստացած մկների արյան շիճուկում IL-4-ի քանակությունը կազմում է համապատասխանաբար 46 և 12.9 պգ/մլ, իսկ այդ ցուցանիշը ստուգիչում կազմում է 8.4 պգ/մլ:

Նույն ցուցանիշներն ուսումնասիրվել է նաև ոչ գծային սպիտակ մկների արյան շիճուկում d15-գալարմին ներարկելուց հետո: Ի տարբերություն գալարմին-ի՝ d15-գալարմինի ազդեցությունը դրսևորվում է 24 ժ հետո:

Այս դեպքում IL -4-ի, IL-8-ի, IgM-ի, IgG-ի և TNF- α -ի կոնցենտրացիան 24 ժ ընթացքում տատանվում է նորմայի սահմաններում:

96 ժ հետո ստացված տվյալներով՝ նրանց մակարդակն ունի միտում դեպի նորմայից բարձրացում: Այն ավելի ակնհայտ է IL-8-ի դեպքում (18.39 անգամ՝ 14.4-ից դարձել է 264.95), և IgM-ի դեպքում (31.76 անգամ՝ 1.7-ից դարձել է 54) (աղ.2):

Ընդհանրապես, ժամանակակից կենսաբանության տեսակետից, օտար մարմինների ազդեցությամբ օրգանիզմի իմուն ռեակցիան կարելի է դիտել որպես ադապտիվ պրոցես՝ ուղղված փոփոխվող պայմաններում հոմեոստազի պահպանմանը: Տվյալ դեպքում կարելի է ենթադրել, որ գալարմինը ցուցաբերում է իմունոմոդուլյատոր ազդեցություն:

Աղյուսակ 2. d15-գալարմինի ազդեցությունը սպիտակ մկների արյան շիճուկի որոշ ինտերլեյկինների և իմունազդրույիչների մակարդակի վրա տարբեր ժամանակահատվածներում, $M \pm m$

Իմունալոգ. ցուցանիշներ	Նորմա n=5	d15-գալարմին ներակելուց հետո				
		24 ժամ	48 ժամ	96 ժամ	10 Օր	30 Օր
Ig G (մգ/դլ)	502 $\pm$ 10.098	492 $\pm$ 11.58	679 $\pm$ 62.42	1895.5 $\pm$ 98.46	1264 $\pm$ 84.7	480 $\pm$ 34.12
Ig M (մգ/դլ)	1.7 $\pm$ 0.298	2.35 $\pm$ 0.218	47.1 $\pm$ 0.680	54.0 $\pm$ 2.84	15.63 $\pm$ 0.968	1.5 $\pm$ 0.316
TNF-a (պգ/մլ)	0.9- 7.52	102.5 $\pm$ 7.02	13.8 $\pm$ 1.04	35.35 $\pm$ 1.334	15.2 $\pm$ 1.34	6.09 $\pm$ 0.47
IL 1-a (պգ/մլ)	8.0 $\pm$ 0.808	19 $\pm$ 0.767	20 $\pm$ 0.359	18.7 $\pm$ 0.394	14.2 $\pm$ 0.958	7.8 $\pm$ 0.132
IL – 8 (պգ/մլ)	14.4 $\pm$ 0.453	13.8 $\pm$ 0.601	208.1 $\pm$ 2.551	264.95 $\pm$ 2.11	42.2 $\pm$ 0.408	15.3 $\pm$ 0.552
IL – 4 (պգ/մլ)	8.4 $\pm$ 0.834	9.5 $\pm$ 0.659	18.8 $\pm$ 1.18	24.2 $\pm$ 1.64	17.5 $\pm$ 1.27	8.9 $\pm$ 0.094

Ստացված տվյալների վերլուծությունը ցույց է տալիս, որ պրեպարատները չեն ցուցաբերում նեգատիվ ազդեցություն իմունիտետի վերոնշյալ օղակի վրա, քանի որ ցիտոկինների և իմունոգլոբուլինների ավելացումը կարգավորվում է փորձի 30-րդ օրը: Այսինքն՝ գալարմինը և նրա ածանցյալը բացասական ազդեցություն չեն թողնում հիմնական իմունոլոգիական ցուցանիշների վրա, և սպիտակ մկների մոտ պատրաստուկի վերոնշյալ չափաբաժինները առաջ չեն բերում թունավորում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Тотоян А.А., Фрейдлин И.С.* Клетки иммунной системы. С.-Пб., Наука, 1, 231, 2000.
2. *Фрейдлин И.С.* Прикладные аспекты современного учения о цитокинах. Тихоокеанский мед журн., 3, 13-19, 1999.
3. *Ярилин А.А.* Контактные межклеточные взаимодействия при иммунном ответе. Мед. иммунол., 1:1—2:37—46, 1999.
4. *Galoyan A.A.* Biochemistry of novel cardioactive hormones and immunomodulators of the functional system neurosecretory hypothalamus—endocrine heart. Moscow: Nauka Publishers (in English); 240 pp., 1997.
5. *Galoyan A.A.* Brain and immune system (Neurochemical aspects of the problem). Neurochemistry RAS & NAS RA) 15, 3-11, 1998.
6. *Galoyan A.* Neurochemistry of brain neuroendocrine immune system: Signal molecules. Neurochem Res., 25, (9/10): 1343-1355, 2000.
7. *Galoyan A.A., Aprikyan V.S., Markossian K.A., Gurvits B.Ya.* Neurosecretion of cytokines by magnocellular cells of hypothalamus. Neurokhimiya RAS & NAS RA 15: 361-372, 1998.
8. *Bahra P., Rainger G.E., Wautier J.L. et al.* Each step during transendothelial migration of flowing neutrophils is regulated by the stimulatory concentration of tumour necrosis factor-alpha. Cell Adhes Commun 6:6:491—501, 1998.
9. *Thomson Ed. A.,* The Cytokine Handbook London: Acad Press 18, 1992.

Ստացվել է 06.06.2011