

**ՆՈՐ ԱՄԻՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԿՈՄՊԼԵՔՍԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՀԵՄՈՍՏԱԶԻ ՎՐԱ ՇԱՔԱՐԱՅԻՆ ԴԻԱԲԵՏ ՈՒՆԵՑՈՂ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ
ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՄՈՏ**

ՀՏԴ 577.1

DOI 10.56246/18294480-2022.12-07

ՊԱՐՈՆՅԱՆ ԶՈՅԱ

*Կենսաբանական գիտությունների թեկնածու,
ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի
ինստիտուտի ավագ գիտաշխատող, լաբորատորիայի վարիչ
Էլփոստ՝ aregarpi4@gmail.com*

ԱՌԱՔԵԼՅԱՆ ԼՅՈՒՂՄԻԼԱ

*Կենսաբանական գիտությունների թեկնածու, դոցենտ, ԳՊՀ պրոֆեսոր,
ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի
ինստիտուտի ավագ գիտաշխատող
Էլփոստ՝ arakelyanlyudmila@mail.ru*

ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ ՀԱՍՄԻԿ

*ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի
ինստիտուտի գիտաշխատող
Էլփոստ՝ stepanyan.hasmik@yahoo.com*

ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ ԼՈՒՍԻՆԵ

*ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի
ինստիտուտի կրտսեր գիտաշխատող
Էլփոստ՝ lusokgrig@gmail.com*

**Հայտնի է, որ շաքարային դիաբետով (ՇԴ) հիվանդների մոտ հեմոս-
տազի բոլոր օղակներում տեղի են ունենում խախտումներ՝ էնդոթելային
դիսֆունկցիա, տրոմբոցիտների ադգեզիվության բարձրացում, պլազ-
մային ֆակտորների (ՖVII, թրոմբին, ֆիբրինոգեն) քանակության փոփո-
խություն, հակամակարդիչների (պրոտեին C, S, անտիթրոմբին III, թրոմ-
բոմոդուլին) մակարդակի անկում, ֆիբրինոլիզի արգելակիչների սինթե-
զի խթանում և այլն, այսինքն՝ ուժեղ արտահայտված պրոթրոմբոտիկ վի-**

պրոթրոմբոտիկ վիճակ, այսինքն՝ սիրտանոթային հիվանդությունների առաջացման բարձր ռիսկ, և որքան վատ է ընթանում ածխաջրածնային փոխանակության կոմպենսացման գործընթացը, այնքան ուժեղ են արտահայտվում հեմոստազի համակարգի խախտումները, որոնք մեր կողմից ուսումնասիրվել են փորձարարական ալոքսանային ՇԴ-ով կենդանիների մոտ նախքան հետազոտվող ԱԿ-ի ներարկումը՝ հիվանդության ընթացքում, և ներարկումից հետո՝ արյան մեջ գլյուկոզի մակարդակը կարգավորելուց հետո:

Նյութ և մեթոդներ

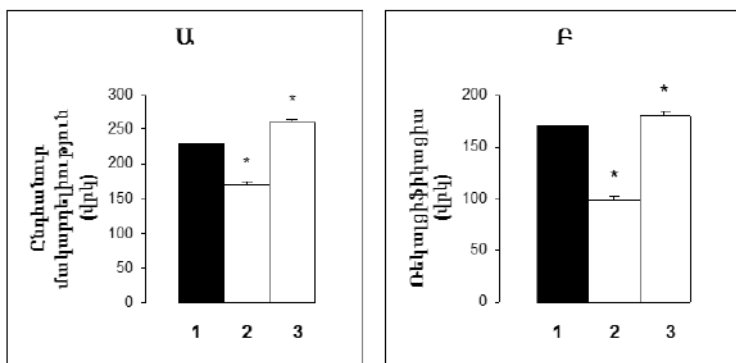
Փորձերը կատարվել են ոչ գծային արու, 180-200գ քաշով սպիտակ առնետների վրա, որոնք պահվել են վիվարիումի սովորական սննդակարգով: Կենդանիները բաժանվել են երեք խմբի. I - ստուգիչ, որոնք ներխոռոչային ներարկմամբ ստացել են ֆիզլուծույթ (0,85% NaCl) 0,5մլ/100գ, II - ալոքսանի միանգամյա ներխոռոչային ներարկում՝ 15մգ/100գ չափաբաժնով, III - ալոքսանով ՇԴ-ի առաջացում և հնգօրյա ԱԿ-ի 0,5մլ/100գ չափաբաժնով ներարկում: Հիվանդության զարգացումը գնահատվել է ըստ կլինիկական ախտանիշների (պոլիուրիա, քաշի կորուստ, ծարավի զգացում (պոլիդիպսիա)) և արյան մեջ գլյուկոզի մակարդակի: Մոդելը համարվել է ստացված արյան մեջ գլյուկոզի քանակի ≥ 18 մմոլ/լ և ավել բարձրացման դեպքում: Գլյուկոզի քանակը որոշելու համար պահանջվող արյունը վերցվել է առնետի պոչի ծայրային հատվածի կտրվածքից: Գլյուկոզի մակարդակը չափվել է գլյուկոմետրի օգնությամբ (Саттеллит, Ռուսաստան):

ԱԿ-ը բաղկացած է ԳԱԿԹ-ից, β -ալանինից, գլուտամինից և ԷՕՍ-ից՝ 1:1:2:2 համամասնությամբ: Արյան մակարդման համակարգի վիճակը գնահատվել է ըստ արյան ընդհանուր մակարդեղիության, ռեկալցիֆիկացման, պրոթրոմբինային ժամանակի և ֆիբրինոգենի մակարդակի փոփոխության [6,7]: Փորձերում օգտագործվել են Sigma Chemical Company (USA) ֆիրմայի ստանդարտ ամինաթթուներ, Delta (<այաստան) ֆիրմայի թրոմբոպլաստին: Ստուգիչ և փորձարարական նմուշների միջև տարբերությունների վիճակագրական նշանակելիությունը որոշելու համար օգտագործվել է Mann Whitney U ոչ պարամետրային չափանիշ: Տվյալները ներկայացվել են mean $\pm$ SEM. Նշանակելիության մակարդակը ստուգիչի հետ համեմատած համարվել է հավաստի $p < 0,05$ -ի դեպքում:

Արդյունքներ և քննարկում

Փորձարարական ալոքսանային դիաբետով առնետների մոտ թեստավորվող ԱԿ-ի ներարկումից հետո տեղի են ունենում հետևյալ փոփոխությունները. եթե ստուգիչ (առողջ) կենդանիների արյան մեջ գլյուկոզի քանակը $6,1 \text{ մմոլ/լ} \pm 0,12$ էր, ապա նրանց մոտ փորձարարական ՇԴ առաջացնելուց հետո այն բարձրանում է $22 \text{ մմոլ/լ} \pm 0,75$, իսկ ԱԿ-ի հնգօրյա ներարկումից հետո իջնում է մինչև $5,5 \text{ մմոլ/լ} \pm 0,4$, որը ապացուցում է, որ ուսումնասիրվող ԱԿ-ն ունի ալոքսանի հիպերգլիկեմիկ ակտիվությունը չեզոքացնող բարձր արդյունավետություն:

Հայտնի է, որ արյան հեղուկ վիճակը ապահովվում է մակարդիչների, հականակարդիչների և ֆիբրինոլիտիկ ռեակցիաների փոխազդեցության շնորհիվ: Այդ փոխազդեցության արդյունքը ընդհանուր արյան մակարդեղիությունն է, որը ցույց է տալիս արյան վիճակը ընդհանրապես: Ստացված տվյալները վկայում են, որ դիաբետոգենի ներարկումից հետո արյան ընդհանուր մակարդեղիությունը բարձրանում է 28%-ով, որը պայմանավորված է ոչ միայն մակարդման գործոնների (ֆակտորներ) ակտիվության բարձրացմամբ, որոնք խթանում են մակարդեղիությունը, այլ նաև այն արգելակող միացությունների մակարդակի իջեցմամբ [8]: ԱԿ-ը՝ որպես ալոքսանային ՇԴ-ը կարգավորող և բուժող միջոց, արյան մակարդման արագությունը նորմալացնում է (նկ.1,Ա): Արյան պլազմայի ռեկալցիֆիկացման ժամանակը նախ ալոքսանի, իսկ այնուհետև ԱԿ-ի ազդեցությամբ փոփոխվում է հետևյալ կերպ. արյան պլազմայի ռեկալցիֆիկացման ժամանակը առաջին դեպքում կրճատվում է 30%-ով և, ընդհակառակը, երկրորդ դեպքում երկարում է 35,5%-ով (նկ.1,Բ): Ռեկալցիֆիկացման ժամանակի կրճատումը նշանակում է մակարդեղիության արագացում, երկարումը՝ դանդաղում:

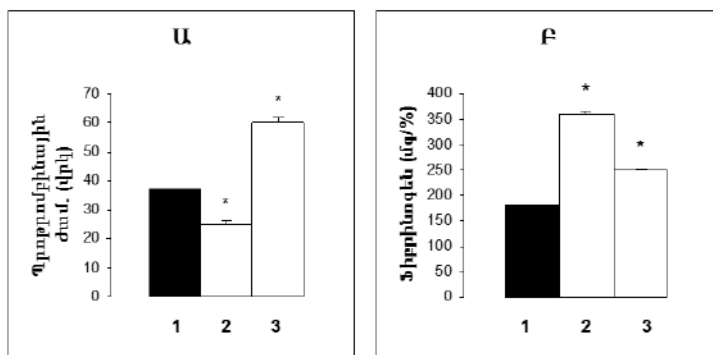


Նկ.1. Հեմոստազում տեղի ունեցող փոփոխությունները, ՇԴ-ով առնետների մոտ, ԱԿ-ի ազդեցության տակ

Ա- ընդհանուր մակարդակություն, Բ- ռեկալցիֆիկացում
 1. ստուգիչ, 2. ՇԴ, 3. ՇԴ + ԱԿ ($p < 0,05$), ($n = 6$)

Պլազմային հեմոստազը բնութագրող հաջորդ պարամետրը – պրոտրոմբինային ժամանակն է, որը արյան մակարդման համակարգի վիճակի կարևոր ցուցանիշներից է: Փորձարարական ալոքսանային դիաբետով առնետների մոտ, ստուգիչ կենդանիների հետ համեմատած, արյան պլազմայի պրոտրոմբինային ժամանակը, ստուգիչի հետ համեմատած, կրճատվում է 21%-ով, իսկ փորձարկվող կոմպլեքսի հնգօրյա ներարկումից հետո երկարում է 42%-ով (նկ.2,Ա):

Հեմոստազի կարևոր ցուցանիշներից է ֆիբրինոգենը, որը սուր ֆազայի սպիտակուց է, նրա մակարդակը արյան պլազմայում բարձրանում է տարբեր ինֆեկցիաների, բորբոքումների, վնասվածքների, ստրեսի ժամանակ: Ֆիբրինոգենի քանակի բարձրացումը հանդիսանում է ՇԴ-ի, սրտամկանի ինֆարկտի, ինսուլտի զարգացումը կանխատեսող ցուցանիշ [9]: Ալոքսանային դիաբետով կենդանիների մոտ արյան պլազմայում ֆիբրինոգենի մակարդակը բարձրանում է 26,3%-ով, իսկ ԱԿ-ի ազդեցությամբ (հնգօրյա ներարկում) այն ոչ միայն նորմալանում է, այլ 15%-ով իջնում է (նկ.2,Բ):



Նկ.2. Հեմոստազում տեղի ունեցող փոփոխությունները, ՇԴ-ով առնետների մոտ և ԱԿ-ի ազդեցության տակ

Ա- պրոտրոմբինային ժամանակ, Բ- ֆիբրինոգենի մակարդ

1. ստուգիչ, 2. ՇԴ, 3. ՇԴ + ԱԿ ($p < 0,05$), ($n = 6$)

Այս հետազոտությունների արդյունքները կրկին ապացուցում են, որ գոյություն ունի կորելացիա ՇԴ հիվանդության և արյան մակարդեղիության բարձրացման միջև ու հիվանդության բուժման և արյան մակարդեղիության նորմալացման միջև:

Անալիզի ենթարկելով ստացված տվյալները կարելի է ենթադրել, որ ԱԿ-ի ներարկումից հետո տեղի են ունենում պլազմային գործոնների քանակական փոփոխություն, հակամակարդիչների մակարդակի բարձրացում և ակտիվացում, ֆիբրինոգենի քանակության անկում: Նկատի ունենալով վերը նշված հանգամանքները՝ կարելի է ամփոփել, որ մեր կողմից առաջին անգամ ուսումնասիրվող ԱԿ-ն, բացի այն, որ հաջողությամբ չեզոքացնում է ալոքսանի հիպերգլիկեմիկ էֆեկտը, ունի լավ արտահայտված հակամակարդիչ ակտիվություն և հեմոստազի համակարգում կարող է կատարել կարգավորիչ դեր:

Օգտագործված գրականության ցանկ

1. Soltani Nopton, Qio Hongmin, Aleksis Mila, Glinka Yelna, Zhao Fang, Liu Rui et al. GABA exerts protective and regeneration effects on islet beta cells and reverses diabetes. Proceedings of the National Academy of sciences, 2011, 108(28), p. 11692 - 11697.

2. Missov R., Stolk R., Van der Bom et al. Diabetes Care, 1996, 19, 1578-1581.

3. Древалъ А. В., Мисникова И. В., Новые перспективы в лечении сахарного диабета // Рус. Мед журнал, Эндокринология, 2006, 14 (13), с. 956 - 958.

- 
4. Левит Ш. Б., Комбинация для регенеративной терапии больных сахарным диабетом 1 типа. JD:39270164, номер патента: RU 2694527, 2019, с.1
5. Хачатрян Р. С., Хачатрян Н. Х., Камалян Р. Г., Антидиабетогенное действие комплекса нейроактивных аминокислот на модели аллоксанового диабета // Биол. Журн. Армении, 2019, 4(71), с. 66 - 69.
6. Lee R., White P. clinical study of the coagulation time of blood. Amer. J. Med., 1973, VC XLY, 4, p. 495 - 503.
7. Riggezi Z. M., J. Thromb. Haemost., 2003, 1(7), p. 1335 - 1342.
8. Луговской Э. В., Молекулярные механизмы образования фибрина и фибринолиза. Киев, 2003.
9. Бокарев И. Н., Доронина А. М., Липинская Б., Фибриноген и его роль в атерогенезе при сахарном диабете // Клиническая медицина, 2007, 85 (7), с.52 - 55.

INFLUENCE OF A NEW AMINO ACID COMPLEX ON HEMOSTASIS IN EXPERIMENTAL RATS WITH DIABETES

PARONYAN ZOYA

*PhD in Biology, Head of the Laboratory,
Senior Researcher at H.Buniatyan Institute of Biochemistry NAS, RA
e-mail: aregarpi4@gmail.com*

ARAKELYAN LYUDMILA

*PhD in Biology, GSU Associate Professor, Senior Researcher at H.Buniatyan
Institute of Biochemistry NAS, RA
e-mail: arakelyanlyudmila@mail.ru*

STEPANYAN HASMIK

*Researcher at H.Buniatyan Institute of Biochemistry NAS, RA
e-mail: stepanyan.hasmik@yahoo.com*

GRIGORYAN LUSINE

*Junior Researcher at H.Buniatyan Institute of Biochemistry NAS, RA
e-mail: lusokgrig@gmail.com*

Modern diabetology has many well-studied drugs actively used to treat diabetes and its complications. However, in 2/3 of the patients there are not seen satisfactory results, so a further search for drugs is required. Many medical preparations are currently registered containing various amino acid combinations. Professor R.G. Qamalyan proposed and successfully tested several amino acid complexes, one of



which was the subject of our research. It consists of GABA, glutamine, β -alanine und ethanolamine – O – sulfate. The effect of this complex on changes in glucose levels and some parameters of hemostasis was studied in rats with experimental alloxan diabetes. According to data obtained in rats with diabetes, five days after every day injection of the amino acid complex, the average glucose level is decreased from 22mmol/L to 5.5mmol/L, which is even lower by 10% than in control animals. There are also notable changes in the hemostasis system. On the fifth day after the injection of the amino acid complex, the following changes occur in the blood plasma of rats with diabetes, in comparison with the control: the recalcification time extended by 35.3%, the prothrombin time - by 20%, the level of fibrinogen not only normalizes but also decreases by 15%.

Based on the results obtained, we can conclude that the amino acid complex we are testing for the first time with such a composition, in addition to neutralizing the hyperglycemic effect of alloxan, possess the own anti-coagulant activity and can be used as a regulator of the blood clotting system.

Keywords: *diabetes mellitus, amino acid complex, hemostasis, ethanolamine-O-sulfate, γ -amino butyric acid, β -alanine, glutamine.*

ВЛИЯНИЕ НОВОГО АМИНОКИСЛОТНОГО КОМПЛЕКСА НА ГЕМОСТАЗ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ДИАБЕТОМ

ПАРОНЯН ЗОЯ

Кандидат биологических наук

Зав. лабораторией, старший научный сотрудник

Института биохимии им. Р.Бунятына НАН РА

электронная почта: aregarpi4@gmail.com

АРАКЕЛЯН ЛЮДМИЛА

Кандидат биологических наук,

доцент, профессор ГГУ

Старший научный сотрудник

Института биохимии им. Р.Бунятына НАН РА

электронная почта: arakelyanlyudmila@mail.ru

СТЕПАНЯН АСМИК

Научный сотрудник

Института биохимии им. Р.Бунятына НАН РА

электронная почта: stepanyan.hasmik@yahoo.com



ГРИГОРЯН ЛУСИНЕ

Младший научный сотрудник

Института биохимии им. Р.Бунятыана НАН РА

электронная почта: lusokgrig@gmail.com

Современная диабетология располагает многими хорошо изученными препаратами, активно используемыми для лечения диабета и его осложнений. Однако у большинства больных удовлетворительных результатов не наблюдается, поэтому требуется дальнейший поиск препаратов. В настоящее время зарегистрировано много медицинских препаратов, содержащих различные комбинации аминокислот. Профессор Р. Камалян предложил и успешно тестировал несколько аминокислотных комплексов, один из которых стал предметом нашего исследования. Он состоит из гамма - аминomásлянной кислоты (ГАМК), глутамина, β -аланина и этаноламин-О-сульфата (ЭОС). Влияние этого комплекса на изменение уровня глюкозы и некоторых показателей гемостаза изучали на крысах с экспериментальным аллоксановым диабетом. По данным, полученным у крыс с сахарным диабетом, через пять дней после ежедневного введения аминокислотного комплекса средний уровень глюкозы снижается с 22 ммоль/л до 5,5 ммоль/л, что даже на 10% ниже, чем у контрольных животных. Отмечаются также заметные изменения в системе гемостаза. На пятые сутки после введения аминокислотного комплекса в плазме крови больных СД по сравнению с контролем происходят следующие изменения: время рекальцификации удлиняется на 35,3%, протромбиновое время - на 20%, уровень фибриногена не только нормализуется, но и снижается на 15%.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что впервые испытываемый нами аминокислотный комплекс с таким составом, помимо нейтрализации гипергликемического действия аллоксана, обладает собственной антикоагулянтной активностью и может быть использован в качестве регулятора системы свертывания крови.

Ключевые слова: сахарный диабет, аминокислотный комплекс, гемостаз, фибриноген, этаноламин – О - сульфат, ГАМК, β -аланин, глутамин.

Հոդվածը ներկայացվել է խմբագրական խորհուրդ 20.04.2022թ.:

Հոդվածը գրախոսվել է 27.04.2022թ.: