

ISSN 0514 - 7484

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF ARMENIA

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԲԺՇԿԱԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆ
МЕДИЦИНСКАЯ НАУКА АРМЕНИИ
MEDICAL SCIENCE OF ARMENIA

ԵՐԵՎԱՆ, ԵՐԵՎԱՆ, YEREVAN

Журнал основан в 1961 году и до 1995 года издавался под названием “Экспериментальная и клиническая медицина”.
Периодичность издания 4 номера в год

Գլխավոր խմբագիր Յու. Թ. Ալեքսանյան
Գլխավոր խմբագրի տեղակալ Գ.Ա. Գևորգյան
Պատասխանատու քարտուղար Գ.Ռ. Ստամբոլցյան

Խմբագրական կոլեգիա՝ Ռ.Ա. Աբրահամյան, Գ.Գ. Ադամյան, Ա.Վ. Ազնաուրյան,
Վ.Պ. Այվազյան, Մ.Բ. Աղաջանով, Լ.Հ. Բարսեղյան, Հ.Մ. Գալստյան, Դ.Հ. Դումանյան,
Ռ. Մ. Խանամիրյան, Վ.Պ. Հակոբյան, Ն. Մ. Հովհաննիսյան, Ռ.Ս. Միրզոյան
(Ռուսաստան), Լ.Ս. Մկրտչյան, Ս.Զ. Նարինյանյան, Հ.Վ. Սարուխանյան,
Ս.Բ. Սերեդենին (Ռուսաստան), Զ.Ա. Տեր-Ավետիքյան, Ռ.Գ. Օգանով (Ռուսաստան),
Ա. Չոբանյան (ԱՄՆ)

Главный редактор Ю.Т. Александян
Заместитель главного редактора Г.А. Геворкян
Ответственный секретарь Г.Р. Стамболцян

Редакционная коллегия: Р.А. Абрамян, М.И. Агаджанов, К.Г. Адамян,
А.В. Азнаурян, В.П. Айвазян, В.П. Акопян, Л.Г. Барсегян, А.М. Галстян, Д.Г. Думанян,
Р.С.Мирзоян (Россия), Л.М. Мкртчян, М.З. Нариманян, Н.М. Оганесян,
Р.Г. Оганов (Россия), О.В. Саруханян, С.Б. Середенин (Россия),
З.А. Тер-Аветикян, Р.М. Ханамирян, А. Чобанян (США)

Editor-in-Chief Yu.T.Aleksanyan
Assistant Editor G.A. Kevorkian
Secretary-in-Chief G.R. Stamboltsian

Editorial Board: R.A. Abrahamian, K.G. Adamyan, M.I. Agajanov, V.P. Ayvazyan,
A.V. Aznauryan, L.G. Barsegyan, A. Chobanyan (USA), D.H. Dumanyan, H.M. Galstyan,
V.P. Hakopian, N.M. Hovanissian, R.M. Khanamirian, R.S. Mirzoyan (Russia),
L.M. Mkrтчian, M.Z. Narimanyan, R.G. Oganov (Russia), H.V. Sarukhanian,
S.B. Seredenin (Russia), Z. A. Ter-Avetikyan

© Издательство “Гитутюн” НАН РА
© Медицинская наука Армении
2014 г.

Экспериментальная и профилактическая медицина

УДК 615.21+577.15+612.814

Способность пролином богатого полипептида-1 предотвращать морфологические сдвиги и нарушения памяти, вызванные локальной ишемией мозга крыс**А.В.Топчян¹, А.А. Галоян², М.Г. Баласанян¹,
Э.Л.Ерицян¹, А.Г. Мхитарян¹, И. Б. Меликсетян³**¹ *Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци*² *Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН РА*³ *Институт физиологии им. Л. А. Орбели НАН РА
0025, Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: ПБП-1, окклюзия левой средней мозговой артерии, нейропротекция

Инсульт является второй по значимости причиной смертности и длительной инвалидизации населения во всем мире, при этом преобладающим считается ишемический тип, из-за которого в США ежегодно регистрируется 160 000 смертей [16,17]. По данным Всемирной организации здравоохранения (2008), каждый год инсульт уносит 5.8 миллионов жизней.

Многие препараты, действие которых направлено на защиту ишемизированной ткани, показали отличные результаты при доклинических испытаниях, ограничивали размер инфаркта, продлевая временное окно для реперфузионной терапии, или сводили к минимуму постишемические реперфузионные повреждения и воспаления, однако полученные результаты оказались неэффективными на стадии клинических испытаний [19]. Очевидно, что изыскание альтернативных путей по восстановлению поврежденных, а также защите неповрежденных нейронов является предметом исследований, а поиск новых соединений для эффективного лечения инсульта в последние годы остается актуальной задачей [15].

Новое семейство пролином богатых полипептидов (ПБП), содержащих 10-15 аминокислот с четырьмя остатками пролина [5,11], вырабатывается NPV и NSO клетками гипоталамуса. Они обладают сильным антибактериальным *in vivo* и противовирусным *in vitro* свойствами [6]. ПБП в связи с их нейропротекторными [7] и иммуностропными свойствами [8,9] также способны предотвращать нейродегенеративные, иммунодефи-

цитные расстройства [9] и обладают способностью влиять на опухолевые клетки [10].

Как было показано в ряде исследований, один из этих богатых пролином пептидов – ПБП-1, содержащий 15 аминокислотных остатков (AGAPERAERAPGVY), обладает широким спектром действия. Была показана также и эффективность ПБП-1 в коррекции цереброваскулярных расстройств [2]. Все вышеописанное послужило основой для исследования способности ПБП-1 предотвращать структурные повреждения тканей головного мозга при локальной ишемии, вызванной окклюзией левой средней мозговой артерии (ОЛСМА).

Материал и методы

В опытах использовались белые беспородные крысы–самцы массой 180-240 г. Все эксперименты осуществлялись согласно нормативам, установленным в статье *The PHS Guide for the Care and Use of laboratory Animals* (1996 г).

Животные содержались в условиях лабораторного вивария (в стандартных клетках не более 6 крыс) при контролируемой температуре (25±2°C) и влажности (40-70%). Световой цикл в комнатах был стандартным – 12 ч освещения и 12 ч темноты. Вода для питья и пища для крыс (Teklad rat chow) были доступны *ad libitum*. Животные акклиматизировались в течение 1 недели до эксперимента.

Окклюзия левой средней мозговой артерии. Исследования проводились на крысах под общей анестезией хлоралгидратом (400мг/кг, внутривенно). Для этого животных помещали в специально сконструированную установку, которая позволяла удобно и жестко фиксировать голову в боковом положении, левой стороной кверху. Операцию проводили с помощью нейрохирургической бинокулярной лупы с оптоволоконным осветителем (ЛБВО) фирмы “ЛОМО” (Санкт-Петербург). После удаления шерстного покрова и обработки операционного поля производили разрез кожи по ходу скуловой кости (около 1.5см). Затем расширяли раневую поверхность ранорасширителем и обнажали слюнную железу, расположенную в задненижнем квадрате операционного поля.

С помощью микрохирургических инструментов слюнную железу вместе с сосудистым сплетением аккуратно отделяли от окружающих тканей и перемещали в задневерхний квадрат с ее последующей иммобилизацией. После удаления скуловой кости раскрывались края крепления височной мышцы к нижней челюсти и с помощью бормашины производился щадящий разрез кости по краю крепления к ней сухожилия указанной мышцы. Далее, поднимая с помощью крючков нижний край височной мышцы кверху, обнажали височную ямку, дно которой образует крыловидная мышца с проходящим рядом нижнечелюстным нервом. С по-

мощью специально сконструированного ранорасширителя раздвигали крыловидную мышцу, вследствие чего открывалась поверхность черепа между овальным отверстием и отверстием зрительного нерва. В этой области, а именно, под нижним краем височно-челюстного сустава, сверлили отверстие диаметром около двух миллиметров и обнажали место расположения средней мозговой артерии.

Дальнейшую операцию по перевязке указанной артерии проводили под микроскопом (ОГМЭ-ПЗ) с большим фокусным расстоянием ($f=190\text{мм}$) под большим увеличением (14,0x3,3). Под левую среднюю мозговую артерию подводили иглу с этиконовой нитью толщиной 10/0 (Ethicon Ltd.), прокалывая иглой твердую мозговую оболочку. Следует отметить, что, в отличие от метода А. Tamura et al. [21], использовали модифицированный метод по А.В. Топчяну [23]: твердую мозговую оболочку не удаляли, а вместе с ней перевязывали среднюю мозговую артерию, кроме того, по методу А. Tamura et al. [21], перевязывали среднюю мозговую артерию дистальнее первой ветви, отходящей от средней мозговой артерии. Для того чтобы увеличить зону ишемического поражения мозга, в наших опытах перевязку средней мозговой артерии проводили у ее основания. После перевязки ток крови по средней мозговой артерии прекращался, что можно было наблюдать в поле зрения под микроскопом.

После завершения операции височные мышцы и кожу пришивали. Животные, перенесшие ОЛСМА, были разделены на 4 группы: животным I группы вводили ПБП-1 в течение 6 дней (два раза в день в дозе 20мкг/кг, в/б), крысам II группы вводили изотонический раствор в течение 6 дней (два раза в день, в/б), животным III группы вводили ПБП-1 в течение 12 дней (два раза в день в дозе 20мкг/кг, в/б), животным IV группы вводили изотонический раствор в течение 12 дней (два раза в день, в/б).

Гистологическое исследование. После обезглавливания животных мозг фиксировали в 200 мл 10% нейтрального буферного формалина и держали в этом фиксаторе минимум 3 дня до их обработки. Полушария были вырезаны и обработаны парафином. Срезы толщиной 6-7 мкм окрашивали по Нисслию [18] и изучали под световым микроскопом. Морфологическое исследование было проведено также по методу Ниссля.

Тест условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ). Оценку когнитивных функций у животных проводили перед ОЛСМА путем выработки УРПИ [3,14]. Экспериментальная камера для выработки УРПИ состояла из 2 отделений – большего, освещенного, размером 400x400x300 мм, и меньшего, затемненного, размером 100x100x200 мм, с электропроводным полом. Крысу помещали на освещенную платформу перед входом в темную камеру установки, хвостом к входному отверстию. Для оценки рефлекса регистрировали латентное время (ЛВ) первого захода в темную камеру. Найдя отверстие в перегородке, крыса переходила из освещенного отделения в затемненное. В течение 300 сек регистрировалось время

первого захода в темный отсек. В момент, когда крыса находилась в затемненном отделении, закрывалась шторка и ей через вмонтированные в пол электроды наносили электроболовое раздражение напряжением до 40В и силой тока до 1А в течение 10 сек. Потом её удаляли из камеры и возвращали в клетку. Животное запоминало, что в темную камеру заходить опасно. Через 24 часа проверяли воспроизведение рефлекса у каждого животного. Выработанным рефлекс считался в том случае, если в течение всех 300 сек наблюдения животное не совершало перехода из светлого отсека в темный.

На следующий день, после формирования устойчивого рефлекса, крыс снова помещали на платформу и измеряли латентный период (ЛП), время нахождения в светлом и темном отсеках в течение 300 сек. При наличии положительного результата (если животное не входило в темный отсек в течение 300 сек) на следующий день крыса подвергалась ОЛСМА, а животные, не проявившие положительный результат, были изъяты из эксперимента. После операции животные были разделены на две группы: крысы, подвергнутые ОЛСМА и получающие 0.9% раствор NaCl (контрольная группа), и оперированные животные, которым два раза в день в дозе 20мкг/кг вводили ПБП-1 (опытная группа). Тест на воспроизведение УРПИ (на сохранение памятного следа) осуществляли также на 3, 6 и 12-е сутки после операции. Животное вновь помещали на освещенную платформу и регистрировали ЛВ первого захода и ЛП.

Статистический анализ. Все данные выражены с использованием стандартных отклонений ($M \pm m$). Статистический анализ проведен с использованием Microsoft Excel 2007. Множественные сравнения выражены с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считались существенными при $p < 0,01$.

Результаты и обсуждение

Результаты морфологического исследования коры мозга крыс выявили поражения нервной ткани, затрагивающие, прежде всего, нервные клетки, их отростки, а также окружающие глиальные элементы. Результаты наших данных показывают, что через 6 дней после ОЛСМА в коре головного мозга не отмечается четкого цитоархитектонического разграничения слоев. Наблюдается уменьшение плотности расположения нейронов, у большинства из них отростки не реагируют, нейроны выглядят округлыми (рис. 1 А,а,С,Д). Поражение нейронов идет по типу центрального хроматолиза. В цитоплазме большинства набухших нейронов происходит постепенное исчезновение тигроида. В итоге создается картина клеточной тени или полного исчезновения, что приводит к диффузному или ограниченному разрежению клеточных слоев, пространства которых остаются незаполненными вследствие отсутствия реакции ядер глиальных

клеток. Ядра клеток, находящихся в стадии набухания, также оказываются вздутыми, окружены темным кольцом зерен осадка, более интенсивно накопившегося в области отхождения апикального дендрита. Нельзя сказать, что хроматолиз является доминирующим состоянием. Часто обнаруживается контраст между интенсивностью хроматолиза и структуральным состоянием сохранившихся нейронов, что, вероятно, свидетельствует о резистентности нервной клетки. У большинства крупных пирамидных клеток светлые ядра имеют центральное расположение, четко прослеживаются верхушечные дендриты. Сходная картина характерна и при 12-дневной ОЛСМА. При этом также наблюдается процесс “исчезновения клеток”, однако здесь количество и объем “выпадения нейронов” несколько больше, в сравнении с 6-дневным сроком (рис. 1 В,Е). Морфологическая картина напоминает острое набухание нервных клеток, которое относится к довольно распространенному виду клеточной патологии. Морфологическая картина является выражением ответной реакции на различные патологические воздействия экзо- и эндогенного происхождения и при- нципиально неспецифическим нейрональным поражениям.

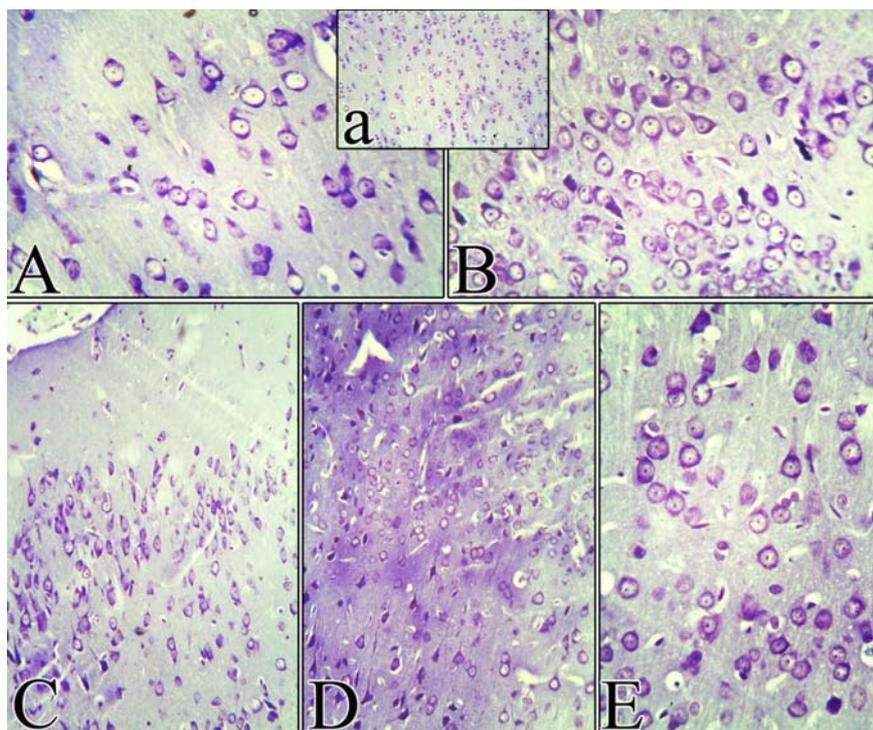


Рис.1. Нейроны коры головного мозга крыс, подвергнутых ОЛСМА и получавших 0.9% раствор NaCl (контрольная группа), на 6-й (А, а, С, D) и 12-й (В, Е) дни. Центральный хроматолиз с выраженной вакуолизацией ядра и с одним центрально расположенным ядрышком. Interaural 6,7 мм. Bregma 2,3 мм. Зона S₁. Увеличение: ок. 10, об. 20 (А, а, С, D); 40 (А, В, Е)

У крыс, получивших ПБП-1 после 6-дневной ОЛСМА, “выпадение нейронов” в клеточной реакции коры больших полушарий мозга не наблюдается (рис. 2 А); увеличена плотность расположения нейронов.

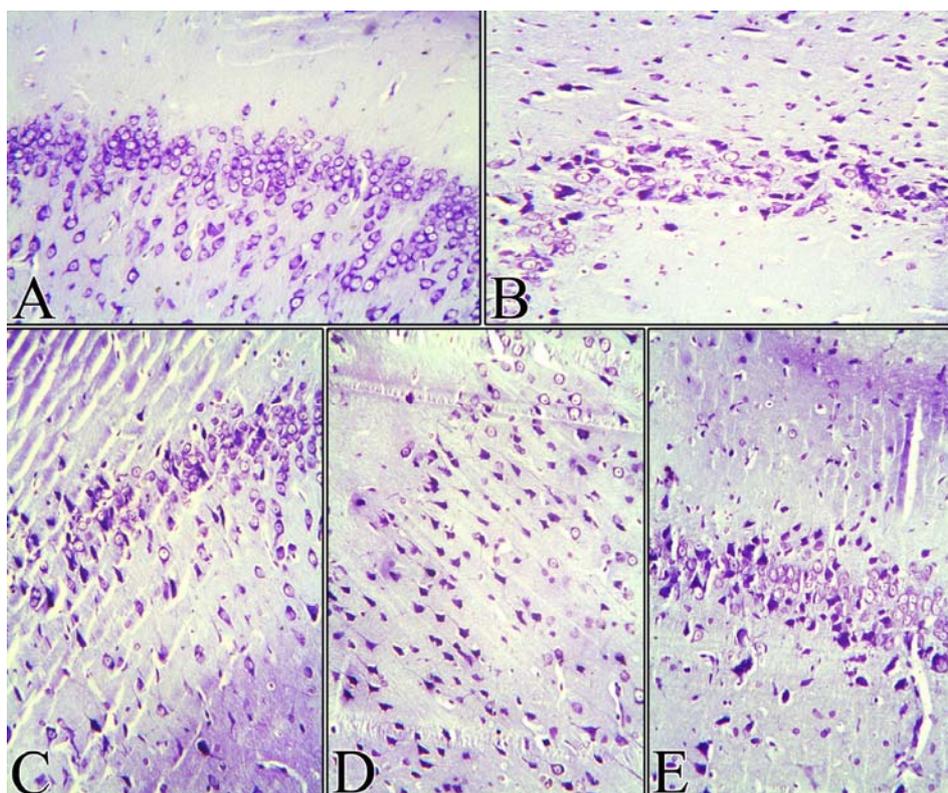


Рис. 2. Нейроны коры головного мозга крыс, подвергнутых ОЛСМА и получавших ПБП-1 два раза в день в дозе 20мкг/кг, на 6-й день. Описывается заметное восстановление внутрицитоплазматического пигмента. Выявляются нейроны с темной цитоплазмой и хорошо различимым аксоном. Interaural 6,7 мм. Bregma 2,3 мм. Зона S₁. Увеличение: ок. 10, об. 20 (А – Е)

После введения ПБП-1 в коре мозга у всех пирамидных нейронов начинают реагировать утолщенные апикальные дендриты (рис. 2 D,E). На срезах наблюдается разница в интенсивности окрашивания клеток, а именно, встречаются как темноокрашенные клетки, так и нейроны с явлением хроматолиза (рис. 2 А,В,С).

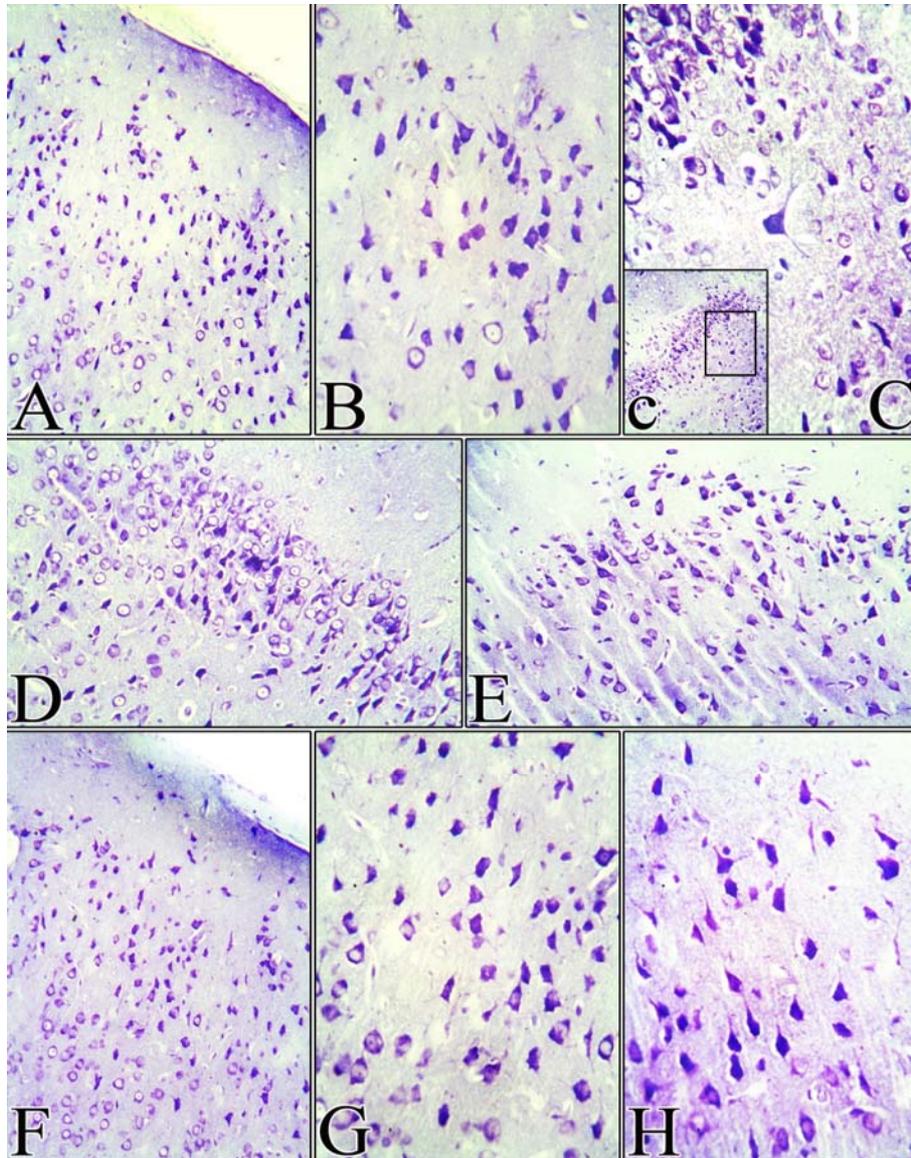


Рис.3. Нейроны коры головного мозга крыс, подвергнутых ОЛСМА и получавших ПБП-1 два раза в день в дозе 20мкг/кг, на 12-й день. Выраженное, местами полное восстановление интрацитоплазматического пигмента нейронов.

Interaural 6,7 мм. Bregma 2,3 мм. Зона S₁.

Увеличение: ок. 10, об. 20 (А, с, D- F); 40 (B, C, G, H)

(С – фрагмент с в прямоугольнике)

Через 12 дней после введения ПБП-1 наблюдается аналогичная картина, морфологически отмечается выраженное понижение хроматолиза. Восстанавливаются размеры и форма большинства пирамидных клеток

(рис. 3А,В,С,Д,Е,Ф,Г,Н), также наблюдается выраженное, местами полное восстановление интрацитоплазматического пигмента нейронов. В дальнейшем, с развитием восстановительных процессов, размеры нейронов снижаются, ядро переходит в центр клетки и цитоплазма заполняется гранулами тигроида. Выявляются не только верхушечные дендриты, но и боковые ветвления. Клетки выглядят несколько темными, что характерно для нейронов, находящихся на стадии восстановления.

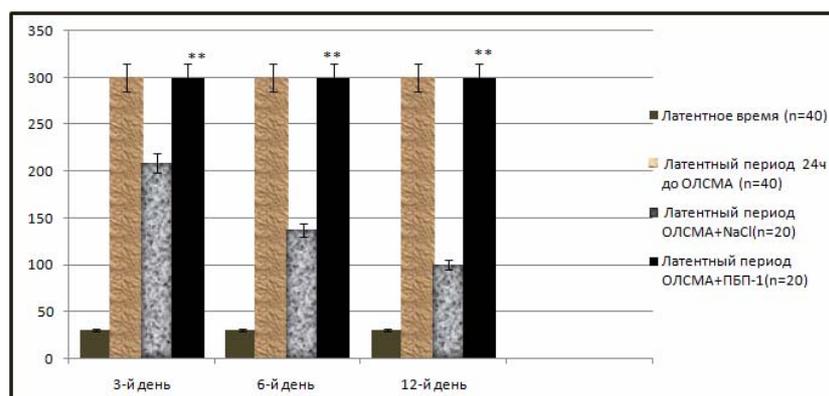


Рис. 4. Влияние ПБП-1 на латентный период в тесте УРПИ на 3, 6, и 12-й дни после ОЛСМА. Латентный период в тесте пассивного избегания в различные интервалы времени у крыс, подвергшихся ОЛСМА. Достоверное различие: *р по сравнению с ОЛСМА + 0.9% NaCl, **р \square 0,01

При исследовании влияния ПБП-1 на процессы обучения и памяти была выявлена способность исследуемого пептида предотвращать вызванные ишемией нарушения отмеченных показателей. Так, в тесте УРПИ (рис. 4) до электрической стимуляции ЛВ равнялось ($29,6 \pm 0,7$) сек. После получения электрической стимуляции было зарегистрировано значение ЛП равное $299,6 \pm 0,7$ ($F_{(1;77)}=2704412$, $P<0,01$) сек, свидетельствующее о формировании рефлекса. После ОЛСМА на 3, 6 и 12-й дни у опытной группы крыс, получавших 0.9% NaCl, ЛП был снижен до $208,3 \pm 48,3$ ($F_{(1;59)}=145$, $P<0,01$), $137,2 \pm 40,9$ ($F_{(1;59)}=642$, $P<0,01$) и $100,5 \pm 23,6$ ($F_{(1;59)}=2903$, $P<0,01$) сек соответственно. При воспроизведении УРПИ на фоне введения ПБП-1 было установлено, что препарат полностью предотвращает нарушение памяти и обучения во все исследуемые сроки ишемии.

Результаты исследований по применению ПБП-1 при локальной ишемии у крыс показали, что он способствует выживанию клеток и нейропротекции. Как известно, некоторые области мозга, включая гиппокамп, являются более уязвимыми к ишемии, чем другие. При этом, как правило, интернейроны гиппокампа более устойчивы к эксайтотоксичности инсульта, чем пирамидальные клетки [19]. В этом плане особого внимания заслуживает способность ПБП-1 заметно регенерировать сами пирами-

дальние клетки, что проявлялось переходом ядра в центр клетки, наполнением цитоплазмы гранулами, одновременно наблюдались боковые ветвления дендритов.

Нейропротективная способность ПБП-1 в исследованной нами экспериментальной модели ишемического инсульта может быть обоснована рядом ранее полученных данных.

Так, была показана антирадикальная активность и антиоксидантная способность ПБП-1 [22]. Между тем хорошо известно, что накопление свободных радикалов кислорода является одним из важных патогенетических механизмов ишемического некроза [2].

Кроме того, ПБП-1 является одним из нейротрофических факторов мозга, обладает иммуномодулирующим действием [8,9]. А при инсульте в условиях церебральной реперфузионной ишемии стимулируется воспалительный каскад, характеризующийся активацией, миграцией и аккумуляцией иммунных клеток и оказывающий значительное влияние на вторичное повреждение мозга, приводя к цитотоксической гибели нейронов [20].

Немаловажным является и то, что ПБП-1 является уникальным регулятором активности каспаз, которые играют важную роль в молекулярных механизмах выживаемости нейронов [4].

Наконец, было показано, что ПБП-1 способен защитить нейроны мозга при алюминиевом нейротоксикозе [12], а также была показана его нейропротекторная роль на модели болезни Альцгеймера, вызываемой A β 25-35 [13].

Изучение влияния ПБП-1 на обучение и память после ОЛСМА было продиктовано тем, что одним из важных последствий инсульта является нарушение когнитивных способностей. Существует доказательство того, что когнитивные нарушения более продолжительны, чем общий сенсомоторный дефицит [3,14], который проявляется в хронических поведенческих тестах. Принимая во внимание, что одним из наиболее удобных и широко используемых методов при изучении влияния различных веществ на когнитивные процессы в эксперименте на грызунах является воспроизведение памятного следа после выработки УРПИ, способность ПБП-1 сохранять когнитивные функции и память была оценена с применением указанного теста. Результаты проведенных исследований показали, что вызванный локальной ишемией долговременный дефицит памяти и обучения может быть устранен при систематическом введении ПБП-1.

Таким образом, описанные ранее нейропротективные свойства ПБП-1 при нейродегенеративных патологиях головного и спинного мозга [7] и его способность улучшать кровоснабжение ишемизированного мозга [1] вместе с представленными нами данными о положительных изменениях структуры нейронов, ведущих к выживанию клетки, и способность исследуемого нейропептида сохранять когнитивные функции при локально

ишемических поражениях мозга открывают новые перспективы для дальнейшего исследования ПБП-1 в качестве потенциального нейропротекторного средства при ишемическом инсульте.

Поступила 089.05.14

Ուղեղի լոկալ իշեմիայով պայմանավորված մորֆոլոգիական տեղաշարժերի և հիշողության խանգարման կանխումը հիպոթալամիկ պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդ-1-ով

Հ.Վ. Թոփչյան, Ա.Ա. Գալոյան, Մ.Գ. Բալասանյան, Է.Լ. Երիցյան, Ա.Գ. Մխիթարյան, Ի.Բ. Մելիքսեթյան

Ուսումնասիրված է խոշոր եղջրավոր անասունների նեյրոհիպոֆիզի նեյրոսեկրետոր կորիզներից անջատված հիպոթալամիկ պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդ-1-ի (ՊՀՊ-1) նեյրոպրոտեկտիվ ազդեցությունը առնետների միջին ուղեղային զարկերակի կապումով (ՄՈւԶԿ) պայմանավորված ուղեղի լոկալ իշեմիկ խանգարումների ժամանակ:

Ուղեղի կտրվածքների մորֆոլոգիական հետազոտության արդյունքները ցույց են տվել, որ ՊՀՊ-1-ի 20 մկգ/կգ դեղաչափով 6- և հատկապես 12-օրյա ն/ո ներարկումները կանխում են ուղեղի տարբեր կառուցվածքներում իշեմիայի հետևանքով զարգացող մորֆոլոգիական փոփոխությունները՝ նպաստելով նեյրոնների պահպանմանը: Միաժամանակ, նշված ժամանակահատվածի ընթացքում ՊՀՊ-1-ի ներարկումը նպաստում է կենդանիների հիշողության պահպանմանը *պասիվ խուսափման պայմանական ռեֆլեքս* թեստում:

Prevention of morphological changes and memory impairment induced by local cerebral ischemia in rats by proline-rich polypeptide-1

H.V. Topchyan, A.A. Galoyan, M.G. Balasanyan, E.L. Yeritsyan, A.G. Mkhitaryan, I.B. Meliksetyan

The neuroprotective effect of hypothalamic proline-rich polipeptide-1 (PRP-1) obtained from neurosecretory granules of bovine neurohypophysis was investigated under condition of local ischemic disturbances induced by middle cerebral artery occlusion (MCAO) in rats. Rats' brain stained sections' morphological imaging has indicated that *i/p* administration of PRP-1 in the

dose of 20 µg/kg after 6 and especially 12 days of MCAO prevents morphological changes of different brain structures leading to neuronal surviving. Simultaneously, administration of PRP-1 in the mentioned ischemic period leads to significant prevention of rat's memory loss in *passive avoidance test*.

Литература

1. *Balasanian M.G., Yeritsyan E.L., Topchyan A.V., Karamyan S.T., Galoyan A.A.* The cerebrovascular effects of PRP-1. *Neurochemical Journal*, 2012, 6, 3, p. 173-178.
2. *Bigdeli M.R.* Neuroprotection caused by hyperoxia preconditioning in animal stroke models. *The Scientific World Journal*, 2011, 11, p. 403-421.
3. *Cumin R., Bandle E.F., Gamzu E., Haefely W.E.* Effects of the novel compound aniracetam (Ro 13-5057) upon impaired learning and memory in rodents. *Psychopharmacology*, 1982, 78, p. 104-111.
4. *Fudong Liu., Zhong Li., Jun Li., Chad Siegel., Rongwen Yuan., Louise D., L.D. McCullough* Sex differences in caspase activation after stroke. *Stroke*, 2009, 40, 5, p. 1842-1848.
5. *Galoyan A.A.* Biochemistry of novel cardioactive hormones and immunomodulators of the functional system neurosecretory hypothalamus-Endocrine Heart. Nauka Publishers, Moscow, 1997.
6. *Galoyan A.A., Grigoryan S.L., Badalyan K.V.* Treatment and prophylaxis of anthrax by new neurosecretory cytokines. *Neurochem. Res.*, 2006, 31, 6, p. 795-803.
7. *Galoyan A.A., Sarkissian J.S., Chavushyan V.A., Sulkhanyan R.M., et al.* Neuroprotective action of hypothalamic peptide PRP-1 at various time survivals following spinal cord hemisection. *Neurochem. Res.*, 2005, 30, 4, p. 507-525.
8. *Galoyan A.A.* Neurochemistry of brain neuroendocrine immune system: signal molecules. *Neurochem. Res.*, 2000, 25, 9-10, p. 1343-1355.
9. *Galoyan A.A., Aprikyan V.S.* A new hypothalamic polypeptide is a regulator of myelopoiesis. *Neurochem. Res.*, 2002, 27, 4, p. 305-312.
10. *Galoyan A.A., Shakhlov V.A., Malaytsev V.V.* Changes in tumor cells L929 under PRP effect in vitro. *Med. Sci. Armenia*, 2001, 41, 1, p. 25-29.
11. *Galoyan A.A.* Brain neurosecretory cytokines: immune response and neuronal survival. Kluwer Academic/Plenum Publishers, NY, 2004.
12. *Galoyan A.A., Shakhlov V.A., Aghajanyan M.I., Vahradian H.G.* Hypothalamic Proline Rich Polypeptide Protects Brain Neurons in Aluminum Neurotoxicosis. *Neurochem Res.*, 2004, 29, 7, p. 1349-1357.
13. *Galoyan A.A., Sarkissian J.S., Chavushyan V.A., Meliksetyan I.B. et al.* Protective effects of novel hypothalamic neuropeptide proline-rich peptide-1 on the hippocampus in a rat model of Alzheimer's disease induced by β -amyloid A β 25-35. *Alzheimer & Dementia*, 2008, 4, p. 332-344.
14. *Iasnetsov V.V., Voronina T.A.* *Eksp. Klin. Farmakol.*, 2009, 72, 1, p. 68-70.
15. *Kidwell C.S., Liebeskind D.S., Starkman S., Saver J.L.* Trends in acute ischemic stroke trials through the 20th century. *Stroke*, 2001, 32, 6, p. 1349-1359.
16. *Lloyd-Jones D., Adams R.J., Brown T.M. et al.* Heart disease and stroke statistics-2010: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 2010, 121, p. e46-e215.
17. *Martinez-Vila E., Sierra P.I.* *Cerebrovasc. Dis.*, 2011, Suppl. 1, p. 60-70.
18. *Merkulov G.A.* Курс патогистологической техники. Л., "Медицина", 1969.
19. *Nikonenko A.G., Radenovic I.L., Andjus P.R., Skibo I G.G.* Structural Features of Ischemic Damage in the Hippocampus. *J. of the Anatomical Records*, 2009, 292, 12, p. 1914-1921.

20. *Stoll G., Kleinschnitz C., Nieswandt B.* Combating innate inflammation: a new paradigm for acute treatment of stroke? *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2010, 1207, p. 149–154.
21. *Tamura A., Graham D.I., McCulloch J., Teasdale M.G.* Focal Cerebral Ischemia in Rat: 1. Description of Technique and Early Neuropathological Consequences Following Middle Cerebral Artery Occlusion. *J. Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 1981, 1, 1, p. 53-60.
22. *Tavadyan L.A., Galoian K.A., Harutunyan L.A., Tonikyan H.G., Galoyan A.A.* Antioxidant and electron donating function of hypothalamic polypeptides: galarmin and Gx-NH₂. *Neurochem. Res.*, 2010, 35, 6, p. 947-952.
23. *Topchian A.V., Mirzoian R.S., Balasarian M.G.* Local cerebral ischemia in rats induced by ligation of the middle cerebral artery. *Eksp. Klin. Farmakol.*, 1996, 59, 5, p. 62-64.

УДК 577.171.55

Влияние гипоталамических нейромодуляторов и их модифицированных форм на гемостаз

**Р.М. Срапионян, З.Х. Паронян, Ф.М. Саакян, Г.С. Чаилян,
Л.С. Григорян**

*Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН РА
0014, Ереван, ул. П. Севака, 5/1*

Ключевые слова: гемокоагуляция, пролином богатый пептид, гемостаз

В последние годы усилился интерес к изучению регуляторных пептидов, обладающих полифункциональными свойствами, влияющих на различные процессы гемостаза – нервную, эндокринную, гемостатическую и другие системы организма. Исследование влияния биоактивных пептидов на систему гемостаза показало их защитное противосвертывающее действие (как опосредованное, так и прямое) на процессы тромбино- и фибринообразования, фибринолитическую активность крови и агрегацию тромбоцитов [1,10]. Отмечено, что антикоагулянтная активность пептидов зависит от наличия в них таких аминокислот, как пролин, аргинин, лизин; причем присутствие последовательности первых двух аминокислот служит одним из факторов, определяющих эту активность [3, 7].

К группе пролинсодержащих пептидов относятся открытые А.А. Галояном нейромодуляторы ПБП-1 (галармин), состоящий из 15 аминокислотных остатков и его аналог, десятичленник, где последний пролин амидирован. Эти пептиды синтезируются в форме общего белка-предшественника, нейрофизин-вазопрессин ассоциированного гликопротеина, и генетически детерминированно разделяются протеолизом во время аксонального транспорта [5].

Интерес к этим соединениям вызван тем, что пептиды этого класса обладают широким спектром биологической активности, включая иммуномодулирующие, антиоксидантные, противоопухолевые, нейропротекторные и антибактериальные свойства, являются регуляторами гуморального и клеточного иммунитета, миелопоэза, дифференциации тимоцитов.

Ранее нами было исследовано влияние ПБП-1 на систему гемостаза [9,11] и выявлено его дозозависимое ускорение гемокоагуляции с параллельной активацией системы противодействия свертыванию крови.

Задачей представленного исследования явились проведение анализа и сравнение влияния ПБП-1 и Gx-NH₂ на отдельные показатели системы

гемостаза и оценка зависимости этих эффектов от структурных изменений в молекуле предшествующего природного гормона.

Материал и методы

Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г, которые были распределены на две группы: особи группы 1 получали внутривенные инъекции 0,85% раствора NaCl и служили контролем, животные группы 2 получали Gx-NH₂, введенного в яремную вену в концентрации от 1 до 10мкг/100г массы тела. Кровь для исследования брали из той же вены с антикоагулянтом 3,8% цитратом натрия в соотношении 9:1 через 30 и 60 мин после введения препарата. В плазме крови определяли следующие показатели состояния систем гемостаза: состояние свертывающей системы оценивали по времени свертывания крови и рекальцификации [6], показатели времени тромбообразования, определение активности факторов протромбинового комплекса [8]. В качестве характерных показателей состояния противосвертывающей системы (ПСС) оценивали изменение толерантности плазмы к гепарину, тромбинового времени, концентрации фибриногена [2].

В опытах использовали тромбин фирмы Sigma T6884-100UN 039K 7565, тромбопластин фирмы Delta-THR-stb . Синтетический препарат Gx-NH₂ получен в лаборатории природных соединений химического факультета Санкт-Петербургского Государственного университета. Для определения статистической достоверности различий между контрольными и опытными выборками использован непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Уровень значимости $p < 0,01$ считали достоверным по сравнению с контролем.

Результаты и обсуждение

Жидкое состояние крови обеспечивается динамическим взаимодействием прокоагулянтных, антикоагулянтных и фибринолитических реакций. Результатом этих взаимодействий является ничто иное, как свертываемость цельной крови – показатель, позволяющий оценить состояние крови в целом.

Состояние свертывающей системы оценивали по уровню фибриногена, времени рекальцификации и показателям τ (времени тромбопластино- и тромбообразования).

Показатели состояния свертывающей системы, определяемые через 30 мин после введения препарата Gx-NH₂, свидетельствовали о выраженном ускорении свертывания крови, зависящем от концентрации введенной дозы. Низкие дозы (1мкг/100г массы животного) выявляют

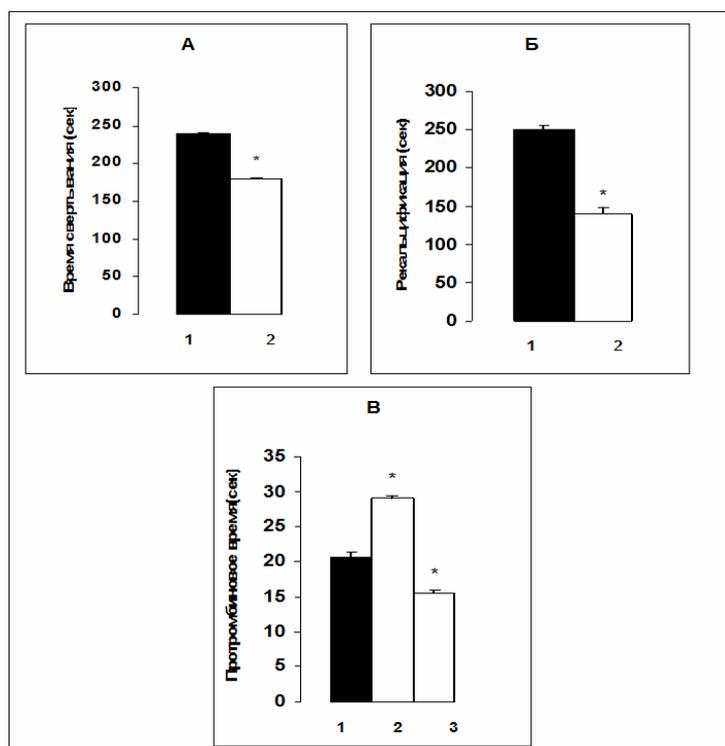


Рис.1. Изменение показателей гемокоагуляции до и после введения Gx-NH₂. Контроль – черный столбик. А – время свертывания, сек, Gx-NH₂ в дозе 1 мкг; Б – время рекальцификации, сек, Gx-NH₂ в дозе 1 мкг; В – протромбиновое время, сек, Gx-NH₂ в дозе 1 мкг (2), 2,5 мкг (3).

* Достоверные различия между контролем и опытом (p<0.01). Дозы приведены в расчете на 100 г массы тела животного

прокоагулянтный эффект и уменьшают спонтанную коагуляцию на 25% (рис.1, А). Кривая доза-эффект возрастает постепенно до определенного предела. Так, нарастание дозы до 5мкг время свертывания укорачивает до 60 сек после чего ускорение свертывания не наблюдается, что, очевидно, объясняется развитием запредельного торможения и соответствует понятию о существовании в организме предела ускорения. Следует отметить наличие параллелизма между временем свертывания крови и изменением времени рекальцификации, которое через 30 мин после введения аналогичной дозы Gx-NH₂ (1мкг/100г) укорачивалось на 44,5% (рис.1,Б).

В отличие, протромбиновое время под действием Gx-NH₂ изменяется разнонаправлено в зависимости от введенной дозы; так концентрация 1мкг/100г массы животного увеличивает протромбиновое время на 47%, увеличение дозы до 2,5 мкг уменьшает этот показатель до 25% (рис.1, В).

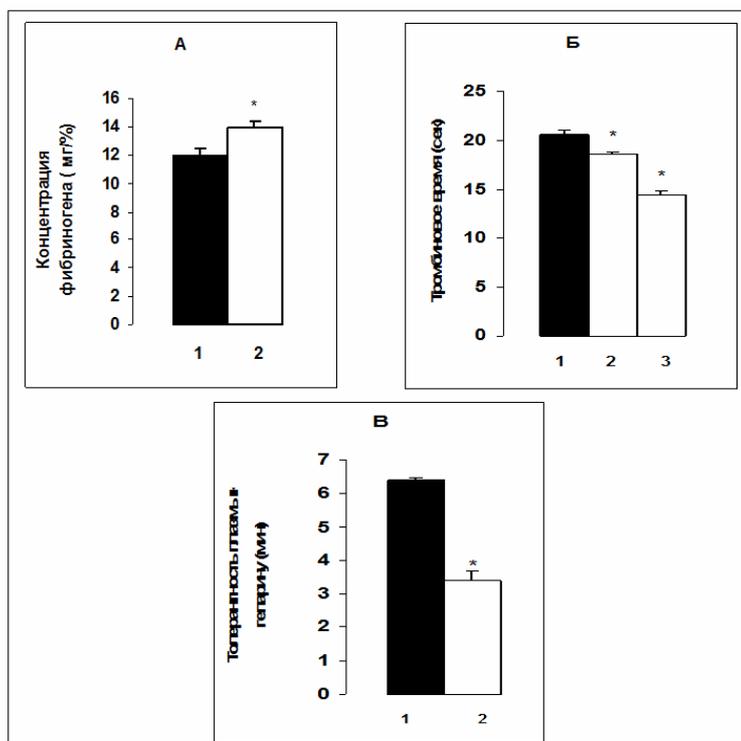


Рис.2. Влияние Gx-NH₂ на антикоагулянтную активность intactных крыс. Контроль – черный столбик. А – концентрация фибриногена, мг%, Gx-NH₂ в дозе 1 мкг; Б – тромбиновое время, сек, Gx-NH₂ в дозе 1 мкг (2), 2,5 мкг (3); В – толерантность плазмы к гепарину, мин, Gx-NH₂ в дозе 1 мкг.
* Достоверные различия между контролем и опытом (p < 0.01). Дозы приведены в расчете на 100 г массы тела животного

В целом, полученные данные свидетельствовали о дозозависимых гиперкоагуляционных сдвигах вышеописанных показателей свертывания крови и послужили основанием для проведения специальной серии экспериментов на предмет изучения влияния Gx-NH₂ на функциональное состояние противосвертывающей системы.

Как показали результаты исследования, введение Gx-NH₂ intactным крысам сопровождается угнетением функционального состояния ПСС, что выражается сдвигами показателей как антикоагуляционного, так и фибринолитического звена гемостаза. Так, понижение толерантности плазмы к гепарину при введении 1мкг Gx-NH₂ в интервале 30-60 мин составляет 44% (рис.2,В), несколько меньше, до 29%, тромбиновое время (рис.2,Б). В противоположность этому отмечается некоторое увеличение концентрации фибриногена на 12% (рис.2,А). Кратковременное увеличе-

ние этого показателя рассматривается как защитная реакция организма, что согласуется с литературными данными [4]. В свою очередь, сокращение тромбинового времени указывает на некоторое увеличение содержания тромбина и свидетельствует о способности Gx-NH₂ снижать активность ингибитора тромбина, что также ведет к ускорению гемокоагуляции.

Таким образом, Gx-NH₂ дозозависимо ускоряет гемокоагуляцию, но при этом параллельно имеет место активация системы противодействия свертыванию крови. Учитывая тесную связь между нарушением кровотока и состоянием активности структур мозга, предположения о специфической направленности воздействия Gx-NH₂ на сосудистую систему и его участия в предотвращении развития деструктивных процессов в крови и тканях можно считать оправданными.

Поступила 10.04.14

Հիպոթալամուսի նեյրոմոդուլյատորների և նրանց մոդիֆիկացված ձևերի ազդեցությունը հեմոստազի վրա

Ռ.Մ. Սրապիոնյան, Ջ.Խ. Պարոնյան, Ֆ.Ս. Սահակյան, Գ.Ս. Չախյան, Լ.Ս.Գրիգորյան

Ուսումնասիրվել է հիպոթալամուսի պրոլինով հարուստ պեպտիդի (Gx-NH₂) ազդեցությունը արյան մակարդման որոշ ցուցանիշների վրա: Սուր փորձերում վերջինիս ազդեցությունը արտահայտվում է արյան մակարդման ժամանակի կրճատմամբ 30-60 րոպենների ընթացքում 25%-ով: Նույն ժամանակահատվածում Gx-NH₂-ը նվազեցնում է ռեկալցիֆիկացման ժամանակը 44,5%-ով և պրոթրոմբինային ժամանակը 47%-ով: Gx-NH₂-ի ազդեցությամբ արյան պլազմայի տոլերանտությունը հեպարինի նկատմամբ ընթանում է մեկ ուղղությամբ և ի հայտ է գալիս արտահայտված հակահեպարինային ակտիվություն. 25%-ով կրճատվում է արյան մակարդելիության ժամանակը: Թրոմբինային ժամանակը նվազում է 29%-ով, ֆիբրինոգենի կոնցենտրացիան, ընդհակառակը, ավելանում է 12%-ով:

Ստացված տվյալները վկայում են, որ Gx-NH₂-ի ազդեցությամբ տեղի են ունենում հեմոստազի մակարդիչ օղակների ցուցանիշների փոփոխություններ:

The effect of hypothalamic neuromodulators on the regulation of the hemostasis system

R.M. Srapionyan, Z.Kh. Paronyan, F.M. Sahakyan, G.S. Chailyan,
L.S. Grigoryan

We studied the influence of hypothalamic proline-rich peptide on some factors of the hemostasis system of blood clotting, particularly on the separate parameters of hemostasis system. The data have shown that Gx-NH₂ results in decrease of some indices of hemocoagulation in intact animals: the spontaneous coagulation of the venous blood (25%), recalcification (44,5%), heparin tolerance of plazma (25%), fibrinogen concentration (12%) and thrombin time 29%.

Thus, the obtained data have demonstrated the normalizing effects of Gx-NH₂ on the anticoagulative system by direct correction of hemostasis disorders.

Литература

1. Ашмарин И.П., Каменский А.А., Ляпина Л.А. и др. ИЛ-1 и дисфункция систем гемостаза. *Вопр. биол. мед. и фармацевт. химии*, 2002, 1, с.24-27.
2. Бокарев И.Н. Патология гемокоагуляции. М., 1995, с.28-47.
3. Левицкая Н.Г., Клейменов А.Н., Позднякова Т.М. и др. Исследование спектра физиологической активности гептапептида семакс. *Нейрохимия*, 2008, т.25, 1-2, с.111-118.
4. Луговский Э.В. Молекулярные механизмы образования фибрина и фибринолиза. Киев, 2003.
5. Galoyan A.A. Primary structure and biological activity of haemoglobin-related hypothalamic peptides. In: *Biopolymers Peptide Science* (ed. V.T. Ivanov), John Willy and Sons, 1997, Vol.43, p.135-137.
6. Lee R., White P.D. Clinical study of the coagulation time of blood. *Amer. J. Med.*, 1973, VCXLY, 4, p.495-503.
7. Pratt K.R., Cote H.C.F., Chung D.N. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, Vol.94, p.7176 - 7181.
8. Riggeri Z.M. *J. Thromb. Haemost.*, 2003, Vol.1, 7, p.1335-1342.
9. Srapionian R.M. Neurosecretory hypothalamus is a source of organotropic neurohormones and immunomodulators. *Neurokhimya*, 2002, Vol.19, p.157-160.
10. Srapionian R.M., Paronian Z.Kh., Galoyan A.A. Role of cardiotropic protein-hormonal complexes in the regulation of hemostasis. *Neurochemical Journal*, 2008, Vol.25, 4, p.321-322.
11. Srapionyan R.M., Paronyan Z.Kh., Sahakyan F.M. et. al. Involvement of a proline-rich peptide in the regulation of the hemostasis system. *Neurochemical J.*, 2014, Vol.8, 1, p.44-46.

УДК 612.44.018:616.893-053.8-092.9

Динамическое морфогистохимическое исследование нервных структур миндалевидного тела крыс при воздействии различных доз этанола

**А. А. Саваян¹, М.А. Даниелян¹, Н.Н. Мелконян¹,
О.А. Назарян¹, И.К. Саакян², Н.В. Тумасян², С.С. Абрамян²**

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

²*Институт биохимии им. Г.Х. Бунятына НАН РА
0028, Ереван, ул.Бр.Орбели, 22*

Ключевые слова: этанольная интоксикация, гистохимия, миндалевидное тело

Алкоголь – токсическое и вызывающее зависимость вещество, злоупотребление которым является актуальной проблемой современного общества. Благодаря работам многих исследователей, проведенных на животных и людях, был обнаружен широкий диапазон влияния алкоголя на организм [7,12]. Он может вызывать поражение большинства органов, приводя к развитию более 60 различных болезней, в том числе и алкоголизма, повысив смертность населения [1]. В настоящее время потребление спиртных напитков является третьей ведущей причиной нарушения здоровья в Европе [13]. Известно, что мозг особо чувствителен к токсическому действию алкоголя, который оказывает значительное влияние на строение, метаболизм и функции ЦНС [13]. Исследования показали, что отдельные структуры мозга, в частности холинергические ядра переднего мозга, мезокортиколимбическая дофаминергическая система, голубое пятно и *raphe nuclei*, обладают избирательной чувствительностью к хронической этанольной интоксикации [3,5]. Однако современное представление морфологии нейронов, являющееся ключевым для выяснения механизма и морфологических признаков алкогольной аддикции, затруднено тем, что не решен ряд задач: остаются неразрешенными вопросы степени повреждения и пределы возможной обратимости изменений ряда мозговых структур в этих условиях.

Целью настоящего исследования является изучение морфогистохимических изменений нейронов миндалевидного тела у крыс в динамике при интоксикации различными дозами этанола.

Материал и методы

Белые половозрелые крысы-самки Альбино ($n=12$) массой 250 ± 50 г составили 3 группы, которые в качестве единственного источника жидкости получали 5%, 10% и 15% растворы этанола. Животные были подразделены на подгруппы в зависимости от срока приема алкоголя – от 3 дней до 6 месяцев.

С целью морфогистохимических исследований нервных структур миндалевидного тела нами был применен метод выявления активности Ca^{+2} -зависимой кислой фосфатазы [2], разработанный на базе метода Гомори. Данный методический подход основан на выявлении внутриклеточных фосфорсодержащих соединений, занимающих ключевые позиции в обменных энергетических процессах, направленных на сохранение и самовоспроизведение витальных систем.

Результаты и обсуждение

Миндалевидное тело (*amygdala*) – подкорковая структура лимбической системы, расположенная в глубине височной доли мозга (рис. 1 а). Нейроны миндалина разнообразны по форме, функциям и нейрохимическим процессам в них. На основании цитологических особенностей миндалевидное тело можно разделить на несколько ядер, среди которых ключевыми являются базально-латеральный комплекс, центральные и корково-медиальные ядра. Центральное ядро подразделяют на медиальную (крупноклеточную) и латеральную (микроклеточную) области. Наибольшей активностью фермента обладают крупные нейроны базального ядра. Форма клеток круглая овальная полигональная с маленькими ядрами, содержащими одно ядрышко. Часть цитоплазмы заполнена гранулами осадка другая часть окрашена гомогенно и выглядит светлее (рис. 1 А). Встречаются нейроны с низкой активностью кислой фосфатазы (КФ). В целом в миндалинах не наблюдается однотипного окрашивания нейронов. Предполагается, что темные и светлые нейроны представляют собой две различные функциональные стадии жизнедеятельности нейросекреторных клеток амигдалы. Темные нейросекреторные клетки отражают период создания (путем активизации процессов транскрипции и трансляции) и «упаковки» секрета, светлые – его транспортировку и дальнейшую эвакуацию из клетки. Исходя из этого, темные и светлые клетки миндалевидного тела мозга можно рассматривать как нейросекреторные клетки, которые могут быть частью гипоталамо-гипофизарной системы.

Воздействие 5% раствора этанола в ранние сроки привело к гипертрофии нейронов миндалевидного тела (рис. 1 Б). Отростки настолько утолщены, что порой невозможно определить границу сомы и отростков. Увеличенные ядра нейронов интенсивно окрашены (рис. 1 Б). Ядерная

локализация КФ предполагает динамическую реорганизацию, однако ферментативная активность цитоплазмы несколько снижена. Отмечается большое количество синапсом на мембранной поверхности тел и отростков нейронов, что, возможно, указывает на повышение деятельности клеток миндалевидного тела (рис. 1 Б).

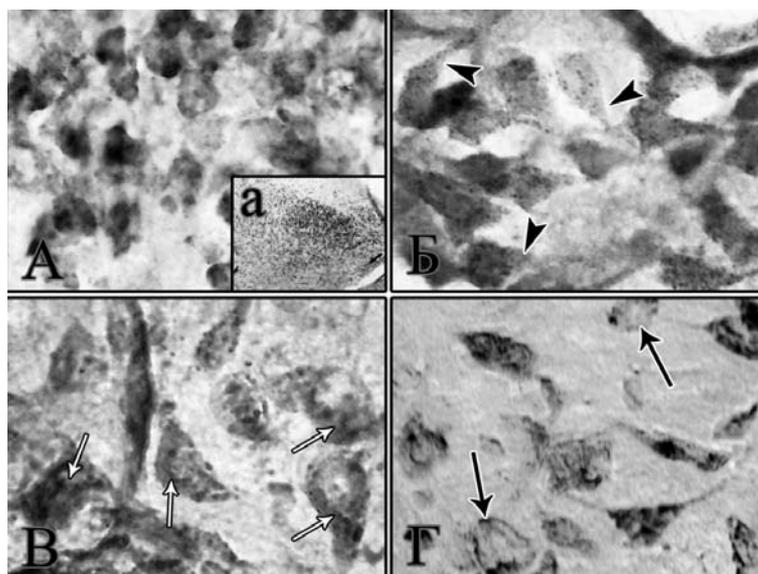


Рис. 1. Микрофотографии нейронов миндалевидного тела крыс при хронической алкоголизации 5% раствором этанола: А, а – норма; Б, В, Г – под воздействием 5% этанола; Б – ранние сроки алкоголизации; В – средние сроки алкоголизации; Г – поздние сроки алкоголизации; белые стрелки – эктопированные ядра; черные стрелки – клетки “тени”; головка стрелки – утолщенные аксоны.
Увеличение: 100 (а); 1000 (А-Г)

Под влиянием малых доз этанола в течение 6-9 недель кроме выше-описанных изменений начинаются процессы центрального хроматолиза (рис. 1 В). В цитоплазме нейронов амигдалы выявляется мелкая грануляция. Набухшие ядра постепенно эктопируются. Клеточная мембрана богато усеяна гранулами которые в отростках расположены в один ряд.

Шестимесячное употребление 5% раствора этанола привело к глубоким дегенеративным процессам в нейронах миндалевидного тела. Основными признаками изменения большинства нервных клеток амигдалы являются сильное набухание клеток, тотальный лизис гранул с гомогенизацией и просветлением цитоплазмы, а нередко и сморщивание ядра (рис. 1 Г). Часть клеток подвергается кариоцитолиту и находится в состоянии тяжелых изменений. Отдельные нейроны сморщиваются, уменьшаясь в размере и приобретая вытянутую форму. Отростки истончаются, укорачиваются. Верхушечный и боковые дендриты у многих нейронов исчезают.

Таким образом, динамическое морфогистохимическое наблюдение

нейронов миндалевидного тела при увеличении срока воздействия 5% раствора этанола показало прогрессирование дегенеративных изменений в клетках, вплоть до кариоцитолита.

Трехдневное использование 10% раствора этанола привело к резкому уменьшению плотности расположения нейронов амигдалы (рис. 2 А). Форма и размеры клеток варьируют, а их контуры незначительно расплывчатые. Активность КФ сохранена в отростках, повышена в ядрах, выражена умеренно в цитоплазме (рис. 2 А).

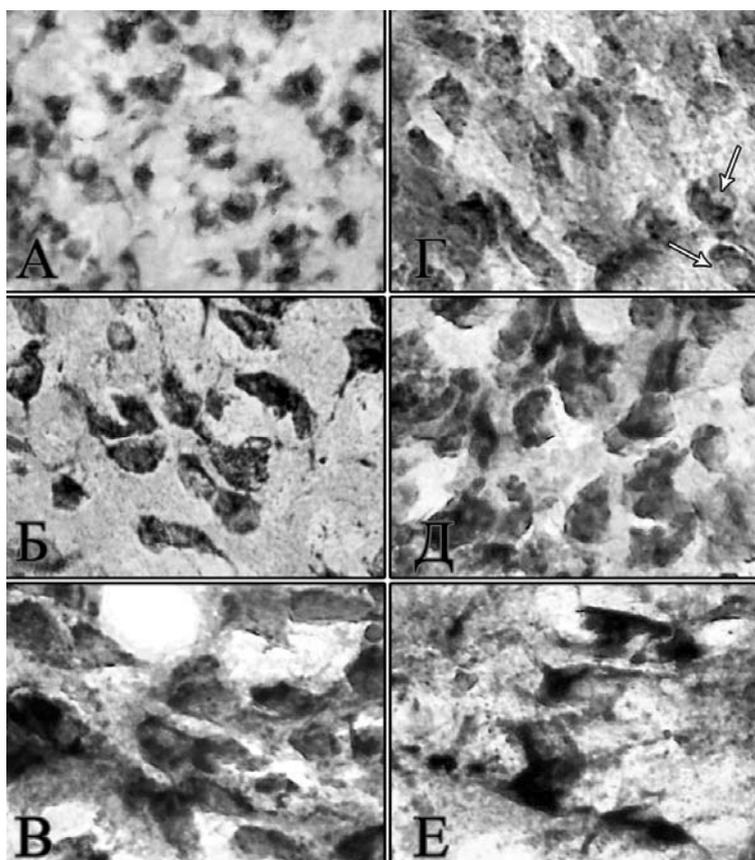


Рис. 2. Микрофотографии нейронов миндалевидного тела крыс при хронической алкоголизации 10% и 15% растворами этанола. А Б, В – под воздействием 10% этанола; Г, Д, Е – под воздействием 15% этанола; А, Г – ранние сроки алкоголизации; Б, Д – средние сроки алкоголизации; В, Е – поздние сроки алкоголизации; белые стрелки – эктопированные ядра. Увеличение: 400 (А); 1000 (Б-Е)

При средних сроках (от 3 до 6 недель) воздействия 10% раствора этанола клеточная оболочка нейронов амигдалы вытянутой формы обладает интенсивно окрашенными контурами. Ферментная активность повышена в перикарионе, ядра большинства нейронов набухшие и эктопированы.

Хорошо прослеживается ход отростков, в которых видны точечные грануляции (рис. 2 Б).

Применение 10% раствора этанола в течение пяти месяцев приводит к гипертрофии клеточного тела нейронов, а также к преимущественному набуханию верхушечного отростка. Наблюдается тенденция к слиянию клеток с нарушением целостности контуров. Ядра нейронов продолжают оставаться набухшими. Четко отличаются ядрышки внутри более светлого ядра. Фосфатазная активность резко усилена в сгруппировавшихся клетках (рис. 2 В).

Таким образом, этанольная интоксикация 10% раствором вызывает неспецифические изменения в нейронах миндалевидного тела в виде острого набухания, что является обратимым клеточным изменением.

Изменения нейронов амигдалы в ранние сроки алкоголизации 15% раствором этанола по сравнению с нормой проявляются в незначительном набухании и округлении клеточного тела. Морфологическая картина характеризуется постепенным растворением гранул, начиная с центральных участков клетки, что придает цитоплазме более светлую окраску (рис. 2 Г). Фосфатазная активность ядер умеренно снижена. Они имеют преимущественно периферическое расположение. Ядрышко также нередко принимает эксцентричное положение. Обычно такие явления характерны для первичного раздражения нервных клеток.

Под воздействием 15% раствора этанола в течение двух месяцев в нейронах миндалевидного тела наблюдается резкое усиление активности КФ как в цитоплазме, так и в ядрах (рис. 2 Д). У всех нейронов четко выступает увеличенное темное ядрышко. Отростки не реагируют, в some отмечается разреженный гранулярный осадок, более плотно расположенный по периферии нейрона. Отмечается факт тесного сближения нейронов, причем часто наблюдается картина как бы слившихся клеток (рис. 2 Д).

Применение в течение четырех месяцев вышеотмеченной дозы этанола вызвало грубые нарушения амигдалы, затронувшие основные элементы нервных клеток. Контуров нейронов стали неправильными, нечеткими. Цитоплазма трудно прослеживается, так как подвергается постепенному расплавлению. Деформированные ядра неправильной формы становятся почти или совершенно неразличимыми от ядрышек (рис. 2 Е). Фосфатазная активность резко усиливается, что указывает на активацию процессов ядерного метаболизма, видимо в целях сохранения жизнедеятельности клетки.

Таким образом, анализ полученных данных дает основание предположить, что длительное воздействие 15% раствора этанола приводит к тяжелым изменениям нервных клеток миндалевидного тела, что характерно также для гипоксических состояний и острых интоксикаций.

По литературным данным, алкогольдегидрогеназа неравномерно распределена в ЦНС. В большинстве регионов мозга она отсутствует.

Однако в гиппокампе, мозжечке и коре мозга показано ее существование, что является причиной местной аккумуляции ацетальдегида после употребления алкоголя [9].

Такие области мозга, как прилежащее ядро, дорзальное полосатое тело и префронтальная кора, находящиеся под влиянием мезокортиколимбической допаминергической системы, представляют особый интерес для изучения нейроадаптивных изменений на начальных этапах употребления алкоголя и пьянства. Эта система вовлечена в зарождение алкогольной и наркотической зависимости [4, 6, 10] и является важнейшим компонентом в данном процессе [11]. Большинство наркотиков, включая алкоголь, повышают активность вышеотмеченной системы, приводя к усилению высвобождения доamina в терминальных отделах [14]. По результатам исследований Lebedev A. et al. [8], анализ морфофункциональных изменений структур мезокортиколимбической системы у крыс, находящихся под длительным воздействием этаноловой интоксикации (5 мес.), показал, что алкоголизация снижает объем и специфическую плотность нейронов черной субстанции и вентральной области покрышки.

В наших исследованиях в вышеотмеченные сроки алкогольного отравления были обнаружены грубые нарушения структуры основных элементов клеток миндалевидного тела как при низких, так и при высоких дозах этанола.

Поступила 26.02.14

Առնետների ուղեղի նշան համալիրի նեյրոնների դինամիկ մորֆոհիստոքիմիական ուսումնասիրությունը էթանոլի տարբեր չափաբաժինների ազդեցության պայմաններում

**Ա.Ա. Սավայան, Մ.Ա. Դանիելյան, Ն.Ն. Մելքոնյան, Օ.Հ. Նազարյան,
Ի.Կ. Սահակյան, Ն.Վ. Թումասյան, Ս.Ս. Աբրահամյան**

Ուսումնասիրվել են առնետների նշան համալիրի նեյրոնների մորֆոհիստոքիմիական փոփոխությունները դինամիկայում՝ էթանոլի տարբեր չափաբաժիններով թունավորման պայմաններում:

Նշան համալիրի նեյրոնների մորֆոհիստոքիմիական ուսումնասիրությունները վկայում են, որ 5% էթանոլի ազդեցության ժամկետների ավելացման պայմաններում բջիջներում զարգանում են դեգեներատիվ փոփոխություններ՝ ընդհուպ մինչև կարիոցիտոլիզ:

10% էթանոլի լուծույթի ազդեցության արդյունքում նշան համալիրի նեյրոններում առաջանում են ոչ սպեցիֆիկ փոփոխու-

թյուններ սուր այտուցի ձևով, որը համարվում է դարձելի բջջային փոփոխություն: 15% էթանոլի լուծույթի երկարատև կիրառումը հանգեցնում է նեյրոնների ծանր փոփոխությունների, ինչը նաև բնորոշ է թթվածնային քաղցի վիճակներին և սուր թունավորմանը:

Dynamic morphohistochemical study of the amygdaloid neuronal structures in the rats exposed to various doses of ethanol

**A. A. Savayan, M.A. Danielyan, N.N. Melkonyan, O.H. Nazaryan,
I.K. Sahakyan, N.V. Tumasyan, S.S. Abrahamyan**

The aim of the present research was to study the dynamic morphohistochemical changes of the neuronal structures of the amygdaloid complex in rats under intoxication with various concentrations of ethanol.

Morphohistochemical study of the neuronal structures of the amygdaloid complex has demonstrated that the degenerative changes grow progressively in the neurons, up to the karyolysis, when the exposure period to 5% ethanol solution is increased.

Ethanol intoxication with 10% solution causes nonspecific changes in neurons in the form of acute hypertrophy, which is considered a reversible cellular change. Prolonged exposure of rats to the 15% ethanol solution leads to severe changes in neurons, which is also typical to hypoxic states and to acute intoxication.

Литература

1. *Зиматкин С. М., Оганесян Н. А., Киселевский Ю. В.* Ацетатзависимые механизмы толерантности к этанолу. Гродн. гос. мед. ун-т, 2010.
2. *Меликсетян И.Б.* Выявление активности Ca^{+2} -зависимой кислой фосфатазы в клеточных структурах мозга крыс. Морфология. СПб., 2007, т. 131, 2, с. 77-80.
3. *Chen J.C., Lin C.C., Ng C.C., Chiu T.F., Shyr M.H.* Uneven distribution of ethanol in rat brain following acute administration, with the highest level in the striatum. *J Stud Alcohol Drugs*, 2007, Vol.68, 5, p.649-653.
4. *Di Chiara G., Bassareo V., Fenu S., De Luca M.A., et al.* Dopamine and drug addiction: the nucleus accumbens shell connection. *Neuropharmacology*, 2004, Vol.47, Suppl 1, p.227-241.
5. *Diana M., Peana A.T., Sirca D., Lintas A., Melis M., Enrico P.* Crucial role of acetaldehyde in alcohol activation of the mesolimbic dopamine system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2008, Vol.1139, p.307-317.
6. *Droblenkov A.V., Karelina N.P., Shabanov P.D.* Diagnostics of alcoholic intoxication from micromorphological changes in neurons and neuroglia of the mesoaccumbocingular dopaminergic system in experiment. *Sud. Med. Ekspert*, 2009, Vol.52, 6, p.25-28.
7. *Kinoshita H., Nishiguchi M., Kasuda S.* An autopsy case of poisoning with ethanol and psychotropic drugs. *Soud. Lek.*, 2008, Vol.53, 2, p.16-17.
8. *Lebedev A.A., Droblenkov A.V., Shabanov P.D.* Structural changes in mesocorticolimbic dopaminergic system of the brain during long-term alcoholization in rats. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2008, Vol.146, 6, p.816-819.

9. *Martínez S.E., Vaglenova J., Sabrià J., Martínez M.C., Farrés J., Parés X.* Distribution of alcohol dehydrogenase mRNA in the rat central nervous system. Consequences for brain ethanol and retinoid metabolism. *Eur. J. Biochem.*, 2001, Vol.268, 19, p.5045-5056.
10. *Perra S., Pillolla G., Luchicchi A., Pistis M.* Alcohol inhibits spontaneous activity of basolateral amygdala projection neurons in the rat: involvement of the endocannabinoid system. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 2008, Vol.32, 3, p.443-449.
11. *Pierce R.C., Kumaresan V.* The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse? *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2006, Vol.30, 2, p.215-238.
12. *Sullivan E.V., Pfefferbaum A.* Neurocircuitry in alcoholism: a substrate of disruption and repair. *Psychopharmacology (Berl)*, 2005, Vol.180, 4, p.583-594.
13. *Thomson A.D., Guerrini I., Bell D., Drummond C.* Alcohol-related brain damage: report from a Medical Council on Alcohol Symposium. *Alcohol*, 2012, Vol.47, 2, p. 84-91.
14. *Yim H.J., Gonzales R.A.* Ethanol-induced increases in dopamine extracellular concentration in rat nucleus accumbens are accounted for by increased release and not uptake inhibition. *Alcohol*, 2000, Vol.22, 2, p.107-115.

УДК. 615.21+577.15+612.814

Hypothalamic proline-rich polypeptide improves behavioral outcomes in rat model of focal cerebral ischemia

E. L. Yeritsyan

*YSMU after M. Heratsi, department of pharmacy
Koryun 2 str., Yerevan 0025, Armenia*

Key words: left middle cerebral artery occlusion, proline-rich polypeptide-1 (PRP-1), anxiety, motor activity

Stroke is one of the leading causes of morbidity and mortality worldwide and according to the World Health Organization Statistics in 2030 stroke will be the leading causes of death in the world [14]. It is among the leading causes of adult long-term disability and loss of quality-adjusted life span [21]. Cerebral ischemia is the most common type of strokes, making 87% of all strokes [19]. Neurobehavioral consequences of cerebral ischemia includes wide spectrum of disturbances, such as paralysis, apathy, irritability, learning and memory difficulties, depression and anxiety. Post-stroke anxiety disorder is especially widely recognized in clinical field, with a prevalence of 12 - 28% [16]. Limited numbers of therapeutic treatments are available clinically and these treatments are only applicable to high selective groups. Thus, there is an urgent need to have a safe and effective treatment, and the development of new agents for stroke treatment is essential.

In this view the effects of the recently discovered PRP-1 on neurobehavioral changes caused by cerebral ischemia were investigated. The novel hormonal brain system of proline-rich polypeptides, consisting of 10–15 amino acids and four proline residues discovered by Galoyan et al. [13,15] are of special interest. It has been shown that one of them, PRP-1, consists of 15 amino acids and has the following primary structure: Ala-Gly-Ala-Pro-Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Ala-GLn-Pro-GLy-Val-Tyr (AGAPEPAEPAQPGVY). It is produced by neurosecretory cells of hypothalamic nuclei (*nucleus paraventricularis* [NPV] and *nucleus supraopticus* [NSO]). There have been shown the beneficial effects of PRP-1 [1-2, 6-12, 20], including neuroprotective properties [5]. It was demonstrated cerebrovascular activity of PRP-1, which was displayed by increasing of local cerebral blood flow [3].

Materials and Methods

Animal preparation

Adult (4-5 months) male Albino rats, weighing 180-240g, were used. All animal's manipulations were approved by the Institutional Committee for the Humane Use of Animals (Ethics Committee) at Yerevan State Medical University, in accordance with the guidelines established by European Convention for Animal Care and Ethical Use of Laboratory Animals. Animals were housed in standard laboratory conditions with relative humidity of 40-70%, at a room controlled temperature of 25±2°C, under natural 12h light : 12h dark cycle. Rats were kept in standard laboratory cages (no more than 6 rats per cage) with free access to water and food. All the experiments were carried out between 9:00 and 18:00. The animals were allowed to acclimatize for 1 week prior the experiments.

Surgical procedure: left middle cerebral artery occlusion (MCAO)

Rats were anesthetized with chloral hydrate (dissolved in distilled water) at the dose of 400 mg/kg, intraperitoneally (i/p). The animal was placed on an elevated platform and its head was secured in a stereotaxic frame. The instrument used during the operation was a neurochemical Binocular Magnifier LBVO, with a fiber illuminator (Saint Petersburg). An incision of 1.5cm between the left eye and ear was made. The temporalis muscle was reflected from the underlying cranium. The zygoma was removed and the masseter muscles were retracted. The following procedure included a left middle cerebral artery occlusion, which was done by using a microsurgical microscope (OGME-PZ) set at a wide distance ($f=190\text{mm}$) and under a high focus (14x3.3). A small burr-hole (2mm in diameter) directly overlying the MCA was made using a high-speed dental drill under continuous saline irrigation. Care was taken to avoid thermal or physical injury to the dura. The 10-0 Ethicon suture was inserted under the left middle cerebral artery by sticking a needle through the dura mater. We used an adapted version of the Tamura et al. [22] method, modified by Topchyan A.V. [23]. According to this modified method, we did not remove the dura mater, instead we encircled it and then performed ligation on the middle cerebral artery. Furthermore, by Tamura et al. [23] method the ligation of the middle cerebral artery was done distal to the origin of the lenticulostriate artery, proximal to the inferior cerebral vein. In our experiments the ligation was done on the basis of middle cerebral artery, in order to enhance damage to the cerebral ischemia. After ligation of the middle cerebral artery (MCA) the blood flow was interrupted, which could be noticed under a surgical microscope. The temporalis muscle and skin were allowed to fall back and were then sutured separately. After MCAO the animals were divided into the following groups:

I group – occluded animals injected 0,9% NaCl twice daily (MCAO+saline treated rats),

II group – occluded animals injected PRP-1 20µg/kg twice daily (MCAO+PRP-1 treated rats). All rats were tested in EPM and Rota-rod tests before being subjected to MCAO and after divided into groups consequently on the 3rd, 6th and 12th day after MCAO.

Measurement of anxiety-related behavior

Evaluation of anxiety-like behavior was assessed in elevated plus-maze (EPM) test model, which is one of the most widely used animal models in contemporary preclinical anxiety and is based on unconditioned fear [17, 25]. The plus-maze was made of black wood and consisted of a central platform (10 x 10 cm), two opposite arms (50 x 10 cm) and enclosed arms (50 x 10 x 40 cm), which were elevated 50 cm above the floor [4]. To prevent rats from falling off, both sides of the arms were equipped with white rims (0.5 cm high). The EPM was situated in a bright light room, and the placement and lighting conditions were identical for each trial. At the beginning of each session, rats were placed in the center of the maze facing an open arm and were allowed to explore the maze for 5min. Thus, it was examined: percent of the time spent on the open arms, the open arm entries, percent of the time spent on the closed arms, total arm entries and the center square time. The animal was scored as having entered the arm when all four paws were inside the arm. Testing equipment was thoroughly cleaned up after each animal.

Evaluation of motor coordination

Maximum running capacity was measured using a motor coordination test [18, 26], the Rota-rod treadmill for rats (accelerating model 7750, *Ugo Basile, Varese, Italy*). The rats were placed on the rotating drum with an accelerating rotor mode (10 speeds from 4 to 40 rpm for 5 min). The apparatus recorded the time till the animal's fall from the rotating shaft as a performance time. The animals were trained for 5 trails per day for 2 days before MCAO to obtain stable baseline values.

Data analysis

The obtained values were expressed as the mean ± S.E.M. Student's paired t-test was performed to test for significant differences within the groups. One-way analysis of variance (ANOVA) was used to determine significant differences between the experimental groups. Statistically significant differences were inferred for P<0.01 and P<0.05. Statistical analyses were performed by computer software.

Results and Discussion

One of the important neurobehavioral consequences of cerebral ischemia is anxiety. That is why one of the most implemented methods used for assessment of drug's efficacy and treatment outcome is the evaluation of anxiety. In view of this it was investigated rats behavior in EPM test, as this test

was undoubtedly one of the most widely used animal models of anxiety in the last two decades [17] in contemporary preclinical research on anxiety.

The EPM data are shown on Fig.1, 2, and 3. The carried out experiments demonstrate that MCAO is accompanied by anxiety development in ischemic rats. It is obvious that on the 3rd post-ischemic day (Fig.1), behavioral changes in saline treated rats (MCAO+saline) are noticeable: the time spent on open arms is decreased for 67.5% (A) ($F_{(1,38)}=16.2$ ($P<0.01$)), percent of the open arms entries – 27% (B) ($F_{(1,38)}=3.4$ ($P>0.05$)), total entries – 36.2%(C) ($F_{(1,38)}=21.7$ ($P<0.01$)), the center square time – for 68.2% (D) ($F_{(1,38)}=25.7$ ($P<0.01$)) compared with the controls. It was revealed that the injection of PRP-1 (MCAO+PRP-1 in the dose of 20 μ g/kg 2 times daily) prevents anxiety development, as there is a noticeable confidential enhancement of the time spent on the open arms – for 51.7 % (A) ($F_{(1,28)}=7.3$ ($P_1<0.05$), percent of the open arms entries – for 47.5% (B) ($F_{(1,28)}=10.6$ ($P_1<0.01$)), the center square time – more than twice compared with saline treated rats (D) ($F_{(1,28)}=18$ ($P_1<0.01$)). Though, for the total entries (C) there was registered a decrease – for 19.6% ($F_{(1,28)}=3.2$ ($P_1>0.05$)) compared with saline treated rats.

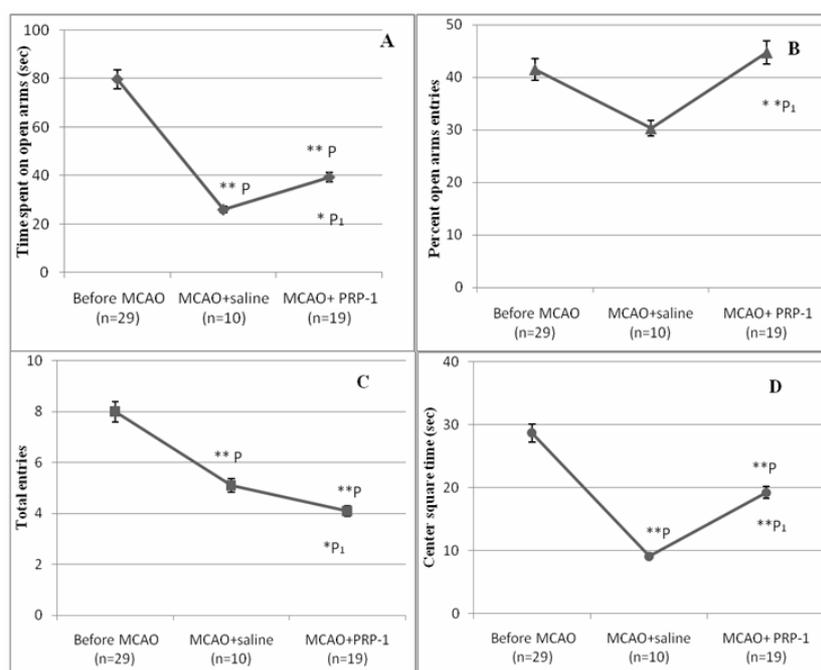


Fig. 1. Anxiety-related behavior of rats in the EPM on the 3rd post-ischemic day. A–time in seconds spent on the open arms, B–percent of the open arms entries, C–total entries, D–the center square time in seconds. Each value indicates the mean \pm S.D. Significant differences: P–in comparison with the pre- MCAO rats, P₁–in comparison with the MCAO+saline treated rats, * -P, P₁ \square 0.05; ** - P, P₁ \square 0.01.

On the 6th post-ischemic day it was obtained further development of anxiety, which was displayed by decrease of all parameters characterizing the rat's behavior on EPM test. Thus, on Fig. 2 it is noticeable that on the 6th post-ischemic day, in saline treated rats the time spent on the open arms is decreased for 79.5% (A) ($F_{(1;38)}=21.9$ ($P<0.01$)), percent of the open arms entries – for 52% (B) ($F_{(1;38)}=3.4$ ($P>0.05$)), total entries – 37.5% (C) ($F_{(1;38)}=23.3$ ($P<0.01$)), the center square time – 64.2% (D) ($F_{(1;38)}=21.5$ ($P<0.01$)) compared with the controls. The injection of PRP-1 during 6 days after MCAO (immediately after ligation, twice a day, 20 μ g/kg) showed more extended anxiety. Thus, it is noticeable an enhancement of the time spent on the open arms more than 7 times ($F_{(1;28)}=12.5$ ($P_1<0.01$)) (A), and the percent of the time on the open arms about 2 times (B) ($F_{(1;28)}=12.3$ ($P_1<0.01$)), exceeding the pre-MCAO values. The center square time (D) on the 6th post-ischemic day is increased for 69% ($F_{(1;28)}=3.0$ ($P_1>0.05$)) compared with MCAO+saline group rats, though the total entries (C) is decreased for 8% ($F_{(1;28)}=4.8$ ($P_1<0.05$)) compared with the saline treated rats.

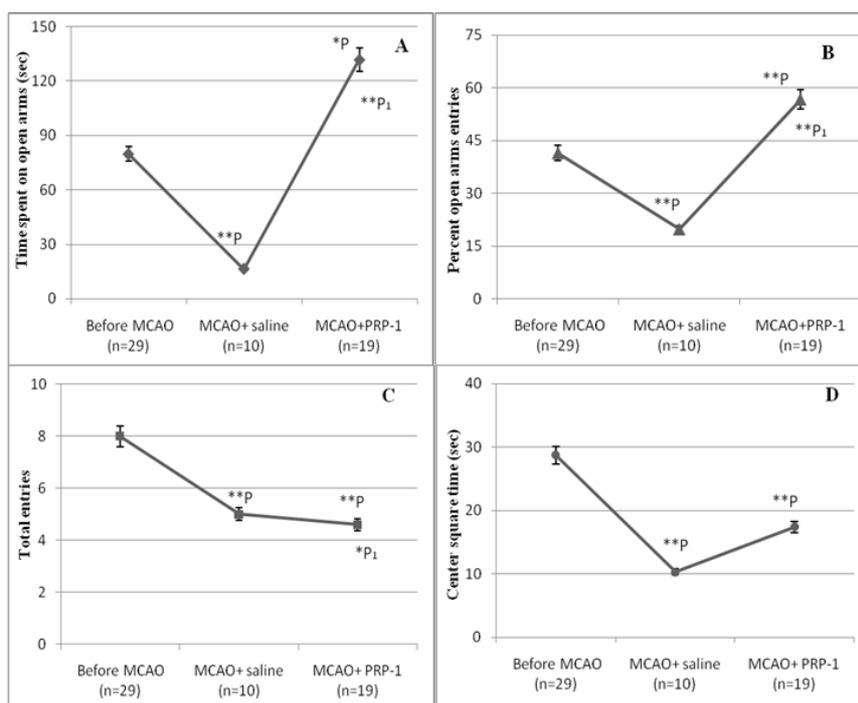


Fig. 2. Anxiety-related behavior of rats in the EPM on the 6th post-ischemic day. A – time in seconds spent on the open arms, B – percent of the open arms entries, C – total entries, D – center square time in seconds. Each value indicates the mean \pm S.D. Significant differences: P – in comparison with before MCAO rats, P₁ – in comparison with MCAO+saline group rats. * -P, P₁ \square 0.05; ** - P, P₁ \square 0.01.

The same analysis of rat's behavior was done after 12 days of MCAO. Thus, on Fig. 3 it is demonstrated that on the 12th post-insult day all parameters of the EPM in MCAO+saline group rats are decreased as follows: time spent on open arms in seconds for 73.9% (A) ($F_{(1;38)}=18.8$ ($P<0.01$)), percent open arms entries for 40.9% (B) ($F_{(1;38)}=9.0$ ($P<0.01$)), total entries for 26.25 % (C) ($F_{(1;38)}=20.2$ ($P<0.01$)), center square time for 59.2% (D) ($F_{(1;38)}=19.2$ ($P<0.01$)) compared with control group rats. As it is shown on the above mentioned figures, the parameters characterizing rats' behavior in EPM test are decreased compared with 3rd and 6th days after MCAO. Though, i/p. injection of PRP-1 during 12 days after MCAO shows more extended anxiety. Thus, in case of MCAO+PRP-1 treatment all the values are increased, even exceeding the ones before MCAO values. The time spent on the open arms (A) compared with both the MCAO+saline and the control group rats was increased in the appropriate way: for 484% ($F_{(1;28)}=14.4$ ($P_1<0.01$)) and for 52.4% ($F_{(1;47)}=5.4$ ($P<0.05$)), the percent open arms entries for 129%(B) ($F_{(1;28)}=32.7$ ($P_1<0.01$)) and for 35.4%($F_{(1;47)}=35.7$ ($P>0.01$)), the center square time (D) for 202% ($F_{(1;28)}=149.7$ ($P_1<0.01$)) and for 23.3%($F_{(1;47)}=5.5$ $P<0.05$)), the total entries (C) for 33% ($F_{(1;28)}=39.4$ ($P_1<0.01$)) compared with saline treated group rats, and was about of the same value as it was in case of the controls ($F_{(1;47)}=0.01$ ($P>0.05$)).

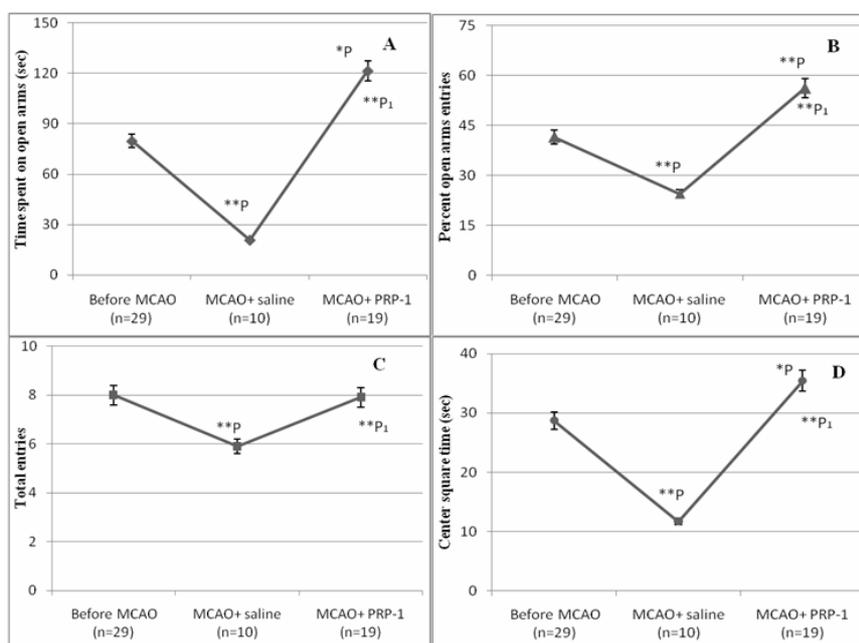


Fig. 3. Anxiety-related behavior of rats in the EPM on the 12th post-ischemic day. A – time in seconds spent on the open arms, B – percent of the open arms entries, C – total entries, D – center square time in seconds. Each value indicates the mean \pm S.D. Significant differences: P – in comparison with before MCAO rats, P₁ – in comparison with MCAO+saline group rats, * -P, P₁ \square 0.05; ** - P, P₁ \square 0.01.

Thus, our investigation indicates that the local ischemic damage of the brain induced in particular by the long-term exposure (6, 12 days) of MCAO, within the selected EPM model for the assay of anxiety-related behavior, results in an expressed anxiety development: decrease of the time spent on the open arms, the open arm entries and the center square time with the locomotor activity. Obtained data indicate the anxiolytic effect of the PRP-1: increasing the time spent on the open arms, the open arms entries, center square time, total entries respectively. For evaluation of potential therapeutic efficacy of neuroprotection and assessment of the treatment outcome, besides the cognitive and behavioral characteristics, motor disbalance is important as well. The Rota-rod test is an established motor test to evaluate the balance and coordination aspects of rats before MCAO and on the 3rd, 6th and 12th post-ischemic days.

The experiments have shown that before MCAO animals had a moderate level of motor coordination which was counted by the failing frequency from the revolving rod. From Fig.4 it is obvious that the control group value of fall-down time was equal to 43.9±18.4 (n=40). After MCAO on saline treated rats the fall-down time is decreased consequently: on the 3rd day it is equal to 29.1±17.1 (for 33.7%) ($F_{(1,59)}=8.99$ ($P<0.01$)), on the 6th day – 16.9±15.8 (for 61.5%) ($F_{(1,59)}=31.28$ ($P<0.01$)), and on the 12th day – 8.6±8.5 (for 80.4%) ($F_{(1,59)}=65.8$ ($P<0.01$)). PRP-1 treated rats have a shown reduced fall-down time compared with saline treated group – for 36.4% (39.7 ± 23.6 ($F_{(1,39)}=2.61$ ($P_1>0.05$))) on the 3rd day post-insult day. On the 6th and 12th post-ischemic days of PRP-1 treatment there is observed a noticeable improvement of the value in comparison with both the saline and control group rats, appropriate by for 319% (70.9 ± 79.8) ($F_{(1,39)}=8.8$ ($P_1<0.01$)) and for 61.5% ($F_{(1,59)}=4.1$ ($P<0.05$)) on the 6th day after MCAO, and for 91,6% (87.4 ± 92.1) ($F_{(1,39)}=14.5$ ($P_1<0.01$)) and 99% ($F_{(1,59)}=8.3$ ($P<0.01$)) – on the 12th day after MCAO.

Our data show that MCAO occlusion leads to development of motor discoordination, especially after 12 days. The mentioned disorder has been prevented by a long-term (during 12 days) administration of PRP-1.

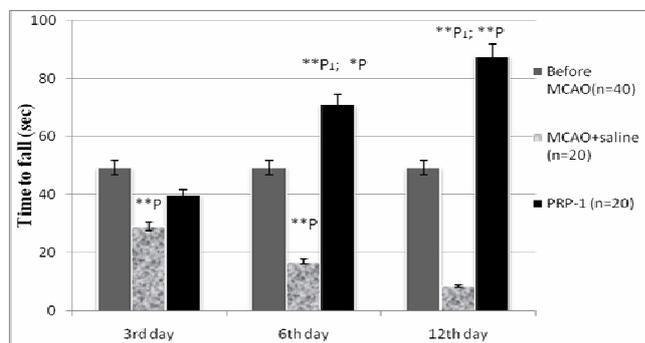


Fig. 4. Motor learning and coordination in the Rota-rod test. Each data point represents the mean ± S.D. Significant differences. P – in comparison with pre-MCAO rats, P₁-in comparison with MCAO+saline group rats, * -P, P₁ < 0.05; ** - P, P₁ < 0.01.

Thus, investigation of PRP-1, discovered as a unique mediator of the hypothalamus – neurohypophysis – bone marrow – thymus axis with immunotropic, neuroprotective, anti-ischemic, antitumor properties and its cerebrovascular effect [3], demonstrated that the mentioned peptide has the ability to protect ischemic brain tissue [24], which is displayed by improvement of behavioral outcomes after MCAO. PRP-1 prevents the development of anxiety and corrects motor coordination caused by local ischemic injury.

Hence, the obtained data could serve as a basic platform for development of PRP-1 as a potential protective agent for stroke management.

Поступила 01.07.14

Պրովինով հարուստ պրոլիպեպտիդ-1-ը բարելավում է առնետների վարքագծային փոփոխությունները ֆոկալ իշեմիայի պայմաններում

Է.Լ. Երիցյան

Նոր հայտնաբերված պրովինով հարուստ պրոլիպեպտիդ-1-ը (ՊՀՊ-1), որն արտադրվում է *N. supraopticus* and *N. paraventricularis*-ում և անջատվել է խոշոր եղջրավոր անասունների նեյրոհիպոֆիզի նեյրոսեկրետոր բջիջներից, հանդիսանում է բազմաբնույթ կենսաբանական հատկություններով միջնորդանյութ: Ցուցադրվել է վերջինիս հակամանրէային, հակաօքսիդանտային և նյարդապաշտպան ազդեցությունը: ՊՀՊ-1-ը բարելավում է նաև ուղեղի արյան շրջանառությունը՝ առանց զարկերակային ճնշման փոփոխության, որը հիմք հանդիսացավ ուսումնասիրել նրա ազդեցությունը առնետների իշեմիայով հարուցված վարքագծային փոփոխությունների վրա: Առնետների մոտ ուղեղի լոկալ իշեմիան մոդելավորվել է միջին ուղեղային զարկերակի կապումով (ՄՈւԶԿ): Կոորդինացիոն փոփոխությունները գնահատվել են *պտտվող-ձող* (Rota-rod), իսկ տազնապի զարգացումը՝ *բարձրացված խաչաձև լարիքինթոս* թեստերում:

Ինչպես ցույց են տվել հետազոտության արդյունքները, ուղեղի ֆոկալ իշեմիան հանգեցնում է կոորդինացիոն խանգարման և տազնապի զարգացման: Մինչդեռ, ՄՈւԶԿ ենթարկված առնետների մոտ ՊՀՊ-1-ի 6 և 12 օր տևողությամբ ն/ո ներարկումը (օրական 2 անգամ 20մկգ/կգ դեղաչափով) կանխում է իշեմիայով պայմանավորված տազնապի և կոորդինացիոն խանգարումների զարգացումը:

Гипоталамический пролином богатый полипептид-1 улучшает поведенческие результаты у крыс в модели фокальной ишемии головного мозга

Э.Л.Ерицян

Новый пролином богатый полипептид-1 (ПБП-1) – медиатор, выделенный из нейросекреторных гранул нейрогипофиза *N. supraopticus* и *N. paraventricularis* крупного рогатого скота, проявляет широкий спектр биологической активности, включающий антиоксидантное, нейропротективное и антимикробное действие. ПБП-1 способствует также улучшению кровоснабжения мозга, не вызывая особых изменений в системном артериальном давлении. Принимая во внимание описанные свойства ПБП-1, было исследовано его влияние на изменения поведения крыс с церебральной ишемией.

Фокальная мозговая ишемия была смоделирована окклюзией средней мозговой артерии (ОСМА) у крыс. Поведение животных оценивалось в тесте *приподнятого крестообразного лабиринта*, координация движений – в тесте *Rota-rod*.

Показано, что ОСМА у крыс сопровождается развитием двигательной дискоординации и тревожности. В/б введение ПБП-1 крысам с ОСМА в дозе 20 мкг/кг в течение 6 и, особенно, 12 суток (два раза в день, сразу после перевязки) препятствует развитию тревожности и двигательного дисбаланса, вызванных локальным ишемическим поражением мозга.

References

1. *Abrahamyan S.S., Meliksetyan I.B., Sulkhanyan R.M., Sarkissian J.S., Galoyan A.A.* Immunohistochemical study of immunophilin 1-15 fragment in intact frog brain, and in the brain and spinal cord of intact and spinal cord hemisectioned rats. *Neurochem. Res.*, 2001, 26, p. 1225–1230.
2. *Abrahamyan S.S., Sarkissian J.S., Meliksetyan I.B., Galoyan A.A.* Survival of trauma-injured neurons in rat brain by treatment with proline-rich peptide (PRP-1): an immunohistochemical study. *Neurochem. Res.*, 2003, 29, p. 695–708.
3. *Balasyan M.G., Yeritsyan E.L., Topchyan A.V., Karamyan S.T., Galoyan A.A.* The cerebrovascular effects of PRP-1. *Neurochemical Journal*, 2012, 6, p. 173-178.
4. *Fulk L.J., Stock H.S., Lynn A., Marshall J., Wilson M.A. Hand G.A.* Chronic Physical Exercise reduce anxiety-like behavior in rats. *Int. J. Sports Med.*, 2004, 25, p. 78-82.
5. *Galoyan A.A., Sarkissian J.S., Chavushyan V.A. et al.* Neuroprotection by hypothalamic peptide proline-rich peptide-1 in A β 25-35 model of Alzheimer's disease. *Alzheimer & Dementia*, 2008, 4, p. 332-344.
6. *Galoyan A.A., Sarkissian J.S., Sulkhanyan R.M. et al.* PRP-1 protective effect against central and peripheral neurodegeneration following n. ischiadicus transection. *Neurochem. Res.*, 2005, 30, p. 487-505.
7. *Galoyan A.A., Sarkissian J.S., Chavushyan E.A. et al.* Neuroprotective action of hypothalamic peptide PRP-1 at various time survivals following spinal cord hemisection. *Neurochem. Res.*, 2005, 30, p. 507-525.

8. Galoyan A.A., Terio N., Berg M., Marks N. Effects of proline-rich peptide derived from Neurophysin-II on caspases of murine neuroblastoma: evidences for caspase-2 and 6 activation. *Neyrokhimiya*, 2000, 17, p.185–188.
9. Galoyan A.A., Sarkissian J.S., Kipriyan T.K. et al. Comparison of the protection against neuronal injury by hypothalamic peptides and by Dexamethasone. *Neurochem. Res.*, 2000, 25, p.1567-1578.
10. Galoyan A.A., Krieglstein J., Klumpp S. et al. Effect of hypothalamic proline-rich peptide (PRP-1) on neuronal and bone marrow cell apoptosis. *Neurochem. Res.*, 2007, 32, p. 1898-1905.
11. Galoyan A.A. Neurochemistry of brain neuroendocrine immune system: signal molecules. *Neurochem. Res.*, 2001, 25, p. 1343–1355.
12. Galoyan A.A., Sarkissian J.S., Kipriyan T. et al. Protective effect of proline-rich peptides against cobra venom and trauma induced neuronal injury. *Neurochem. Res.*, 2001, 26, p. 1023-1038.
13. Galoyan A.A. Biochemistry of novel cardioactive hormones and immunomodulators of the functional system neurosecretory hypothalamus endocrine heart. Moscow, 1997.
14. Lloyd-Jones D., Adams J.R., Carnethon M., De Simone G. et al. Heart disease and stroke statistics-2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee, 2009, *Circulation*, 119, p. 21-181.
15. Markossian K.A., Gurvits B.Y., Galoyan A.A. Isolation and identification of novel peptides from secretory granules of neurohypophysis. *Neyrokhimiya*, 1999, 16, p. 22–25 [published in Russian]
16. Nakashima M.N., Ajiki K., Nakashima K., Takahashi M. Possible role of nitric oxide in anxiety following transient cerebral ischemia in mice. *J. Pharmacol. Sci.*, 2003, 91, p. 47-53.
17. Pellow S., Chopin P., File SE., Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods*, 1985, 14, p.149-167.
18. Rehni A.K., Singh T.G., Jaggi A.S., Singh N. Pharmacological preconditioning of the brain: a possible interplay between opioid and calcitonin gene related peptide transduction systems. *Pharmacol. Rep.*, 2008, 60, p. 904-13.
19. Roger V.L., Go A.S., Lloyd-Jones D.M. et al. J. Heart Disease and Stroke statistics, 2011 Update: A Report from the American Heart Association, 2011, 123, p. e18-e209.
20. Sarkissian J.S., Yaghjian G.V., Abrahamyan D.O. et al. Acceleration of peripheral nerve regeneration by hypothalamic proline-rich peptide PRP-1 (Galarmin). [Published in Russian], *Annals of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*, 2005, 4, p. 19–30.
21. Stroebele N.M., Riemenschneider F., Nolte C.H. et al. Knowledge of risk factors, and warning signs of stroke: a systematic review from a gender perspective. *International Journal of Stroke & 2011 World Stroke Organization*, 2011, 6, p. 60–66.
22. Tamura A., Graham D.I., McCulloch J., Teasdale M.G. Focal Cerebral Ischemia in Rat: 1. Description of Technique and Early Neuropathological Consequences Following Middle Cerebral Artery Occlusion. *J. Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 1981, 1, p. 53-60.
23. Topchian A.V., Mirzoian R.S., Balasanyan M.G. Local cerebral ischemia in rats induced by ligation of the middle cerebral artery. *Exp. Clin. Pharmacol.*, 1996, 59, p. 62-64.
24. Topchyan H.V., Galoyan A.A., Balasanyan M.G. et al. Prevention of morphological changes and memory impairment induced by local cerebral ischemia in rats by proline-rich polypeptide -1 (PRP-1). *Med. Sci. Armenia*, 2014, 3, in press.
25. Wolf A.A., Frye C.A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature protocols*, 2007, 2, p. 322-328.
26. Yanagisawa D., Kitamura Y., Inden M. DJ-1 protects against neurodegeneration caused by focal cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Cereb. Blood Flow Metab.*, 2008, 28, p. 563-78.

УДК 612.453.018

Влияние психоэмоционального стресса на содержание адренокортикотропного гормона и кортизола в крови беременных крыс и их потомства

**Д.Н. Худавердян¹, М.Ю. Сароян¹, А.Д.Худавердян²,
А.А. Арутюнян³**

*¹Кафедра физиологии, ²кафедра акушерства и гинекологии N 2,
³НИЦ ЕГМУ им.М.Гераци
0025, Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: пренатальный стресс, адренокортикотропный гормон (АКТГ), кортизол, крысы

В последние годы интенсивно изучается проблема влияния пренатального стресса на процессы постнатального развития организма, а также развивающиеся при этом психосоматические расстройства и методы их медикаментозной компенсации. Как известно, в период неонатального развития и формирования морфофункциональных связей, любое неблагоприятное воздействие, и в частности стресс, может отразиться на развитии плода, вызывая угнетение функциональной активности различных систем и даже структурные перестройки органов и тканей, что представляется крайне важным для понимания роли пренатального стресса в развитии патологий у потомства [22,25,26].

В настоящее время накоплено значительное количество эпидемиологических данных о том, что разнообразные стрессы, испытываемые беременными, приводят к задержке развития плода, а также являются фактором риска возникновения у их потомков различных сердечно-сосудистых, метаболических, нейропсихических и нейроэндокринных заболеваний, таких как гипертония, ишемическая болезнь сердца, диабет 2-го типа, аффективные расстройства и др. [20,21,24]. Причем, эти последствия в большинстве исследований последних лет связывают с гормональными нарушениями, наблюдаемыми у матери и плода при стрессе беременных [1,6,19,27]. Более того, выявлено, что стресс, который матери переживали задолго до беременности или непосредственно перед зачатием, вызывает у их потомства различные психоэмоциональные отклонения [15]. У подопытных крысят после стресса матерей выявлены иммунные и неврологиче-

ческие расстройства [29], а также изменения нейроэндокринной регуляции репродукции и стресс-реактивности [13].

Однако ознакомление с этими работами показывает их в основном констатационный характер, без представления сравнительных данных о количественных изменениях гормонального баланса в системе мать – плод у беременных, переносящих стресс.

Исходя из этого, особую значимость могли иметь результаты экспериментальных исследований содержания стрессреализующих гормонов – АКТГ и кортизола в системе мать – плод у беременных животных, переносящих стресс, чему и посвящено настоящее исследование.

Материал и методы

Исследования проведены на 30 беспородных беременных крысах, которые были разделены на 2 группы: по 15 крыс с нормально протекающей беременностью и крыс, подвергнутых действию хронического стресса на протяжении всего периода беременности. Потомство от обеих групп составило 50-60 крысят (по 2-4 от каждой беременной крысы), часть из которых была использована в экспериментах, а некоторые по тем или иным причинам погибали.

Группы беременных крыс подбирались следующим образом. После случки с крысами-самцами оценивалась возможность возникновения беременности путем исследования влагалищных мазков на наличие сперматозоидов, обнаружение которых, согласно принятым представлениям [5], считается признаком возникновения беременности или нулевым сроком беременности. При этом, однако, беременность возникала и нормально развивалась в 65-70% случаев, а в остальных – по тем или иным причинам прерывалась. Естественно, в эксперимент шли крысы с нулевым сроком беременности (забор крови, стрессирование и пр.), однако, уже к концу первых 7-10 дней после случки можно было с достоверностью констатировать факт развития беременности, после которого продолжали исследоваться лишь те крысы, у которых развивалась беременность, а остальные, со всеми ранее полученными у них данными, отсеивались.

Животные получали полноценный рацион и использовались в экспериментах после двухнедельной адаптации к условиям вивария. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20-22⁰С, что находится в пределах термонеutralной зоны для крыс. Используемая в эксперименте модель психоэмоционального стресса включает в себя сочетанное воздействие двух экзогенных факторов: звукового и светового раздражителей. Параметры экспозиции: звук – мощностью 70 дБ, частотой 4 кГц, свет – частотой 13Гц, длительностью воздействия 350 сек с интервалами между воздействиями в 1500 сек (6 экспозиций за сутки). В отличие от широко используемых жестких моделей стресса (иммобилизация

и др.), данная модель была приближена к условиям не экстремальных, а повседневных хронических эмоциогенных воздействий, испытываемых беременными женщинами в быту.

Определение уровня гормонов проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием EIA- 3647 ACTH ELISA DRG, EIA-1887 Cortisol ELISA DRG. Материалом для определения концентрации кортизола служила сыворотка крови, а для определения АКТГ – плазма. Для получения сыворотки кровь забирали методом кардиопункции, после чего центрифугировали со скоростью 2000 об/мин в течение 10 мин. Отделившуюся сыворотку хранили в морозильной камере при температуре -20°C . Для получения плазмы кровь забирали непосредственно в специальные пробирки, стенки которых покрыты тонким слоем ЭДТА (этилендиаминтетраацетат), и центрифугировали в течение 10 минут со скоростью 2000 об/мин. Плазму хранили при температуре -20°C .

Изучение уровня АКТГ и кортизола в крови проводилось у крыс обеих групп до, в различные сроки беременности (4-5-й и 20-21-й дни) и действия стресса, а также у их потомства в первые 4-5 дней после их рождения. Этот период в акушерской практике рассматривается в качестве перинатального (от 21-22-го дня внутриутробного развития до 7-го дня после рождения) или раннего неонатального периода.

Результаты и обсуждение

Проведен сравнительный анализ содержания стрессреализующих гормонов – АКТГ и кортизола – в крови небеременных и беременных крыс, а также у потомства последних в динамике развития беременности и в условиях действия на них психоэмоционального стресса.

Как показали исследования, содержание АКТГ и кортизола в крови крыс в динамике развития беременности претерпевает определенные изменения (табл.). Так, если содержание АКТГ и кортизола у небеременных крыс составляло $53,55 \pm 6,62$ пг/мл и $103,5 \pm 16,54$ нг/мл соответственно, то на 4-5-й день беременности оно доходило до $89,97 \pm 3,77$ пг/мл ($p < 0,01$) для АКТГ и $219,34 \pm 33,49$ нг/мл ($p < 0,001$) для кортизола, а к 20-21-му дню $73,47 \pm 2,83$ пг/мл ($p < 0,05$) для АКТГ и $196,3 \pm 41,05$ нг/мл ($p < 0,05$) для кортизола, это свидетельствует о том, что беременность приводит к повышению их уровня в динамике ее развития (табл.). Интересно, что в конечные сроки беременности содержание исследуемых гормонов несколько понижается и приближается к исходным показателям. Эти изменения, как мы полагаем, можно объяснить с позиций оценки состояния беременности как тревожности с характерным для таких состояний возрастанием уровня стрессреализующих гормонов в крови. Следует также допустить, что наблюдаемое на поздних сроках развития беременности понижение их уровня по сравнению с показателями, зарегистрированными в начальные

сроки беременности, может быть следствием адаптационных перестроек организма беременных в конечные сроки беременности, что совпадает с мнением и других авторов [7,12,16].

Таким образом, следует заключить, что беременность, как динамично развивающийся физиологический процесс, сопровождается колебаниями уровня стрессреализующих гормонов в крови с повышением их содержания, особо выраженным в ранние сроки беременности, и понижением в поздние.

Существенные изменения обнаружены и при сравнительном анализе изменений уровня АКТГ и кортизола в крови беременных крыс до и после действия психоэмоционального стресса. Причем эти изменения отчетливо проявляются как при сравнительном анализе данных у одних и тех же крыс до и в различные сроки беременности и действия стресса (анализ данных по горизонтали), так и при сравнении результатов, полученных в одни и те же сроки исследования у не подвергнутых и подвергнутых стрессу беременных крыс (анализ по вертикали).

Таблица
Содержание АКТГ и кортизола в крови беременных крыс, перенесших стресс, и у их потомства

Группы животных	Сроки исследования и определяемые гормоны							
	За 1 день до беременности		4-5-й день беременности		20-21-й день беременности		3-4-й день после родов	
	АКТГ, пг/мл	кортизол, нг/мл	АКТГ, пг/мл	кортизол, нг/мл	АКТГ, пг/мл	кортизол, нг/мл	АКТГ, пг/мл	кортизол, нг/мл
Беременные крысы (контроль)	53,55±6,62	103,5 ± 16,54	89,97±3,77 p<0,01	219,34 ± 33,49 p<0,001	73,47±2,83 p<0,05	196,3 ± 41,05 p<0,01	-	-
Беременные крысы (стресс с 1-го по 20-й день беременности)	56,85±4,93	105,2 ± 18,23	110,01±5,94	275,94 ± 53,95	77,74±5,12	211,04 ± 33,81	-	-
Показатели достоверности (p)	по горизонтали		p<0,001	p<0,01	p<0,05	p<0,001		
	по вертикали		p<0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05		
Крысята контрольной группы беременных крыс	-	-	-	-	-	-	126,6±3,34	16,76 ± 3,96
Крысята стресс-группы беременных крыс	-	-	-	-	-	-	177,7±6,28 p<0,001	23,32 ± 3,86 p<0,001

Как видно из представленных в таблице данных, у беременных крыс, подвергнутых стрессу, наблюдается достоверное возрастание уровня

АКТГ и кортизола в крови на 4-5-й день развития беременности ($56,85 \pm 4,93$ пг/мл для АКТГ и $105,2 \pm 18,23$ нг/мл для кортизола за 1-2-й день до беременности и $110,01 \pm 5,94$ пг/мл для АКТГ и $275,94 \pm 53,95$ нг/мл для кортизола на 4-5-й день беременности, сопровождающейся воздействием стрессора, начиная с первого дня беременности). Действие стрессора на протяжении всего периода беременности (до 20-21-го дня) также сопровождается повышением уровня исследуемых стрессреализующих гормонов, хотя и менее выраженным по сравнению с 4-5-м днем исследований. Аналогичной направленности достоверные изменения обнаружены и при сравнительном анализе данных, полученных у не подвергнутых и подвергнутых стрессу беременных крыс. Причем, следует подчеркнуть, что хотя уровень гормонов у стрессированных крыс к концу беременности несколько понижается ($77,74 \pm 5,12$ пг/мл для АКТГ и $211,04 \pm 33,81$ нг/мл для кортизола), он оказывается выше таковых, зарегистрированных у неподвергнутых стрессу беременных в те же сроки исследования: для АКТГ на 5,8% ($73,47 \pm 2,83$ пг/мл) и для кортизола на 7,5% ($196,3 \pm 41,05$ нг/мл).

Интересными представляются данные о колебаниях уровня АКТГ и кортизола у крысят, родившихся от беременных крыс, неподвергнутых и подвергнутых стрессу. Так, содержание АКТГ и кортизола в крови крысят, матери которых не подвергались действию психоэмоционального стресса, составляет соответственно $126,6 \pm 3,34$ пг/мл для АКТГ и $16,76 \pm 3,96$ нг/мл для кортизола. Уровень АКТГ в крови крысят, перенесших пренатальный стресс, возрос и составил $177,7 \pm 6,28$ пг/мл ($p < 0,001$), а кортизола $23,32 \pm 3,86$ нг/мл ($p < 0,001$). В литературе имеются противоречивые мнения по данному факту. По мнению ряда авторов, уже в первые дни после рождения надпочечники и гипофиз новорожденного активно функционируют [3,11]. Надпочечники новорожденного могут продуцировать кортикостероиды сразу после рождения [28] и к концу 2-й недели жизни обеспечивают такую же секрецию кортизола, как взрослые [23].

Таким образом, в условиях действия психоэмоционального стресса наблюдается возрастание уровня стрессреализующих гормонов как в крови беременных крыс, так и у их потомства. Следует, однако, отметить, что не у всех крыс действие стресса сопровождалось изменением уровня АКТГ и кортизола в крови. Примерно в 15-20% случаев изменений в содержании гормонов после действия стресса не обнаружено, это свидетельствует о том, что определенная часть беременных крыс стресс-ареактивна. Анализ литературы показывает, что как среди животных, так и у людей обоих полов есть стресс-ареактивные субъекты, количество которых колеблется в пределах 5-10%. Клинические и экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что в однотипных условиях нервно-эмоционального напряжения обнаруживаются отчетливые индивидуаль-

ные различия в устойчивости людей к эмоциональному стрессу [2,4,8 – 10,14].

Эти данные почти в 2-2,5 раза ниже полученных нами показателей, что указывает на то, что беременность каким-то образом повышает степень резистентности организма к действию стрессогенных факторов среды. Это, как мы полагаем, может быть связано с изначальным возрастанием уровня стрессреализующих гормонов в крови беременных крыс с соответствующим повышением их резистентности к действию различных раздражителей.

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что беременность сопровождается активацией деятельности стрессреализующей системы, что следует рассматривать в качестве адаптивного механизма, мобилизующего защитно-приспособительные возможности при беременности. Наблюдаемые колебания уровня стрессреализующих гормонов в крови беременных крыс, переносящих стресс, и у их потомства, в свою очередь, указывают на усиление адаптационно-трофических процессов в организме пренатально стрессированных крыс и у их потомства. С учетом того, что одним из механизмов действия гормонов является их морфогенетическое влияние, не исключено, что возрастание уровня гормонов в крови пренатально стрессированных крыс может привести к определенным изменениям формирования органов и систем плода у беременных крыс, переносящих стресс, с определенными изменениями их деятельности в постнатальном онтогенезе, на что указывают и другие исследования [2,17,18].

Поступила 27.03.14

Հոգեհուզական սթրեսի ազդեցությունը ԱԿՏՀ-ի և կորտիզոլի պարունակության վրա արյան մեջ հղի առնետների ու նրանց սերնդի մոտ

**Դ.Ն. Խուդավերդյան, Մ.Յու. Մարոյան, Ա.Դ. Խուդավերդյան,
Հ.Ա. Հարությունյան**

Իմունաֆերմենտային վերլուծության մեթոդով քրոնիկ սթրեսի ենթարկված և չենթարկված առնետների, ինչպես նաև նրանց սերունդների մոտ՝ վաղ հետծննդյան շրջանում որոշվել են արյան ԱԿՏՀ-ի և կորտիզոլի քանակությունները: Ինչպես հղիության զարգացման դինամիկայում, այնպես էլ ողջ հղիության ընթացքում սթրեսի ենթարկված առնետների խմբերում նկատվել է ԱԿՏՀ-ի և կորտիզոլի քանակի ավելացում, որն առավել արտահայտված է եղել սթրեսի ենթարկված առնետների խմբում: Ընդ որում, որպես կանոն, հղիության վաղ ժամ-

կետներում (4-5 օրական) հորմոնների քանակը ավելի բարձր էր, քան հղիության վերջում (20-21 օրական): Հորմոնների քանակի ավելացում նկատվել է նաև ձագերի արյան մեջ:

Քննարկվում են նկատված փոփոխությունների և դրանց հետևանքների հնարավոր մեխանիզմները:

Psycho- emotional stress influence on ACTH and cortisol content in the blood of pregnant rats and their offspring

**D.N. Khudaverdyan, M.Yu. Saroyan, A.D. Khudaverdyan,
H.A. Haroutyunyan**

We conducted a study of ACTH and cortisol content in the blood of pregnant rats and their offspring, which had been subjected to the chronic stress action in the early postnatal development, using ELISA.

In experimental and sham rats blood there was detected an increase of the content of ACTH and cortisol, more pronounced in animals subjected to stress. Moreover, as a rule, the content of hormones in the early stages of pregnancy (days 4-5) was higher than that determined at the end of the pregnancy (20-21 days) and the action of stress. An increase in the level of hormones was found in the blood of the offspring also.

There are discussed possible mechanisms of the revealed changes and their consequences.

Литература

1. *Аведисова А.С.* Тревожные расстройства. В кн: Александровский Ю.А. "Психические расстройства в общемедицинской практике и их лечение". М., 2004, с. 66-73.
2. *Бобровицкий И.П., Кукишин Ю.А., Усов В.М.* Актуальные вопросы создания экспертно-консультативных систем. Клинико-физиологические аспекты мед. реабилитации летного состава: Тез. Научно-практ. конф. Гатчина, 1996, с. 21-22.
3. *Вельтищев Ю.Е., Лебедев В.Л., Калмыкова И.Н.* Физиология коры надпочечников. В кн.: Таболин В.А. Функции надпочечников у плодов, новорожденных и грудных детей. М., 1975, с. 43-70.
4. *Ворона А.А. и др.* Разработка средств и методов диагностики и профилактики неблагоприятного действия профессионально вредных факторов деятельности. М., ГНИИИ ВМ, 2003, с.71.
5. *Вьюшина А.В., Притворова А.В., Флеров М.А.* Влияние пренатального стресса на окислительную модификацию белков головного мозга крыс в онтогенезе. Нейрохимия, 2012, т. 29, 3, с.240-246.
6. *Грандильевская И.В.* Психологические особенности реагирования женщин на выявленную патологию беременности. Автореф. дис. ... канд. психол. наук : 19.00.04, С.-Петербург. гос. ун-т., СПб., 2004.
7. *Дмитриева Т.Б., Дроздов А.З., Коган Б.М.* Основные неспецифические системы, адаптирующие организм к острому и хроническому стрессу. Психиатрия чрезвычайных ситуаций. Руководство. М., 2004, с. 8-41.

8. *Кантур В.А., Яцков А.П.* К вопросу о механизмах действия стрессовых факторов на организм летчиков. Стресс на рубеже 21 века. Мат. 1-й Междунар. конференции. Владивосток, 2000, с. 21-25.
9. *Китаев-Смык Л.А.* Вероятностное прогнозирование и индивидуальные особенности реагирования человека в экстремальных условиях. Вероятностное прогнозирование в деятельности человека. М., 1977, с.189-225.
10. *Мингалев А.Н., Дельянов К.В., Пухняк Д.В., Патахов П.П., Абушкевич В.Г.* Количественная оценка стрессоустойчивости у студентов. Медицинские науки, 2009, 9, с. 57-60.
11. *Мицкевич М.С.* Гормональные регуляции в онтогенезе животных. М., 1978.
12. *Пиенникова М.Г.* Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии. Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 2000, 3, с. 20-26.
13. *Резников А.Г., Пишак В.П., Носенко Н.Д., Ткачук С.С., Мыслицкий В.Ф.* Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология. Черновцы, Медакадемия, 2004, с. 320.
14. *Селье Г.* Стресс без дистресса. пер. с англ., М., 1982, с. 126.
15. *Татарчук Т.Ф.* Стресс и репродуктивная функция женщины. Междунар. эндокринологический журнал, 2006, 3(5) с.2-9.
16. *Ardekani A.M., Maghsudi N., Mefour A., Ghasemi R., Lakpour N., Nooshinfar E. et al.* Stress-Induced Proteomic Changes in the Hippocampus of Pregnant Wistar Rats. Avicenna Journal of Medical Biotechnology, 2011;3(4):157-166.
17. *Dodic M., Moritz K., Wintour E.M.* Prenatal exposure to glucocorticoids and adult disease. Archives of physiology and biochemistry, 2003;111(1):61-69.
18. *Federenko I.S., Wadhwa P.D.* Women's mental health during pregnancy influences fetal and infant developmental and health outcomes. CNS Spectr., 2004; 9(3):198-206.
19. *Gavin N.I., Gaynes B.N., Lohr K.N., Meltzer-Brody S., Gartlehner G., Swinson T.* Perinatal depression: a systematic review of prevalence and incidence. Obstetrics & Gynecology, 2005;106:5(Part 1):1071-1083.
20. *Heim C., Nemeroff C.B.* The impact of early adverse experiences on brain systems involved in the pathophysiology of anxiety and affective disorders. Biological psychiatry, 1999;46(11):1509-1522.
21. *Levitt N.S., Lambert E.V., Woods D., Hales C.N., Andrew R., Seckl J.R.* Impaired glucose tolerance and elevated blood pressure in low birth weight, nonobese, young South African adults: early programming of cortisol axis. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2000 Dec;85(12):4611-4618.
22. *McTernan C.L., Draper N., Nicholson H., Chalder S.M., Driver P., Hewison M. et al.* Reduced placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 mRNA levels in human pregnancies complicated by intrauterine growth restriction: an analysis of possible mechanisms. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2001 Oct;86(10):4979-4983.
23. *Migeon C.J., Wall P.E., Bertrand J.* Some aspects of the metabolism of 16-C14-estrone in normal individuals. Journal of Clinical Investigation, 1959;38(4):619-629.
24. *O'Connor T.G., Heron J., Golding J., Glover V.* Maternal antenatal anxiety and behavioural/emotional problems in children: a test of a programming hypothesis. Journal of Child Psychology and Psychiatry, 2003;44(7):1925-1936.
25. *Riecher-Rössler A., Steiner M.* Perinatal stress, mood and anxiety disorders: from bench to bedside. Karger Medical and Scientific Publishers; 2005, 173, p.150-166.
26. *Seckl J.R., Nyirenda M.J., Walker B.R., Chapman K.E.* Glucocorticoids and fetal programming. Biochem. Soc. Trans., 1999;27(2):74-78.
27. *Soares C.N., Steiner M.* Perinatal depression: searching for specific tools for a closer look at this window. The Journal of clinical psychiatry, 2009;70(9):1317-1318.
28. *Venning E.H., Randall J.P., Gyorgy P.* Excretion of glucocorticoids in the newborn. Endocrinology, 1949;45(4):430-434.
29. *Weinstock M.* Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behaviour of the offspring. Progress in neurobiology, 2001;65(5):427-451.

УДК 612.822:612:826

Изменение вегетативных показателей variability сердечного ритма и фоновой импульсации висцеросенсорных нейронов ядра солитарного тракта при стимуляции супраоптического ядра гипоталамуса в условиях психоэмоционального стресса у крыс

Э.А. Аветисян^{*}, А.А. Петросян^{*}, Н.А. Саакян^{},
Л.Ю. Симонян^{**}**

^{}Институт физиологии им.акад.Л.А.Орбели НАН РА
^{**}Армянский педагогический университет
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22*

Ключевые слова: супраоптическое ядро гипоталамуса, ядро солитарного тракта, variability сердечного ритма, стресс

При воздействии сильных внешних и внутренних стрессогенных факторов, одним из которых является психоэмоциональный стресс, происходит нарушение гомеостаза организма, для восстановления которого запускаются центральные регуляторные системы лимбического мозга. Наиболее значительным звеном в контроле гомеостаза являются, в первую очередь, гипоталамические ядра, запускающие нейрогуморальные механизмы регуляции вегетативных и поведенческих реакций путем гиперактивации гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной оси (ГГАО), начальным звеном которой являются паравентрикулярное (ПВЯ) и супраоптическое ядра (СОЯ) [8-10].

Наиболее чутким индикатором дисрегуляции адаптивных реакций всего организма является сердечно-сосудистая система. Изучение вегетативных показателей деятельности сердца методом математического анализа variability ритма сердца (МА ВРС), основанного на изменении соотношения низко- и высокочастотных колебаний в ритмограмме сердца, позволяет выявить нарушение симпато-парасимпатического равновесия, степень напряженности регуляторных систем и ряд других показателей, вплоть до мельчайших отклонений от нормы, связанных с разного рода патологиями [4, 6, 7].

Среди структур мозга, обеспечивающих целенаправленную регуляцию гомеостаза, все более возрастающий интерес, наряду с ПВЯ, привлекает СОЯ гипоталамуса, реализующее выброс вазопрессина в гипофиз. Вазопрессинергические нейроны СОЯ проецируются в разные регионы

лимбического мозга, а также к стволу и спинному мозгу, однако роль СОЯ в центральной регуляции текущей импульсации висцеросенсорных нейронов ядра солитарного тракта (ЯСТ), а также его воздействия на деятельность сердечно-сосудистой системы в норме и при психоэмоциональном стрессе до настоящего времени окончательно не выяснена. В данном фрагменте исследовано влияние тетанической стимуляции СОЯ на импульсную активность нейронов медиального подъядерного образования ЯСТ, являющегося первым реле висцеральных сигналов, поступающих в ЦНС по афферентным волокнам блуждающего нерва. Методом МА ВРС изучены вегетативные показатели сердечного ритма у крыс в норме и при психоэмоциональном стрессе.

Материал и методы

Эксперименты проведены на белых нелинейных крысах массой 280-360г, анестезированных уретаном (1,2г/кг внутривенно) и обездвиженных дитилином. После соответствующего хирургического вмешательства биполярные раздражающие электроды с диаметром 100мк и межполюсным расстоянием 50мк вводились в область СОЯ гипоталамуса по координатам атласа D.Paxinos [11] (AP-1,8; L-1,3; DV-7,9-8). Экстраклеточная регистрация активности нейронов осуществлялась стеклянными микроэлектродами, которые вводились в медиальную область ЯСТ на уровне либо каудальнее задвижки.

On-line регистрация импульсной и вызванной активности нейронов ЯСТ проводилась по программному математическому анализу, разработанному В.С.Каменецким. Применялась высокочастотная пачечная стимуляция СОЯ (50, 100Гц). Запись фоновой импульсации длилась в течение 10 с, длительность тетанического стимула составляла 1 с, постстимульные изменения поведения нейронов ЯСТ регистрировались в течение 10 с в 200 либо 400мс/бине. У части интактных крыс вызывали психоэмоциональный стресс посредством долговременной иммобилизации (5 часов) животного на спине с фиксацией конечностей. Запись ЭКГ во втором стандартном отведении проводили посредством серебряных электродов у бодрствующих крыс до и сразу после 5-часовой иммобилизации. Стимуляция СОЯ осуществлялась биполярным концентрическим электродом. Анализ сердечной деятельности проводился посредством МА ВРС. Изучались наиболее значимые показатели: частота сердечных сокращений (ЧСС), вегетативный показатель ритма (ВПР) и индекс напряженности регуляторных систем (ИНРС). Данные обработаны с помощью электронной таблицы Microsoft Excel, уровень статистической достоверности определяли посредством t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Анализ результатов данного исследования выявил следующую закономерность – нейроны ЯСТ (n-60), независимо от частоты фоновой импульсации (10-120 имп/с), в большинстве случаев (56%) чувствительны к нисходящим гипоталамическим разрядам, тем не менее в период стимуляции (1 с) часть из них подвергалась резкой тетанической потенциации (n-14) либо депрессии (n-20) с последующим восстановлением или учащением фоновой ритмики. Изучение изменений импульсной активности нейронов ЯСТ в условиях стресса проведено нами лишь на 14-й день постстрессового периода, поскольку крысы не выдерживали наркоз, сложное хирургическое вмешательство и последующую стимуляцию СОЯ, в результате чего происходило резкое ухудшение дыхания и ЧСС, приводящее к гибели животного. Только на 14-й день нам удалось осуществить полную программу эксперимента.

Анализ фоновой импульсации висцеросенсорных нейронов ЯСТ (n-38) в постстрессовом периоде показал значительную флюктуацию спонтанного фонового ритма. При стимуляции СОЯ частотой 100 Гц часть нейронов реагировала тетанической потенциацией (n-10), которая постепенно угасала, достигая к 10-й секунде исходного уровня (рис. 1). Тетаническая

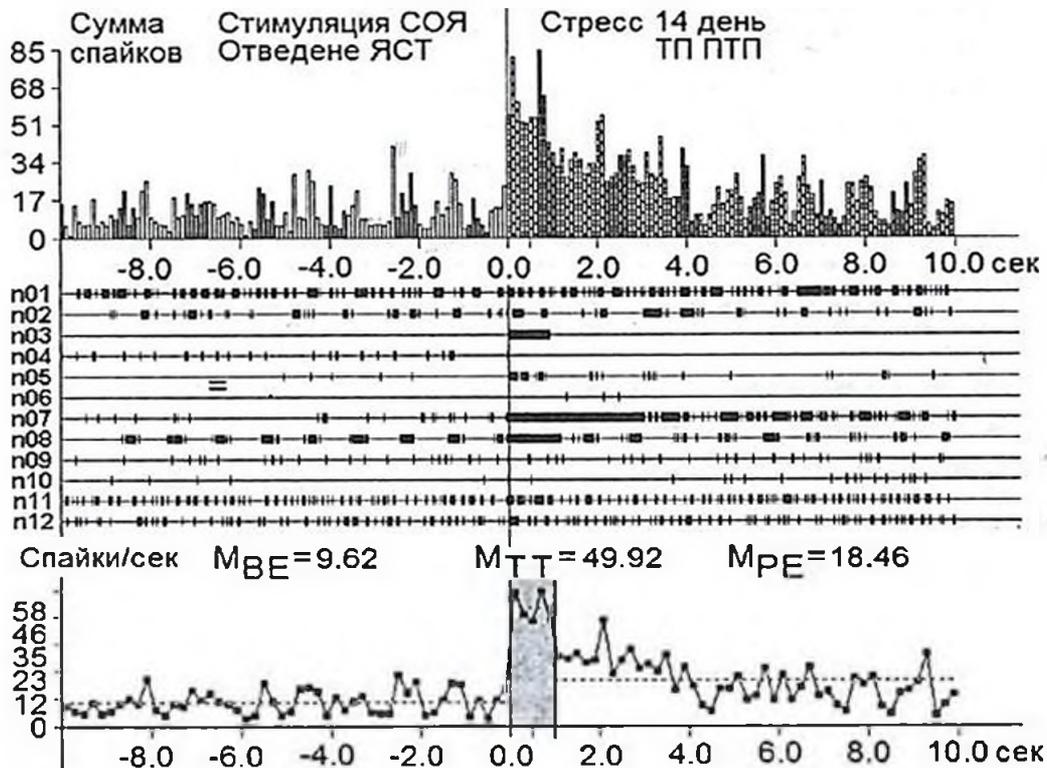


Рис. 1. Тетаническая потенциация висцеросенсорных нейронов ЯСТ при стимуляции СОЯ частотой 100 Гц

M_{BE} – показатели частоты фоновой импульсации до тетанизации (10 с); M_{TT} – во время тетанизации (1 с); M_{PE} – показатели текущей импульсации в посттетанический период

депрессия с последующим восстановлением текущей импульсации после тетанизации СОЯ выявлена нами у 20 фоновоактивных единиц ЯСТ со средней частотой импульсации 16,19 имп/с (рис.2). Остальные 8 единиц ЯСТ реагировали тоническим урежением спонтанных разрядов в период тетанизации с последующим восстановлением фонового ритма.

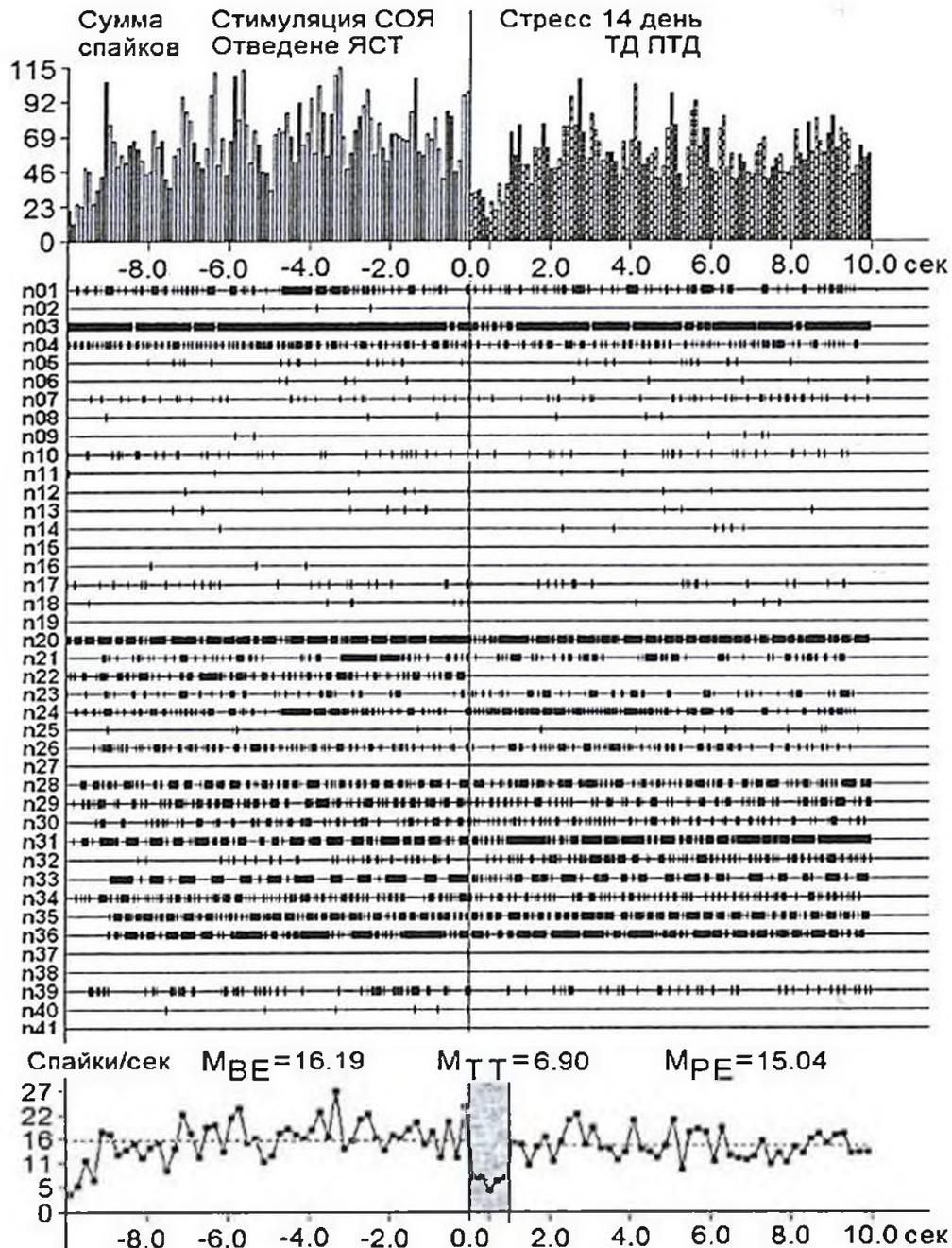


Рис. 2. Тетаническая депрессия нейронов ЯСТ при стимуляции СОЯ частотой 100 Гц. Обозначения те же, что и на рис. 1

Сопоставление ряда показателей функционального состояния регуляторных систем мозга до и в разные сроки постстрессового периода, полученных нами методом МА ВРС, выявило весьма интересные факты.

Из представленной таблицы отчетливо явствует, что психоэмоциональный стресс вызывает изменение не только ЧСС, но и его вегетативных показателей, которые не нормализуются даже на 14-й день постстрессового периода. Особое внимание привлекло резкое трехкратное повышение ИНРС и двукратное повышение ВПР сразу после снятия животного с иммобилизации, которое сохранялось в течение всего периода адаптации. Согласно мнению А.Д. Ноздрачева, такое повышение ВПР и ИНРС свидетельствует об общей активации симпатической системы организма, происходящей при психоэмоциональном стрессе, и указывает на «общий сдвиг вегетативного гомеостаза в сторону преобладания симпатической нервной системы над парасимпатической» [4, 7]. Итак, несмотря на кажущуюся нормализацию сердечного ритма, в стресс-реакцию вовлекаются интегративные системы висцерального мозга, особенно передние гипоталамические структуры, которые играют ключевую роль в гормональных механизмах центральной нейрогуморальной регуляции сердечно-сосудистой системы для восстановления симпато-парасимпатического равновесия [4, 6, 7].

Таблица
Вегетативные показатели ВРС в норме и в постстрессовый период (P<0,05)

Показатели	Контроль	Сразу после стресса	На 14-й день	
			без стимуляции СОЯ	при стимуляции СОЯ
ЧСС	280±15,6	357±19,1	290±14,1	330±16,5
ВПР	15,5±2,3	34±6,8	30±4,2	29,5±5,6
ИНРС	540±20,3	1670±35,6	1230±28,1	1320±29,6

Основываясь на данных, полученных в настоящем исследовании, предыдущих наших работах по афферентной и эфферентной нейронной организации гипоталамо-солитарного комплекса [1-3,5], а также ряда исследований о наличии прямых двусторонних связей между гипоталамическими структурами и ядром солитарного тракта [12-14], мы полагаем, что нисходящий гипоталамический разряд осуществляет постоянный тонический контроль активности парасимпатических нейронов ЯСТ для своевременной модуляции уровня активности входных висцеросенсорных нейронов, принимающих импульсацию по афферентным волокнам блуждающего нерва в области первого центрального реле по принципу возвратного “feedback” механизма, как в норме, так и в условиях стресса, способствуя быстрой адаптации организма для восстановления гомеостаза.

Առնետների սրտային ռիթմի փոփոխականության վեգետատիվ ցուցանիշների և մենավոր ուղու կորիզի ընդերազգայական նեյրոնների ֆոնային իմպուլսացիայի փոփոխությունները հիպոթալամուսի սուպրասպտիկ կորիզի խթանման ժամանակ հոգեհուզական սթրեսի պայմաններում

Է.Ա. Ավետիսյան, Ա.Ա. Պետրոսյան, Ն.Ա. Սահակյան, Լ.Յ. Միմոնյան

Ուրետանով թմրեցված և դիտիլինով անշարժացված ոչ գծային սպիտակ առնետների մոտ ուսումնասիրվել է հիպոթալամուսի սուպրասպտիկ կորիզի (ՍՕԿ) վայրեջ ազդեցությունը մենավոր ուղու կորիզի (ՄՈւԿ) միջին ենթակորիզային շրջանի ընդերազգայական նեյրոնների (n-40) ընթացիկ իմպուլսային ակտիվության վրա: Դիտվել է ՄՈւԿ-ի նեյրոնների զգալի ռեակտիվություն (56%) հիպոթալամիկ վայրեջ պարպման նկատմամբ՝ դրոշմ էֆեկտի գերիշխմամբ: ՍՕԿ-ի 1 վրկ տևողությամբ և 100 Հց հաճախականությամբ զրգիորը ուսումնասիրվող նեյրոններում առաջացնում է կամ տետանիկ պոտենցիալացիա, կամ դեպրեսիա, որին հաջորդում է ռիթմի վերականգնումը, երբեմն՝ հաճախացումը: Հոգեհուզական սթրեսի պայմաններում սրտի ռիթմի փոփոխականության մաթեմատիկական վերլուծման մեթոդով ուսումնասիրվել են որոշ ցուցանիշներ՝ սրտի կծկումների հաճախականությունը (ՄԿՀ), ռիթմի վեգետատիվ ցուցանիշը (ՌՎՑ), կարգավորող համակարգերի լարվածության ինդեքսը (ԿՀԼԻ): Բացահայտվել է ուսումնասիրվող ցուցանիշների կտրուկ բարձրացում, հատկապես ԿՀԼԻ-նը՝ զրեթե 3 անգամ նորմայի համեմատ, որոնք մնացել են այդ մակարդակին մինչև հետսթրեսային 14-րդ օրը (540, 1670, 1320, պ. մ. համապատասխանաբար), ինչն, ըստ երևույթին, պայմանավորված է ուղեղի լիմբիկ համակարգերի ներգրավմամբ սիմպաթո-պարասիմպաթիկ հավասարակշռությունը պահպանելու համար, որի ապացույցն է նաև ՄՈւԿ-ի նեյրոնների արգելակումը ՍՕԿ-ի խթանման պայմաններում հետսթրեսային 14-րդ օրը՝ վազովազալ ռեֆլեքսների իրականացումը ապահովելու համար, դրանով իսկ պահպանելով ընդերային հոմեոստազը:

The change of vegetative indices of heart rate variability and background impulses of viscerosensory neurons of the solitary tract nucleus by stimulation of the hypothalamic supraoptic nucleus under a psychoemotional stress in rat

E.A. Avetissian, A.A. Petrossian, N.A. Saakyan, L.U. Simonyan

On anesthetized with urethane and immobilized by ditilin white nonlinear rats we studied the descending influence of supraoptic nucleus (SON) of the hypothalamus on the character of changes in the current impulses of viscerosensory neurons of the medial subnuclear region of the solitary tract nucleus (NTS) (n-40). A significant reactivity (56%) of solitary neurons descending hypothalamic discharges with the prevalence of excitatory effects was registered. Tetanic stimulation of SON with 100 Hz for one second causes potentiation or depression of studied units during tetanization followed by reduction or increased frequency of background rhythm. By mathematical analysis of heart rate variability (MA HRV) there have been studied some indices of heart rate variability: heart rate, vegetative index of rhythm and the index of tension of regulatory systems (ITRS) under the emotional stress. A sharp increase in all investigated parameters, especially ITRS, which increases three times compared to the control, and remained almost on the same level till the 14th day of the post-stress period (540, 1670, 1320 c.u., respectively), suggesting the involvement of limbic structures of brain to restore the sympathetic- parasympathetic balance. The proof of this is also the predominance of inhibitory effects of NTS neurons with high-frequency stimulation of SON on the 14th day of the post-stress period, ensuring the implementation of vago-vagal reflexes to maintain the visceral homeostasis.

Литература

1. *Аветисян Э.А., Петросян А.А., Саакян Н.А.* Характер влияния паравентрикулярного ядра гипоталамуса на импульсную активность висцеросенсорных нейронов ядра солитарного тракта и вариабельность сердечного ритма при психоэмоциональном стрессе у крыс. В сб. материалов Всероссийской конференции: «Функциональная межполушарная асимметрия и пластичность мозга», М., 13–14 декабря 2012, с.231-235.
2. *Аветисян Э.А., Петросян А.А.* Влияние стимуляции некоторых лимбических структур на фоновую и вызванную активность вагосенситивных нейронов ядра солитарного тракта. В сб.: Актуальные проблемы интегративной деятельности и пластичности нервной системы. Мат. конференции с международным участием. Ереван, 2009, с.7-11.
3. *Адамян Ф.А., Саркисян С.Г., Аветисян Э.А.* Вызванные потенциалы и реакции нейронов гипоталамуса при раздражении ядра солитарного тракта. Центральные и периферические механизмы вегетативной нервной системы. Ереван, 1985.
4. *Баевский Р.М., Кириллов О.И., Клецкин С.З.* Математический анализ сердечного ритма при стрессе. М., 1984.
5. *Баклаваджян О.Г., Адамян Ф.А., Саркисян С.Г., Аветисян Э.А.* Реакции нейронов различных структур гипоталамуса на раздражение висцеросенсорной области ядра

- одиночного пучка продолговатого мозга. Физиологический журнал СССР, 1982; 70(8):1100-1107.
6. *Котельников С.А., Ноздрачев А.Д., Одинак М.М., Шустов Е.Б., Коваленко И.Ю., Давыденко В.Ю.* Вариабельность ритма сердца: представление о механизмах. Физиология человека, 2002; 26(1):130-141.
 7. *Ноздрачев А.Д., Щербатых Ю.В.* Современные способы оценки функционального состояния автономной (вегетативной) нервной системы. Физиология человека, 2004, 27(6):95-101.
 8. *Судаков К.В.* Новые акценты классической концепции стресса. Бюл. exper. биологии и медицины, 1997; 123(2):124-130.
 9. *Шаляпина В.Г., Ракицкая В.В.* Реактивность гипофизарно-адренкортикальной системы на стресс у крыс с активной и пассивной стратегиями поведения. Российский физиологический журнал им.И.М.Сеченова, 2009, 89(5):585-590.
 10. *Herman J.P., Ostrander M.M., Muebler M.K. et al.* Limbic system mechanisms of stress regulation: Hypothalamo-pituitary adrenocortical axis. Prog. Neuropharmacol. Biol. Psychiatry, 2005; 29(8):1201-1213.
 11. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier Academic Press, 5th ed., San Diego, CA, 2005.
 12. *Sukimoto T., Toyhama M., Satoh K., Kinugasa T., Tanizawa O., Kurachi K., Shimizu N.* Afferent fiber connections from lower brain stem to hypothalamus studied by the horseradish peroxidase method with special reference to noradrenaline innervation. Exp. Brain Res., 1978; 31(1):81-94.
 13. *Saper C.B., Loewy A.D., Swanson L.W., Cowan W.M.* Direct hypothalamo autonomic connections. Brain Res., 1976; 117:305-312.
 14. *Sawchenko P.E., Swanson L.W.* Immunohistochemical identification of neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus that project to the medulla or the spinal cord in the rat. J.Comp. Neurol., 1982; 205(3):260-272.

УДК 577.178.14+616.379-008.64+616-092.4/9

Иммунорфологическая характеристика процессов репликации и неогенеза инкреторных клеток поджелудочной железы крыс на индуцированной модели стрептозотоцинового диабета

Е. М. Агаджанова

*Кафедра эндокринологии, Научно-исследовательский центр
ЕГМУ им.М.Гераци
0025, Ереван, ул.Корюна, 2*

Ключевые слова: диабет, поджелудочная железа, β -клетки, репликация, неогенез, BrdU-позитивные клетки

Стрептозотоциновая модель диабета в настоящее время является наиболее приемлемой для изучения механизмов, лежащих в основе поражения β -клеток островкового аппарата и формирования репаративно-пролиферативных процессов, направленных на восстановление структуры и инкреторной функции поджелудочной железы [1,3,4,10].

При изучении механизмов повреждения островков Лангерганса отмечается определенное противоречие между значимостью местных, локальных провоцирующих факторов, с одной стороны, а с другой – нарушением системной регуляции и, в первую очередь, иммунной и нейроэндокринной систем [2,5,6]. Более того, работами израильских исследователей [8] показано, что степень пролиферации взрослых β -клеток *in vivo* и их регенерация, следующая за действием повреждающих агентов, контролируются системными факторами.

Несмотря на многочисленные исследования, проведенные на модели стрептозотоцинового стресса, и по сей день отсутствуют научные разработки, посвященные структурным изменениям инкреторного аппарата именно в динамике течения регионального патологического процесса. В связи с этим открытым остается также вопрос, касающийся механизмов восстановления структуры и функции эндокриноцитов, т.е. путем неогенеза или репликации.

Целью настоящего исследования послужило изучение структурных изменений в островковом аппарате поджелудочной железы в динамике течения индуцированного в эксперименте стрептозотоцинового диабета.

Материал и методы

Опыты ставились на 48 белых крысах-самцах массой 180-200г. Животные были разделены на две группы: контрольную и опытную. Животным опытной группы (36 крыс) однократно внутрибрюшинно вводили стрептозотоцин (Sigma, США) в дозе 55 мг/кг. Животные опытной группы были подразделены на три подгруппы. Животные первой подгруппы выводились из эксперимента на 2-е сутки после введения стрептозотоцина, животные второй – на 4-е сутки, третьей – на 8-е сутки эксперимента. Животные выводились из эксперимента путем декапитации, под нембуталовым наркозом (40 мг/кг в/б). Работа проводилась в соответствии с требованиями ЕС по работе с лабораторными животными и была одобрена Этическим комитетом ЕГМУ.

Парафиновые срезы окрашивались гематоксилин-эозином и азур II эозином. Свежезамороженные криостатные срезы подвергали иммуноферментному анализу на предмет выявления в поджелудочной железе BrdU-позитивных клеток с целью выявления наличия пролиферации [7]. Указанный иммуноферментный анализ проводили согласно предложенной Schutte V. et al. схеме [9]. Животным контрольной и опытных подгрупп внутрибрюшинно однократно вводили 5-bromodeoxyuridine (BrdU) (Sigma, США) в дозе 50 мг/кг, через час после этого животных забивали. Готовили свежезамороженные криостатные срезы, которые фиксировали в метиловом спирте в течение 30-40 мин. После фиксации срезы инкубировали в 2 N HCl в течение 30 мин при 37°C. Препарат промывали в 0,1M фосфатном буфере, после чего на срезы наносили 0,1M боратный буфер, pH 8,5. После промывания и высушивания на препараты наносили моноклональную мышиную сыворотку против 5-bromodeoxyuridine (Sigma, США) в разведении 1:40. Через 40 минут препарат промывали в 0,1 M фосфатном буфере, высушивали. После высушивания на срезы наносили меченную ФИТЦ козлиную сыворотку против IgG мыши (Sigma) в разведении 1:10. Препарат промывали три раза 0,1M фосфатным буфером, высушивали и просматривали под люминесцентным микроскопом BOECO (Германия).

Результаты и обсуждение

На 2-е сутки после введения стрептозотоцина в поджелудочной железе доминировали катаболические процессы, с преимущественной их локализацией в инкреторном аппарате. Структурным проявлением этих процессов выступали альтерационные изменения в островках Лангерганса. Так, в большинстве островков наблюдались признаки дисконфлексии инкреторных клеток, вакуолизация цитоплазмы, некроз и рексис ядер. В тех же островках весьма часто встречались очаги микронекроза.

На 4-е сутки после введения стрептозотоцина в поджелудочной железе продолжали доминировать катаболические процессы. Однако на этом фоне имело место оживление репаративно-пролиферативных процессов как в экзо-, так и в эндокринном аппарате, которые носили очаговый характер. Так, весьма часто встречались мелкие лентовидной конфигурации инкреторные островки с относительно компактной ориентацией в них секреторных клеток. Как правило, подобные островки выделялись в непосредственной близости от внутريدольковых протоков. В отдельных относительно крупных островках, в которых ранее наблюдались сугубо деструктивные процессы, на 4-е сутки эксперимента наблюдались признаки репликации эндокриноцитов. "Новые" секреторные клетки (единичные) выявлялись повсеместно, как на периферии островков – в участках локализации α -инкреторных клеток, так и в центральных отделах – в участках преимущественной локализации β -клеток. Цитоплазма подобных гипертрофированных клеток выглядела слабобазофильной, резко вакуолизированной, ядра – гиперхромными, в состоянии пикноза. В отдельных межацинарных и междольковых протоках наблюдались признаки активации эпителиоцитов, которые носили сугубо очаговый характер. Как показали результаты иммуноморфологического анализа, именно в островках, в которых, наряду с дистрофическими и деструктивными изменениями, имели место репаративно-пролиферативные сдвиги, в структурно "сохранных" единичных инкреторных клетках наблюдалось специфическое свечение, которое свидетельствовало о наличии накопления BrdU в составе ядер новообразованных секреторных клеток. Аналогичное специфическое свечение было зарегистрировано в отдельных клетках, выстилающих внутреннюю поверхность межацинарных и междольковых протоков. Наличие единичных BrdU-позитивных клеток наблюдалось также и в отдельных ацинусах, особенно в участках, прилежащих к панкреатическим протокам.

На 8-е сутки после введения стрептозотоцина в поджелудочной железе доминировали анаболические процессы, которые наиболее рельефно проявлялись в ее инкреторном аппарате. Так, весьма часто встречались относительно крупные овальной формы островки Лангерганса, в которых цитоархитектоника инкреторных клеток была сохранена. Эндокриноциты характеризовались равномерным и относительно компактным расположением по всему периметру островков. В отличие от предыдущего срока наблюдения (на 4-е сутки после введения стрептозотоцина) признаков неогенеза инкреторных клеток в панкреатических островках не наблюдалось.

Таким образом, на модели стрептозотоцинового диабета были изучены структурные изменения в эндокринном и экзокринном аппарате поджелудочной железы в динамике течения регионального патологического процесса. На конкретном этапе течения экспериментального

индуцированного диабета у крыс (на 4-е сутки эксперимента) в островковом аппарате поджелудочной железы и в ее протоках наблюдались признаки оживления репаративных процессов. Выявлены также возможные региональные механизмы восстановления указанных микроструктур поджелудочной железы, о чем свидетельствует обнаружение BrdU-позитивных клеток по итогам проведенного нами иммуноферментного анализа. Восстановление структурной организации островкового аппарата происходило за счет регенерации «выживших» β -клеток, т.е. путем репликации. Альтернативным источником появления новых инкреторных клеток, согласно данным иммуноморфологического анализа на предмет выявления BrdU-позитивных клеток, служили эпителиоциты внутريدольковых и междольковых протоков. В данном случае восстановление массы β -клеток островкового аппарата происходило за счет "трансформации" эпителиоцитов в эндокриноциты.

Поступила 28.04.14

**Շաքարախտի ստրեպտոզոտոցինային մոդելի վրա
ենթաստամոքսային գեղձի ինկրետոր բջիջների ռեպլիկացիայի և
նեոգենեզի իմունաձևաբանական բնութագիրը**

Ե. Մ. Աղաջանովա

Առնետների մոտ ինդուկցված ստրեպտոզոտոցինային շաքարախտի ժամանակ իմունաձևաբանական եղանակներով ուսումնասիրվել են ռեպարատիվ-պրոլիֆերատիվ շարժընթացի առանձնահատկությունները: Հայտնաբերվել են BrdU-դրական բջիջներ, ինչը վկայում է տեղային մեխանիզմների առկայության մասին, որոնք ընկած են ենթաստամոքսային գեղձի կղզյակային կառույցի β -բջիջների ռեպլիկացիայի և նեոգենեզի հիմքում:

**Immunomorphological characteristics of the replication processes
and neogenesis in incretory cells of pancreas in streptozotocin-
induced model of diabetes in rats**

Y. M. Aghajanova

By means of immunomorphological methods the character and the peculiarities of the reparative-proliferative processes were studied in dynamics of streptozotocin-induced diabetes in rats. There were revealed BrdU-positive

cells that is evidence of regional mechanisms of pancreatic islands β -cells replication and neogenesis.

Литература

1. *Aghajanova Y.M., Mkrtychyan L.N., Zilfyan A.V., Avagyan S.A.* Immune-endocrine antitumor modulator dependent mechanisms in restoration of the incretory function of pancreas in streptozotocin-induced rat model of diabetes. *The New Armenian Med. J.*, 2012; 6(4): 25-35.
2. *Aghajanova Y.M.* EATM decreases *ex vivo* releasing of NADPH-oxidases from erythrocyte membranes and blood serum of patients with diabetes types 1 and 2. *The New Armenian Med. J.*, 2013; 7(3): 23-31.
3. *Belkacemi L., Selselet-Attou G., Hupkens E., Ngudjoe E., Louchami K., Sener A., Malaisse W.* Intermittent fasting modulation of the diabetic syndrome in streptozotocin-injected rats. *Int. J. Endocrinol.* Published online, 2012 January 12. doi: 10.1155/2012/962012.
4. *Bernard K., Berthault M-F., Saulnier C., Ktirza A.* Neogenesis vs. apoptosis as main components of pancreatic β -cell mass changes in glucose-infused normal and mildly diabetic rats. *The FASEB J.*, 1999; 13(10): 1195-1205.
5. *Gatford K.L., De Blasio M.J., How T.A., Harland M.L., Summers-Pearce B.L., Owens J.A.* Testing the plasticity of insulin secretion and β -cell function in vivo: responses to chronic hyperglycaemia in the sheep. *Exp. Physiol.*, 2012; 97(5): 663-675.
6. *Heit J.J., Karnik S.K., Kim S.K.* Intrinsic regulators of pancreatic beta-cell proliferation. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 2006; 22: 311-338.
7. *Henry Sh., Bigler, Wang J.* High throughput analysis of neural progenitor cell proliferation in adult rodent hippocampus. *Biosci. Trends*, 2009; 3(6): 233-238.
8. *Porat Sh., Weinberg-Corem N., Tomovsky-Babaey Sh., Schyr-Ben-Haroush R., Hija A. et al.* Control of pancreatic β -cell regeneration by glucose metabolism. *Cell Metabol.*, 2011; 13: 440-449.
9. *Schutte B., Reynders M.M., van Assche C.L., Hupperets P.S., Bosman F.T., Blijham G.H.* An improved method for the immunocytochemical detection of bromodeoxyuridine labeled nuclei using flow cytometry. *Cytometry*, 1987; 8(4): 372-376.
10. *Zhang Y., Zhang Y., Bone R.N., Cui W., Peng I-B. et al.* Regeneration of pancreatic non β -endocrine cells in adult mice following a single diabetes-inducing dose of streptozotocin. *PLoS ONE*, 2012, 7(5): e36175. doi:10.1371/journal.pone0036675).

УДК 577.17

Терапия холиновыми эфирами N-замещённых- α , β -дегидроаминокислот субклинического гипотиреоза у крыс (сообщение 1)

Т. С. Хачатрян¹, В. О. Топузьян², Г.А. Геворкян³

¹Институт прикладных проблем физики НАН РА

²Научно-технологический центр органической и
фармацевтической химии НАН РА

³Институт биохимии им. Г.Х. Бунятына НАН РА
0014, Ереван, ул. Паруйра Севака, 5/1

Ключевые слова: щитовидная железа, субклинический гипотиреоз, иммуноферментный анализ, возрастные группы, тиреотропный гормон гипофиза, тироксин, трийодтиронин, холиновые эфиры N-замещённых- α , β -дегидроаминокислот

Установление протекторной роли холиновых эфиров N-замещённых- α , β -дегидроаминокислот (ХЭА) при патологии щитовидной железы (ЩЖ) типа субклинического гипотиреоза (СГТ) у крыс разных возрастных групп (ВГ) в отношении концентрации тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ) и тиреоидных гормонов (ТГ) в сыворотке крови породило надежды на искоренение этого заболевания [1, 7, 9]. Однако, учитывая специфичность этиологии СГТ и химической структуры ХЭА, высказано предположение о необходимости исследования действия данных химических соединений в сверхмалых дозах (СМД) [8]. Известно, что холин (от греч. choly – жёлчь), гидроокись 2-оксиэтилтриметиламмония $[(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}]\text{OH}^-$. Из холина в организме животных синтезируется ацетилхолин – один из важнейших химических передатчиков нервных импульсов [14]. В корригировании соматических и нейрогенных нарушений не второстепенна роль эфиров и амидов холина, заслуживающих существенного внимания с точки зрения особенностей их синтеза и биологической активности [2, 10, 11]. ХЭА осуществляется ряд важнейших функций в организме млекопитающих [4].

Исходя из вышеотмеченного, в данных сериях исследований изучена роль сочетанного воздействия двух синтетических производных холина, относящихся к ХЭА: холинового эфира N- (4- бромбензоил) - О -

изопропил - α , β - дегидротирозина (ХДА) и холинового эфира N - (2-метоксибензоил) - O - изопропил - α , β - дегидротирозина (ЭДА) в СМД 10^{-17} М в сыворотке крови у крыс с СГТ одно-, трёх- и десятимесячного возраста, посредством высокоспецифичного метода иммуноферментного анализа (ИФА).

Материал и методы

В Научно-технологическом центре органической и фармацевтической химии НАН РА под руководством докт. хим. наук, проф. Топузяна В. О. осуществлён синтез ХДА и ЭДА, являющимися синтетическими аналогами нейромедиатора ацетилхолина, играющего существенную роль в системе нейроэндокринной регуляции организма [2, 3]. Последующие исследования проведены в Институте прикладных проблем физики НАН РА на 150 крысах-самцах, 3 ВГ: одномесячных, трёхмесячных и десятимесячных, в условиях полухронического эксперимента. Животные были разделены на 3 группы: I – интактные крысы 3 ВГ – 30 шт. (по 10 в каждой ВГ); II – контрольные крысы 3 ВГ с СГТ – 60 шт. (по 20 в каждой ВГ); III – крысы с СГТ 3 ВГ, получавшие сочетанные внутримышечные инъекции ХДА и ЭДА в СМД 10^{-17} М в течение 14 послеоперационных дней, – 60 шт. (по 20 в каждой ВГ). СГТ вызывали посредством тиреоидэктомии (ТЭК) [5]. После ТЭК и окончания дачи ХЭА у исследуемых животных всех ВГ была проведена декапитация и осуществлён забор крови. Затем посредством метода ИФА в сыворотке крови определялась концентрация ТТГ, общего Т3 и общего Т4 при помощи иммуноферментного анализатора RISER 8793. Статистическую обработку проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Как показали результаты проведенных исследований, ТЭК у крыс II подопытной группы в каждой ВГ вызывала характерные сдвиги в содержании ТТГ и гормонов ЩЖ, что отражало у них состояние СГТ. Если в норме у одномесячных крыс содержание ТТГ составляло 1,0 мМЕ/мл; Т3 – 2,3 нг/мл; Т4 – 4,2 мкг/мл, то при СГТ у них наблюдались следующие показатели: содержание ТТГ составило 4,7 мМЕ/мл; Т3 – 1,4 нг/мл; Т4 – 3,2 мкг/мл. После комбинированного введения ХДА и ЭДА в СМД 10^{-17} М у одномесячных крыс с СГТ были отмечены следующие показатели: содержание ТТГ составило 1,4 мМЕ/мл; Т3 – 2,2 нг/мл; Т4 – 4,4 мкг/мл. У трёхмесячных крыс в норме содержание ТТГ составляло 1,1 мМЕ/мл; Т3 – 2,4 нг/мл; Т4 – 4,5 мкг/мл; при СГТ у них наблюдались следующие показатели: содержание ТТГ составило 4,9 мМЕ/мл; Т3 – 1,2 нг/мл; Т4 – 2,6 мкг/мл. После комбинированного введения ХДА и ЭДА в СМД 10^{-17} М

у трёхмесячных крыс с СГТ отмечены следующие показатели: содержание ТТГ составило 1,2 мМЕ/мл; Т3 – 2,4 нг/мл; Т4 – 4,1 мкг/мл. У десяти-месячных крыс в норме содержание ТТГ составляло 1,0 мМЕ/мл; Т3 – 2,5 нг/мл; Т4 – 4,6 мкг/мл; при СГТ у них наблюдались следующие показатели: содержание ТТГ составило 4,8 мМЕ/мл; Т3 – 1,3 нг/мл; Т4 – 2,2 мкг/мл. После комбинированного введения ХДА и ЭДА в СМД 10^{-17} М у крыс с СГТ были отмечены следующие показатели: содержание ТТГ составило 1,0 мМЕ/мл; Т3 – 2,3 нг/мл; Т4 – 4,5 мкг/мл.

Анализируя полученные результаты исследования, можно сделать вывод о том, что во всех ВГ проявляется протекторный эффект от комбинированного воздействия ХДА и ЭДА в СМД 10^{-17} М в отношении изменения концентрации показателей ТТГ и ТГ в сыворотке крови у гипотиреоидных крыс и наиболее ярко выраженный эффект от действия данных ХЭА наблюдается у десятимесячных крыс с СГТ. Итак, результаты настоящего исследования и данные литературы [6, 12, 13] свидетельствуют о протекторном действии холиновых производных при СГТ у крыс разных возрастных групп.

Поступила 24.02.14

Քոլինի N-տեղակալված- α , β -դեհիդրոամինաթթուների էթերների միջոցով ենթակլինիկական հիպոթիրեոզի թերապիա

S. U. Խաչատրյան, Վ. Օ. Թոփուզյան, Գ.Ա. Գևորգյան

Ուսումնասիրության նպատակն էր՝ հետազոտել հիպոֆիզի թիրեոիդ հորմոնի և վահանազեղծի հորմոնների խտության աստիճանը 1-, 3- և 10-ամսեկան առնետների արյամ մեջ ենթակլինիկական հիպոթիրեոզի պայմաններում՝ քոլինի էթեր N-(4-բրոմֆենոլիլ)-Օ-իզոպրոպիլ- α , β -դեհիդրոթիրոզինի և քոլինի էթեր N-(2-մեթոքսիֆենոլիլ)-Օ-իզոպրոպիլ- α , β -դեհիդրոթիրոզինի 10^{-17} գերցածր չափաբաժնի համակցված կիրառումից առաջ և հետո: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ առնետների բոլոր տարիքային խմբերում՝ ենթակլինիկական հիպոթիրեոզի պայմաններում նկատվել է կենդանիների արյան մեջ հիպոֆիզի թիրեոիդային հորմոնի մակարդակի կտրուկ աճ և վահանազեղծի հորմոնների՝ կտրուկ նվազում: Նշված քիմիական միացությունների համակցված ազդեցության տակ բոլոր կենդանիների արյան մեջ տեղի էր ունենում հիպոֆիզի թիրեոիդային հորմոնի մակարդակի կտրուկ նվազում և վահանազեղծի հորմոնների՝ կտրուկ աճ, որը բնորոշ է նորմալ կենդանիներին:

Choline ethers of N-substituted- α , β -dehydroaminoacids therapy of subclinical hypothyroidism in rats

T. S. Khachatryan, V.O. Topuzyan, G.A. Kevorkian

The aim of this study was to investigate the features of thyroid stimulating hormone and thyroid hormones concentrations in the blood of one-month, three-month and ten-month rats with subclinical hypothyroidism before and after injection of a combined complex of ultra-low dose 10^{-17} M choline ether N-(4-brombenzoyl)-O-isopropyl- α , β -dehydrothyrozone and choline ether N-(2-methoxybenzoyl)-O-isopropyl- α , β -dehydrothyrozone. The studies have shown in rats of all age groups with subclinical hypothyroidism a sharp increase of thyroid stimulating hormone level and a sharp drop in the level of thyroid hormones in the blood. The combined action of the used chemical substances in the blood of rats resulted in a decrease in the concentration of thyroid stimulating hormone and thyroid hormones levels rise bringing the values to the norm.

Литература

1. Матинян Л. А., Бабаханян М. А., Киприян Т. К., Хачатрян Т. С., Марченко З. И. Сравнительное изучение частоты сердечного ритма у гипотиреоидных крыс в норме и при действии йодированного мёда и тироксина. Вестник МАНЭБ, 2006, т. 11, № 8, с. 221 – 223.
2. Миджоян О. Л., Топузян В. О. Методы синтеза и свойства β -диметиламиноэтиловых и холиновых эфиров аминокислот и пептидов. Успехи химии, 1981, т. L, 12, с. 2198 – 2211.
3. Ткачук В. А. Молекулярные механизмы нейроэндокринной регуляции. Ж. Соросовский образовательный журнал, 1998, 6, с. 5 – 10.
4. Хачатрян Т. С. Изменение концентрации тиреотропного гормона гипофиза и тиреоидных гормонов в крови у шестимесячных крыс при гипотиреозе. Биол. журн. Армении, 2013, 1, т. 65, с. 89 – 92.
5. Хачатрян Т. С., Топузян В. О. Особенности изменения концентрации тиреотропного гормона гипофиза и тиреоидных гормонов в крови двухмесячных крыс при гипотиреозе до и после действия холинового эфира N-(2-метоксибензоил) - О-изопропил- α , β - дегидротирозина. ДАН РА, 2013, т. 113, 3, с.290 – 294.
6. Хачатрян Т. С., Топузян В. О. Роль холинового эфира N-(2-метоксибензоил) - О-изопропил- α , β - дегидротирозина в изменении концентрации тиреотропного гормона гипофиза и тиреоидных гормонов в крови двенадцатимесячных крыс при экспериментальном гипотиреозе. ДАН РА, 2013, т. 113, 1, с. 69 – 73.
7. Шацева Е. И., Кононов Е. И., Суслонова Г. А., Романова Т. Б. Особенности липидного обмена у больных с тиреоидной патологией жителей европейского севера СССР. Терапевтический архив, 1991, т. 63, 10, с. 210 – 212.
8. Энштейн О. И. Сверхмалые дозы: история одного исследования. М., 2008, с.15.
9. Abdullatif H. D., Ashraf A. P. Reversible subclinical hypothyroidism in the presence of adrenal insufficiency. J. Endocr. Pract., 2006, 12, v. 5, p. 572.
10. Brown M., Davies I. M., Moffat C. F., Redshaw J., Craft J. A. Characterisation of choline esterases and their tissue and subcellular distribution in mussel (*Mytilus edulis*). J. Mar. Environ. Res., 2004, 57, v. 3, p. 155 – 169.

11. *Di Venosa G., Hermida L., Battle A., et al.* Characterisation of liposomes containing aminolevulinic acid and derived esters. *J. Photochem. Photobiol.*, 2008, 92, v. 1, p. 1 – 9.
12. *Jonderko G., Straszecka J., Marcisz C., Wieczorek U.* Influence of treating hypothyroidism and hyperthyroidism upon psychical reaction time. *J. Pol. Arch. Med. Wewn.*, 1992, 88, v. 5, p. 295 – 301.
13. *Jorde R.* "Subclinical" thyroid disease. *J. Tidsskr. Nor. Lageforen.*, 2002, 122, v. 9, p. 938 – 940.
14. *Zeisel S. H.* Choline: Needed for Normal Development of Memory. *J. Am. J. Clin. Nutr.*, 2000, 905, v. 19, p. 528 – 531.

УДК 577.17

**Роль сверхмалых доз холинового эфира
N-(2-метоксибензоил)-O-изопропил- α ,
 β -дегидротирозина при субклиническом гипотиреозе
у крыс разных возрастных групп
(сообщение 2)**

Т. С. Хачатрян¹, В. О. Топузян², Г.А. Геворкян³

¹Институт прикладных проблем физики НАН РА

²Научно-технологический центр органической
и фармацевтической химии НАН РА

³Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН РА
0014, Ереван, ул. Паруйра Севака, 5/1

Ключевые слова: субклинический гипотиреоз, иммуноферментный анализ, тиреотропный гормон гипофиза, тироксин, трийодтиронин, холиновый эфир N-(2-метоксибензоил)-O-изопропил- α , β -дегидротирозина

Заболевания щитовидной железы (ЩЖ) могут протекать с нарушением структуры и функции (с изменением гормонального фона). Изменения структуры ткани ЩЖ встречаются гораздо чаще, чем нарушения её функции. Железа может быть увеличена в размерах, а в 15 % случаев ЩЖ увеличивается не полностью, а участками, что приводит к образованию узлов. Причиной этого может быть ограничение или, наоборот, чрезмерное поступление йода в организм, например, с некоторыми медикаментами [6]. Нарушение функции ЩЖ означает снижение (гипотиреоз – ГТ) или повышение (гипертиреоз – тиреотоксикоз) выработки тиреоидных гормонов (ТГ) – тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3) [7]. Особый интерес в связи с этим представляет выяснение возрастных особенностей регуляции функции ЩЖ при ГТ [8].

Установление роли холиновых эфиров N-замещённых- α , β -дегидро-аминокислот (ХЭА) при субклиническом ГТ (СГТ) является достаточно актуальной темой исследования, что показано в наших предыдущих работах [1 – 3]. Различные схемы терапии СГТ посредством внутримышечного введения сверхмалых доз (СМД) ХЭА значительно ускорили процессы регенерации повреждённой СГТ ЩЖ у крыс разных возрастных групп (ВГ) [4]. В данном исследовании изучена роль СМД 10^{-13} – 10^{-17} М холинового эфира N-(2-метоксибензоил)-O-изопропил- α , β -дегидротирозина

(ХДД) у крыс разных ВГ с СГТ в сыворотке крови в отношении изменения концентрации ТГ и тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ) посредством высокоспецифичного метода иммуноферментного анализа (ИФА).

Материал и методы

Исследования проведены на 240 крысах-самцах 3 ВГ: четырёхмесячного, девятимесячного и двадцатичетырёхмесячного возраста в условиях полухронического эксперимента. Животные были разделены на 5 подопытных групп: I – интактные крысы 3 ВГ – 30 шт. (по 10 в каждой ВГ); II – контрольные крысы 3 ВГ с СГТ – 60 шт. (по 20 в каждой ВГ); III – четырёхмесячные крысы с СГТ, получавшие внутримышечные инъекции ХДД в СМД 10^{-17} М в течение 14 послеоперационных дней, – 50 шт.; IV – девятимесячные крысы с СГТ, получавшие внутримышечные инъекции ХДД в СМД 10^{-17} М в течение 14 послеоперационных дней, – 50 шт.; V – двадцатичетырёхмесячные крысы с СГТ, получавшие внутримышечные инъекции ХДД в СМД 10^{-17} М в течение 14 послеоперационных дней, – 50 шт. СГТ вызывали посредством тиреоидэктомии (ТЭК) [5]. После ТЭК и окончания дачи ХДД у исследуемых животных всех ВГ была проведена декапитация и осуществлён сбор крови. Затем посредством метода ИФА в сыворотке крови определялась концентрация ТТГ, общего Т3 и общего Т4 при помощи иммуноферментного анализатора RISER 8793. Статистическую обработку проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

ТЭК у крыс II подопытной группы в каждой ВГ вызывала характерные сдвиги в содержании ТТГ и гормонов ЩЖ, что отражало у них состояние СГТ. Если в норме у четырёхмесячных крыс содержание ТТГ составляло 1, 1 мМЕ/мл; Т3 – 2,4 нг/мл; Т4 – 4,5 мкг/мл; то при СГТ у них наблюдались следующие показатели: содержание ТТГ составило 4,9 мМЕ/мл; Т3 – 1,2 нг/мл; Т4 – 3,1 мкг/мл. После введения ХДД в СМД 10^{-17} М у девятимесячных крыс с СГТ были отмечены следующие показатели: содержание ТТГ составило 1,2 мМЕ/мл; Т3 – 2,3 нг/мл; Т4 – 4,6 мкг/мл. У девятимесячных крыс в норме содержание ТТГ составляло 1,0 мМЕ/мл; Т3 – 2,5 нг/мл; Т4 – 4,4 мкг/мл; при СГТ у них наблюдались следующие показатели: содержание ТТГ составило 4, 7 мМЕ/мл; Т3 – 1,3 нг/мл; Т4 – 2,0 мкг/мл. После введения ХДД в СМД 10^{-17} М у девятимесячных крыс с СГТ отмечены следующие показатели: содержание ТТГ составило 1,1 мМЕ/мл; Т3 – 2, 2 нг/мл; Т4 – 4,3 мкг/мл. У двадцатичетырёхмесячных крыс в норме содержание ТТГ составляло 1,2 мМЕ/мл; Т3 – 2,3 нг/мл; Т4 – 4,7 мкг/мл; при СГТ у них наблюдались следующие показатели: содержание ТТГ составило 5,1 мМЕ/мл; Т3 – 1,0

нг/мл; T4 – 1,8 мкг/мл. После введения ХДД в СМД 10^{-17} М у крыс с СГТ были отмечены следующие показатели: содержание ТТГ составило 1,4 мМЕ/мл; T3 – 2,0 нг/мл; T4 – 3,8 мкг/мл.

Результаты данного исследования свидетельствуют о том, что проявляется протекторный эффект от комбинированного воздействия ХДД в СМД 10^{-17} М в отношении показателей концентрации ТТГ и ТГ в сыворотке крови у гипотиреоидных крыс во всех ВГ, наиболее ярко выраженный у четырех- и девятимесячных животных. Итак, полученные результаты и данные литературы [9, 10] свидетельствуют о протекторном действии производных холина натурального и синтетического происхождения при СГТ и других патологиях у млекопитающих.

Поступила 24.02.14

**Քոլինի եթեր N-(2-մեթոքսիբենզոիլ)-Օ-իզոպրոպիլ- α , β -
դեհիդրոթիրոզինի գերցածր չափաբաժինների դերը տարբեր
տարիքային խմբերի առնետների մոտ ենթակլինիկական
հիպոթիրեոզի ժամանակ**

Տ. Ս. Խաչատրյան, Վ. Օ. Թովուզյան, Գ.Ա. Գևորգյան

Հետազոտվել է հիպոֆիզի թիրեոիդ հորմոնի և վահանագեղձի հորմոնների մակարդակը 4-, 9- և 24-ամսեկան առնետների արյամ մեջ ենթակլինիկական հիպոթիրեոզի պայմաններում, քոլինի եթեր N-(2-մեթոքսիբենզոիլ)-Օ-իզոպրոպիլ- α , β -դեհիդրոթիրոզինի 10^{-17} գերցածր չափաբաժնի կիրառումից առաջ և հետո: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ տարիքային բոլոր խմբերում ենթակլինիկական հիպոթիրեոզի պայմաններում նկատվել է կենդանիների արյան մեջ հիպոֆիզի թիրեոիդային հորմոնի մակարդակի կտրուկ աճ և վահանագեղձի հորմոնների մակարդակի կտրուկ նվազում: Տվյալ քիմիական միացության ազդեցության տակ կենդանիների արյան մեջ բոլոր տարիքային խմբերում տեղի է ունենում հիպոֆիզի թիրեոիդային հորմոնի մակարդակի կտրուկ նվազում և վահանագեղձի հորմոնների կտրուկ աճ, որը բնորոշ է նորմալ կենդանիներին:

The role of ultra-low doses of choline ether N-(2-methoxybenzoyl)-O-isopropyl- α , β -dehydrothyrozone in rats of different age groups at subclinical hypothyroidism

T. S. Khachatryan, V. O. Topuzyan, G.A. Kevorkian

The aim of this study was to investigate the features of thyroid stimulating hormone and thyroid hormones concentrations in the blood of four-, nine- and twenty-four-month rats with subclinical hypothyroidism before and after injection of ultra-low dose of 10^{-17} M choline ether of N-(2-methoxybenzoyl)-O-isopropyl- α , β -dehydrothyrozone. The studies have shown that in rats of all age groups with subclinical hypothyroidism a sharp increase of thyroid stimulating hormone level and a sharp drop in the level of thyroid hormones in the blood are observed. The action of the used chemical substance in the blood of rats resulted in a decrease in the concentration of thyroid stimulating hormone and thyroid hormones levels rise, bringing them to normal values.

Литература

1. *Хачатрян Т. С.* Изменение концентрации тиреотропного гормона гипофиза и тиреоидных гормонов в крови у шестимесечных крыс при гипотиреозе. Биол. журн. Армении, 2013, т. 65, 1, с 89 – 92.
2. *Хачатрян Т. С.* Особенности изменения концентрации тиреотропного гормона гипофиза и тиреоидных гормонов в крови у двухмесячных крыс при субклиническом гипотиреозе до и после действия холинового эфира N-бензоил-O-метил- α , β -дегидротирозина. Исследования в области естественных наук. Октябрь, 2012. [Электронный ресурс]. URL: <http://science.snauka.ru/2012/10/1983>.
3. *Хачатрян Т. С.* Особенности изменения концентрации тиреотропного гормона гипофиза и тиреоидных гормонов в крови у двенадцатимесечных крыс при экспериментальном гипотиреозе до и после действия холинового эфира N-(4-бромбензоил) - α , β -дегидрофенилаланина. Современные научные исследования и инновации. Октябрь, 2012. [Электронный ресурс]. URL: <http://web.snauka.ru/issues/2012/10/17937>.
4. *Хачатрян Т. С.* Особенности изменения концентрации тиреотропного гормона гипофиза и тиреоидных гормонов в крови у двухмесячных крыс при субклиническом гипотиреозе до и после действия холинового эфира N-бензоил-O-метил- α , β -дегидротирозина. Исследования в области естественных наук. Октябрь, 2012. [Электронный ресурс]. URL: <http://science.snauka.ru/2012/10/1983>.
5. *Хачатрян Т. С., Арутюнян Э. Ю., Топузян В. О., Карапетян И. Р., Авакян А. Э.* Сравнительный анализ действия некоторых производных холина на внеклеточную электрическую активность одиночных мотонейронов спинного мозга крыс в условиях экспериментального гипотиреоза. Биол. журн. Армении, 2010, т. LXII, 4, с. 12 – 19.
6. *Abdullatif H. D., Ashraf A. P.* Reversible subclinical hypothyroidism in the presence of adrenal insufficiency. J. Endocr. Pract., 2006, 12, v. 5, p. 572.

7. *Abzianidze E. N.* The reaction of hormones of hypophysis-thyroid gland's endocrinal axis on vibration pathology and on condition of its correction with liquid oxygen and anabolic steroids. *J. Georgian Med. News*, 2007, 147, p. 75 – 77.
8. *Belyakova E. I., Mendzheritskii A. M.* Adrenocortical and thyroid systems of rats during the initial period of nociceptive influences. *J. Neurosci. Behav. Physiol.*, 2006, 36, v. 5, p. 561 – 564.
9. *Brown M., Davies I. M., Moffat C. F., Redshaw J., Craft J. A.* Characterization of choline esterases and their tissue and sub cellular distribution in mussel (*Mytilus edulis*). *J. Mar. Environ. Res.*, 2004, 57, v. 3, p. 155 – 169.
10. *Calogeropoulou T., Angelou P., Detsi A., Fragiadaki I., Scoulica E.* Design and synthesis of potent antileishmanial cycloalkylidene-substituted ether phospholipid derivatives. *J. Med. Chem.*, 2008, 51, v. 4, p. 897 – 908.

УДК 611.8546/7 11

Новый подход к лечению гипераммонемического синдрома

Н.В. Кочарян, И.М. Бархударянц, Г.В. Априкян

*Институт биохимии им. Г.Х.Бунятыана НАН РА
0014, Ереван, ул. П.Севака, 5/1*

Ключевые слова: гипераммонемический синдром, аминогуанидин, орнитин

При воспалительных процессах активируются цитокины, которые через макрофаги и нейтрофилы активируют iNOS, приводят к накоплению NO, NO₂, N₂O₃, превращая их в агрессивные радикалы OH[•], OCl[•], ONOO[•] и др., и становятся причиной окисления гуанина в оксигуанидин. Последний в 1000 раз более активно взаимодействует с пероксинитритом и в результате расщепления кольцо гуанидина превращается в дегидрогуанидиногидантоин, который отщепляет гуанидин с образованием парабенной кислоты [11, 27]. Агрессивные радикалы также образуются при гипераммонемическом синдроме, вызванном различными заболеваниями печени, некоторых других патологических состояниях и под действием экзогенного аммиака в результате активирования глутаматных NMDA рецепторов, которые становятся причиной активирования NOS [13, 19]. Примечательно, что нитрозилирование NMDA рецепторов под действием NO инактивирует его [24].

В крови у людей и животных содержатся производные гуанидина: аргинин, гуанидинуксусная кислота, гуанидинсукцинат, креатин, креатинфосфат, метилгуанидин, креатинин [18, 22]. С мочой выделяется креатин, креатинин, аргинин, гуанидинуксусная кислота, гуанидин, метилгуанидин [18]. В кишечнике глутамин последовательно превращается в глутаматсемиальдегид, орнитин, цитрулин, последний в почках превращается в креатин, который в мышцах превращается в креатинфосфат. Гуанидин содержится в моче как нормальный продукт метаболизма нуклеиновых кислот [18]. Природное гуанидиновое соединение – аргинин дает начало креатину, который в мышцах превращается в креатинфосфат, являясь источником энергии при работе мышц. Другой продукт метаболизма аргинина – гуанидинуксусная кислота стимулирует секрецию инсулина. Аргинин, креатин и гуанидин менее эффективны [4].

Аминогуанидин, который имеет широкий спектр действия на организм, впервые синтезирован в 1892 г. восстановлением нитрогуанидина

водородом [23]. В обзорной статье [32] обобщены достижения в расшифровке разнообразного действия аминугуанидина на организм человека и животных. В организме аминугуанидин не обнаружен. При его внутривенном введении быстро покидает кровь и аккумулируется в печени, почках, тканях желудочно-кишечного тракта, за исключением мозга, через 2 часа ещё обнаруживается в тканях [5]. Аминугуанидин является селективным ингибитором iNOS [9, 15]. По данным Laszlo, аминугуанидин кроме iNOS ингибирует и nNOS и eNOS [21]. Необходимо иметь в виду, что nNOS и eNOS Ca^{2+} -зависимые и продуцируют сравнительно малое количество NO, необходимое для регулирования зависимой от эндотелий релаксации (т.е. ацетилхолином) и нервной передачи. Тогда как активирование iNOS изоформы цитокинами и бактериальным эндотоксином при воспалительных процессах вызывает продукцию большого количества нитритов, превращению их в агрессивные радикалы [11, 27]. Следует иметь в виду, что аминугуанидин является мощным ингибитором образования NO, вызванным цитокинами. Другие гуанидиновые соединения менее активны [16]. Гуанидиновая структура содержится в аргинине, из которого образуется NO под действием NOS. В этой связи следует иметь в виду, что аргиназная активность самая высокая в печени, тонких кишках, поджелудочной железе, почках, мозге, сердце и скелетных мышцах [17].

Аминугуанидин подавляет образование продуктов неферментативного гликозилирования белков, ферментов и липидов при диабете, атеросклерозе и старении, улучшает работу васкулатуры, снижая накопление продуктов гликозилирования в сосудах [7, 8, 14]. Примечательно, что регулярные умеренные физические упражнения снижают неферментативное гликозилирование, оказывая лечебный эффект [6].

Аминугуанидин ингибирует диаминооксидазу (гистаминазу), которая катализирует окислительное дезаминирование диаминов – гистидина и путресцина [34]. По мнению Nilsson, ингибирование диаминооксидазы аминугуанидином *in vivo* может вызывать побочные эффекты, связанные с накоплением гистамина в кровяном русле и ингибированием NOS, влиять на иммунологический ответ, нервную передачу и сосудистый контроль. В обезвреживании гистамина определенную роль может играть также его метилирование [28]. Потенциальную токсичность аминугуанидина возможно устранить при добавлении пиридоксамина или других аналогов витамина B₆.

В литературе имеются данные о том, что кроме ингибирования образования продуктов гликозилирования, возможно расщепление его продуктов [30] фармакологическими средствами, которые можно использовать при лечении диабета, болезни Альцгеймера, ревматоидного артрита и атеросклероза [12]. Итак, гуанидиновые соединения играют значительную роль в метаболизме и функции организма.

Особый интерес представляет аминоксидин, который хотя не обнаружен в организме человека и животных, обладает широким фармакологическим действием. При различных заболеваниях, в том числе гепатитах разного происхождения, накапливается большое количество аммиака, который становится причиной активирования NOS, образования избыточного количества NO и агрессивных радикалов, которые нитрируют и нитрозируют различные соединения, в том числе глутаминсинтетазу, инактивируя её, приводят к накоплению аммиака, оказывающего токсическое действие на организм [2, 13, 19].

Нами было показано, что под действием аминоксидина содержание аммиака в печени снижается, что расходуется на синтез глутамина [2, 3]. В литературе имеются данные о том, что при комбинировании двух аммиакснижающих средств – орнитина с фенилацетатом [10, 31] возможно получить больший аммиакснижающий эффект, т. е. усилить детоксикацию аммиака. Следует иметь в виду, что орнитинаминотрансфераза (ОАТ) мозга не отличается от печёночной. Пиридоксальфосфат необходим для максимальной активности ОАТ [12].

Мы задались целью изучить аммиакснижающий эффект при сочетанном применении аминоксидина с орнитином. Как известно, орнитин является одним из главных членов цикла мочевинообразования. Кроме этого, под действием ОАТ, наибольшая активность которой сосредоточена в печени, орнитин превращается в глутамат, затем в глутамин и удаляется с мочой [20]. Имеются данные о том, что при ингибировании ОАТ количество орнитина увеличивается, в результате чего синтез мочевины усиливается, что даёт аммиакснижающий эффект [33]. Однако нам представляется, что при значительном накоплении аммиака одним только увеличением орнитина цикл мочевинообразования не может полностью утилизировать такое количество аммиака. И тогда орнитин под действием ОАТ превратится в глутаминовую кислоту с обезвреживанием аммиака через синтез глутамина. Интересно, что ОАТ преимущественно локализована в синапсоммах, что коррелирует с высокоаффинным поглощением глутамата. Авторы заключают, что ОАТ, скорее всего, ответственна за синтез глутамата в глутиматергических нейронах [36].

Материал и методы

Опыты были поставлены на половозрелых белых крысах популяции Вистар массой 130-150 г. Животных быстро декапитировали, извлекали печень и головной мозг без мозжечка и после удаления кровеносных сосудов готовили 10% гомогенат в калий-фосфатном буфере (pH 7,4), (mM): KH_2PO_4 - K_2HPO_4 -16, MgSO_4 -5, KCl -20 и NaCl -76. Молярность буфера довели сахарозой до 0,32 М. В качестве добавок использовали в конечных концентрациях (mM): 1 mM аминоксидин и 3,5 mM орнитин. В наших

прежних экспериментах [2], для получения *in vitro* модели гипераммонемии, с успехом использовали 30 мин инкубирование гомогенатов при 37°C, при котором количество эндогенного аммиака резко увеличивалось. Аммиак определяли салицилатгипохлоридным методом [35], белок – по Лоури [25]. Указанные реактивы были приобретены из Sigma Chemical Company, остальные являлись коммерческими. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли параметрическим однофакторным дисперсионным анализом (one-way ANOVA) программы Sigma Stat 3,5 for Windows. В качестве критерия достоверности принимали $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Наши исследования показали, что при инкубировании гомогенатов печени под действием 1 mM аминоксидина, содержание аммиака (табл.1) снижается на 24,79%. Под действием 3,5 mM орнитина содержание аммиака снижается ещё сильнее – на 67,55%. Интересно, что при совместном применении аминоксидина с орнитином, аммиакснижающий эффект как аминоксидина, так и орнитина, усиливается. Так, если под действием аминоксидина содержание аммиака снижается на 24,79%, то в присутствии орнитина этот эффект усиливается в весьма высокой степени: от 24,79% до 90,19%. С другой стороны, если под действием орнитина содержание аммиака снижается на 67,55%, то в присутствии орнитина и аминоксидина содержание аммиака уменьшается на 90,19%. Полученные результаты показывают, что при совместном применении аминоксидина и орнитина эффект каждого из них не подавляется, а суммируется. Эти результаты указывают на то, что в гомогенатах печени при совместном применении аминоксидина и орнитина их аммиакобезвреживающие эффекты складываются.

Таким образом, нами получены новые данные, указывающие, что при гипераммонемическом синдроме (интоксикации аммиаком) в качестве лечебного средства, наряду с комбинированием орнитина с фенилацетатом [10, 31], можно с успехом использовать комбинирование аминоксидина с орнитином. Нами намечается проведение исследований по выяснению влияния аминоксидина и орнитина как отдельно, так и при их совместном применении при гипераммонемическом синдроме в условиях *in vivo*.

Наши исследования показали (табл.2), что аминоксидин в гомогенатах головного мозга не оказывает существенного влияния на снижение аммиака. В отличие от аминоксидина под действием орнитина в гомогенатах мозга при инкубации происходит резкое снижение аммиака – на 72,41%. При совместном применении аминоксидина с орнитином проявляется эффект только орнитина. Следует иметь в виду, что хотя наши исследования проведены с гомогенатами органов, аминоксидин

при внутривенном введении проникает во все органы и ткани, за исключением головного мозга [5].

Таблица 1

*Действие орнитина и аминокуанидина на содержание аммиака
(в γ на 100 мг белка) в гомогенатах печени белых крыс*

Контроль	Аминокуанидин		Орнитин		Аминокуанидин+орнитин		
	количество	разница, %	количество	разница, %	количество	разница, %	разница с орнитином, %
75,63±2,19 (5)	56,88± 5,14 (6)	-24,79 P<0,025	24,54± 8,89 (5)	-67,55 P<0,001	7,42± 2,1 (5)	-90,19 P<0,001	-69,76 P<0,05

Таблица 2

*Действие орнитина и аминокуанидина на содержание аммиака
(в γ на 100 мг белка) в гомогенатах головного мозга белых крыс*

Контроль	Аминокуанидин		Орнитин		Аминокуанидин+орнитин		
	количество	разница, %	количество	разница, %	количество	разница, %	разница с орнитином, %
127,8±6,8 (5)	127,4± 6,6 (5)	-0,31	35,26±10,44 (5)	-72,41 P<0,001	31,74±8,72 (5)	-75,16 P<0,001	-9,98 P>0,05

Нужно отметить, что предложенное нами сочетанное применение аминокуанидина с орнитином, по сравнению с применением орнитина с фенилацетатом [10, 29], имеет ряд преимуществ: аминокуанидин, кроме аммиакснижающего эффекта, через усиление синтеза глутамина, в результате ингибирования iNOS [9, 15], предотвращает неферментативное гликозилирование белков и липидов при диабете, гипергликемии и старении [7, 8, 14], снижает количество агрессивных радикалов, вызванных цитокинами и бактериальным эндотоксином при воспалительных процессах [16], подавляет развитие атеросклероза [26, 29]. Нами ранее было показано, что при старении увеличивается содержание аммиака и уменьшается содержание глутамина [1]. Наши результаты указывают, что положительное действие аминокуанидина при старении [7] частично можно объяснить уменьшением накопления аммиака вследствие стимулирования синтеза глутамина.

Полученные нами результаты и литературные данные дают основание заключить, что сфера применения аминокуанидина и орнитина в качестве лечебных средств расширяется.

Поступила 12.03.14

Նոր մոտեցում գերամոնիակային համախտանիշի բուժման մեջ

Ն.Վ. Քոչարյան, Ի.Մ. Բարխուդարյանց, Գ.Վ. Ապրիկյան

Գերամոնիակային համախտանիշը, որն առաջանում է լյարդի զանազան հիվանդությունների ժամանակ, պատճառ է դառնում ամոնիակային թունավորման և էնցեֆալոպաթիաների զարգացման: Ամոնիակի թունավոր քանակների վնասագերծման համար օգտագործվում են զանազան դեղամիջոցներ: Այդ նպատակով մեր կողմից առաջին անգամ օգտագործվել է ամինոգուանիդինը՝ զուգորդված օրնիտինի հետ: Պարզվել է, որ այդ խառնուրդը արդյունավետ միջոց է գերամոնիակային համախտանիշի բուժման համար՝ համեմատած այդ երկու նյութերի առանձին օգտագործման հետ:

New approach to the treatment of hyperammonemia syndrome

N.V. Kocharian, I. M. Barkhudaryants, G.V. Aprikian

Hyperammonemia, which is developed during different pathological conditions of liver, leads to ammonia intoxication and hepatic encephalopathy. There are described various ammonia lowering therapeutic strategies. We have offered a combination of aminoguanidine with ornitine, which demonstrates more effective results compared to the effect of these two substances used separately.

Литература

1. *Ապրիկյան Գ. Վ., Շագինյան Վ. Ա.* Роль глутаматдегидрогеназы в окислительном дезаминировании глутаминовой кислоты в мозгу и печени на разных этапах постнатального развития. Вопросы биохимии мозга. Ереван, 1973, т. VIII, с. 91-105.
2. *Միսակյան Գ. Ս., Փարոնյան Զ. Ա., Թուրսյան Գ. Ա., Ապրիկյան Գ. Վ.* Роль ингибиторов синтеза окси азота в предотвращении токсического действия аммиака и глутамата в головном мозгу. Мед. наука Армении НАН РА, 2006, т. XLVI, 2, с. 18-22.
3. *Փարոնյան Զ. Ա., Միսակյան Գ. Ս., Թուրսյան Գ. Ա., Ապրիկյան Գ. Վ.* Роль окиси азота в образовании и устранении аммиака в печеночной ткани. ДАН Армении, 2007, т. 107, 1, с. 79-86.
4. *Alsever R.N., Georg R. H., Sussman K.E.* Stimulation of insulin secretion by guanidinoacetic acid and other guanidine derivatives. Endocrinology, 1970, 86, p. 332-336.
5. *Beaven M.A. et al.* A specific and sensitive assay for aminoguanidine: Its application to a study of the disposition of aminoguanidine in animal tissues. J. Pharmacol. and Exp. Therapeutics, 1969, 165 (1), p. 14-22.

6. *Boor P. et al.* Regular moderate exercise reduces advanced glycation and ameliorates early diabetic nephropathy in obese Zucker rats. *Metabolism*, 2009, 58 (11), p. 1669-1677.
7. *Brownley M. et al.* Advanced glycosylation and products in tissue and the biochemical basis of diabetic complication. *New Engl. J. Med.*, 1988, 318, p. 1315-1321.
8. *Brownley M. et al.* Aminoguanidine prevents diabetes-mediated arterial wall protein crosslinking. *Science*, 1986, 232, p. 1629-1632.
9. *Corbett J.A. et al.* Aminoguanidine, a novel inhibitor of nitric oxide formation, prevents diabetic vascular dysfunction. *Diabetes*, 1992, 41, p. 552-556.
10. *Davis N.A., Wright G.* L-ornithine and phenylacetate synergistically produce sustained reduction in ammonia and brain water in cirrhotic rats. *Hepatology*, 2009, 50 (1), p. 155-161.
11. *Dedon P.C., Tannenbaum S.R.* Reactive nitrogen species in the chemical biology of inflammation. *Arch Biochem. Biophys.*, 2004, 423, p. 12-22.
12. *Deshmukh D.R., Srivastava S. K.* Purification and properties of ornithine aminotransferase from rat brain. *Experientia*, 1984, 40, p. 357-359.
13. *Felipo V., Butterworth R.F.* Neurobiology of ammonia. *Progress in Neurobiol.*, 2002, 67, p. 259-279.
14. *Goldin A. et al.* Advanced glycation and products. *Circulation*, 2006, 114, p. 597-605.
15. *Griffiths M. J.D. et al.* Aminoguanidine selectively inhibits inducible nitric oxide synthase. *British J. Pharmacol.*, 1993, 110 (3), p. 963-968.
16. *Hasan K. et al.* Inhibition of nitric oxide formation by guanidine. *Europ. J. Pharmacol.*, 1993, 249 (1-2), p. 101-106.
17. *Herzfeld and Raper S. M.* The heterogeneity of arginases in rat tissues. *Biochem. J.*, 1976, 153, p. 469-478.
18. *John F. et al.* Determination of creatine, creatinine, arginine, guanidinoacetic acid, guanidine and methyl-guanidine in biological fluids. *J. Biol. Chem.*, 1956, 222, p. 225-236.
19. *Kosenko et al.* Glutamine synthetase activity and glutamine content in brain: modulation by NMDA receptors and nitric oxide. *Neurochem Internat.*, 2003, 43, p. 493-499.
20. *Kumar H. R. et al.* Sensitive assay for ornithine aminotransferase in rat brain mitochondria by ninhydrin method. *Indian J. Clin. Biochem.*, 2009, 24 (3), p. 275-279.
21. *Laszlo F. et al.* Aminoguanidine inhibits both constitutive and inducible nitric oxide synthase isoforms in rat intestinal microvasculature in vivo. *Eur. J. Pharmacol.*, 1995, 272 (2-3), p. 169-175.
22. *Lazdins I., Dawborn J. K.* Concentration of guanidines in normal human plasma. *Clin. and Exp. Pharmacol. and Physiol.*, 1978, 5 (1), p. 75-80.
23. *Lieber E., Smith G.B.L.* The chemistry of aminoguanidine and related substances. *Chem. Rev.*, 1939, 25, p. 213-271.
24. *Lipton S.A., Choi Y. B. et al.* A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*, 1993, 364, p. 626-632.
25. *Lowry O. H. et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, p. 265-275.
26. *Lyons T. J.* Glycation and oxidation: a role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Am. J. Cardiol.*, 1993, 71, p. 26B-31B.
27. *Niles J. C. et al.* Peroxynitrite-induced oxidation and nitration products of guanine and 8-oxoguanine: Structures and mechanisms of product formation. *Nitric Oxide*, 2006, 19, p. 109-121.
28. *Nilsson B. O.* Biological effects of aminoguanidine: An update. *Inflam. Res.*, 1999, 48, p. 509-515.
29. *Panagiotopoulos S. et al.* Aminoguanidine has an antiatherogenic effect in the cholesterol-fed rabbit. *Atherosclerosis*, 1998, 136, p. 125-131.
30. *Rahbar S., Figarola J. L.* Novel inhibitors of advanced glycation end products. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2003, 419, p. 63-79.

31. *Rose C. F.* Ammonia-lowering strategies for the treatment of hepatic encephalopathy. *Clin. Pharmacol. and Therap.*, 2012, 92 (3), p. 321-331.
32. *Saczewski F., Balewski L.* Biological activities of guanidine compounds. *Expert. Opin. Ther. Path.*, 2013, 23(8), p. 965-995.
33. *Seiler N.* Ornithine aminotransferase a potential target for the treatment of hyperammonemias. *Curr. Drug Targets*, 2000, 1 (2), p. 119-153.
34. *Seuler W.* Zur hemmung der diaminoxiasse. *Experientia*, 1952, 8, p. 230-232.
35. *Tabacco A., Meattini F. et al.* Simplified enzymatic colorimetric serum urea nitrogen determination. *Clin Chem.*, 1979, 25 (2), p. 336-337.
36. *Wong P. T. et al.* Sensitive assay for ornithine aminotransferase: regional and subcellular distribution in rat brain. *J. Neurochem.*, 1981, 36(2), p. 501-505.

УДК 612.821.3

Մայրամախոտի շտկող ազդեցությունը ստորին անդաստակային-վերտեսողական ենթատեսաթմբային կորիզների գործառական կապի վրա

Կ.Վ. Մելքումյան¹, Ս.Հ. Սարգսյան¹, Ս.Մ. Մինասյան¹,
Հ.Ս. Գալստյան²

¹ԵՊՀ մարդու և կենդանիների ֆիզիոլոգիայի ամբիոն

²ՀՀ ԳԱԱ Գ. Դավթյանի անվ. հիդրոպոնիկայի

սրբբերական ինստիտուտ

0025, Երևան, Ալեք Մանուկյանի փ., 1

Բանալի բառեր. թրթռում, ենթատեսաթմբ, վերտեսողական կորիզ, ստորին անդաստակային կորիզ, մայրամախոտ

Ենթատեսաթմբը օրգանիզմի վեգետատիվ գործառույթների կարգավորման բարձրագույն կենտրոնն է [2]: Հոմեոստազի պահպանման ինքնավար և նյարդաներգատական մեխանիզմերում հատկապես մեծ է նրա առաջային բաժնի վերտեսողական (ՎՏԿ) և հարփորոքային կորիզների նյարդաներգատական բջիջների դերը [14]: Թրթռման ընկալման կենտրոնական առաջին օղակ հանդիսացող անդաստակային կորիզահամալիրում ստորին անդաստակային կորիզը (ՍԱԿ) հիմնականում ընդգրկված է շարժման ընթացքում վեգետատիվ ռեակցիաների առաջացման մեխանիզմներում, ինչպես նաև իր «ոչ անդաստակային» շրջանների միջոցով մասնակցում է ԿՆՀ-ի մյուս բաժիններից եկող գրգիռների ամբողջացմանը [8]: Այս առումով, թրթռային հիվանդության առաջացման մեխանիզմներում կարևորվում են ստորին-անդաստակա-առաջային ենթատեսաթմբային կապերը: Մեր նախորդ հոդվածում ներկայացրել էինք ՍԱԿ-ՎՏԿ կապի գործառական խանգարումները թրթռահարված առնետների մոտ [1]: Այս հոդվածում փորձել ենք որպես նկատված շեղումները կանխարգելող միջոց օգտագործել մայրամախոտ, ենթադրելով, որ նրա հակաօքսիդանտային բարձր ակտիվությունը [6,7,12], հնարավոր է, կարգավորիչ դեր ունենա թրթռահարման ժամանակ ի հայտ եկող ախտահարումների հարցում, քանզի վերջինիս առաջացման մեխանիզմներից մեկը օրգանիզմում մեծ քանակությամբ ազատ ռադիկալների կուտակումն է [4]:

Նյութը և մեթոդները

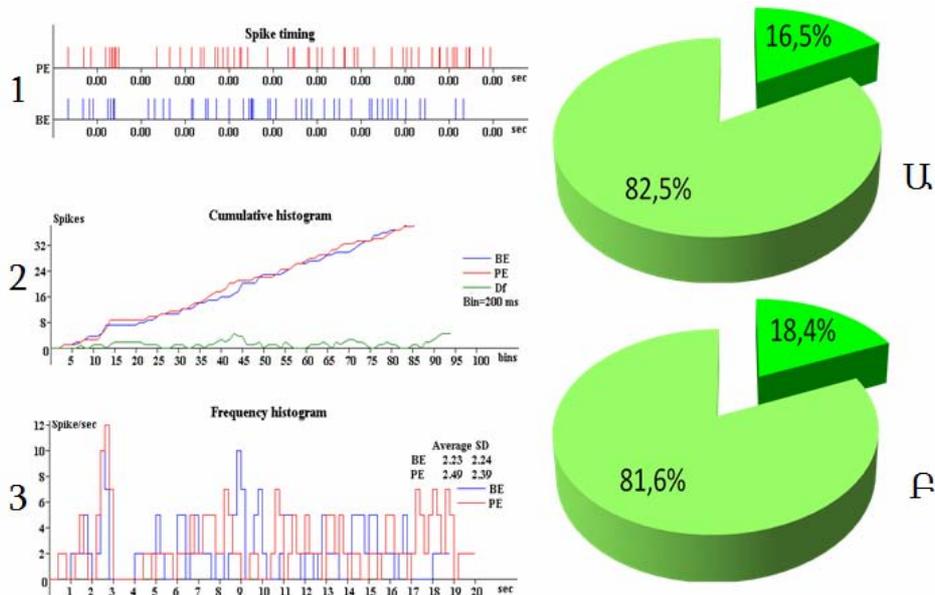
Մեռահասուն սպիտակ արու առնետների վրա կատարվել են էլեկտրաֆիզիոլոգիական սուր փորձեր՝ հետևյալ խմբերում՝ ստուգիչ, մայրամախոտի պատրաստուկ ներարկված, 5,10,15 օր թրթռահարված, նախապես մայրամախոտ ստացած ու հետո նշված ժամկետներով թրթռահարված կենդանիներ: Ընդհանուր առմամբ օգտագործվել է 74 առնետ: Անզգայացումը կատարվել է ներորովայնային՝ ուրետանի ջրային լուծույթով՝ 1.2գ/կգ չափաբաժնով: Նույնակողմային ՍՍԿ-ի բարձրահաճախ էլեկտրական խթանման պայմաններում (1վրկ., 100Հց., 0,12մՎ.) խթանումից առաջ, ընթացքում և հետո արտաբջջային եղանակով գրանցվել է ենթատեսաթմբի ՎՏԿ-ի խոշոր-բջջային հատվածի նյարդաներգատական նեյրոնների ազդակային ակտիվությունը, որը վերլուծվել է համակարգչային բազմաստիճան ծրագրով: Գրանցված ազդակահոսքերը ըստ խթանին պատասխանելու բնույթի դասակարգվել են տետանիկի, երբ ՎՏԿ-ի նեյրոնային ակտիվությունը փոխվել է անմիջապես ՍՍԿ-ը խթանելու 1 վրկ-ի ընթացքում և հետտետանիկի, երբ փոփոխություններն ի հայտ են եկել, սակայն խթանումից հետո: Կախված ազդակների հաճախության փոփոխության, թե տետանիկ, թե հետտետանիկ պատասխանները իրենց հերթին ստորաբաժանվել են համապատասխանաբար տետանիկ ընկճման (SC), տետանիկ ակտիվացման (SU) և հետտետանիկ ընկճման (ՀՏԸ), հետտետանիկ ակտիվացման (ՀՏՍ): Այն դեպքերում, երբ ՍՍԿ-ի խթանմանը ՎՏԿ-ի նեյրոնային պատասխանը սկսվել է մի ձևով, ապա շարունակվել այլ կերպ, նման նեյրոնները խմբավորվել են համակցված պատասխաններում, օրինակ՝ ՀՏԸ+ՀՏՍ: Իսկ այն նեյրոնները, որոնք խթանման ընթացքում և դրան հաջորդող գրանցման 20 վրկ-ների ընթացքում ունեցել են նույն ակտիվությունն, ինչը նախքան խթանումը գրանցման 20 վրկ-ների ընթացքում, համարվել են առեակտիվ:

Թրթռահարումն իրականացվել է ձայնամեկուսիչ խցիկում (50Հց, 0,4մմ), օրական 2 ժամ տևողությամբ: Մայրամախոտի սպիրտային հանուկի ջրային ֆրակցիան ստացվել է հիդրոպոնիկ եղանակով աճեցված ֆլավոնոիդային և ֆենիլպրոպանոիդային գլիկոզիդներով հարստացված բուսատեսակներից: Սպիրտային հանուկը պատրաստվել է 50%-ոց էթիլ սպիրտով 1:10 հարաբերությամբ՝ 30 րոպե հետադարձ սառնարանով էքստրակտման եղանակով: Ստացված սպիրտային հանուկը ֆրակցիոն բաժանման է ենթարկվել հաջորդաբար՝ էթիլ ացետատով, այնուհետև քլորոֆորմ-մեթանոլ (3:1) լուծիչներով: Անջատված ջրային ֆրակցիան, որը պարունակում է հակաօքսիդանտային

բարձր ակտիվությամբ նյութեր՝ 4 գլիկոզիդային ֆլավոնոիդներ և 3 գլիկոզիդային ֆենիլպրոպանոիդներ, վակուոմային ռոտացիոն ապարատով չորացվել է մինչև չոր կշիռը [3]: Այնուհետև պատրաստվել է ջրային ֆրակցիայի ջրային լուծույթը՝ նախօրոք որոշված թերապևտիկ չափաբաժնով՝ 15մգ/կգ [9] և միջմկանային ներարկվել առնետներին թրթռահարմանը նախորդող 2 օրերին:

Արդյունքները և դրանց քննարկումը

Միջմկանային 2 օր մայրամախտի սպիրտային հանուկի ջրային ֆրակցիայի լուծույթ ստացած 18 առնետների վրա 1 օր անց կատարվել են էլեկտրաֆիզիոլոգիական փորձեր՝ բնականոն կենդանիների վրա մայրամախտի թողած ազդեցությունը պարզելու համար: Գրանցված 193 նեյրոնների ակտիվության վերլուծության արդյունքում պարզվել է, որ ՎՏԿ-ում ՄԱԿ-ի բարձրահաճախ էլեկտրական խթանմանը չպատասխանող նեյրոնների թիվը ստուգիչի համեմատ փոքր-ինչ ավելացել է՝ համապատասխանաբար 16,5% -ից դառնալով 18,4% (նկ.1):



Նկար 1. Ստորին անդաստակային կորիզի խթանման նկատմամբ առեակտիվ նեյրոնների քանակը ենթատեսաթմբի վերտեսողական կորիզում բնականոն (U) և մայրամախտ ստացած(Բ) առնետների մոտ. ժամանակային (1), գումարային(2) և միջին հաճախային(3) կորեր: BE-նախքան խթանումը, PE-խթանումից հետո, Df - տարբերությունը

ՄԱԿ-ի խթանմանն ի պատասխան իրենց ազդակային ակտիվությունը փոխած ենթատեսաթմբային նեյրոնների վարքագծում նկատվել են տեղաշարժեր, որոնք միտված են ավելացնելու հետտետանիկ ընկճման դրսևորումները: ՎՏԿ-ում արձանագրված 2.9 %-ով հետտետանիկ ընկճման ավելացումը կատարվել է մի կողմից ի հաշիվ տետանիկ ընկճման, որն առհասարակ բացակայել է այս ենթախմբում, մյուս կողմից, ի հաշիվ հետտետանիկ ակտիվացման, որը պակասել է 2,4%-ով: Նեյրոնային պատասխանների նշված տեղաշարժերը պատկերված են աղ. 1-ում:

Աղյուսակ 1

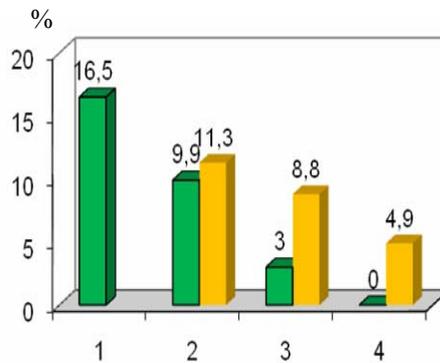
Մայրամախտի ազդեցությունը ստուգիչ առնետների ենթատեսաթմբային կորիզում՝ ստորին անդաստակային կորիզի էլեկտրական խթանման պայմաններում

ՎՏԿ-ի պատասխանները, %	ՀՏԸ	ՀՏԸ+ՀՏԱ	ՏԸ	ՀՏԱ	ՀՏԱ+ՀՏԸ	ՏԱ
Փորձ. խմբեր						
Բնականոն	46,5	32,6	2,3	5,8	12,8	-
Մայրամախտ ստացած	49,4	31,5	-	3,4	15,7	-

Փաստորեն, մայրամախտը հետազոտվող կապի վրա ունի արգելակիչ բնույթ: Մեր կարծիքով, դա պայմանավորված է մայրամախտի կազմում եղած ֆլավոնոիդներին բնորոշ, գրականության մեջ հայտնի 2 ազդեցություններով, որոնցից առաջինը անոթասեղմիչն է [12], ինչի մասին տեղին է խոսել ենթատեսաթմբի նյարդաներգատիչ կորիզների դեպքում, քանի որ նրանց անոթավորումը շատ հարուստ է, և ազդակային ակտիվությունը կապված է թթվածնի հագեցվածությունից: Մյուս կողմից գործում են մայրամախտի կազմում առկա գլիկոզիդները, որոնց ազդեցությամբ կենտրոնական նյարդային համակարգում խթանվում է գլուտամատից ԳԱԿԹ-ի սինթեզը [6,10]: Հայտնի է, որ ԳԱԿԹ-ը հանդիսանում է հիմնական արգելակիչ նյարդամիջնորդանյութ ինչպես անդաստակային կորիզահամալիրի, այնպես էլ առաջային ենթատեսաթմբային կորիզների համար: Կենտրոնական արգելակումով է բացատրվում, հավանաբար, տետանիկ պատասխանների նվազումը, քանի որ սինապսներն այս դեպքում քիչ միջնորդավորված են, իսկ նրանցում ակտիվանում է արգելակող գործոնը, ստորին անդաստակա-ենթատեսաթմբային ազդեցությունն իրական-

նանում է արգելակված սինապսները շրջանցող կոլատերալների միջոցով:

Ինչպես մեր նախորդ հոդվածում էինք ներկայացրել, թրթռահարման դինամիկայում ՍԱԿ-ՎՏԿ կապը էական գործառական շեղումների էր ենթարկվում [1]: Նախապես մայրամախոտ ստացած կենդանիների մոտ թրթռահարման դինամիկայում որոշ չափով պահպանվում են ՍԱԿ-ի նկատմամբ առեակտիվ նեյրոնները ՎՏԿ-ում, ի տարբերություն միայն թրթռահարված կենդանիների խմբի, որտեղ միջկորիզային կապը կարծես սկսում էր օգտագործել իր բոլոր հնարավորությունները, քանի որ առեակտիվ նեյրոններ ընդհանրապես չէին գրանցվել(նկ.2):

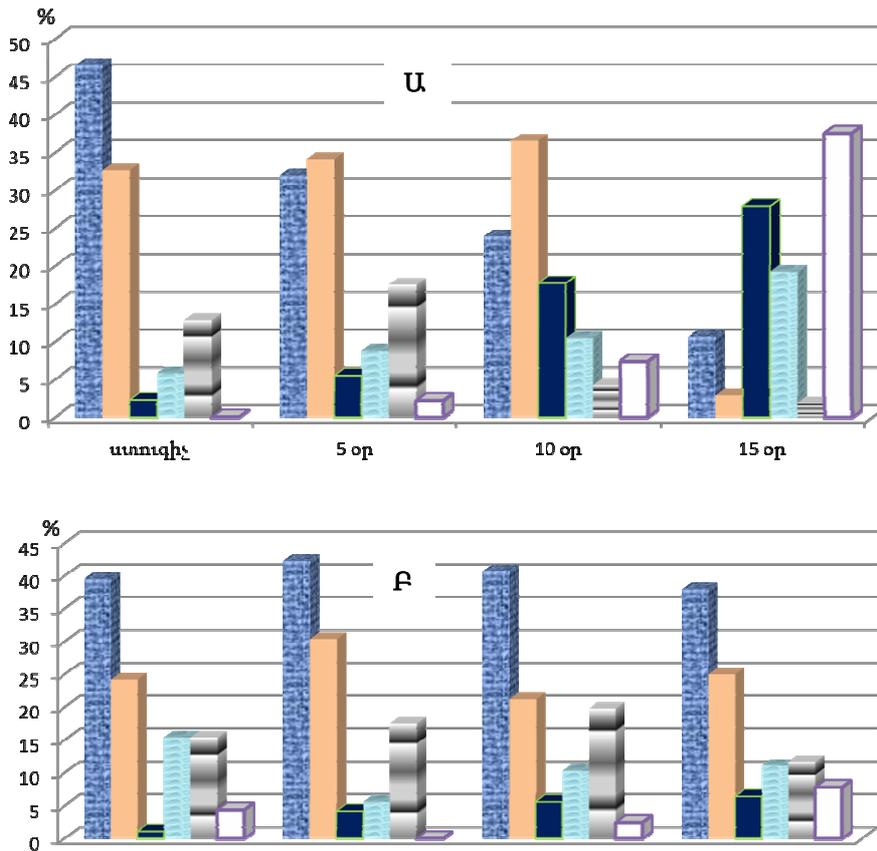


Նկար 2. ՍԱԿ-ի խթանման նկատմամբ ոչ առեակտիվ նեյրոնների քանակը ՎՏԿ-ում 1– բնականոն կենդանիների, 2,3,4 – 5, 10 և 15 օր թրթռահարված (ձախ կողմերում) և նախապես մայրամախոտ ստացած ու նույն ժամկետներով թրթռահարված կենդանիների խմբերում

Նախապես մայրամախոտ ստացած և 5,10,15 օր թրթռահարված կենդանիների փորձարարական խմբում հետազոտվել են 28 առնետներ, որոնց ՎՏԿ-ից գրանցվել և մշակվել է 304 ազդակահոսք: 5-օրյա թրթռահարումից հետո տեղաշարժերն ընթանում են դեպի ընկճողական պատասխաններ: Գրեթե ամբողջությամբ վերականգնվում են ստուգիչ խմբում արձանագրված ցուցանիշները, ինչը խոսում է մայրամախոտի նյարդապաշտպանիչ հատկությունների մասին: Թրթռահարման ժամկետի ավելացմանը զուգահեռ, մի փոքր ավելանում են տետանիկ ընկճումով հանդես եկող պատասխանները, և միայն 15-օրյա թրթռահարումից հետո հայտնաբերվում քիչ թվով տետանիկ ակտիվացում դրսևորած նեյրոններ (2,2%) (նկ.3):

Այս փաստի հիմքում ընկած կարող է լինել մայրամախոտի՝ ԳԱԿԹ-երգիական համակարգի վրա խթանիչ ազդեցությունը՝ մի

կողմից ակտիվացնելով գլուտամատ դեկարբօքսիլազան, այն խթանում է ԳԱԿԹ-ի սինթեզը, մյուս կողմից ակտիվացնելով երկրորդային մեսենջերային համակարգը, ակտիվանցնում է ԳԱԿԹ-էրգիական A ընկալիչի ալֆա-ենթամիավորի սինթեզը [5,8,13]: Այս ամենը հանգեցնում է ՍԱԿ-ՎՏԿ-ի գործառական կապի ընկճմանը:



Նկար 3. Ենթատեսաթմբի վերտեսողական կորիզի նեյրոնների ազդակային ակտիվության փոփոխությունները թրթռահարման դինամիկայում՝ ի պատասխան ստորին անդաստակային կորիզի էլեկտրական խթանման նորմայում (Ա) և մայրամախտի ներարկումներից հետո (Բ):
 ԶՏԸ, ԶՏԸ+ԶՏԱ, ՏԸ, ԶՏԱ, ԶՏԱ+ԶՏԸ, ՏԱ

Մյուս կողմից, թրթռահարման դինամիկայում ի հայտ եկող տետանիկ պատասխաններն են նվազում, այս փաստի հիմքում, ամենայն հավանականությամբ ընկած է մայրամախտի հակաօքսիդանտային հատկությունը [9,10], ինչի հետևանքով կանխվում է թրթռահարման արդյունքում առաջացող ազատ ռադիկալների շփումը սինապսային թաղանթների հետ: Այս առումով, մայրամախտն ունի

նեյրոպաշտպանիչ նշանակություն, քանի որ կանխելով ենթատեսաթմբային կորիզի գերակտիվացումը, կանխում է նրանց կորիզներում ապոպտոզ առաջացնող գեների ակտիվացումը [4,14]:

Համեմատելով նկար 3Ա-ում պատկերված ստորին անդաստակային-վերտեսողական կապի գործառական պլաստիկությունը թրթռահարման դինամիկայում նկար 3Բ-ի համապատասխան փոփոխությունների հետ, որոնք տեղ են գտել մայրամախոտի ներարկումներից հետո թրթռահարման դինամիկայում, հստակ կարող ենք տեսնել մայրամախոտի շտկող ազդեցությունը, որը մոտեցնում է բնականոն պայմաններում առկա կապի գործառական վիճակին: Այս հանգամանքը «փրկում է» ենթատեսաթմբի նյարդաներգատական բջիջները ապոպտոզից և անդաստակա-ենթատեսաթմբային կապերի սինապսային թաղանթները՝ ճարպերի գերօքսիդացումից: Սակայն դատելու համար, թե որքանով է այս իրավիճակի ելքային արժեքը դրական օրգանիզմի հարմարողական գործընթացների համար, պետք են լրացուցիչ հետազոտություններ, որոնք համադրված կլինեն ամփոփապես վեգետատիվ ցուցանիշների չափումներով:

Поступила 03.07.14

Корригирующее влияние дубровника белойлочного на функциональную связь между нижневестибулярным и гипоталамическим супраоптическим ядрами

К.В. Мелкумян, С.Г. Саркисян, С.М. Минасян, А.М. Галстян

Зарегистрирована и проанализирована импульсная активность нейронов супраоптического ядра (СОЯ) переднего гипоталамуса у белых крыс в ответ на высокочастотную электрическую стимуляцию нижнего вестибулярного ядра (НВЯ). Показано, что в норме НВЯ имеет ингибирующее влияние на СОЯ. 15-дневное воздействие вибрации меняет характер ответов в сторону потенциации и тетанизации. Установлено также активирующее влияние вибрации на вестибуло-гипоталамическую связь, так как после него не зарегистрированы ареактивные нейроны, которые наблюдались в норме. Полученные данные свидетельствуют, что внутримышечная инъекция водной фракции этиленового экстракта дубровника белойлочного предотвращает вызванные вибрацией отклонения.

Corrective influence of *Teucrium polium* L. on the functional connection between inferior vestibular and hypothalamic-supraoptic nuclei

K.V. Melkumyan, S.H. Sarkisyan, S.M. Minassyan, H.M. Galstyan

Registration and analysis of neuronal responses of hypothalamic supraoptic nucleus (SON) to high frequency electrical stimulation of spinal vestibular nucleus (SVN) have been conducted. It is shown that SVN has an inhibitory effect on SON in norm. 15-day exposure of vibration changes the nature of responses leading to the potentiation and tetanization. It is also shown that vibration has an activating effect on the vestibulo-hypothalamic connection, because after its influence areactive neurons are not registered, which exist in norm. Intramuscular injection of the water fraction from the ethylene extract of *Teucrium polium* L. prevents deviations caused by vibrations.

Փրականություն

1. Մելքումյան Կ.Վ. Բնականոն և թրթռահարված առնետների ենթատեսաթմբի վերտեսողական կորիզի ակտիվության ուսումնասիրությունը ստորին անդաստակային կորիզի էլեկտրական խթանման պայմաններում: «Հայաստանի բժշկագիտություն» ՀՀ ԳԱԱ, 2012, LII, 3, էջ 44-51.
2. Баклаваджян О.Г. Центральные механизмы гомеостаза. Частная физиология нервной системы. Л., 1983: 218-312.
3. Галстян А. М. Исследование химического состава *Teucrium polium* L., *T. orientale* L. и *Ziziphora clinopodioides* Lam. Автореф. канд. дис. Пятигорск, 1992.
4. Оганесян К.Р., Оганесян А.О. Значение корней солодки в интенсивности перекисного окисления липидов в некоторых тканях крыс при воздействии вибрации. Сб. тезисов V межд. симп. "Актуальные проблемы медицины", 2007: 124-126.
5. Abbate C., Micali E., Giorgianni C., Munao F., Brecciaroli R., Salmaso L., Germano D. Affective correlates of occupational exposure to whole-body vibration. A case-control study. *Psychother. Psychosom.*, 2004, v.73, 6: 375-379.
6. Amini R., Yazdanparast R., Aghazadeh S., Ghaffari S. *Teucriumpolium* reversed the MCD diet-induced liver injury in rats. *Human Experimental Toxicology*, 2011, v.30, 9: 1303-1312.
7. Bahramikia S., Yazdanparast R. Phytochemistry and medicinal properties of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae). *Phytotherapy Research*, 2012, v.26, 11: 1581-1593.
8. Cutler A.R., Kaloostian S.W., Ishiyama A., Frazee J.G. Two-handed endoscopic-directed vestibular nerve sectioning: case series and review of the literature. *J. Neurosurgery*, 2012, v. 117, 3: 507-513.
9. Galstyan H.M., Chavushyan V.A., Simonyan K.V. Phytotechnical and pharmacological properties of wild and cultural Germander (*Teucrium polium* L.) and prospects of application in conditions of ovariectomy. Proceedings of II international scientific conference of Goris State University, 2011, p. 200-204.
10. Horii A., Kitahara T., Smith P.F., Darlington C.L., Masumura C., Kubo T. Effects of unilateral labyrinthectomy on GAD, GAT1 and GABA receptor gene expression in the rat vestibular nucleus. *Neuroreport*, 2003, v. 14 (18): 2359-2363.

11. *Ljubuncic P., Azaizeh H., Portnaya I., Cogan U., Said O., Saleh K.A., Bomzon A.* Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel. *J. Ethnopharmacol.*, 2005, v.99, 1: 43-47.
12. *Pacifico S., D'Abrosca B., Scognamiglio M., D'Angelo G., Gallicchio M., Galasso S., Monaco P., Fiorentino A.* NMR-based metabolic profiling and in vitro antioxidant and hepatotoxic assessment of partially purified fractions from Golden germander (*Teucrium polium* L.) methanolic extract. *Food Chem.*, 2012, v.135, 3: 1957-1967.
13. *Stefkov G., Kulevanova S., Miova B., Dinevska-Kjovkarovska S., Molgaard P., Jäger A.K., Josefsen K.* Effects of *Teucrium polium* spp. capitatum flavonoids on the lipid and carbohydrate metabolism in rats. *Pharm. Biol.*, 2011, v.49, 9: 885-892.
14. *Swanson L.W., Sawchenko P.E., Béroud A., Hartman B.K., Helle K.B., Vanorden D.E.* An immunohistochemical study of the organization of catecholaminergic cells and terminal fields in the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus. *Comp. Neurol.*, 1981, v.196: 271-285.
15. *Wang J.Q., Li H.X., Chen X.M., Mo F.F., Qi R.R., Guo J.S., Cai Y.L.* Temporal change in NMDA receptor signaling and GABBA receptor expression in rat caudal vestibular nucleus during motion sickness habituation. *Brain Res.*, 2012, v.21, 1461: 30-40.
16. *Wang Y., Zhao C., Wang Z., Wang C., Feng W., Huang L., Zhang J., Qi S.* Apoptosis of supraoptic AVP neurons is involved in the development of central diabetes insipidus after hypophysectomy in rats. *El J. BMC Neuroscience*, 2008, 1471-2202/9/54.

УДК 616.988.23(479.25): 576.858

Парадигма процесса внедрения новых вакцинных препаратов против полиомиелита в Армении

А.С. Оганесян, А.Р. Бадалян, А.Дз. Амбарцумян

*ЕГМУ им. М.Гераци, кафедра эпидемиологии
0025, Ереван, ул.Корюна, 2*

Ключевые слова: полиомиелит, глобальная инициатива по ликвидации полиомиелита, оральная полиомиелитная вакцина, острый вялый паралич, вакциноассоциированный паралитический полиомиелит, инактивированная полиомиелитная вакцина, циркулирующий вакцинородственный полиовирус, софинансирование

Как известно, в 1988г. во время эффективной имплементации *Расширенной программы иммунизации, направленной на снижение заболеваемости детскими инфекциями*, Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) приняла резолюцию о глобальной инициативе по ликвидации полиомиелита (ГИЛП) в мире, согласно которой процесс ликвидации полиомиелита базировался на следующих основных противоэпидемических мероприятиях:

- эффективный эпидемиологический надзор с соблюдением основных критериев ВОЗ;
- прекращение циркуляции дикого полиовируса;
- обеспечение контейнмента;
- элиминация вакциноассоциированного вируса;
- прекращение использования живой оральной полиомиелитной вакцины (ОПВ) [6,7, 12].

Исходя из вышеописанного, становится очевидным, что несомненно большую роль в имплементации программы играет вакцинопрофилактика. Естественно, что в результате иммунизации должна быть прервана циркуляция штаммов дикого полиовируса (ДПВ). Основным условием для осуществления программы вакцинопрофилактики является переход на использование инактивированной полиомиелитной вакцины (ИПВ).

В 2013 году был принят *Стратегический план ликвидации полиомиелита в завершающей ее фазе 2013-2018гг.* Согласно стратегическому плану, для полной ликвидации полиовируса в мире необходимо прекращение использования трехвалентной ОПВ с переходом на двухвалентную

вакцину без штамма 2-го типа ДПВ, так как случаев заболевания, вызванных данным штаммом, в мире не зарегистрировано с 1999г. [9], с одновременным введением одной дозы ИПВ. Введение ИПВ во всех странах необходимо начать за 6 месяцев до перехода с трехвалентной вакцины на двухвалентную, что планируется до конца 2015г. В течение 2016г. планируется полный переход на использование двухвалентной вакцины. Внедрение ИПВ необходимо для снижения риска возникновения вакциноассоциированного паралитического полиомиелита (ВАПП) [8], вспышек, связанных с циркулирующим вакцинородственным полиовирусом (цВРПВ), а также с целью обеспечения иммунитета против штамма ДПВ2. Следовательно, становится очевидным, что и без того отстающий график ликвидации полиомиелита в мире требует срочных действий по пересмотру календаря прививок.

Техническая и финансовая поддержка в области приобретения вакцин должна быть предоставлена со стороны ВОЗ и ЮНИСЕФ в сотрудничестве с *Глобальным альянсом по вакцинам и иммунизации (ГАВИ)*. В настоящее время используются однодозовые, двухдозовые и десятидозовые расфасовки вакцин, а в 2014г. ожидается выпуск пятидозовой расфасовки. Также выпускаются четырехвалентные вакцины, в которые кроме ИПВ входят дифтерия, столбняк и коклюш, пяти- и шестивалентные, содержащие антигены против гепатита В или гемофильной инфекции типа В. Изначально стоимость одной дозы ИПВ, по данным 2010г., была \$3 США, при посредничестве ЮНИСЕФ, или \$10.99 – без посредничества [12].

На сегодняшний день планируется внедрить ИПВ в 120 странах, больше половины которых поддерживается со стороны ГАВИ, и поэтому странам с низким доходом на душу населения ИПВ будет стоить 0.75 евро (около \$1) в 10-дозовой упаковке. Странам-партнерам, поддерживаемым ГАВИ, со средним доходом на душу населения, вакцина будет доступна за 1.49-2.40 евро (около \$ 2.04-3.28) за дозу, также ИПВ будет доступна для стран с низкими и средними доходами на душу населения, поддерживаемых ГАВИ, в 5-дозовой упаковке, по цене \$ 1.90 за дозу и в однодозовой упаковке – \$ 2.80 за дозу [13, 14]. Комбинированные вакцины по сравнению с моновакцинами стоят сравнительно дорого. В табл. 1 и 2 представлены основные применяемые вакцинные препараты против полиомиелита [10].

Таблица 1

Перечень наиболее применяемых вакцин против полиомиелита, содержащих ИПВ

Название препарата	Коммерческое название	Расфасовка	Цена одной дозы, \$ США	Производитель
Усиленная ИПВ	IROL	10 доз *	12.42	Sanofi Pasteur
АаКДС+ИПВ	Kinrix®	1 доза *	37.13	GlaxoSmithKline
АаКДС+геп.В+ИПВ	Pediarix®	1 доза, шприц тубик*	52.58	GlaxoSmithKline

*В стоимость вакцин включена федеральная акцизная стоимость (США) от \$ 0.75 до 2.25

Таблица 2

Перечень ИПВ вакцин, закупаемых Детским фондом ООН (ЮНИСЕФ)

Название препарата	Расфасовка	Цена одной дозы, \$ США	Производитель
ИПВ	1 доза	4.14	GSK
ИПВ	10 доз	2.25 - 2.70*	Sanofi Pasteur
ИПВ	1 доза	5.70	Staten Serum Institute

*В зависимости от количества заказанных доз [11]

В Республике Армения вакцинопрофилактика осуществляется согласно постановлению Правительства РА от 14 января 2010г. N46-Н «Об утверждении национальной программы иммунопрофилактики 2010-2015гг.», согласно которой иммунизация против полиомиелита проводится в возрасте 1.5, 3, 4.5 и 18 месяцев, а также в 6 лет живой оральной трехвалентной полиомиелитной вакциной [1,2].

Материал и методы

В работе использованы данные *Национальной статистической службы РА*; материалы относительно цен и способов приобретения вакцин, опубликованные на официальных сайтах ВОЗ, Детского фонда ООН (ЮНИСЕФ), материалы заседаний коллегии Министерства здравоохранения РА и другие нормативные документы.

Произведен расчет финансовых затрат на приобретение вакцин.

Результаты и обсуждение

Становится понятным, что в плане реализации инициативы по глобальной ликвидации полиомиелита во всем мире процесс внедрения ИПВ, с одновременным прекращением использования ОПВ, неизбежен. В данном случае можно использовать два сценария внедрения ИПВ: использование моновалентной вакцины в виде инъекций или использование комбинированной вакцины типа гексавалентной.

22 января 2014г. на заседании коллегии МЗ РА было принято решение «О внедрении ИПВ в национальный календарь прививок РА» [4], где в частности ИПВ, входящая в состав шестивалентной вакцины, будет внедрена вместо пятивалентной вакцины по следующей схеме: в 2015г. только третья прививка пятивалентной вакциной в возрасте 4.5мес. будет замещена, в 2016г. только вторая и третья прививка в возрасте 3 и 4.5 месяцев и в 2017г. все три прививки пятивалентной вакцины в возрасте 1.5, 3 и 4.5 месяцев будут замещены шестивалентной.

Остается открытым вопрос финансирования намеченной политики, поскольку, как было отмечено, процесс приобретения вакцин осуществляется при поддержке международных организаций [5], в частности ГАВИ и ЮНИСЕФ, доля бюджетных расходов правительства на программу иммунизации, как указано на рисунке, начиная с 2008г. остается на высоком уровне. В плане приобретения новых вакцин сохраняется поддержка ГАВИ, и, согласно договоренности, срок этой поддержки в Республике Армения истекает в 2016г.

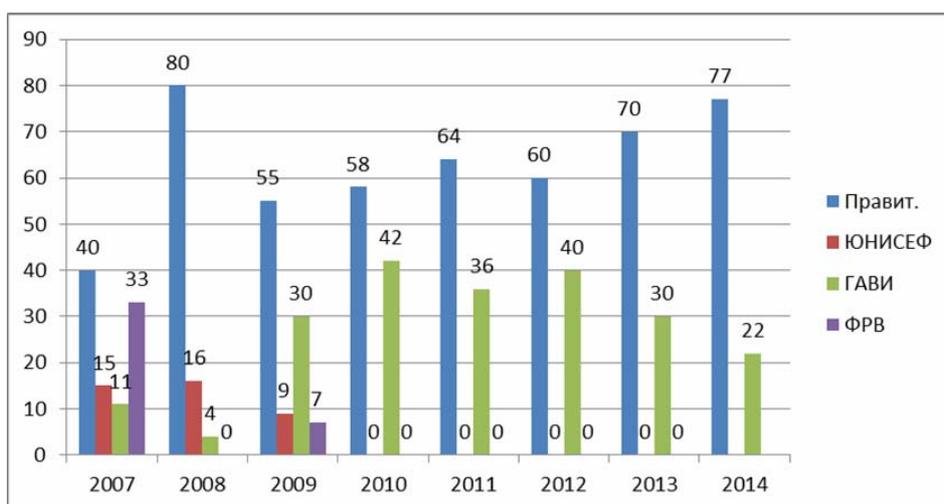


Рисунок. Процент бюджетных расходов на приобретение вакцин (Правительство РА, ЮНИСЕФ, ГАВИ и Фонд Ростроповича-Вишневской)

Естественно, что техническая поддержка для внедрения ИПВ будет осуществляться со стороны ВОЗ и ЮНИСЕФ, а также неправительственными организациями (НПО). Только в 2013г. ГАВИ обязался поддержать внедрение ИПВ в 73 странах. Вопрос финансовой поддержки особо актуален в плане внедрения гексавалентной вакцины, которая содержит антигены против дифтерии, столбняка, коклюша, гемофильной инфекции типа В, гепатита В и полиомиелита, стоимость которой составляет 10-15 тыс. драм (около \$ 25-35), Проведенные расчеты, представленные в табл. 3 и 4, показали, что потребуется около 2 млрд драм на внедрение гексавалентной вакцины в 2017г., что почти в три раза больше по сравнению с внедрением моновалентной ИПВ (около 700 млн драм).

Таблица 3

Государственный бюджет Республики Армения, включая расходы на здравоохранение и программу иммунизации [3]

Год	Бюджет РА (млн)	Расходы на здравоохранение (млн)	Расходы на программу иммунизации (млн)
2008	802939.0	49972.5	120.0
2009	711696.2	56168.8	150.0
2010	804297.1	56130.8	190.0
2011	906071.5	63312.4	230.0
2012	975096.5	64498.9	330.0*

* В 2013г. бюджет на программу иммунизации составлял 400 млн драм; в 2014г. – 655.8 млн драм

Таблица 4

Расчет затрат на приобретение новых вакцин против полиомиелита в РА

Название вакцины	Целевая группа	Колич. доз	Колич. доз с учетом допустимого процента потерь (25%)	Стоимость одной дозы вакцины (драм)	Дополнит. материалы	ВСЕГО
ИПВ	42000	3	173 250	4000	6228337.5	699228337.5
Гексавал.	42000	3	173 250	15000	6228337.5	2604978338
Бивалент.	42000	3	173 250	53	6228337.5	9182250

Таким образом, описанный процесс имплементации *Стратегического плана по ликвидации полиомиелита в завершающей ее фазе 2013-2018гг.* требует правильного и многостороннего подхода со стороны

Правительства Республики Армения по поводу дальнейших сценариев развития вакцинопрофилактики в нашей стране, где особенную роль должен сыграть компонент сохранения доверия к вакцинопрофилактике со стороны населения.

Поступила 11.06.14

Հայաստանում պոլիոմիելիտի դեմ նոր պատվաստանյութերի ներդրման պարադիգման

**Հ.Ս.Հովհաննիսյան, Ա.Ռ.Բադալյան,
Ա.Ձ.Համբարձումյան**

Ժամանակակից առողջապահության խնդիրներից մեկը պոլիոմիելիտի վերացումն է ամբողջ աշխարհում: Նշված նպատակին հասնելու ամենաարդյունավետ միջոցը պատվաստումն է: Հայաստանի Հանրապետությունը 2002թ.-ին ճանաչվել է ԱՀԿ-ի կողմից պոլիոմիելիտից ազատ գոտի: Համաձայն 2013թ.-ին ընդունված ռազմավարությանը, պոլիոմիելիտը անհրաժեշտ է վերացնել 2018թ.-ին: Այդ ռազմավարության կիզակետային նպատակներից է՝ նախորդ պատվաստումներից առաջացած անընկալության ամրապնդումը և պատվաստում-համակցված պոլիոմիելիտը բացառելու նպատակով ինակտիվացված պատվաստանյութի ներդրումը: Ներկայումս Հայաստանի Հանրապետությունում մշակվում է ռազմավարություն՝ կենդանի պոլիոմիելիտային պատվաստումից ինակտիվացված պոլիոմիելիտային պատվաստանյութի և երկվալենտ կենդանի պոլիոմիելիտային պատվաստանյութի անցման վերաբերյալ, որը, սակայն, պահանջում է մեծ ֆինանսական ներդրումներ: Ինակտիվացված պոլիոմիելիտային պատվաստանյութի համակցված ձևի (հեքսավալենտ պատվաստանյութ) միայն մեկ դեղաչափի արժեքը մոտ 35 ԱՄՆ դոլար է, որը անհամեմատ բարձր է ներկայումս կիրառվող պոլիոմիելիտի դեմ կենդանի պատվաստանյութի գնից (մոտ 0.15 ԱՄՆ դոլար): Բնականաբար, անհնար է իրագործել նշված պատվաստանյութի ներդրումը՝ առանց պետական աջակցության և այնպիսի միջազգային կազմակերպությունների օժանդակության, ինչպիսիք են *ՄԱԿ-ի Մանկական հիմնադրամը*, *ԳԱՎԻ-ն* (Պատվաստանյութերի և պատվաստումների գլոբալ դաշինք) և այլ ոչ պետական կառույցներ:

The paradigm of the process of new vaccines introduction against poliomyelitis in Armenia

H.S. Hovhannisyan, A.R. Badalyan,
A.Dz. Hambardzumyan

Eradication of poliomyelitis in the world is considered to be one of the current health issues. The most effective method to achieve this goal is the vaccination. The Republic of Armenia was certified by WHO as a polio free zone in 2002. According to the strategy accepted in 2013, poliomyelitis is to be eradicated in 2018. One of the keystones of this strategy is introduction of an inactivated poliovirus vaccine for reinforcement of the immunity due to the previous vaccinations and exclusion of the vaccine-associated paralytic poliomyelitis. Currently, the development of a strategy for transition from the live vaccine to the inactivated one against poliomyelitis and introduction of bivalent live vaccine is in process, but it requires significant financial contributions. The cost of only one dose of the associated inactivated vaccine is 35\$, which is incomparably higher than the cost of the current OPV vaccine (approx. 0.15\$). Naturally, it is impossible to implement this strategy without the support of the government and international organizations, such as UNICEF, GAVI (Global Alliance for Vaccines and Immunization) and other NGOs.

Լիտերատուրա

1. ՀՀ կառավարության 2012թ.-ի հոկտեմբերի 10 թիվ 1285-Ն որոշում, հունվարի 14-ի թիվ 46-Ն որոշման մեջ լրացումներ և փոփոխություններ կատարելու մասին:
2. «Հայաստանի Հանրապետության ինունականխարգելման ոլորտում մեթոդական ցուցումները հաստատելու և ՀՀ ԱՆ 2009թ. նոյեմբերի 24-ի N 1823-Ն հրամանն ուժը կորցրած ճանաչելու մասին»:
3. Հայաստանի վիճակագրական տարեգիրք, 2013, էջ 383, 391:
4. ՀՀ Առողջապահության Նախարարություն, Նախարարին կից կոլեգիա, 22 հունվար 2014, http://moh.am/?section=static_pages/index&id=641:
5. ВОЗ, Доклады региональных комитетов исполнительному комитету, EB134/4, 20 декабря 2013г.
6. *Облапенко Г.П.* Ликвидация полиомиелита в Европе. Актовая речь к 80-летию Санкт-Петербургского Института Пастера. СПб, 2008г.
7. *Романенкова Н.И., Бичурин М.А., Розаева Н.Р., Шишко Л.А.* Иммуитет к полиовирусам у детского населения на ряде территорий Российской Федерации. Журн. Микробиол., 2012, 5, с.49-53.
8. *Самойлович Е.О., Свирчевская Е.Ю., Ермолович М.А., Семейко Г.В., Ясинская Л.И., Астапов А.А.* Надзор за заболеваниями с синдромом острого вялого паралича у детей в Республике Беларусь. Актуальные вопросы эпидемиологии. Материалы научно-практической конференции НИИ эпидемиологии, вирусологии и мед.паразитологии, Ереван, 2013, с. 212-213.

9. Сейбиль В.Б., Мальшикина Л.П., Возможный метод ликвидации полиомиелита как инфекции. Журн. Микробиол., 2012, 3, с.107-113.
10. CDC vaccines for Children Program (VFC), CDC Vaccine price list. http://www.cdc.gov/vaccines/programs/vfc/awardees/vaccine-management/price-list/index.html?s_cid=cs_000
11. Current IPV Supply and Recent Tender Results, UNICEF, Supplies and Logistics. http://www.unicef.org/supply/index_66260.html
12. PATH, An economic analysis of strategies to reduce the cost of routine IPV immunization. April 20, 2010, p. 2-8.
13. Robert Roos, CIDRAP News, UNICEF, WHO push for inactivated polio vaccine. University of Minnesota, March 04.2014. <http://www.cidrap.umn.edu/news-perspective/2014/03/unicef-who-push-inactivated-polio-vaccine>
14. UNICEF, Press centre, Joint GPEI-GAVI Statement on the Availability and Price of Inactivated Polio Vaccine. http://www.unicef.org/media/media_72738.html

УДК 616.992.282

***Candida* ցեղի սնկերի մասնակցությունը միկրոբային
համակցումներում տարբեր աղիքային
խանգարումների ժամանակ**

**Ն.Ն. Ավետիսյան¹, Ա.Ձ. Համբարձումյան², Ս.Ս. Աղամալյան,
Մ.Մ. Տեր-Ստեփանյան**

*ՀՀ ԱՆ ՀՎԿ ազգային կենտրոն, Երևանի թիվ 2 մասնաճյուղ ՊՈԱԿ
ԵՊԲՀ համաճարակաբանության ամբիոն
0025, Երևան, Կորյունի փ., 2*

Բանալի բառեր. միկրոբիոցենոզ, միկրոբային համակցումներ, *Candida*
ցեղի սնկեր, աղիքային հիվանդություններ

Մարդու օրգանիզմի նորմալ միկրոբիոցենոզի խանգարումը միշտ եղել և մնում է բժշկության տարբեր բնագավառների մասնագետների ուշադրության կենտրոնում: Դա, հավանաբար, կապված է նոր, ինչպես էթիոլոգիկ, այնպես էլ ուղեկցող միկրոօրգանիզմների հայտնաբերման հետ, որոնք մասնակցում են ինֆեկցիոն-բորբոքային հիվանդությունների ընթացքին [3, 7]:

Նորմալ պայմաններում *Candida* ցեղի սնկերի հիմնական «բնակավայրը» համարվում են աղիքները: Որոշակի պայմաններում, որոնք բերում են օրգանիզմի իմունաբանական ռեակտիվության փոփոխության և մարսողական տրակտի միկրոէկոլոգիայի խանգարման, օրգանիզմում առկա *Candida* ցեղի սապրոֆիտ սնկերը ինտենսիվ բազմանում են, կուտակվում աղիքներում և առաջացնում բազմաթիվ թելանման ձևեր՝ պսևդոմիցելիներ, որոնք համարվում են ագրեսիայի գործոն, իսկ բերանի խոռոչի, կերակրափողի և այլ լորձաթաղանթներում տեղի է ունենում ինվազիա, այսինքն՝ առաջանում է արտաաղիքային տեղակայման կանդիդոզ [6, 8, 9]: Շատ ինֆեկցիոն-բորբոքային հիվանդությունների ժամանակ *Candida* ցեղի սնկերը համարվում են միկրոբային համակցումների մասնակից և բարդացնում են հիմնական հիվանդության ընթացքը [1, 5]:

Բազմաթիվ կլինիկական և փորձարարական հետազոտություններից պարզվել է, որ ինֆեկցիոն-բորբոքային հիվանդությունները

հիմնականում առաջանում և զարգանում են միկրոբային համակցումների առաջացման պայմաններում [2, 4, 7]: Հիվանդության հարուցիչները (բակտերիա, վիրուս, նախակենդանի և այլն) ախտահարելով մարդուն՝ միկրոբ-համակցողների հետ մտնում են այս կամ այլ հարաբերությունների մեջ: Բայց միկրոբզանիզմների պարզ հարևանությունը դեռևս չի կարելի համարել համակցում: Միկրոբային համակցումներում առաջանում են բարդ և խրթին փոխհարաբերություններ, որտեղ սերտ փոխհամակցություն է առաջանում համակցման մասնակից միկրոբզանիզմների միջև, ինչպես նաև այս միկրոբզանիզմների և մակրոբզանիզմի միջև:

Candida ցեղի սնկերը շատ ինֆեկցիոն-բորբոքային պրոցեսներում համարվում են միկրոբային համակցումների մասնակիցներ: Պատճառներից մեկը, որը պայմանավորում է ինֆեկցիոն-բորբոքային հիվանդությունների ժամանակ սնկերի սիներգիկ ազդեցությունը, համարվում է էպիթելյար ծածկույթի լորձաթաղանթների ամբողջականության խախտումը, որը պայման է ստեղծում, որպեսզի միկրոբզանիզմը ներթափանցի մակրոբզանիզմ՝ հաղթահարելով այն պաշտպանական պատնեշը, որը շատ միկրոբզանիզմների համար համարվում են անվնաս մաշկը և լորձաթաղանթները: Սրանց վնասման ժամանակ տեղի է ունենում շատ մանրէ-համակցողների կուտակում, որը ծանրացնում է հիմնական հիվանդության ընթացքը [6, 7, 10]:

Այսօր կարելի է ասել անուշադրության է մատնված նաև *Candida* ցեղի սնկերի աղիքային բորբոքային հիվանդություններին մասնակցությունը, որոնց ժամանակ ստեղծվում են միկրոբային համակցումներ, չնայած որ աղիքային միկրոֆլորայի վիճակի գնահատման պրոբլեմի մասին շատ գիտական աշխատանքներ են կատարվել [1-4, 8]:

Մեր հետազոտություններում առավելապես շեշտադրված է աղիքային բիոցենոզի խանգարման դեպքում դոմինանտ կանդիդոզային բաղադրիչը, որը հաստ աղիքի հիվանդության զարգացման ժամանակ ունակ է դառնալու պաթոգենետիկ օղակներից մեկը: Գրականության տվյալների համաձայն, առավելապես կայուն են համարվում և մշտապես հայտնաբերվում են այնպիսի միկրոբային պոպուլյացիաներ, ինչպիսիք են բիֆիդո- և լակտոբակտերիաները, բակտերոիդները, անաերոբ կոկերը, *E.coli*-ն, ֆեկալ ստրեպտոկոկերը, իսկ միկրոբային համակցումների դինամիկ հավասարակշռության խախտումը բերում է աղիքային հիվանդությունների առաջացման [1,4]:

Այսպիսով, մեր հետազոտության նպատակն է *Candida* ցեղի սնկերի և պայմանական-ախտածին միկրոբզանիզմների միջև համակցումների հայտնաբերումը, որը բերում է աղիքային հիվանդության զարգացման:

Նյութը և մեթոդները

Հետազոտություններն անցկացվել են ՀՀ ԱՆ ՀՎԿ ազգային կենտրոն, թիվ 2 մասնաճյուղի մանրէաբանական լաբորատորիայում 2008 - 2011թթ. ընթացքում: 510 հիվանդի մոտ անցկացվել է աղիքների պարունակության հետազոտություն՝ դիսբակտերիոզի և ախտածին միկրոֆլորայի հայտնաբերման ուղղությամբ: Աղիքային միկրոֆլորայի մանրէաբանական հետազոտությունը հիմնված է եղել միկրոօրգանիզմների տարբեր խմբերի ներկայացուցիչների անջատման և քանակական հաշվարկի վրա: Այդ նպատակով օգտագործվել են տարբեր սննդային միջավայրեր, աճեցման աերոբ և անաերոբ պայմաններ:

Միկրոֆլորայի բաղադրության տեսակային և քանակական ուսումնասիրման համար ուղղորդվել ենք Ռ.Վ. Էպշտեյն-Լիտվակի և Ֆ.Լ. Վիլչանսկայայի մեթոդական ցուցումներով:

Արդյունքները և դրանց քննարկումը

Հետազոտված 510 հիվանդների հաստ աղու միկրոբային պատկերի վերլուծությունը թույլ է տալիս նշել, որ 1 գ աղիքային պարունակության օրիգատ միկրոֆլորայում առավելապես հայտնաբերվում են բիֆիդոբակտերիաներ՝ 10^8 խտությամբ հիվանդների 56,1%-ի մոտ (286 հիվանդ), լակտոբակտերիաներ՝ 10^6 խտությամբ՝ 64,9% դեպքում (331 հիվանդ), ակտիվ աղիքային ցուպիկ՝ 10^7 խտությամբ 59,4% դեպքերում (303 հիվանդ):

Ինչ վերաբերվում է ֆակուլտատիվ միկրոֆլորային, ապա դրա գերակշռող մասը կազմում են *Candida* ցեղի սնկերը 10^3 և ավելի խտությամբ, որն անջատվել է 183 հիվանդից (35,9%) և ապա հետևում են էնտերոբակտերը, ախտածին ստաֆիլոկոկերը և այլն:

Աղիքային միկրոֆլորայի կազմում տարբեր մանրէների հայտնաբերման հաճախականությունը ներկայացված է աղ. 1-ում: Պետք է նշել, որ հայտնաբերված միկրոօրգանիզմները հիմնականում ներկայացված էին միկրոբային համակցումների ձևով, ընդ որում հանդիպում էին ինչպես երկբադադրիչ՝ 47,8% դեպքերում (244 հիվանդ), այնպես էլ՝ եռաբադադրիչ համակցումներ՝ 21,9% դեպքերում (111 հիվանդ): Վերլուծելով հետազոտված հիվանդների աղիքային միկրոֆլորան, կարելի է նկատել, որ 510 հիվանդի աղիքային պարունակությունից անջատվել են միկրոբային համակցումներ, որոնք ներկայացված են ակտիվ աղիքային ցուպիկով, *Enterobacteriaceae* ընտանիքի պայմանական-ախտածին միկրոֆլորայի ներկայացուցիչներով:

Աղյուսակ 1

Աղիքային միքրոֆլորայի կազմում անջատված մանրէների հայտնաբերման հաճախականությունը ($n=510$)

Միկրոօրգանիզմների տեսակը	Հայտնաբերման հաճախականությունը	
	բաց. թիվ	%
Բիֆիդոբակտերիաներ $>10^7$ խտ.	286	56,1
Բիֆիդոբակտերիաներ $<10^7$ խտ.	184	36,1
Լակտոբակտերիաներ $>10^6$ խտ.	331	65
Լակտոբակտերիաներ $<10^6$ խտ.	147	28,8
Ակտիվ <i>E.coli</i> $>10^7$ խտ.	303	59,4
<i>E.coli</i> $<10^7$ խտ.	173	33,9
<i>Enterobacter</i> $>10^4$ խտ.	92	18
<i>S.aureus</i>	71	13,9
<i>Klebsiella</i> $>10^4$ խտ.	1	0,2
<i>Citrobacter</i> $>10^4$ խտ.	16	3,1
Հեմոլիտիկ ակտիվությամբ <i>E.coli</i> $>10^4$ խտ.	11	2,2
<i>Ps.aeruginosa</i>	1	0,2
<i>Candida</i> ցեղի սնկեր $>10^3$ խտ.	183	35,9
<i>Proteus mirabilis</i>	2	0,4

Աղյուսակ 2-ում ներկայացված տվյալներից հետևում է, որ գերակշռում են աղիքային ցուպիկի և *Candida* ցեղի սնկերի մասնակցությամբ համակցումները՝ 150 հիվանդի մոտ (29,4%): Ընդ որում, երկբաղադրիչ համակցումները 2,2 անգամ գերակշռում են եռբաղադրիչ համակցումների հայտնաբերման հաճախականությանը: Ինչպես երևում է աղ. 2-ի տվյալներից, *Candida* ցեղի սնկերը միկրոբային համակցումներում ընդհանուր առմամբ հայտնաբերվում են 51,3% դեպքերում (261 հիվանդ), այսինքն՝ հիվանդների կեսից ավելիի մոտ:

Աղյուսակ 2

Միկրոբային համակցումների հաճախականությունը

Միկրոբային համակցումներ	Հանդիպման հաճախականությունը	
	բաց. թիվ	%
<i>E.coli</i> + <i>Candida</i> ցեղի սնկեր	150	29,4
<i>E.coli</i> + այլ պայմ.-ախտածին միկրոօրգանիզմներ (<i>Enterobacteriaceae</i> ընտանիքի)	94	18,4
<i>E.coli</i> + <i>S.aureus</i> + <i>Candida</i> ցեղի սնկեր	49	9,7
<i>E.coli</i> +այլ պայմ.-ախտածին միկրոօրգ.+ <i>Candida</i> ցեղի սնկեր	62	12,2

Candida ցեղի սնկերի տարբեր միկրոբային համակցումների ձևով հայտնաբերման հաճախականությունը արտացոլված է աղ. 3-ում: Ինչպես երևում է տվյալներից, միկրոբային համակցումներում, որոնք անջատվել են աղեստամոսքսային տրակտի կողմից տարբեր գանգատներ նշող հիվանդների հաստ աղու պարունակության բակտերիոլոգական հետազոտության արդյունքում, *Candida* ցեղի սնկերի մասնակցությունը բավականին մեծ է: Ակտիվ աղիքային ցուպիկի հետ միկրոբային համակցումներում, որտեղ *Candida* ցեղի սնկերի հայտնաբերման հաճախականությունը եղել է $>10^3$ խտությունից, կազմում է 57,8%, իսկ եռբաղադրիչ համակցումներում, որտեղ կան նաև *Enterobacteriaceae* ընտանիքի պայմանական-ախտածին միկրոօրգանիզմներ $>10^4$ խտությունից՝ 23,8%: Սա ևս մեկ անգամ ապացուցում է աղիքների բիոցենոզի խանգարումների ժամանակ *Candida* ցեղի սնկերի էական դերը, որպես միկրոբային համակցումների մասնակից:

Աղիքային միկրոֆլորայի տեսակային և քանակական կազմի փոփոխությունները հիմնականում ներկայացված են միկրոբիոցենոզի կազմում ախտաբանական տեղաշարժերով: Այս խանգարումները պայմանավորված են օբլիգատ միկրոֆլորայի ներկայացուցիչ միկրոօրգանիզմների խտության նվազումով, հատկապես՝ բիֆիդոբակտերիաների, ակտիվ աղիքային ցուպիկի, լակտոբակտերիաների և ֆակուլտատիվ միկրոֆլորայի ներկայացուցիչների խտության ավելացմամբ, այնպիսիք, ինչպիսիք են *Enterobacteriaceae* ընտանիքին պատկանող պայմանական-ախտածին միկրոօրգանիզմները, *S. aureus*-ը, *Candida* ցեղի սնկերը և այլն:

Աղյուսակ 3

Candida ցեղի սնկերի հայտնաբերման հաճախականությունը տարբեր միկրոբային համակցումներում

Միկրոբային համակցումներ	Աճի հաճախականությունը	
	բաց. թիվ	%
<i>E.coli</i> + <i>Candida</i> ցեղի սնկեր	150	57,8
<i>E.coli</i> + <i>S.aureus</i> + <i>Candida</i> ցեղի սնկեր	49	18,8
<i>E.coli</i> + <i>Enterobacteriaceae</i> ընտանիքի պայմ.-ախտածին մ/օ + <i>Candida</i> ցեղի սնկեր	62	23,8

Մեր հետազոտությունների արդյունքները ևս մեկ անգամ ապացուցում են արդի գրականությունում բազմիցս հիշատակվող տվյալները աղիքային դիսբիոզներում *Candida* ցեղի սնկերի ունեցած մեծ նշանակության վերաբերյալ: Այսպիսով, աղիքային միկրոբիոցենոզի խանգարումների ժամանակ, որոնք ուղեկցվում են օրլիզատ միկրոֆլորայի ներկայացուցիչների քանակի նվազումով, ինչպես նաև ֆակուլտատիվ միկրոֆլորայի միկրոօրգանիզմների խտության ավելացմամբ, գերակշռող դերը պատկանում է *Candida* ցեղի սնկերին: Ընդ որում, վերջիններս հիմնականում հայտնաբերվել են 1գ աղիքային պարունակությունում $>10^5$ խտությունում:

Համարվելով միկրոբային համակցումների ակտիվ մասնակից, *Candida* ցեղի սնկերը, տեղակայվելով աղիքներում, ձեռք են բերում կայուն աճ առաջացնելու հնարավորություն: Ուստի, աղիքների տարբեր հիվանդությունների ժամանակ մեզ հայտնի ընդունված ալգորիթմի մեջ ցանկալի է ընդգրկել նաև աղիքային պարունակության հետազոտությունը՝ դիսբակտերիոզի վերաբերյալ:

Поступила 12.05.14

Участие грибов рода *Candida* в микробных ассоциациях при различных кишечных расстройствах

Н.Н.Аветисян, А.Дз. Амбарцумян, С.С. Агамалян,
М.М. Тер-Степанян

Было произведено бактериологическое исследование кишечного содержимого на дисбактериоз и выявление патогенной микрофлоры у 510 пациентов с различными жалобами со стороны желудочно-кишечного тракта. Участие грибов рода *Candida* в микробных ассоциациях было выявлено у 261 пациента, что составляет 51,3%. В микробных ассоциациях с активной кишечной палочкой грибы рода *Candida* в концентрации $>10^3$ были высеяны в 57,8% случаев, а в трехкомпонентных ассоциациях с условнопатогенными представителями семейства *Enterobacteriaceae* их высеваемость составила 23,8%. Это лишний раз доказывает существенную роль грибов рода *Candida* как участника микробных ассоциаций.

Participation of *Candida* fungi in microbial associations in various intestinal disorders

N.N. Avetisyan, A. Dz. Hambardzumyan, S.S. Aghamalyan,
M.M. Ter-Stepanyan

Bacteriological examination of the intestinal contents was conducted with identification of the growth of pathogenic microorganisms and disbacteriosis in 510 patients with various complaints from the gastrointestinal tract. Participation of *Candida* fungi in microbial associations was detected in 261 patients, accounting for 51.3%. Microbial associations with active *Escherichia coli* and *Candida* fungi in concentrations $> 10^3$ were shown in 57.8% of cases, and in ternary associations with opportunistic members of the *Enterobacteriaceae* family inoculation was 23.8%. This proves once again the essential role of fungi *Candida*, as a member of microbial associations.

Գրականություն

1. Баженов Л.Г. и соавт. Роль грибов рода *Candida* в микробиоценозе желудка при хеликобактериозе. Успехи мед. микологии, 2003, т.1, с.8 - 9.
2. Барышникова Н.В. Клинико-микробиологическая характеристика микробиоценоза кишечника и коррекция его нарушений у больных хроническим гастродуоденитом, ассоциированным с *Helicobacter pylori*. Автореф. дис. ... канд. мед.наук. СПб, 2006, 24 с.

3. *Веселов А.Я.* Современные представления о нормальной микрофлоре пищеварительного тракта взрослого человека и изменения ее в норме и при некоторых заболеваниях органов пищеварения. Лаб. дело, 1988, 4, с.3 - 11.
4. *Глазкова Л.К.* Кандидоз (методич. пособие) Екатеринбург, 1999.
5. *Златкина А.Р., Исаков В.А., Иваников И.О.* Кандидоз кишечника как новая проблема гастроэнтерологии. Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии, 2001, 6, с.338.
6. *Шевяков М.А.* Кандидоз органов пищеварения: клиника, диагностика, лечение. Пробл. мед. микологии, 2009, т.9, с. 48 - 49.
7. *Cohen R. et al.* Fungal flora of the normal human small and large intestine. N. Engl. J. Med., 1969, Mar 20;280(12):638-41.
8. *Gow N.A., Brown A.J. and Odds F.C.* Fungal morphogenesis and host invasion. Curr. Opin.Microbiol., 2002, vol.5, p.366-371.
9. *Jobst D., Kraft K.* Candida species in stool, symptoms and complaints in general practice a cross-sectional study of 308 outpatients.The Internet Journal of Family Practice, 2006, vol.49, p. 415-420.
10. *Poxton J.R., Brown R., Sawyer A. and Ferguson A.* Mucosassociated bacterial flora of the human colon. J. Med. Microbiol., 1997, vol. 46, p. 85-91.

Дисфункция правого желудочка как фактор прогрессирования ренокардиального синдрома

А.М. Минасян, А.С. Сисакян

*ЕГМУ им. М. Гераци, кафедра терапии № 3,
кафедра неотложной кардиологии
0025, Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: ренокардиальный синдром, кардиоренальный синдром (КРС), хроническая болезнь почек (ХБП), дисфункция правого желудочка, TAPSE

Последнее десятилетие отмечено существенным увеличением частоты встречаемости хронической сердечной (ХСН) и почечной (ХПН) недостаточности [17].

Почечная дисфункция широко распространена среди пациентов с ХСН (45–63,6 %) [1] и является негативным прогностическим фактором в отношении развития систолической и диастолической дисфункции левого желудочка (ЛЖ), а также сердечно-сосудистой смерти [12]. Одним из основных факторов, вызывающих повреждение почек при хроническом КРС, прежде всего при ХСН, считается длительная ренальная гипоперфузия [7]. Вероятность развития почечной дисфункции у больных с кардиальной патологией значительно выше, чем в общей популяции, а сочетание любых двух факторов сердечно-сосудистого риска повышает вероятность развития ХБП почти в 4 раза [14].

Патофизиология ХБП при ХСН объясняется понижением артериального перфузионного давления и почечного кровотока, что является основной причиной дисфункции почек у больных со сниженным сердечным выбросом [3]. Современные теории ассоциируются с венозным застоем, что подтверждается повышением давления в правом предсердии (ПП), а также с почечной дисфункцией при острой сердечной недостаточности [16], ХСН [6], при легочной гипертензии [4] и при катетеризации правого сердца по различным клиническим показаниям [5]. Однако, при отсутствии эхокардиографических (ЭхоКГ) данных, эти клинические и гемодинамические исследования не могли бы определить связь между специфическими кардиальными нарушениями, такими как недостаточ-

ность правого желудочка (ПЖ), и почечной дисфункцией. Среди ЭхоКГ методов определения систолической функции ПЖ, TAPSE (Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion – систолическая экскурсия кольца трехстворчатого клапана) является одним из наиболее изучаемых [10, 13]. Значение TAPSE ≤ 14 мм ассоциируется с неблагоприятным исходом у больных с ХСН и пониженной функцией ПЖ [10, 13]. Функционирующий ПЖ является важным фактором для поддержания как низкого венозного давления (значительно ниже онкотического давления плазмы), так и адекватного сердечного выброса, каждый из которых может опосредовать взаимосвязь между дисфункцией ПЖ и ХБП [9]. Несмотря на данные вышеуказанных исследований, связь между функцией ПЖ и ХБП при систолической ХСН остается неясной. Учитывая вышеизложенное, нами была поставлена цель изучить взаимосвязь между основным показателем систолической функции ПЖ – TAPSE и показателями почечной функции.

Материал и методы

Обследовано 33 больных с ренокардиальным синдромом (КРС 4-го типа), проходивших лечение в отделении нефрологии и гемодиализа Медицинского центра “Сурб Григор Лусаворич”. Главным критерием включения больных в исследование было наличие ХБП с уровнем СКФ, вычисляемой по формуле Кокрофта-Гольта, менее 60 мл/мин [2]. Всем пациентам проводилось клинично-инструментальное обследование, включая объективный статус, электрокардиографию, биохимический и общий анализы крови. Эхокардиография проводилась на аппарате ALOKA 4000. Статистическая обработка данных проводилась с определением стандартного отклонения. Для изучения взаимосвязи между двумя показателями рассчитывался коэффициент корреляции по методу Пирсона. Клинично-инструментальная характеристика этих больных представлена в таблице.

Таблица

Клинично-инструментальная характеристика больных с ренокардиальным синдромом

Возраст, лет	60±18
Функциональный класс недостаточности кровообращения по NYHA	III ФК
Индекс массы тела	20±5,5
Креатинин (мкмоль/л)	312,4 ±25,8
СКФ (мл/мин/1,73м ²)	23±7
Систолическая функция ПЖ, TAPSE (N=1.6 см)	1,4±0,21

Результаты и обсуждение

Систолическая функция ПЖ оценивалась по TAPSE. У обследуемых отмечалось снижение TAPSE – $1,4 \pm 0,21$ см (норма – 1,6 см). При изучении взаимосвязи между снижением СКФ и снижением систолической функции ПЖ (TAPSE) наблюдалась прямая положительная корреляция и обратная взаимосвязь между уровнем креатинина в плазме крови и показателем TAPSE (рис.). Таким образом, изучение взаимосвязи нарушения почечной функции и систолической функции ПЖ у больных с ренокардиальным синдромом указывает на прогрессирующее снижение систолической функции ПЖ при почечной дисфункции.

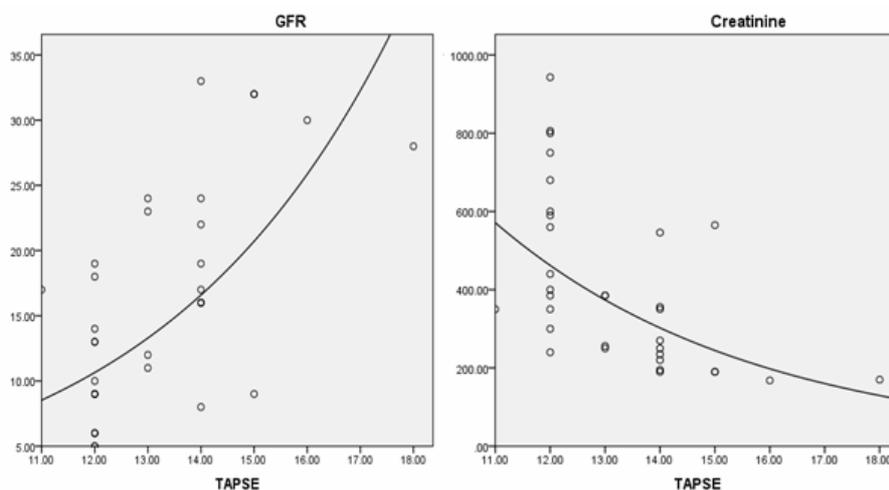


Рисунок. Взаимосвязь между функцией почек (СКФ, креатинин) и TAPSE правого желудочка

Патофизиологическим механизмом, объясняющим указанную взаимосвязь, является развитие венозного застоя при дисфункции ПЖ с повышением давления в почечных венах и прогрессирующим снижением СКФ. Полученные данные, в ряде случаев, объясняют эффективность фармако-терапии ренокардиального синдрома с целью снижения венозного застоя у больных с терминальной ХБП и ХСН.

Другим механизмом, который приводит к прогрессированию ренокардиального синдрома при систолической дисфункции ПЖ, является развитие сердечной кахексии. Застой в большом круге кровообращения, в частности в печени и почках, приводит к прогрессированию гипоальбуминемии. Именно наличие правожелудочковой недостаточности, а не левожелудочковой, играет ключевую роль в развитии синдрома кахексии. Следовательно, мероприятия, направленные на терапию ренокардиального

синдрома, должны включать изучение степени систолической дисфункции ПЖ с целью проведения лечения для предотвращения кахексии у этой категории больных.

При ЭхоКГ исследовании больных с систолической дисфункцией ПЖ наблюдалось расширение нижней полой вены с нарушением коллабирования в систолу на менее, чем 50% и дилатация полости ПП с увеличением его площади более 16 см². Указанные изменения являются признаками повышения давления в полости ПП более 15 мм рт.ст. [15], что является косвенным показателем повышения центрального венозного давления. Патогенетическая взаимосвязь между степенью почечной дисфункции и степенью правожелудочковой недостаточности, которая способствует прогрессированию почечной гипоперфузии, имеет перво-степенное значение в прогрессировании КРС. Именно повышение центрального венозного давления и анемия могут привести к резистентности фармакотерапии КРС.

Взаимосвязь между функцией ПЖ и венозным застоем достаточно хорошо охарактеризована Guyton A.C. et al. [11]. Авторы сопоставили кривые венозного возврата и сердечного выброса для определения точек их пересечения при определенных значениях давления в ПП, что зависит от сократительной способности ПЖ. Они отметили при снижении сократительной способности ПЖ установление давления в ПП на новом уровне, обеспечивающем достаточный сердечный выброс и венозный возврат. Эта концепция является основой для интерпретации результатов исследования Frank L.D. et al. [8], поскольку прогрессирующая дисфункция ПЖ (что видно из значительного снижения TAPSE) может предшествовать и непосредственно способствовать повышению давления в ПП, что, в свою очередь, приведет к системному застою, может объяснить взаимосвязь дисфункции ПЖ и снижения СКФ.

Следовательно, сочетание правожелудочковой недостаточности и почечной дисфункции ассоциируется с плохим прогнозом. Отмеченная рядом авторов связь между TAPSE и СКФ основывается на достаточно последовательных данных, поддерживающих гипотезу взаимосвязи венозного застоя, функции ПЖ и почечной функции [16, 18]. В целом, можно заключить, что появившаяся недавно концепция КРС, его классификация на типы будет способствовать проведению специально спланированных исследований для выявления клинических особенностей, диагностических маркеров, характерных для каждого вида, с целью профилактики и ведения этой категории больных.

Поступила 17.06.14

**Աջ փորոքի դիսֆունկցիան որպես ռենոկարդիալ
համախտանիշի զարգացման ցուցանիշ**

Ա.Մ. Մինասյան, Հ.Ս. Միսակյան

Ռենոկարդիալ համախտանիշը (կարդիոռենալ համախտանիշի 4-րդ տիպ) բնութագրվում է առաջնային խրոնիկական երիկամային հիվանդությամբ, որը բերում է սրտի ֆունկցիայի խանգարման:

Ռենոկարդիալ համախտանիշով 33 հիվանդի մոտ էխոսրտագրության մեթոդով իրականացվել է աջ փորոքի սիստոլիկ ֆունկցիայի որոշում TAPSE (Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion- եոփեղկ փականի օղի սիստոլիկ էքսկուրսիա) ցուցանիշի միջոցով և հայտնաբերվել է դրա իջեցում ($1,4 \pm 0,21$ սմ, նորման՝ 1,6 սմ): Կծիկային ֆիլտրացիայի արագության իջեցման և TAPSE փոխկապակցվածության ուսումնասիրությունը ցույց է տվել դրական կոռելյացիա, իսկ արյան պլազմայի կրեատինինի և TAPSE-ի միջև կապը եղել է հակադարձ:

Նշված փոխկապակցվածությունը բացատրող ախտաֆիզիոլոգիական մեխանիզմը աջ փորոքի դիսֆունկցիայի հետևանքով երակային կանգի առաջացումն է, երիկամային երակներում ճնշման բարձրացումը և կծիկային ֆիլտրացիայի իջեցումը:

Ռենոկարդիալ համախտանիշի զարգացմանը նպաստող մեկ այլ մեխանիզմ է հանդիսանում արյան մեծ շրջանառությունում կանգի հետևանքով առաջացած սրտային կախեքսիան՝ հիպոալբումինեմիայի զարգացմամբ: Նշվածիս հետևում է ռենոկարդիալ համախտանիշի նպատակաուղղված բուժման իրականացումը աջ փորոքի դիսֆունկցիայի աստիճանի ուսումնասիրությամբ այդ հիվանդների մոտ՝ սրտային կախեքսիայի առաջացումը կանխելու համար:

Հետևաբար, վերջերս հայտնաբերված կարդիոռենալ համախտանիշ հասկացությունը, նրա դասակարգումը տիպերի կխթանի հետագա հետազոտությունների իրականացումը այդ համախտանիշի կլինիկական առանձնահատկությունների, ախտորոշիչ ցուցանիշների պարզաբանման ուղղությամբ, նպատակ ունենալով ճիշտ կազմակերպել հետագա բուժումը:

**Right ventricle dysfunction as an index of renocardiac
syndrome progression**

A.M. Minasyan, H.S. Sisakyan

Renocardiac syndrome (cardiorenal syndrome type 4) is characterized by the presence of primary kidney disease that leads to disturbance of cardiac

function. In 33 patients with renocardiac syndrome a decreased level of TAPSE (Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion – $1,4 \pm 0,21$ cm, normal level – 1,6 cm), which is the marker of right ventricular function, was revealed by echocardiography. Between the decreased glomerular filtration rate and decreased TAPSE a positive correlation was noted. At the same time, a negative interrelation was observed between creatinine level and TAPSE.

The pathophysiological mechanism, which explains this interrelation in case of right ventricular dysfunction, is the development of venous congestion with increased renal venous pressure along with decreased glomerular filtration rate.

Next mechanism, which leads to renocardiac syndrome progression, is the development of cardiac cachexia due to congestion in large circulation, especially in liver and kidneys, with the development of hypoalbuminemia.

The abovementioned dictates the examination of right ventricular dysfunction degree for the management and cachexia prevention in patients with renocardiac syndrome. However, the new concept of cardiorenal syndrome and its classification will allow to organize special investigations for revealing clinical peculiarities, diagnostic markers for each type of cardiorenal syndrome for treatment of this category of patients.

Литература

1. *Campbell R.C., Sui S., Filippatos G. et al.* Association of chronic kidney disease with outcomes in chronic heart failure: a propensity-matched study. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2009, 24, p.186-193.
2. *Cirillo M.* Evaluation of glomerular filtration rate and of albuminuria/proteinuria. *J. Nephrol.*, 2010 Mar-Apr;23(2):125-32.
3. *Cody R.J., Ljungman S., Covit A.B. et al.* Regulation of glomerular filtration rate in chronic congestive heart failure patients. *Kidney Int.*, 1988;34:361–367.
4. *Damman K., Navis G., Voors A.A. et al.* Worsening renal function and prognosis in heart failure: systematic review and meta-analysis. *J. Card. Fail.*, 2007;13:599–608.
5. *Damman K., van Deursen V.M., Navis G. et al.* Increased central venous pressure is associated with impaired renal function and mortality in a broad spectrum of patients with cardiovascular disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2009;53:582–588.
6. *Damman K., Voors A.A., Hillege H.L. et al.* Congestion in chronic systolic heart failure is related to renal dysfunction and increased mortality. *Eur. J. Heart. Fail.*, 2010;12:974–982.
7. *Dimopoulos K., Diller G.P., Koltzida E. et al.* Prevalence, Predictors, and Prognostic Value of Renal Dysfunction in Adults With Congenital Heart Disease. *Circulation*, 2008, 117, 2320-2328.
8. *Frank L. Dini, Ryan T. Demmer, Anca Simioniu, Doralisa Morrone et al.* Right Ventricular Dysfunction is Associated With Chronic Kidney Disease and Predicts Survival in Patients With Chronic Systolic Heart Failure. *Eur. J. Heart Fail.*, 2012;14(3):287-294.
9. *Furey S.A.* 3rd, *Zieske HA, Levy MN.* The essential function of the right ventricle. *Am. Heart J.*, 1984;107:404–410.
10. *Ghio S., Recusani F., Klersy C. et al.* Prognostic usefulness of the tricuspid annular plane systolic excursion in patients with congestive heart failure secondary to idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.*, 2000;85:837–842.

11. Guyton A.C., Jones C.E., Coleman T.G. Effect of Right Atrial Pressure on Venous Return—The Normal Venous Return Curve. Philadelphia, PA: Saunders; 1973.
12. Hillege H.L., Nitsch D., Pfeffer M.A. et al. Renal function as a predictor of outcome in a broad spectrum of patients with heart failure. *Circulation*, 2006, 113, p. 671-678.
13. Kjaergaard J., Akkan D., Iversen K.K., Kober L., Torp-Pedersen C., Hassager C. Right ventricular dysfunction as an independent predictor of short- and long-term mortality in patients with heart failure. *Eur. J. Heart Fail.*, 2007;9:610–616.
14. McCullough P.A., Li S., Jurkowitz C.T. et al. CKD and cardiovascular disease in screened high-risk volunteer and general populations: the Kidney Early Evaluation Program (KEEP) and National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2004. *Am. J. Kidney Dis.*, 2008, 51(4 Suppl 2), p. 38-45.
15. Melenovsky V., Kotrc M., Borlaug B.A., Marek T., Kovar J., Malek I., Kautzner J. Relationships between right ventricular function, body composition, and prognosis in advanced heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2013 Oct 29;62(18):1660-70. doi: 10.1016/j.jacc.2013.06.046. Epub 2013 Jul 31.
16. Mullens W., Abrahams Z., Francis G.S., Sokos G., Taylor D.O., Starling R.C., Young J.B., Tang W.H. Importance of venous congestion for worsening of renal function in advanced decompensated heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2009;53:589–596.
17. Ninomiya T., Kiyohara Y., Kubo M., Tanizaki Y., Doi Y., Okubo K. et al. Chronic kidney disease and cardiovascular disease in a general Japanese population: The Hisayama Study. *Kidney Int.*, 2005; 68: 228-236.
18. Testani J.M., Khera A.V., St. John Sutton M.G., Keane M.G., Wiegers S.E., Shannon R.P., Kirkpatrick J.N. Effect of right ventricular function and venous congestion on cardiorenal interactions during the treatment of decompensated heart failure. *Am. J. Cardiol.*, 2010;105:511–516.

УДК 576.8.577.616.3

Молекулярные патомеханизмы развития эхинококкоза печени

А.В.Зангинян, Г.С.Казарян, Л. М. Овсепян

*Институт молекулярной биологии НАН РА
0014, Ереван, ул.Асратяна, 7*

Ключевые слова: эхинококкоз печени, фосфолипиды мембран эритроцитов, свободнорадикальное окисление липидов, окислительная модификация белков, оксид азота, иммуноглобулины, интерлейкины

Эхинококкозы – актуальная проблема медицинской паразитологии, характеризуются тяжелым длительным течением с прогрессивным ухудшением, что без надлежащего лечения приводит к гибели больного зачастую в молодом, трудоспособном возрасте. Эхинококкоз печени (ЭП) вызывает глубокие функциональные изменения в печени, приводящие к местным и общим осложнениям, связанным с недостаточностью её работы, что влечет за собой нарушения жизнедеятельности организма в целом [1,8]. Вследствие сдавливания эхинококковыми цистами ткани печени, развивается ишемия, приводящая к нарушению в ней обменных процессов. В связи с этим исследование состояния и механизмов нарушения регуляции кислородзависимых процессов представляет возможность выяснения общих закономерностей и уточнения патогенеза токсического повреждения печени.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы явилось изучение процессов свободнорадикального окисления липидов и белков, продукции оксида азота, состояния липидного спектра мембран эритроцитов, а также содержания иммуноглобулинов, цитокинов при эхинококкозе печени.

Материал и методы

Исследование проводили на больных ЭП, поступивших в стационар. Всем пациентам в период предоперационного обследования, с целью уточнения диагноза, размеров, локализации очаговых образований, выполнялись КТ и УЗИ брюшной полости. Пробы крови брались за день до операции и на 3, 5, 10-й день после операции. Контролем служили доноры.

Забор цельной крови производили натощак из периферических вен в пробирки с ЭДТА.

Об активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) судили по количеству образования гидроперекисей (ГП) и малонового диальдегида (МДА). ГП определяли по цветной реакции с тиоцианатом аммония при максимуме поглощения 480 нм; МДА — по реакции с тиобарбитуровой кислотой [2], количество белка — по Лоури [11].

Содержание оксида азота определяли с помощью реактива Грисса (1% сульфаниламида, 0,1 % нафтилендиамина, 2,5 % фосфорной кислоты), а абсорбцию раствора измеряли при длине волны 546 нм [3]. Уровень окислительной модификации белков в сыворотке крови оценивали по содержанию карбонильных производных аминокислот в белках. Метод основан на том, что конечные продукты свободнорадикального окисления белков могут количественно реагировать с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. Карбонильные производные после растворения белкового осадка в 8 М мочеvine при 37°C определяли при 363 нм, используя коэффициент молярной экстинкции 22×10^3 М/1см [4,10]. Мембраны эритроцитов выделяли по методу Либермана [9].

Экстракцию липидов осуществляли по методу Фолча в модификации Карагезяна [5]. Фракционирование индивидуальных фосфолипидов проводили методом одномерной хроматографии в тонком слое силикагеля («Мерк», Германия) в системе растворителей хлороформ:метанол:аммиак в соотношении 65:35:5. Минерализацию липидного фосфора осуществляли в среде серной и азотной кислот с последующим расчетом количества неорганического фосфора.

Для определения концентрации цитокинов в периферической крови использовали коммерческий набор для ELISA (Diacclone, France).

Иммуноглобулины определяли на автоматическом биохимическом анализаторе COBAS INTEGRA 400 PLUS турбидиметрическим методом исследования.

Статистическую обработку данных проводили с использованием компьютерной программы “SigmaPlot 11.0” с использованием специальных руководств по медицинской и биологической статистике.

Результаты и обсуждение

ПОЛ изучалось нами в ферментативной (НАДФН-зависимой) и неферментативной (аскорбатзависимой) системах окисления. Как показали результаты исследования, в крови здоровых людей обнаружен определенный стационарный уровень интенсивности свободнорадикальных реакций.

Изучение процесса ПОЛ при ЭП позволило обнаружить увеличение содержания гидроперекисей и малонового диальдегида в мембранах

эритроцитов (рис.1,2). Повышение их количества является одной из причин, приводящих к повреждению клеток гепатоцитов.



Рис. 1. Содержание продуктов ПОЛ в мембранах эритроцитов у больных ЭП (аскорбатзависимое перекисление) (n=15), * P<0,05

Примечание: 1 – значимость отличий по сравнению с контролем; 2 – значимость отличий по сравнению с 1; 3 – значимость отличий по сравнению с 2; 4 – значимость отличий по сравнению с 3

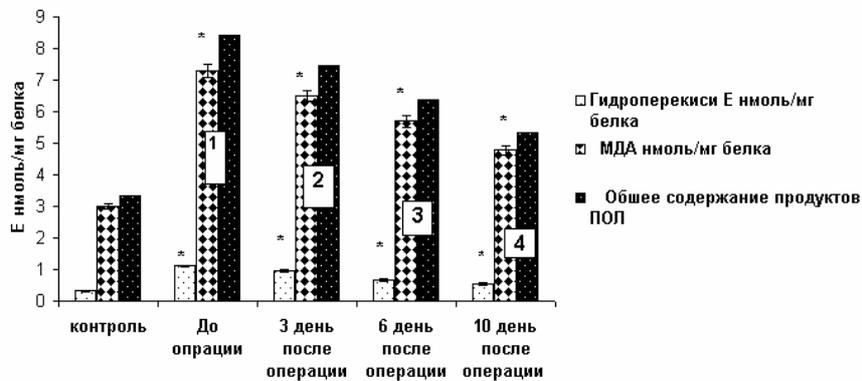


Рис. 2. Содержание продуктов ПОЛ в мембранах эритроцитов у больных ЭП (НАДФН-зависимое перекисление) (n=15), * P < 0.01

Примечание: 1 – значимость отличий по сравнению с контролем; 2 – значимость отличий по сравнению с 1; 3 – значимость отличий по сравнению с 2; 4 – значимость отличий по сравнению с 3

Пусковым механизмом активации свободнорадикального окисления при ЭП являются свободные радикалы, которые образуются при эхинококкозе вследствие сдавливания эхинококковыми цистами ткани печени.

В отмеченном плане важную роль играют обнаруженные нами изменения окисления белков. Наиболее значимым следствием окислительной модификации белков является инактивация ферментов.

Как показали результаты исследования (рис.3), у пациентов с ЭП наблюдается тенденция к повышению интенсивности окислительной модификации белков при длине волны 270нм и 363нм, что свидетельствует о статистически значимом увеличении алифатических альдегид- и кетон-динитрофенилгидразонов.

Полученные данные свидетельствуют об увеличении интенсивности процесса окислительной деструкции белков под влиянием ЭП. Выявленное нами повышение интенсивности окислительной модификации белков плазмы крови исследуемых больных фактически отражает общую направленность свободнорадикальных процессов и, в частности, окисления белков во всем организме, в том числе и печеночной ткани.

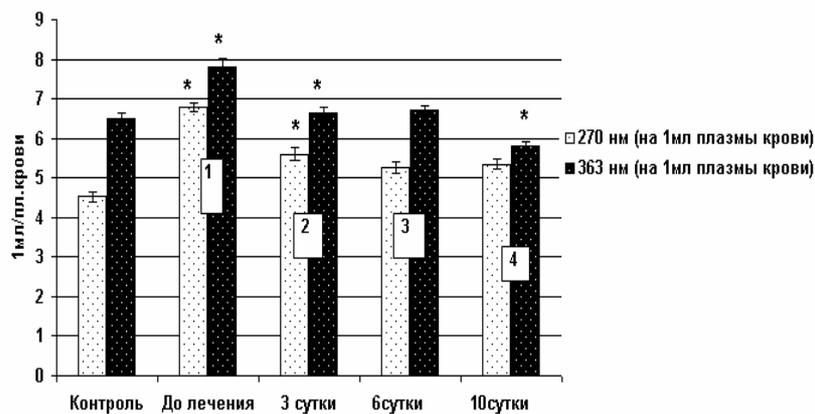


Рис. 3. Окислительная модификация белков плазмы крови у пациентов с ЭП (n=15); 270нм–алифатический альдегид-динитрофенилгидразон, 363 нм – алифатический кетон-динитрофенилгидразон, * P < 0.01

Примечание: 1 – значимость отличий по сравнению с контролем; 2 – значимость отличий по сравнению с 1; 3 – значимость отличий по сравнению с 2; 4 – значимость отличий по сравнению с 3

Хорошо известно, что любой патологический процесс сопровождается морфологическими и функциональными изменениями в структуре клеточных мембран. Содержание и состав мембранных липидов нормальных тканей поддерживаются в пределах относительно постоянных величин и заметно нарушаются при различных внешних воздействиях. В этом аспекте заслуживает внимания изучение состава фосфолипидов (ФЛ) мембран эритроцитов при ЭП.

Результаты исследований показали уменьшение содержания фосфатидилхолинов (ФХ) при параллельном увеличении количества лизо-

фосфатидилхолинов (ЛФХ) до операции. Исследование ФС и ФЭ также обнаружило уменьшение их содержания в эритроцитарной мембране. Заслуживает внимания увеличение содержания ФИ, которые являются предшественниками вторичных мессенджеров, таких как инозиттрифосфат 1,4,5 и диглицерид в процессах трансдукции сигнала. Большую роль в индукции апоптоза в митохондриях играют КЛ, содержание которых заметно уменьшается в мембранах эритроцитов при эхинококкозе, что связано с окислительной модификацией этих липидов. Исследование СФМ позволило обнаружить увеличение их содержания. Результаты исследования выявили, что отмеченные изменения в содержании ФЛ пациентов с ЭП имеют место до операции и на 3-5-й день после операции.

К 10-му дню обнаруживалась тенденция к нормализации показателей содержания ФЛ, которые, однако, не достигали величины показателей наблюдаемых доноров (табл.1).

Таблица 1

Содержание ФЛ (% от общего количества ФЛ) в мембранах эритроцитов больных ЭП (n=15)

Фракции фосфолипидов	Контроль (доноры)	Больные эхинококкозом			
		до операции – 1	3-й день после операции – 2	6-й день после операции – 3	10-й день после операции – 4
ЛФХ	10,0±0,5	16,7±0,8*	15,3±1,0**	13,3±1,1**	12,2±0,4
СФМ	18,8±1,5	25,8±1,8**	24,1±1,7***	24,3±1,1***	22,5±2,1
ФИ	8,6±1,2	16,6±1,5*	15,8±1,8**	14,7±1,3**	10,8±0,7
ФХ	28,3±1,8	18,8±1,6***	20,1±1,7***	20,3±1,8***	22,7±2,0
ФС	14,3±1,4	9,6±1,1**	10,8±1,2	12,2±1,1	13,5±1,3
ФЭ	8,5±0,7	6,0±0,8**	7,7±0,6	7,8±0,8	8,4±0,7
КП	11,5±0,5	7,1±0,6*	7,3±0,7*	7,4±0,8*	9,3±0,8

*P < 0,001; **P < 0,01; ***P < 0,05

Примечание: 1 – значимость отличий по сравнению с контролем; 2 – значимость отличий по сравнению с 1; 3 – значимость отличий по сравнению с 2; 4 – значимость отличий по сравнению с 3

Патогенез ЭП связан с развитием воспалительной реакции, что вызывает активацию ряда иммунопатологических защитных, а также гуморальных и клеточных механизмов.

С этих позиций изучение роли медиаторов иммунного воспаления у больных с эхинококкозом печени представляет несомненный теоретический интерес.

кий и практический интерес. С одной стороны, эти исследования позволяют уточнить механизмы иммунных нарушений при эхинококкозе печени, а с другой – могут оказаться полезными при разработке на их основе дополнительных диагностических и прогностических критериев.

В связи с этим особый интерес представляют наши исследования, касающиеся определения содержания цитокинов в крови у пациентов с ЭП. Согласно полученным результатам, при ЭП в сыворотке крови уровень ИЛ-6 и ИЛ-8 превышает норму в несколько раз (табл.2).

Значительный интерес вызывают исследования связи провоспалительных цитокинов с оксидом азота.

Как показали результаты исследований, у больных ЭП наблюдается повышенный уровень содержания оксида азота в сыворотке крови как до операции, так и на 6-й день после операции по сравнению с показателями сыворотки крови доноров (рис.4).

Из литературных данных известно, что оксид азота продуцируется эндотелиальной NO-синтазой, в норме практически не обнаруживаемой в клетках. Однако синтез NO-синтазы индуцируется под действием провоспалительных цитокинов [7]. Активированные цитокинами и бактериальными эндотоксинами макрофаги усиливают синтез NO [12].

Образование цитокинов – важный элемент поддержания гомеостаза организма. Однако, если имеется гиперпродукция цитокинов, возможно повреждение печени. У больных с ЭП по сравнению с лицами контрольной группы наблюдается изменение уровней TNF- α в сыворотке крови: достоверное повышение до хирургического лечения и увеличение на 6-й день после операции. Исследование концентраций ИЛ-6 и ИЛ-8 позволило обнаружить их увеличение у пациентов при ЭП до операции (табл. 2)

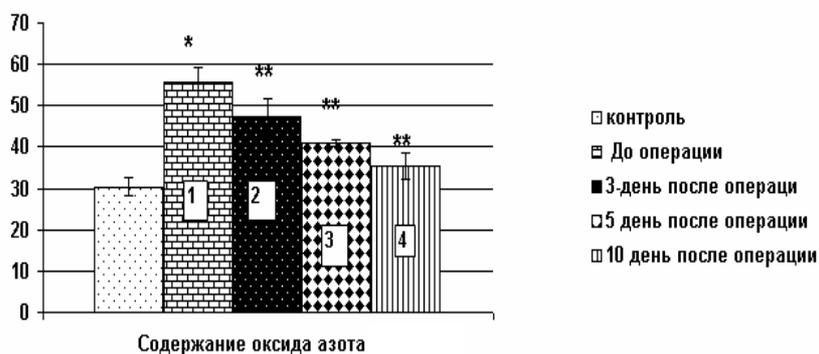


Рис. 4. Содержание оксида азота в сыворотке крови больных эхинококкозом (в мкмоль/л), (n=12), * P<0,05, **P>0,05

Примечание: 1 – значимость отличий по сравнению с контролем; 2 – значимость отличий по сравнению с 1; 3 – значимость отличий по сравнению с 2; 4 – значимость отличий по сравнению с 3

Таблица 2

Содержание оксида азота и цитокинов в сыворотке крови больных ЭП до и после операции

Показатели	Контроль	До операции – 1	3-й день после операции – 2	6-й день после операции – 3	10-й день после операции – 4
TNF- α	10,8 \pm 2	44 \pm 3,8*	48 \pm 4,1**	54 \pm 4,6**	49 \pm 4,2**
ИЛ-8	11,5 \pm 2,1	54,5 \pm 4,7**	62,1 \pm 5,3**	56,2 \pm 4,8	55,7 \pm 4,8
ИЛ-6	25,15 \pm 4,7	40,37 \pm 3,5*	177,9 \pm 15,3**	137,3 \pm 11,8**	56,74 \pm 4,9**
NO, мкмоль/л	30,32 \pm 2,2	55,84 \pm 3,6*	47,3 \pm 4,3**	40,8 \pm 0,8**	35,4 \pm 3,1**

* P<0,05, ** P<0,001

Примечание: 1 – значимость отличий по сравнению с контролем; 2 – значимость отличий по сравнению с 1; 3 – значимость отличий по сравнению с 2; 4 – значимость отличий по сравнению с 3

Таким образом, полученные нами данные позволили установить, что эхинококкоз печени сопровождается активированием свободнорадикальных реакций, приводящим к нарушению обмена белков и липидов в структуре клеточных мембран, продукции цитокинов, нарушением метаболизма, иммунного ответа, что указывает на важную роль окислительных процессов в патогенезе эхинококкоза.

Поступила 08.11.13

Լյարդի էխինոկոկոզի զարգացման մոլեկուլային պարամետրերի փոփոխումները

Հ.Վ. Զանգինյան, Գ.Ս. Ղազարյան, Լ.Մ. Հովսեփյան

Էխինոկոկոզը բժշկական մակարոնուսների արդիական խնդիրներից մեկն է: Լյարդի էխինոկոկոզը (ԼԷ) առաջացնում է խոր ֆունկցիոնալ փոփոխություններ լյարդում՝ հարուցելով վերջինիս աշխատանքի անբավարարության հետ կապված ինչպես տեղային, այնպես էլ օրգանիզմի ընդհանուր կենսունակության խանգարումներ:

Էխինոկոկի բուշտերի կողմից լյարդի հյուսվածքի ճնշման հետևանքով հյուսվածքում առաջանում է իշեմիկ պրոցես, բերելով նրանում տարատեսակ նյութափոխանակային գործընթացների խաթարմանը: Այդ իսկ պատճառով, մեր աշխատանքը նպատակաուղղված է ուսումնասիրել թթվածին-կախյալ պրոցեսների մեխանիզմներում խաթարումների պարզաբանմանը և կարգավորմանը: Ուսումնասիրու-

թյունները հնարավորություն են տալիս ընդհանուր առմամբ բացատրելու և ճշտելու լյարդի տոքսիկ խաթարման առաջացման և ախտածնության առանձնահատկությունները: Այդ հարցերի լուծումը սերտորեն կապված է հիմնարար կենսաբանության այնպիսի խնդիրների հետ, ինչպիսիք են թթվածնի և ազոտի ազատ ռադիկալային ձևերի, սպիտակուցների և ճարպերի գերօքսիդային մոդիֆիկացումների, կենսաթաղանթների գործունեության և այլ գործընթացների ուսումնասիրության հետ:

Molecular pathomechanisms of the development of liver echinococcosis

H.V. Zanginyan, G.S. Ghazaryan, L.M. Hovsepyan

Echinococcosis is an actual problem of medical parasitology. Hydatid disease of the liver causes profound functional changes in the liver, leading to local and general complications associated with the failure of its action which entails violation of life of the organism as a whole . In result of squeezing by hydatid cysts of the liver tissue, liver tissue ischemia occurs, leading to disruption of metabolic processes in it. In this regard, the study of the state and mechanisms of dysregulation of oxidative processes provide an opportunity to clarify the general laws and the pathogenesis of toxic liver damage.

Addressing these issues is closely related to the fundamental general biological problems, such as study of free radical oxygen and nitrogen species, peroxidative modifications of lipids and proteins, function of biological membranes, compartmentalization of biochemical reactions.

Parasitic infestations cause an activation of a number of immune defense mechanisms, both humoral and cellular. The nature of the immune response induced by the presence of hydatid cysts in the liver is largely determined by their morphological and biological characteristics, based on the interaction of many types of immune cells.

Литература

1. *Акбаев М. Ш. и др.* Паразитология и инвазионные болезни животных. 2-е изд., испр., М., 2002.
2. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
3. *Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Гавриленко И.А. и др.* Оксид азота и перекисное окисление липидов как факторы эндогенной интоксикации при неотложных состояниях. Бюл. exper. биол. мед., 2000, 7, с. 6 - 9.
4. *Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г.* Окислительная модификация белка сыворотки крови человека , метод ее определения. Вопр. мед. химии, 1995, т.41, 1, с. 24-26.

5. *Карагезян К.Г.* Методика качественного и количественного определения фосфолипидов цельной крови, плазмы, сыворотки и цереброспинальной жидкости у собак. Лаб. дело, 1969, 1, с.23-26.
6. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. Учеб. пособие для биол. спец. вузов. 4-е изд., перераб. и доп., М., 1990.
7. *Проскураков С.Я., Бикетов С.И., Иванников А.И., Скворцов В.Г.* Оксид азота в механизмах патогенеза внутриклеточных инфекций. Иммунология, 2000, 4, с. 9-20.
8. *Brunetti E.* for the EchinoNet Group. Preliminary results of a survey on knowledge, attitudes and practices regarding clinical management of cystic echinococcosis in European, North African and Middle Eastern countries. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2007;77:22.
9. *Dodge J.T., Mitchell C., Hanahan. D.J.* The Preparation and Chemical Characteristics of Hemoglobin-Free Ghosts of Human Erythrocytes. Arch. Biochem. Biophys., 1962, vol.201, p.119-130.
10. *Levine R.L., Garland D., Oliver C.N.* Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. Meth. Enzymol., 1990, vol. 186, p. 464- 478.
11. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* Protein measurement with folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 1951, vol. 193, 1. p. 265-275.
12. *Nathan C.T., Hibbs J.B. Jr.* Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. Curr. Opin. Immunol., 1991, vol.3, p. 65-70.

УДК 612.013.+577.20

Применение стевии, культивируемой в Армении, при лечении больных сахарным диабетом (сообщение 1)

**Х.О. Нагапетян¹, М.А. Бабаханян², В.А. Чавушян¹,
К.В. Симонян¹, Г.Ю. Овсепян³, Р.А. Арутюнян¹,
Л.Э. Оганесян², О.В. Майтесян⁴, Р.А. Аветисян¹**

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

²Институт проблем гидропоники им. Г.С.Давтяна НАН РА

³Арцахский научный центр

⁴Мргашенский центр сохранения здоровья
0028, Ереван, ул. Бр.Орбели, 22

Ключевые слова: *Stevia rebaudiana Bertoni*, *Cicorium intubus L.*, сахарный диабет, глюкоза

Проблема профилактики и лечения сахарного диабета (СД), несмотря на наличие многочисленных медикаментозных средств, была и продолжает оставаться актуальной. Последние годы широко изучаются биологические характеристики и механизмы действия на организм малоизученного растения стевия – *Stevia rebaudiana Bertoni* (SrB) □6, 7, 11, 12□, а также цикория – *Cicorium intubus L.* (Ci) □1, 7, 11□. Нашими предыдущими экспериментальными исследованиями и по данным других авторов было установлено положительное влияние SrB и Ci на физиологическое состояние различных систем организма как в норме, так и при стрессовых ситуациях □2-5, 8-10, 13□. Полученные нами экспериментальные, а также приведенные литературные данные послужили основанием для применения SrB отдельно и в сочетании с Ci при лечении больных-добровольцев, страдающих СД. Изложению полученных результатов посвящается данное сообщение.

Материал и методы

Исследования велись на 4 добровольцах (Х.М. – 1962 г.рождения, Н.О. –1942 г., Н.А. – 1938 г. и М.Л. – 1938 г. рождения), страдающих СД, у которых на фоне приема внутрь противодиабетического препарата диабетона (50-100 мг в день) содержание глюкозы (Г) в крови колебалось в пределах 9,0-10,8 ммоль/л. Этим добровольцам было предложено

одновременно с указанными дозами диабетона (Д) использовать сухие листья армянской SrB в дозе 250 мг в день в виде водного настоя, а также таблетки SrB в сочетании с фитопрепаратом Ci по 250 мг один раз в день. Определение Г в крови проводили индивидуальным прибором Accu-check active.

Результаты и обсуждение

Полученные у страдающих СД больных – Х.М., Н.О., Н.А. и М.Л. – результаты по измерению количественного содержания Г в крови отражены в нижеприведенной таблице. Данные показывают, что если в условиях применения диабетона в указанных выше дозах содержание Г в крови колебалось в пределах 9,8-10,8 ммоль/л, то при одновременном приеме SrB и, особенно, его сочетания с Ci, наблюдалось значительное снижение количественного содержания Г в крови и его приближение к показателям в норме.

Таблица

Содержание Г в крови больных, страдающих СД и получавших для лечения только Д и Д в сочетании с SrB и SrB с Ci

Назначения	Больные	Глюкоза в крови в ммоль/л до леч.	Показатели глюкозы в крови в ммоль/л			
			2-й день	10-й день	20-й день	30-й день
Д 50-100 мг в день	Х.М.	10,8	10,4	10,2	10,4	10,5
	Н.О.	9,8	10,0	9,7	9,5	9,3
	Н.А.	9,9	9,6	9,0	10,0	9,7
	М.Л.	8,6	8,8	8,4	-	-
Д 50 мг + SrB 250 мг в день	Х.М.	10,8	8,7	8,0	7,9	7,6
	Н.О.	9,8	9,2	7,1	7,2	7,0
	Н.А.	9,9	9,1	8,5	7,7	7,5
	М.Л.	8,6	8,6	8,3	8,2	-
Д 50 мг + SrB 500 мг в день	М.Л.	8,6	8,4	6,3	-	-
Д 50мг + SrB 250мг + Ci 250 мг в день	Х.М.	10,8	8,6	6,1	6,8	6,3
	Н.О.	10,7	9,2	6,5	6,7	6,5
	Н.А.	9,9	9,5	8,3	7,7	7,5

Больной Х.М. Жалобы – общая слабость, сухость во рту. Страдает СД и получает Д. Уровень Г в крови в день обращения – 10,8 ммоль/л. На фоне приема Д больному было предложено использовать SrB в течение одного месяца, а затем, после месячного перерыва, SrB в сочетании с Ci по 250 мг один раз в день в течение 30 дней.

Полученные у этого больного данные отражены в таблице и показывают, что применение как SrB, так и его сочетания с Ci приводит к определенному снижению содержания Г в крови. Однако более хороший результат отмечается при совместном применении этих двух фитопрепаратов. Так, если при применении SrB в дозе 250 мг раз в день на второй день отмечалось снижение содержания Г в крови с исходного уровня на 2,1 ммоль/л, а на 10-й день – на 2,8, то при их сочетанном применении эти показатели составляли 2,2 и 4,7 ммоль/л соответственно. На 20-й день эти показатели составляли 4,0, а на 30-й – 4,5 ммоль/л. Примененная фитотерапия приводила также к улучшению общего состояния больного с исчезновением общей слабости и сухости во рту.

Больная Н.О. Жалобы – общая слабость, зуд между пальцами стоп и жжение при нормальном состоянии кожных покровов, сухость во рту с явлениями полиурии и полидипсии. Страдает СД и регулярно получает Д по 50 мг два раза в день. Уровень Г в крови в день обращения – 9,8 ммоль/л. На фоне получения Д было рекомендовано применение настоя SrB в дозе 250 мг, а после месячного перерыва – таблетки фитопрепаратов SrB и Ci по 250 мг один раз в день в течение 30 дней.

Полученные у Н.О. данные, отраженные в таблице, показывают, что применение как SrB, так и его сочетания с Ci приводит к значительному снижению содержания Г в крови. Более высокий результат отмечается при сочетанном применении этих двух фитопрепаратов. Так, если при применении SrB в дозе 250 мг один раз в день на второй день приема фитопрепарата отмечалось снижение содержания Г в крови на 0,6 ммоль/л, на 10-й день – на 2,7, на 20-й день – на 2,6, а через месяц – на 2,8 ммоль/л, то при комбинированном их применении в дозах по 250 мг эти показатели составляли 1,5; 4,2; 4,0 и 4,2 ммоль/л соответственно. Одновременно отмечалось исчезновение зуда, жжения стоп и сухости во рту, а также значительное улучшение общего состояния организма. Трехмесячное прекращение приема как SrB, так и его сочетания с Ci (на фоне приема Д) приводило к повторному появлению гипергликемии (10,2 ммоль/л), зуда и жжения межпальцевых областей стоп, усилению общей слабости, жажды и сухости во рту.

Больной Н.А. Из таблицы видно, что у больного наблюдалось определенное снижение количественного содержания Г в крови – с 9,9 ммоль/л до 9,7 при приеме только Д в дозе 50 мг и до 7,5 ммоль/л при одновременном приеме Д с SrB в дозе 250 мг или SrB + Ci (по 250 мг). Со слов больного, применение указанных фитопрепаратов приводило к значительному улучшению его общего состояния, “чего никогда не наблюдалось при приеме лишь Д”.

Больной М.Л. На фоне применения Д в дозе 50 мг в день назначение SrB в дозе 250 мг в день приводило к незначительному снижению Г в крови – с 8,6 до 8,3 ммоль/л на 10-й день. Однако увеличение дозы SrB до

500 мг в день приводило к резкому снижению содержания Г в крови – с 8,6 до 6,3 ммоль/л, приближая его к нормальным показателям уже к 10-му дню применения.

На основании полученных данных можно заключить, что использование фитопрепарата SrB и, особенно, его сочетания с Сi в указанных выше дозах, приводило к определенному устранению гипергликемического состояния у больных с СД. Причем, определенное значение имеет и подбор более эффективных доз указанных фитопрепаратов. Из литературных данных известно, что высокие дозы SrB не являются вредными для организма человека и не приводят к снижению Г в крови ниже показателей в норме □12□.

Эти данные подтверждаются и результатами собственных наблюдений одного из авторов данной работы (*Н.Х.*), у которого содержание Г в крови в естественных значениях составляло 5,5-5,8 ммоль/л, а использование SrB в дозе 500-750 мг не приводило к снижению содержания Г в крови ниже 5,2 ммоль/л. Эти данные подтверждались и в исследованиях, проведенных на добровольце *Е.В.*, страдающем бронхиальной астмой. Интересно, что у *Е.В.* содержание Г в крови до приема SrB составляло 5,6 ммоль/л, а прием этого фитопрепарата (250 мг сухого листа SrB на стакан кипятка) раз в день приводило лишь к незаметному снижению содержания Г в крови (до 5,4 ммоль/л), которое оставалось на том же уровне и в дальнейшем. Ежедневный прием указанного настоя привел у *Е.В.* к резкому облегчению дыхания и снятию приступов бронхиальной астмы. Приступы бронхиальной астмы при приеме SrB были преодолены и у пациентки *Н.В.* Эти данные могут служить основанием для рекомендации применения настоя армянской стевии при бронхиальной астме и бронхитах.

Поступила 18.04.14

Հայաստանում մշակվող ստեվիայի կիրառումը շաքարային դիաբետով հիվանդների բուժման համար

**Խ. Հ. Նահապետյան, Մ. Ա. Բարսիսանյան, Վ. Ա. Չավուշյան,
Կ. Վ. Մինոնյան, Հ. Յու. Հովսեփյան, Ռ. Ա. Հարությունյան,
Լ. Է. Հովհաննիսյան, Հ. Վ. Մահտեսյան, Ռ. Ա. Ավետիսյան**

Ուսումնասիրվել է հիդրոպոնիկ եղանակով աճեցվող ստեվիա (Մեդրախոս- *Stevia rebaudiana Bertoni* (SrB)) բուսատեսակի ազդեցությունը շաքարային դիաբետով տառապող հիվանդների մոտ: Պարզվել է, որ SrB-ի օգտագործումը նպաստում է շաքարային դիաբետով տառապող հիվանդների մոտ առկա հիպերգլիկեմիկ վիճակի իջեցմանն ու

պահպանմանը նորմալի սահմաններում, ինչն առավել արդյունավետ է դրսևորվում SrB-ի և ցիկորիումի (*Cicorium intubus L.*) համակցված օգտագործման պայմաններում:

Use of Stevia cultivated in Armenia for treatment of patients with diabetes mellitus

**Kh. H. Nahapetyan, M. A. Babakhanyan, V. A. Chavushyan,
K. V. Simonyan, H. Yu. Hovsepyan, R. A. Harutyunyan,
L. E. Hovhannisian, H. V. Mahtesyan, R. A. Avetisyan**

This study aimed to evaluate the effect of *Stevia rebaudiana Bertoni* (SrB) cultivated in Armenia by hydroponic method on diabetic patients.

It has been found out that administration of SrB contributes to reduction of hyperglycemic state and its maintenance at a normal level in diabetic patients, the effect of which is more expressed in combined use of SrB and *Cicorium intubus L.*

Литература

1. *Թրրույան Ս.Ս.* Հայաստանի դեղաբույսերը: Երևան, 1983:
2. *Արությունյան Ք.Ա., Նազաբեյան Մ.Օ., Բաբախանյան Մ.Ա., Օվսեպյան Գ.Կ.* Влияние *Stevia rebaudiana Bertoni* на терморегуляторные механизмы у крыс в норме и при стрессе. Мед.наука Армении НАН РА, 2013, т. LIII, 1, с. 51-56.
3. *Արությունյան Ք.Ա., Նազաբեյան Մ.Օ., Բաբախանյան Մ.Ա., Օվսեպյան Գ.Կ.* Влияние разных доз *Stevia rebaudiana Bertoni* на температурный гомеостаз у крыс. Мед.наука Армении НАН РА, 2014, т. LIV, 1, с.55-60.
4. *Արությունյան Ք.Ա., Նազաբեյան Մ.Օ., Բաբախանյան Մ.Ա., Օվսեպյան Գ.Կ.* Воздействие *Cicorium intubus L.* на терморегуляторные механизмы у крыс. Мед.наука Армении НАН РА, 2014, т. LIV, 2, с.35-38.
5. *Արությունյան Ք.Ա., Նազաբեյան Մ.Օ., Սիմոնյան Կ.Վ. և օր.* Отдельное и сочетанное влияние цикория и стевии на терморегуляторные механизмы у крыс. Мед.наука Армении НАН РА: в печати.
6. *Ляховкин А.Г., Николаев В.И., Учитель В.И.* Стевия – медовая трава –растение лекарственное и пищевое. СПб., 1999.
7. *Мартиросян А.А.* Энциклопедия лекарственных растений и секреты фитотерапии, Ереван, 2010.
8. *Նազաբեյան Մ. Օ., Արությունյան Ք. Ա., Բաբախանյան Մ. Ա., Նիկոգոսյան Գ. Գ.* Влияние стевии (*Stevia rebaudiana Bertoni*) на функциональное состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем крыс в норме и при стрессе. Биол. ж. Армении НАН РА., 2012, т. LXIV, 21, с. 63-66.
9. *Օգանեսյան Լ. Յ. Ադամյան Ը. Ի., Բաբախանյան Մ. Ա., Նազաբեյան Մ. Օ., Արությունյան Ք. Ա.* Влияние сочетанного воздействия стевии и вибрации на показатели периферической красной крови. В сб., посвящ. 130-летию со дня рожд. акад. Л.А.Орбели: “Физиологические механизмы регуляции деятельности организма”, 2012, с. 247-250.

10. Саркисян Р.А., Нагапетян Х.О., Арутюнян Р.А. и др. Сравнительная оценка влияния растительного препарата стевия и омагниченной воды на физиологическое состояние крыс в процессе формирования эмоционально-звукового стресса. Мед. наука Армении НАН РА, 2012, т. LIV, 3, с.33-36.
11. Ситничук И. Ю., Стрижева Е. И., Ефремов А. А., Первышина Г. Г. Разработка эффективного выделения суммы дитерпеновых гликозидов из *Stevia rebaudiana* Bertoni. Химия растительного сырья, 2002, 3, с.73-75.
12. Curi R., Alvarez M., Bazotte R.B., Botion L.M., Godoy J.L., Bracht A. Effect of *Stevia rebaudiana* on glucose tolerance in normal adult humans. Braz.J. Med. Biol. Res., 1986, 19 (6), p. 771-774.
13. Nahapetyan Kh.H., Simonyan K.V., Babakhanyan M.A., Hovhannisian L.E., Harutjunyan R.A., Chavushyan V.A., Gevorgyan L. R. Effect of hydroponic *Stevia rebaudiana* Bertoni on glucose homeostasis in rats. В сб., посв. 130-летию со дня рожд. акад. Л.А.Орбели: "Физиологические механизмы регуляции деятельности организма", 2012, с. 221-226.

Բովանդակություն

Փորձարարական և կանխարգելիչ բժշկություն

Թովիցյան Հ.Վ., Գալոյան Ա.Ա., Բալասանյան Մ.Գ., Երիցյան Է.Լ., Մխիթարյան Ա.Գ., Մելիքսեթյան Բ.Բ.
 Ուղեղի լոկալ իշեմիայով պայմանավորված մորֆոլոգիական տեղաշարժերի և հիշողության խանգարման կանխումը հիպոթալամիկ պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդ-1-ով3

Մրապիտնյան Ռ.Մ., Պարոնյան Զ.Խ., Սահակյան Ֆ.Մ., Չախյան Գ.Ս., Գրիգորյան Լ.Ս.
 Հիպոթալամուսի նեյրոմոդուլյատորների և նրանց մոդիֆիկացված ձևերի ազդեցությունը հեմոստազի վրա15

Մավայան Ա.Ա., Դանիելյան Մ.Ա., Մելքոնյան Ն.Ն., Նազարյան Օ.Հ., Սահակյան Բ.Գ., Թումասյան Ն.Վ., Աբրահամյան Ս.Ս.
 Առնետների ուղեղի նշաձև համալիրի նեյրոնների դինամիկ մորֆոհիստոքիմիական ուսումնասիրությունը էթանոլի տարբեր չափաբաժինների ազդեցության պայմաններում21

Երիցյան Է.Լ.
 Պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդ-1-ը բարելավում է առնետների վարքագծային փոփոխությունները ֆոկալ իշեմիայի պայմաններում29

Խուդավերդյան Դ.Ն., Սարոյան Մ.Յու., Խուդավերդյան Ա.Դ., Հարությունյան Հ.Ա.
 Հոգեհուզական սթրեսի ազդեցությունը ԱԿՏՀ-ի և կորտիզոլի պարունակության վրա արյան մեջ հղի առնետների ու նրանց սերնդի մոտ39

Ավետիսյան Է.Ա., Պետրոսյան Ա.Ա., Սահակյան Ն.Ա., Միմոնյան Լ.Յ.
 Առնետների սրտային ռիթմի փոփոխականության վեգետատիվ ցուցանիշների և մենավոր ուղու կորիզի ընդերազգայական նեյրոնների ֆոնային իմպուլսացիայի փոփոխությունները հիպոթալամուսի սուպրասպտիկ կորիզի խթանման ժամանակ հոգեհուզական սթրեսի պայմաններում47

Աղաջանովա Ե.Մ.
 Շաքարախտի ստրեպտոգոնոցինային մոդելի վրա ենթաստամոքսային գեղձի ինկրետոր բջիջների ռեպլիկացիայի և նեոգենեզի իմունաձևաբանական բնութագիրը55

Խաչատրյան Տ.Ս., Թովուզյան Վ.Օ., Գևորգյան Գ.Ա.
 Քոլինի N-տեղակալված- α , β -դեհիդրոամինաթթուների էթերների միջոցով ենթակլինիկական հիպոթիրեոզի թերապիա60

Խաչատրյան Տ.Ս., Թովուզյան Վ.Օ., Գևորգյան Գ.Ա.
 Քոլինի էթեր N-(2-մեթոքսիբենզոիլ)-Օ-իզոպրոպիլ- α , β -դեհիդրոթիրոզինի գերցածր չափաբաժինների դերը տարբեր տարիքային խմբերի առնետների մոտ ենթակլինիկական հիպոթիրեոզի ժամանակ65

Քոչարյան Ն.Վ., Բարխուդարյան Բ.Մ., Ապրիկյան Գ.Վ.
 Նոր մոտեցում գերամոնիակային համախտանիշի բուժման մեջ70

Մելքունյան Կ.Վ., Մարգարյան Ս.Հ., Մինասյան Ս.Ս., Գալստյան Հ.Մ.
 Մայրամախտի շտկող ազդեցությունը ստորին անդաստակային-վերտեաղական ենթատեսաթմբային կորիզների գործառական կապի վրա78

Հովհաննիսյան Հ.Ս., Բաղայան Ա.Ռ., Համբարձումյան Ա.Ձ.
 Հայաստանում պոլիոմիելիտի դեմ նոր պատվաստանյութերի ներդրման պաթիզման87

Ավետիսյան Ն.Ն., Համբարձումյան Ա.Զ., Աղամալյան Ս.Ս., Տեր-Ստեփանյան Մ.Մ.
Candida ցեղի սնկերի մասնակցությունը միկրոբային համակցումներում տարբեր
 աղիքային խանգարումների ժամանակ95

Կլինիկական բժշկություն

Մինասյան Ա.Ս., Միսակյան Հ.Ս.
 Աջ փորոքի դիսֆունկցիան որպես ռենկարդիալ համախտանիշի զարգացման
 ցուցանիշ103

Զանգիւնյան Հ.Վ., Ղազարյան Գ.Ս., Հովսեփյան Լ.Ս.
 Լյարդի էխինոկոկոզի զարգացման մոլեկուլային պարոնեխանիզմները110

*Նահապետյան Խ.Հ., Բարախանյան Ս.Ա., Չավուշյան Վ.Ա., Միմոնյան Կ.Վ., Հով-
 սեփյան Հ.Յու., Հարությունյան Ռ.Ա., Հովհաննիսյան Լ.Է., Մահտեսյան Հ.Վ., Ավե-
 տիսյան Ռ.Ա.*
 Հայաստանում մշակվող ստեվիայի կիրառումը շաքարային դիաբետով հիվանդ-
 ների բուժման համար119

Содержание

Экспериментальная и профилактическая медицина

*Топчян А.В., Галоян А.А., Баласанян М.Г., Ерицян Э.Л., Мхитарян А.Г., Меликсетян
 И. Б.*
 Способность пролином богатого полипептида-1 предотвращать морфологические сдви-
 ги и нарушения памяти, вызванные локальной ишемией мозга крыс3

Տրափոնյան Ր.Մ., Փարոնյան Յ.Ճ., Տաակյան Փ.Մ., Շափլյան Գ.Ս., Գրիգորյան Լ.Ս.
 Влияние гипоталамических нейромодуляторов и их модифицированных форм на
 гемостаз15

*Տավայան Ա. Ա., Դանիելյան Մ.Ա., Մելկոնյան Ն.Ն., Նազարյան Օ.Ա., Տաակյան Ի.Կ., Կոմասյան Ն.Վ.,
 Աբրահամյան Ս.Ս.*
 Динамическое морфогистохимическое исследование нервных структур миндалевид-
 ного тела крыс при воздействии различных доз этанола21

Երիցյան Է.Լ.
 Гипоталамический пролином богатый полипептид-1 улучшает поведенческие резуль-
 таты у крыс в модели фокальной ишемии головного мозга29

Խուճաճերձյան Դ.Ն., Տարոնյան Մ.Կ., Խուճաճերձյան Ա.Դ., Արտյոնյան Ա.Ա.
 Влияние психоэмоционального стресса на содержание адренкортикотропного гормона
 и кортизола в крови беременных крыс и их потомства39

Ավետիսյան Է.Ա., Փետրոսյան Ա.Ա., Տաակյան Ն.Ա., Տիմոնյան Լ.Կ.
 Изменение вегетативных показателей variability сердечного ритма и фоновой
 импульсации висцеросенсорных нейронов ядра солитарного тракта при стимуляции супра-
 оптического ядра гипоталамуса в условиях психоэмоционального стресса у крыс47

Ագաճյան Ե. Մ.
 Иммуноморфологическая характеристика процессов репликации и неогенеза инкре-
 торных клеток поджелудочной железы крыс на индуцированной модели стрептозото-
 цинового диабета55

Хачатрян Т.С., Топузян В.О., Геворкян Г.А.
Терапия холиновыми эфирами N-замещённых- α , β -дегидроаминокислот субклинического гипотиреоза у крыс (сообщение 1)60

Хачатрян Т.С., Топузян В.О., Геворкян Г.А.
Роль сверхмалых доз холинового эфира N-(2-метоксибензоил)-О-изопропил- α , β -дегидротирозина при субклиническом гипотиреозе у крыс разных возрастных групп (сообщение 2)65

Кочарян Н.В., Бархударянц И.М., Априкян Г.В.
Новый подход к лечению гипергаммонемического синдрома70

Мелкумян К.В., Саркисян С.Г., Минасян С.М., Галстян А.М.
Корректирующее влияние дубровника беловойлочного на функциональную связь между нижневестибулярным и гипоталамическим супраоптическим ядрами78

Оганесян А.С., Бадалян А.Р., Амбарцумян А.Дз.
Парадигма процесса внедрения новых вакцинных препаратов против полиомиелита в Армении87

Аветисян Н.Н., Амбарцумян А.Дз., Агамалян С.С., Тер-Степанян М.М.
Участие грибов рода *Candida* в микробных ассоциациях при различных кишечных расстройствах95

Клиническая медицина

Минасян А.М., Сисакян А.С.
Дисфункция правого желудочка как фактор прогрессирования ренокардиального синдрома103

Зангинян А.В., Казарян Г.С., Овсепян Л.М.
Молекулярные патомеханизмы развития эхинококкоза печени110

Наганетян Х.О., Бабаханян М.А., Чавушян В.А., Симонян К.В., Овсепян Г.Ю., Арутюнян Р.А., Оганесян Л.Э., Майтесян О.В., Аветисян Р.А.
Применение стевии, культивируемой в Армении, при лечении больных сахарным диабетом (сообщение 1)119

Contents

Experimental and Preventive Medicine

Topchyan H.V., Galoyan A.A., Balasanyan M.G., Yeritsyan E.L., Mkhitarian A.G., Meliksetyan I.B.
Prevention of morphological changes and memory impairment induced by local cerebral ischemia in rats by proline-rich polypeptide-13

Srapionyan R.M., Paronyan Z.Kh., Sahakyan F.M., Chailyan G.S., Grigoryan L.S.
The effect of hypothalamic neuromodulators on the regulation of the hemostasis system15

Savayan A.A., Danielyan M.A., Melkonyan N.N., Nazaryan O.A., Sahakyan I.K., Tumasyan N.V., Abrahamyan S.S.
Dynamic morphohistochemical study of the amygdaloid neuronal structures in the rats exposed to various doses of ethanol21

E. L. Yeritsyan
Hypothalamic proline-rich polypeptide improves behavioral outcomes in rat model of focal cerebral ischemia29

<i>Khudaverdyan D.N., Saroyan M.Yu., Khudaverdyan A.D., Haroutyunyan H.A.</i> Psycho- emotional stress influence on ACTH and cortisol content in the blood of pregnant rats and their offspring	39
<i>Avetissian E.A., Petrossian A.A., Saakyan N.A., Simonyan L.U.</i> The change of vegetative indices of heart rate variability and background impulses of viscerosensory neurons of the solitary tract nucleus by stimulation of the hypothalamic supraoptic nucleus under a psychoemotional stress in rat	47
<i>Aghajanova Y.M.</i> Immunomorphological characteristics of the replication processes and neogenesis in incretory cells of pancreas in streptozotocin-induced model of diabetes in rats	55
<i>Khachatryan T.S., Topuzyan V.O., Kevorkian G.A.</i> Choline ethers of N-substituted- α , β -dehydroaminoacids therapy of subclinical hypothyroidism in rats	60
<i>Khachatryan T.S., Topuzyan V.O., Kevorkian G.A.</i> The role of ultra-low doses of choline ether N-(2-metoxycarbonyl)-O-isopropyl- α , β -dehydrothiozine in rats of different age groups at subclinical hypothyroidism	65
<i>Kocharian N.V., Barkhudaryants I.M., Aprikian G.V.</i> New approach to the treatment of hyperammonemia syndrome	70
<i>Melkumyan K.V., Sarkisyan S.H., Minassyan S.M., Galstyan H.M.</i> Corrective influence of <i>Teucrium polium L.</i> on the functional connection between inferior vestibular and hypothalamic-supraoptic nuclei	78
<i>Hovhannisyan H.S., Badalyan A.R., Hambardzumyan A.Dz.</i> The paradigm of the process of new vaccines introduction against poliomyelitis in Armenia	87
<i>Avetisyan N.N., Hambardzumyan A.Dz., Aghamalyan S.S., Ter-Stepanyan M.M.</i> Participation of <i>Candida</i> fungi in microbial associations in various intestinal disorders	95

Clinical Medicine

<i>Minasyan A.M., Sisakyan H.S.</i> Right ventricle dysfunction as an index of renocardiac syndrome progression	103
<i>Zanginyan H.V., Ghazaryan G.S., Hovsepyan L.M.</i> Molecular pathomechanisms of the development of liver echinococcosis	110
<i>Nahapetyan Kh.H., Babakhanyan M.A., Chavushyan V.A., Simonyan K.V., Hovsepyan H.Yu., Harutyunyan R.A., Hovhannisian L.E., Mahtesyan H.V., Avetisyan R.A.</i> Use of Stevia cultivated in Armenia for treatment of patients with diabetes mellitus	119

Հանդեսի ուղղվածությունը (պրոֆիլը)

“Հայաստանի բժշկագիտություն” հանդեսում տպագրվում են օրիգինալ հոդվածներ և ակնարկներ, որոնք լուսաբանում են փորձարարական, կանխարգելիչ և կլինիկական բժշկագիտության հարցերը:

Հոդվածների ձևավորումը

1. Հոդվածը ներկայացվում է 3 տպագիր օրինակից՝ հայերեն, ռուսերեն կամ անգլերեն լեզվով, գիտական դեկավարի մակագրությամբ, ինչպես նաև ուղեգրով՝ այն հիմնարկությունից, որտեղ կատարվել է աշխատանքը: Անհրաժեշտ է ներկայացնել նաև հոդվածի էլեկտրոնային տարբերակը կոմպակտային սկավառակի (CD) վրա (Microsoft Word for Windows 2000; Unicode Times New Roman տառատեսակով ռուսերեն և անգլերեն լեզուների և Sylfaen՝ հայերենի համար):

2. Գիտական հոդվածի ծավալը չպետք է գերազանցի 10 տպագիր էջը, ներառյալ աղյուսակները, նկարները, սեղմագրերը և գրականության ցանկը: Ակնարկների ծավալը կարող է լինել մինչև 20 էջ:

3. Ելքային տվյալները ներկայացվում են հետևյալ կերպ. ձժԽ ցուցիչը, հոդվածի վերնագիրը, հեղինակների անունների և հայրանունների սկզբնատառերը և ազգանունները, ապա՝ հիմնարկության անվանումը, հասցեն և բանալի բառերը (8-10): Հոդվածի վերջում դրվում են հեղինակների ստորագրությունները և հեռախոսահամարները:

4. Գիտական հոդվածը բաղկացած է հետևյալ մասերից, ա/ ներածական մաս; բ/ նյութը և մեթոդները; գ/ արդյունքները և քննարկումը: Սեղմագրերը՝ հայերեն կամ ռուսերեն և անգլերեն լեզուներով ներկայացվում են առանձին էջերի վրա:

5. Գրականության ցանկը տրվում է հոդվածի վերջում՝ առանձին էջով, այբբենական կարգով՝ նախ հայրենական, ապա օտարերկրյա հեղինակներին: Հոդվածի տեքստում հղումները բերվում են քառակուսի չակերտների մեջ թվերով:

6. Խմբագրությանը իրավունք է վերապահվում ուղղելու, խմբագրելու կամ կրճատելու ցանկացած հոդվածի տեքստը:

7. Չի թույլատրվում ներկայացնել տպագրության հոդվածներ, որոնք նախկինում տպագրվել են կամ ներկայացվել այլ հանդեսներ հրատարակման համար:

8. Հանդեսին բաժանորդագրվել կարող են ինչպես առանձին անհատները, այնպես և հիմնարկությունները:

Профиль журнала

В журнале “Медицинская наука Армении” публикуются оригинальные и обзорные статьи, освещающие вопросы экспериментальной, профилактической и клинической медицины.

Оформление статей

1. Статья должна представляться в трех распечатанных экземплярах на русском, армянском или английском языке, сопровождаться направлением учреждения, где она выполнена, иметь визу научного руководителя. Необходимо также представление статьи на компактном диске (CD), в текстовом редакторе Microsoft Word for Windows 2000, (шрифтом Unicode Times New Roman для русского и английского и Sylfaen – для армянского языка).

2. Объем научных статей не должен превышать 10 страниц машинописи, включая таблицы, рисунки, резюме и библиографию. Объем обзорных и проблемных статей допускается до 20 страниц, включая список литературы.

3. Выходные данные указываются в следующей последовательности: индекс УДК, название статьи, инициалы и фамилии авторов, учреждение, где выполнена работа, адрес, ключевые слова (8-10). В конце статьи должны быть подписи авторов, а также номера телефонов.

4. Статья должна включать следующие разделы: а) введение, б) материал и методы, в) результаты и обсуждение. Резюме на английском и армянском языках прилагаются на отдельных страницах.

5. Библиография приводится в конце статьи на отдельной странице в алфавитном порядке, сначала отечественная, затем зарубежная. Ссылки на источники в тексте приводятся в квадратных скобках в виде цифровых обозначений.

6. Редакция оставляет за собой право исправлять, сокращать статьи.

7. Не допускается направление в редакцию статей, опубликованных ранее или направленных для печати в другие журналы.

8. Подписчиками могут быть как частные лица, так и учреждения и предприятия.

Profile of the journal

The journal “Medical Science of Armenia” publishes original articles and reviews concerning the problems of experimental, preventive and clinical medicine.

Design of the articles

1. Three copies of the article must be presented, written in Russian, Armenian or English, provided with the permit of the institution where the work has been conducted and the visa of the scientific adviser. It is also necessary to submit the text on a CD (Microsoft Word for Windows 2000 editor; font – Unicode Times New Roman for Russian and English and Sylfaen– for Armenian).

2. The scientific articles should not exceed 10 typed pages including tables, figures, summaries and bibliography. The summarising article may have a volume up to 20 pages including the references.

3. In the printer’s imprint the UDK (ÓÄÊ) index, initials and surnames of the authors, the name of the institution where the work has been conducted and key words must be given. In the end of the article

the signatures, addresses and telephone numbers of the authors should be written.

4. The article must include following parts; a) introduction, b) material and methods, c) results and discussion. The abstracts must be presented in English and Armenian, or Russian, if the paper is in Armenian. The abstracts are presented on separate pages.

5. The references should be in the end of the paper on a separate page. The list of the literature must be given in alphabetical order, first the native and then the foreign sources. References to them (in numbers) in the text must be written in square brackets.

6. The editorial staff has a right to shorten and correct the articles.

7. The papers submitted to other journals for publication, or published before are not admitted by the editorial house.

8. Each person or institution can become a subscriber of the journal.