

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

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

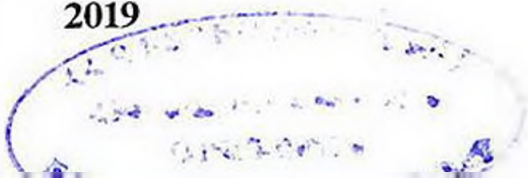
Հաշիւառանի բժշկագիտություն
Медицинская наука Армении
Medical Science of Armenia

т. LIX, № 3



ՀՀ ԳԱԱ «ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆ» ՀՐԱՏԱՐԱԿԶՈՒԹՅՈՒՆ
ЕРЕВАН•ԵՐԵՎԱՆ•YEREVAN

2019



Журнал основан в 1961 году и до 1995 года издавался под названием “Экспериментальная и клиническая медицина”.

Периодичность издания 4 номера в год

Գլխավոր խմբագիր՝ Ա.Կ. Շուքուրյան
Գլխավոր խմբագրի տեղակալ՝ Գ.Ա. Գևորգյան
Պատասխանատու քարտուղար՝ Ի.Գ. Ապկարյան

Խմբագրական կոլեգիա՝ Ռ.Ա. Աբրահամյան, Կ.Գ. Ադամյան, Ա.Վ. Ազնաուրյան,
Յու.Թ. Ալեքսանյան, Մ.Բ. Աղաջանով, Հ.Մ. Գալստյան, Վ.Պ. Հակոբյան,
Լ.Մ. Մկրտչյան, Ա.Ա. Մուրադյան, Մ.Զ. Նարիմանյան,
Հ.Վ. Մարուխանյան, Զ.Ա. Տեր-Ավետիքյան

Խմբագրական խորհուրդ՝ Վ.Պ. Այվազյան, Ե. Գարաբեդյան (Ֆրանսիա),
Դ.Ն. Խուդավերդյան, Ն.Մ. Հովհաննիսյան, Ռ.Ս. Միրզոյան (Ռուսաստան),
Ա. Չոբանյան (ԱՄՆ), Մ.Բ. Սերենին (Ռուսաստան), Շ.Ա. Վարդանյան,
Գ.Ա. Տավարթկիլաձե (Ռուսաստան), Ռ.Գ. Օգանով (Ռուսաստան)

Главный редактор А.К.Шукурян
Заместитель главного редактора Г. А. Геворкян
Ответственный секретарь И.Г. Апкарян

Редакционная коллегия: Р.А. Абрамян, М.И. Агаджанов, К.Г. Адамян, А.В. Азнаурян,
В.П. Акопян, Ю.Т.Алексанян, А.М. Галстян, Л.М. Мкртчян, А.А. Мурадян,
М.З. Нариманян, О.В. Саруханян, З.А. Тер-Аветикян

Редакционный совет: В.П. Айвазян, Ш.А. Варданян, Е.Гарабедян (Франция),
Р.С. Мирзоян (Россия), Н.М. Оганесян, Р.Г. Оганов (Россия), С.Б. Середенин (Россия),
Г.А. Таварткиладзе (Россия), Д.Н. Худавердян, А.Чобанян (США)

Editor-in-Chief A.K.Shukuryan
Assistant Editor G. A. Kevorkian
Secretary-in-Chief I.G.Apkaryan

Editorial Board: R.A. Abrahamian, K.G. Adamyan, M.I. Agajanov, Yu.T. Aleksanyan,
A.V. Aznauryan, H.M. Galstyan, V.P. Hakopian, L.M. Mkrtchian, A.A. Muradyan,
M.Z. Narimanyan, H.V. Sarukhianian, Z. A. Ter-Avetikyan

Editorial Council: V.P. Ayvazyan, A. Chobanyan (USA),
E.Garabedian (France), N.M. Hovhannisyan, D.N. Khudaverdyan, R.S. Mirzoyan (Russia),
R.G. Oganov (Russia), S.B. Seredenin (Russia), G.A. Tavartkiladze (Russia), Sh.A.Vardanyan

Синдром грудного выхода. Клинические и диагностические понятия, методы лечения

А.С. Саркисян, Т.Л.Султанян

*ЕГМУ им. М. Гераци, кафедра сердечно-сосудистой хирургии
0025, Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: верхние конечности, скаленус синдром, синдром грудного выхода, добавочное шейное ребро, плечевое сплетение

Синдром грудного выхода (СГВ), или нейроваскулярный компрессионный синдром, характеризуется разнообразием клинических проявлений, обусловленных множеством причин, из-за которых в относительно узком анатомическом пространстве возникает компрессия сосудисто-нервного пучка (СНП) – стволов плечевого сплетения и подключичных сосудов (артерии и вены). В верхней апертуре, как анатомическом образовании, выделяют 3 области, в которых чаще всего компрессируются сосудистые и нервные пучки: пространство между лестничными мышцами (так называемое межлестничное пространство), реберно-ключичное и субпекторальное пространства. В зависимости от области и преимущественного сдавления нервных или сосудистых структур ведущие симптомы СГВ могут различаться. Независимо от этого все проявления объединены в один симптомокомплекс в связи с локализацией, что нашло отражение в названии синдрома. В современной литературе клиническая симптоматика при СГВ рассматривается с точки зрения сосудистой хирургии, а клинические симптомы нейрогенного характера описываются лишь в связи с поражением нижнего отдела первичного ствола плечевого сплетения.

Классификация и распространенность синдрома грудного выхода

Несмотря на предложенные разные классификации СГВ, наиболее рациональной и актуальной является разделение синдрома с учетом зависимости вовлечения в компрессионный процесс структур, входящих в верхнюю апертуру. Исходя из этого, различают 4 клинических варианта: 1–*артериальный*, 2–*венозный*, 3–*нейрогенный*, 4–*сосудисто-нейроген-*

ный [2]. Нейрогенный вариант СГВ подразделяют на *истинный нейрогенный* (когда поражение нервных структур подтверждается клинически или данными инструментальных исследований) и *спорный нейрогенный* (*neurogenic disputed*, когда при наличии жалоб на чувствительные нарушения они не подтверждаются объективно). В литературе описывается и 5-й вариант, **травматический нейроваскулярный** СГВ. Нейрогенный вариант СГВ наблюдается в 95% случаев, в 3% – венозный и лишь 1% – артериальный. В структуре нейрогенного типа на долю истинного СГВ приходится всего 1%, распространенность которого составляет 1:1 000 000, частота спорного СГВ достигает 80:1000, при этом данный вариант патологии наблюдается у женщин в возрасте 20-40 лет [3].

Этиологические факторы синдрома грудного выхода

Этиологические факторы СГВ подразделяются на 2 большие группы, исходя из причин, предрасполагающих к компрессии СНП в верхней апертуре грудной клетки: **1–врожденные** и **2–приобретенные**. В группу врожденных факторов входят *костные* (добавочное шейное ребро, удлиненный поперечный отросток 7-го шейного позвонка) и *фиброзные* (поперечно-реберные, реберно-реберные связки) аномалии. От шейного ребра удлиненный поперечный отросток отличается отсутствием поперечно-реберного сустава. Вышеперечисленные аномалии встречаются в 0,01-0,5% случаев, а при СГВ в 10%. Часто при развитии скаленус синдрома врожденные аномалии сочетаются с травматическими нарушениями или проявляются при изменениях осанки и состоянием мышц. Врожденная анатомическая особенность верхней апертуры грудной клетки – лишь один из многочисленных предрасполагающих факторов развития СГВ [4,5]. В число приобретенных факторов скаленус синдрома входят функциональные, посттравматические причины развития и вторичное поражение сосудисто-нервного пучка вследствие таких заболеваний, как новообразование верхней доли легкого или лимфаденопатии. Посттравматические факторы составляют примерно 2/3 случаев СГВ. К посттравматическим факторам относятся следующие состояния – перелом ключицы, однократные или повторные травмы плеча, повреждение шейного отдела позвоночника. Достоверным диагностическим критерием является развитие симптомов скаленус синдрома в течение 2 лет после получения травмы. Например, фиброз передней лестничной мышцы, развившийся после ее повреждения, может быть причиной компрессии плечевого сплетения. К функциональным причинам СГВ относятся нарушение и изменение тонуса мышц шеи, являющиеся самыми частыми, но при этом спорными с точки зрения формулировки диагноза. Часто данная клиника наблюдается у худощавых людей с покатыми плечами, которые больше

подвержены сдавлению плечевого сплетения ввиду сужения реберно-ключичного пространства.

Клинические признаки синдрома грудного выхода

Основные варианты течения скаленус синдрома различают по клиническим признакам. Венозная форма СГВ, которая наблюдается чаще, чем артериальная (4:1), проявляется в виде отечности, цианоза, боли, расширения и вздутия вен верхней конечности и плечевого пояса. Тромбоз подключичной вены, встречающийся при СГВ, называют тромбозом напряжения или синдромом Paget-Schroetter. Артериальная форма СГВ наблюдается редко. Симптомы проявляются артериальной недостаточностью: похолоданием, слабостью и болью в верхней конечности. В случае острой компрессии наблюдается тромбоз подключичной артерии с последующей эмболизацией ее периферических ветвей. Для постановки диагноза полученные объективные данные необходимо сопоставить с результатами лучевых методов исследования, в первую очередь дуплексного сканирования вен верхней конечности. Если УЗИ неинформативно, могут быть применены КТ и МРТ-флебография. Как при артериальном, так и при венозном варианте скаленус синдрома, диагностическая ценность лучевых методов возрастает при применении постуральных проб [6,7]. Подразделение нейрогенного типа СГВ на истинный и спорный основано на обнаружении или отсутствии объективных клинических данных. Для истинного варианта обязательно наличие поражения плечевого сплетения при объективном осмотре и отклонений по данным электрофизиологического исследования. Клинические признаки включают атрофию мышц кисти и предплечья, начинающуюся, как правило, с мышц гипотенара и имеющую медленно прогрессирующий характер анамнеза. Истинный нейрогенный скаленус синдром практически всегда связан с какой-либо костной аномалией – наличием шейного ребра или гипертрофированным поперечным отростком 7-го шейного позвонка. Развитие истинного нейрогенного СГВ с двух сторон, в отличие от спорного, встречается редко. К числу симптомов спорного вида скаленус синдрома относятся *боль* (88%), *онемение* (98%) и *слабость мышц* (55%) всей верхней конечности. Все перечисленные симптомы могут наблюдаться в покое, однако чаще провоцируются и усиливаются при определенном ее положении, в частности при подъеме выше уровня плеча или при удержании тяжелых предметов в вытянутой вниз руке. Боль и чувствительные нарушения чаще распространяются по локтевой стороне кисти, что является важным клиническим признаком нейрогенного СГВ [8,9]. Данные объективного осмотра играют большую роль в диагностике спорного скаленус синдрома. Несмотря на отсутствие патогномичных признаков, подробный неврологический осмотр позволяет дифференцировать нейрогенный СГВ

и иные компрессионные синдромы. В первую очередь следует обратить внимание на особенности телосложения пациента. Классическим фенотипом больного с СГВ является сочетание длинной шеи с покатыми плечами. Также следует оценить осанку пациента, положение лопаток, особенно при движении руками и физических нагрузках. Беспокоящие пациента симптомы могут быть спровоцированы пальпацией надключичной области (положительный тест Morley). Кроме стандартного неврологического осмотра с оценкой чувствительной и двигательной сфер, при подозрении на СГВ рекомендовано проведение провокационных тестов. К числу этих тестов относятся *проба Эдсона*, разные маневры, уменьшающие реберно-ключичное пространство, гиперабдукционная проба (*тест Раïма*), *тест EAST (elevated arm stress test)*. Недостатком тестов и провокационных проб является их низкая специфичность и чувствительность. Данные многих исследований показали недостоверность классических провокационных тестов и часто ложноположительные результаты их использования у здоровых лиц или у пациентов с другой патологией, например с синдромом карпального канала [10,11].

Методы инструментальной диагностики синдрома грудного выхода

Большую роль в диагностике скаленус синдрома оказывает рентгенография шейной области в выявлении костных структур (шейное ребро, гипертрофия поперечных отростков), ответственных за компрессию сосудисто-нервного пучка, компьютерная и магнитно-резонансная томография (КТ, МРТ). МРТ применяется для визуализации плечевого сплетения при различных наследственных и приобретенных состояниях. Информативность МРТ в диагностике скаленус синдрома возрастает при ее выполнении с позиционными пробами и провокационными тестами. В отдельных исследованиях показана низкая чувствительность и специфичность МРТ по сравнению с обнаруженными аномалиями при хирургическом вмешательстве. КТ обладает более высокой чувствительностью при поиске таких костных аномалий, как добавочное шейное ребро, аномалии 1-го ребра, удлинённый поперечный отросток 7-го шейного позвонка, переломы ключицы. В 30% случаев добавочное шейное ребро соединяется с 1-м ребром посредством образования истинного сустава либо хрящевой ткани. В 70% случаев добавочные ребра не срастаются с 1-м ребром и имеют свободный конец, но при этом, как правило, обнаруживается фиброзная перемычка между шейным и 1-м ребром.

МРТ, КТ-ангиография и УЗИ подключичных сосудов могут применяться для подтверждения диагноза артериального или венозного скаленус синдрома. Обнаруженные изменения кровотока не позволяют судить о наличии поражения плечевого сплетения. УЗИ может быть полезно не только для обнаружения сосудистой патологии. Активно обсуждается

вопрос диагностического применения данного метода в исследовании нервных стволов, в том числе при нейрогенном варианте СГВ. УЗИ плечевого сплетения, с применением провокационных маневров, показало свою эффективность в подтверждении нейрогенного типа скаленус синдрома. Методом диагностики скаленус синдрома, предложенным в последние годы, является *TOS ex juvantibus*, оценка пациентом субъективных ощущений после блокады передней лестничной мышцы анестетиком, как правило лидокаином. Процедуру рекомендуется проводить с использованием УЗИ [12].

Методы лечения синдрома грудного выхода

Лечение пациентов с нейрогенным видом синдрома следует начинать с консервативных мероприятий, включая упражнения, направленные на нормализацию осанки, и физиотерапевтические методы. Больной должен избегать подъема тяжестей и работ, связанных с подъемом рук выше плечевого пояса. Консервативное лечение следует продолжать в течение нескольких месяцев. При проведении консервативного лечения у большинства пациентов отмечается значительное улучшение, в связи с чем хирургического вмешательства не требуется. Показаниями к хирургическому лечению являются:

1. Отсутствие эффекта от консервативных мероприятий, продолжавшихся в течение нескольких месяцев.
2. Сохранение симптоматики, препятствующей выполнению работы и привычной ежедневной активности.

Хирургическое лечение направлено на устранение сдавления элементов плечевого сплетения. Наиболее часто у пациентов с нейрогенным СГВ применяется трансаксиллярная резекция 1-го ребра.

Трансаксиллярная резекция ребра

Операция, описанная Россом, предназначалась для устранения неврологических осложнений СГВ. Основные моменты ее выполнения сводятся к следующему. Пациента укладывают на бок. При этом рука его должна оставаться свободной. Ассистент поднимает плечо и потягивает его вверх. Этот прием позволяет открыть реберно-ключичное пространство и отводит сосудисто-нервный пучок в сторону от 1-го ребра. По нижнему краю подмышечной линии, на уровне 3-го ребра, делается горизонтальный разрез кожи. Отсюда диссекцию тканей продолжают в проксимальном направлении, в сторону подмышечной впадины. Необходимо сохранить межреберный нерв, залегающий на уровне 2-го межреберного промежутка [13,14]. Вскрывают фасцию, являющуюся своеобразной крышей подмышечной впадины, после чего обнажается передняя часть 1-го

ребра. С помощью изогнутого вправо зажима переднюю лестничную мышцу отделяют от подключичной артерии и пересекают на уровне ее прикрепления к 1-му ребру. Т1 корешок осторожно отводится в медиальном направлении, затем кзади устанавливаются изогнутые реберные ножницы-кусачки. Ребро пересекается. Линия отреза должна находиться на расстоянии 1-2 см от поперечного отростка позвонка. Культия ребра не должна иметь острых граней, которые могут повредить элементы плечевого сплетения. Необходимо резецировать все фиброзные тяжи, окружающие сплетение или сосуды. Подобным образом между подключичными сосудами низводится и резецируется передняя лестничная мышца. К осложнениям трансаксиллярной резекции ребра относится повреждение плечевого сплетения. Наиболее серьезное осложнение – повреждение плечевого сплетения. Это осложнение может быть следствием избыточной тракции руки или повреждения Т1 корешка реберными кусачками или ретрактором. Для того чтобы свести к минимуму вероятность данного осложнения, следует всегда четко визуализировать Т1 корешок и держать его в поле зрения в момент пересечения ребра. Другим вариантом оперативного лечения нейрогенного СГВ является вмешательство, выполняемое из надключичного доступа. Аксельрод и соавт. сообщили о результатах хирургического лечения 170 пациентов с нейрогенным СГВ. У них декомпрессия осуществлялась из надключичного доступа, и при этом не наблюдалось серьезных операционных осложнений. Только в 11% случаев отмечены незначительные осложнения, а именно, образование пневмоторакса, что требовало дренирования плевральной полости. В ближайшем послеоперационном периоде – в течение 10 месяцев – у 80% больных отмечено снижение болевого синдрома и увеличение объема движений у 82% [15,16]. Однако в отдаленном послеоперационном периоде (через 4 года после операции) остаточные явления наблюдались у 65% пациентов и в 35% случаев пациенты вынуждены принимать обезболивающие препараты. В настоящее время сохраняются противоречивые мнения относительно роли хирургического лечения у пациентов с нейрогенным СГВ. Данное обстоятельство связано с тем, что еще не проведено достаточного количества рандомизированных исследований, которые бы позволили точно сравнить его результаты с результатами консервативных методов лечения.

Артериальный тип синдрома грудного выхода

Трансаксиллярный доступ используется для изолированной резекции ребра у пациентов с неврологической симптоматикой. Он не обеспечивает достаточной экспозиции подключично-подмышечной артерии и противопоказан при осложнениях артериального характера. Чресключичный доступ не благоприятен в косметическом и функциональном пла-

не, хотя и обеспечивает широкую экспозицию надключичной и подмышечной областей. К счастью, сходное хирургическое вмешательство может быть выполнено без пересечения ключицы из комбинированного над- и подключичного доступа. Пересечение ключицы показано лишь в случае неправильного сращения или формирования избыточной костной мозоли ключицы. Комбинированный над- и подключичный доступ обеспечивает широкую экспозицию данной области [17]. Сначала выполняется S-образный разрез в подключичной области. От верхней части грудины и ключицы отсекают большую грудную мышцу. Затем рассекают малую грудную мышцу и вскрывают ключично-грудную фасцию, что позволяет получить хороший доступ к подключичной области и передним сегментам двух первых ребер. Резецируют подключичную мышцу, после чего от ключицы отделяют подключичную артерию и вену. Из надключичного доступа пересекают ключичную головку кивательной мышцы, а также наружную яремную вену. Данная манипуляция позволяет получить доступ к передней лестничной мышце и диафрагмальному нерву. После этого передняя лестничная мышца отсекается от 1-го ребра. Мобилизуются подключичная артерия и вена. От нижнего края 1-го ребра отделяют межреберные мышцы, после чего его вывихивают на уровне перехода хрящевой части в костную, и ребро отсекают. При этом не следует стремиться к его отсечению именно на уровне заднего сегмента. Культя ребра ревизируется через надключичный доступ, для чего элементы плечевого сплетения отводят в латеральном направлении, а плечевую артерию в медиальном. Затем от 1-го ребра отделяют среднюю лестничную мышцу, и после того, как будет защищен Т1 корешок, ребро отсекают на уровне поперечного отростка позвонка. В случае наличия полноценного шейного ребра его верхушку вывихивают из подключичного доступа, а оставшуюся часть удаляют из надключичного доступа совместно с культей 1-го ребра. При постстенотическом аневризматическом расширении подключичной артерии, расположенной дистальнее 1-го, или шейного ребра, длина артерии оказывается достаточной для выполнения резекции аневризмы и формирования прямого анастомоза. В случае более распространенных поражений необходимо протезирование артерии с помощью аутовены (реверсированный сегмент) или аллотрансплантата. У пациентов с эмболией артерии необходима эмболэктомия катетером Фогарти. Это осуществляют из поперечной артериотомии плечевой артерии или в случае ее неэффективности из поперечной артериотомии лучевой или локтевой артерии, выполняемой на уровне запястья. В случае невозможности или сомнительной эффективности эмболэктомии показана реваскуляризация конечности методом *дистального* шунтирования с применением аутовены. При этом шунтируют одну из артерий предплечья, включая межкостную. При протяженной дистальной окклюзии эмболической природы следует также рассмотреть вопрос о дополнительной симпатэктомии [1,18]. Всем па-

циентам с артериальной недостаточностью, обусловленной синдромом грудного выхода, показана артериальная реконструкция и резекция 1-го, или шейного ребра.

Поступила 19.07.19

Կրծքավանդակից ելքի համախտանիշ: Կլինիկական և ախտորոշիչ բնութագրերը, բուժման մեթոդները

Ա.Ս. Սարգսյան, Տ.Լ. Սուլթանյան

Հոդվածում ներկայացված են անոթային վիրաբուժության առավել արդիական հիմնախնդիրներից մեկի՝ կրծքավանդակից ելքի համախտանիշի էթիոպաթոգենեզի կլինիկական ընթացքի, ախտորոշման և բուժման ժամանակակից մոտեցումները:

Thoracic Outlet Syndrome. Clinical and Diagnostic Aspects, Methods of Treatment

A.S. Sargsyan, T.L. Sultanyan

The publication presents a systematic review about one of the actual problems of vascular surgery - Thoracic Outlet Syndrome (TOS). The etiopathogenetic, diagnostic aspects and methods of surgical correction of the thoracic outlet syndrome are discussed in the review.

Литература

1. Екимовская Е.В., Разумовский А.Ю., Рачков В.Е. Синдром верхней апертуры грудной клетки у детей. Детская хирургия, 2011, 5, с 46–50.
2. Atasoy E. Thoracic outlet compression syndrome.// Orthoped Clin North Am. 1996, 27, 265-303.
3. Basma J., M.I. Van Engeland, V.J.Leidjckers et al. The influence of choice of therapy on quality of life in patients with neurogenic thoracic outlet syndrome// Br. J. Neurosurgery, 2010, vol. 24(5)-P532-536.
4. Buller L.T., Jase J., Baraga M., Lesniak B. Thoracic outlet syndrome: current concepts, imaging features, and therapeutic strategies. Am J. Orthop (Belle Mead NJ) 2015, 44(8): 376-82: PMID 26251937.
5. Chang K.Z., Likes K.C., Davis K. et al. The significance of cervical ribs in thoracic outlet syndrome// J Vasc., Surg., 2013, vol. 57(3), p.771-775.
6. Ellison D.W., Wood V.E. Trauma-related thoracic outlet syndrome.// J Hand Surg Br 1994, 19(4): 424-6. PMID 7964090.
7. Ferrante M.A. The thoracic outlet syndromes // Muscle Nerve-2012, vol. 45(6), p. 780-795.

8. *Fulford P.E., Baguneid M.S., Ibrahim M.R. et al.* Outcome of transaxillary rib resection for thoracic outlet syndrome a 10 year experience // Cardiovascular Surgery, 2001, vol. 9, N6, p. 620-624.
9. *Fried S.M., Nazarian L.N.* Dynamic neuromusculoskeletal ultrasound documentation of brachial plexus thoracic outlet compression during elevated arm stress testing// Hand (N.Y.), 2013, 8(3): 358-65. DOI: 10.1007/s 11552-013-9523-8. PMID 24426950.
10. *Hooper T.L., Denton J., McGalliard M.K. et al.* Thoracic outlet syndrome: a controversial clinical condition. Part 1: Anatomy and clinical examination/diagnosis. J Man Manip Ther, 2010, 18(2): 74-83. DOI: 10.1179/106698110X12640740712734. PMID: 21655389.
11. *Lindgren K.A., Oksala I.* Long-term outcome of surgery for thoracic outlet syndrome// Amer. Jour. Surgery, 1995, 169, 358-360.
12. *Ozoa G., Alves D., Fish D.E.* Thoracic outlet syndrome. // Phys. Med Rehabil Clin North Am 2011, 22(3): 473-83. DOI 10.1016/j.pmr.2011.02.010. PMID 21824588.
13. *Petton G.M.* Arterial thoracic outlet syndrome //Hand Clin, 2004, 20(1):107-11.DOI 10.1016/S-0749-0712(03) 00086-6.PMID 15005392.
14. *Raptis C.A., Sridhar S., Thompson R.W. et al.* Imaging of the patients with thoracic outlet syndrome. Radiographics, 2016, 36(4): 984-1000. DOI: 10.1148/rg.2016150221. PMID: 27257767.
15. *Rochlin D.H., Gilson M.M., Likes K.C. et al.* Quality of life scores in neurogenic thoracic outlet syndrome patients undergoing first rib resection and scalenotomy// J Vascular Surgery, 2013, vol. 57(2), p. 436-443.
16. *Thompson J., Jansen F.* Thoracic outlet syndrome // Br J. Surgery, 1996, vol. 83, p.435-436.
17. *Veilleux M., Stevens J.C., Campbell J.K.* Somatosensory evoked potentials: lack of value for diagnosis of thoracic outlet syndrome. Muscle Nerve 1988, 11(6): 571-5, DOI: 10.1002/mus. 880110608.
18. *Wilbourn A.J.* 10 most commonly asked questions about thoracic outlet syndrome. Neurologist, 2001, 7(5), 309-12. PMID 14649631.

ՀՏԴ 612:087:612.178:6128.04

Սրտի ռիթմի փոփոխականության առանձնահատկությունները

Մ.Ռ. Սարգսյան

*Հայաստանի ֆիզիկական կուլտուրայի և սպորտի պետական
ինստիտուտի ֆիզիոլոգիայի և սպորտային բժշկության ամբիոն
0025, Երևան, Ալեք Մանուկյան փ., 11*

Բանալի բառեր. վեգետատիվ կարգավորում, սրտի ռիթմի փոփոխականություն, կենտրոնական և ավտոնոմ կարգավորման մակարդակ, սրտի կծկումներ, հոգեֆիզիոլոգիական ցուցանիշներ, սիրտ-անոթային համակարգ

Սրտի ռիթմի փոփոխականության (ՍՌՓ) վերլուծությունը օրգանիզմի ֆիզիոլոգիական գործառույթների վեգետատիվ կարգավորման վիճակի հետազոտման և գնահատման ժամանակակից մեթոդներից մեկն է: ՍՌՓ-ն ֆիզիոլոգիական երևույթ է, որը դրսևորվում է երկու հաջորդական սրտային կծկումների տևողության տարբերությամբ: Սրտի հաջորդական ցիկլերի նկարագրության համար գրականության մեջ տարբեր տերմիններ են օգտագործվել, ինչպես օրինակ՝ «ցիկլի տևողության (երկարության) փոփոխականություն», «սրտի փուլերի փոփոխականություն», «RR ինտերվալների (միջակայքերի) փոփոխականություն», «RR ինտերվալների տախոգրամա»: Այս տերմինները թույլ են տալիս ընդգծել, որ ուսումնասիրվել է ոչ թե սրտի կծկումների հաճախականությունը, այլ հենց երկու հաջորդական կծկումների միջև ընկած ժամանակահատվածը: Այդ տերմինները, սակայն, լայն տարածում չեն գտել, և առավել ընդունված է «Սրտի ռիթմի փոփոխականություն» (ՍՌՓ) եզրույթը:

ՍՌՓ մեթոդի զարգացման պատմությունը և կիրառման ոլորտները

ՍՌՓ երևույթը առաջին անգամ հայտնաբերվել է շվեյցարացի անատոմ, ֆիզիոլոգ, բուսաբան և պոետ Ալբրեխտ ֆոն Հալլերի կողմից 1760 թ.: ՍՌՓ-ի կլինիկական նշանակությունը առաջին անգամ գնա-

հատվել է 1965 թ., երբ հայտնաբերվեց, որ պտղի դիսթրեսին նախորդել է սրտի կծկումների միջև եղած ժամանակային ինտերվալների փոփոխությունը, նախքան այն պահը, երբ տեղի ունեցան հենց սրտի ռիթմի փոփոխություններ [8]: Հետագայում ևս շարունակվեցին ՍՌՓ-ի վերլուծությունները, իսկ 1981 թ. Ակսելտոդը և համահեղինակները սիրտ-անոթային համակարգի քանակական ցուցանիշների որոշման համար կիրառեցին սրտի ռիթմի տատանումների սպեկտրալ վերլուծություն [2]: Առաջարկվեցին նաև մի քանի պարզ թեստեր, որոնց միջոցով, ըստ RR-ինտերվալների կարճաժամկետ փոփոխությունների, հայտնաբերվում էր վեգետատիվ նեյրոպատիա շաքարախտով հիվանդների մոտ [6]:

Մի շարք հեղինակների կողմից ցույց է տրվել ՍՌՓ-ի կարևորությունը սրտամկանի ինֆարկտի դեպքում: Սրտամկանի ինֆարկտով հիվանդների մոտ նշվում էր փոխադարձ կապը նվազող ՍՌՓ-ի և մահվան բարձր ռիսկի միջև, և հաստատվել է, որ ՍՌՓ-ն մահվան կանխատեսման անկախ ցուցանիշ է այն հիվանդների մոտ, որոնք սրտամկանի սուր ինֆարկտ են տարել [3,9]:

ՍՍՀՄ-ում ՍՌՓ-ի հետազոտմամբ ակտիվորեն սկսել են զբաղվել 60-ականների սկզբին: Նոր գիտական տեղեկատվության ստացման և տիեզերագնացների բժշկական վերահսկողության հետ կապված խնդիրների լուծման համար տիեզերական բժշկության հիմնադիրներ ակադեմիկոս Վ.Վ. Պարինի և պրոֆեսոր Ռ.Մ. Բանսկու [28] կողմից ՍՌՓ-ի ուսումնասիրման հիման վրա մշակվեցին վարիացիոն պուլսամետրիայի մեթոդը և օրգանիզմի գործառնության վիճակի գնահատման տեխնոլոգիան: ՍՌՓ-ի ուսումնասիրությունները շարունակվեցին 70-80-ական թթ. և ակտիվորեն շարունակվում են առայսօր [17,23,25,31]:

Կլինիկական պրակտիկայում, հատկապես ծայրահեղ վիճակների բժշկության մեջ, վարիացիոն պուլսամետրիայի մեթոդի լայն տարածման համար համապատասխան գործիքային միջոցներ պահանջվեցին: Անեսթեզիոլոգների և ռեանիմատոլոգների համար կլինիկական մոնիթորինգը առանձին տեղ է գրավում, քանի որ այս դեպքում հիվանդի ընթացիկ վիճակին հետևելը կարող է կենսական նշանակություն ունենալ: Վարիացիոն պուլսամետրիայի ալգորիթմներով աշխատող ավտոմատացված ռիթմոկարդիոմոնիթորների հայտնվելը թույլ տվեց լուծել այդ խնդիրը [24]:

Հետագայում բժշկության ներառական տենդենցները և ախտորոշման նոր, համակարգչային տեխնոլոգիաները, որոնք արտացոլում են օրգանիզմի նյութափոխանակային և նեյրովեգետատիվ ապահովվածությունը, նրա պահուստները և կայունությունը, որոնց հիմքում

ընկած է սրտի ռիթմի դանդաղ, ալիքային գործընթացների և հեմոդինամիկայի մյուս ցուցանիշների վերլուծությունը, դարձան բժշկական պրակտիկայի անբաժանելի մասը [32]:

Ներկայումս բժշկության տարբեր ոլորտներում մեծաքանակ աշխատանքներ կան տպագրված, որոնցում ՍՌՓ-ն օգտագործվում է ախտորոշման մեջ մասնավոր խնդիրների լուծման համար [18, 26, 27, 33]:

Ուսանողների հոգեֆիզիոլոգիական ցուցանիշների ուսումնասիրման բազմաթիվ աշխատանքներ կան, որոնք բնութագրում են օրգանիզմի կարգավորիչ համակարգերի լարվածության աստիճանը ուսումնական բեռնվածության ընթացքում [21,22]:

Մեծաքանակ աշխատանքներ կան նաև սպորտային բժշկության և սպորտային ֆիզիոլոգիայի բնագավառում ՍՌՓ-ի ուսումնասիրման վերաբերյալ: Հետաքրքրական է նշել, որ 1981-1983 թթ. վարիացիոն պոլսամետրիայի մեթոդը կիրառվել է ՍՍՀՄ բարձրակարգ մարզիկների մարզումները վերահսկելու նպատակով: Կարգավորիչ համակարգերի վիճակը և ֆիզիկական բեռնվածության հանդեպ օրգանիզմի անհրաժեշտ ադապտացիան ապահովելու դրանց ունակությունը որոշիչ դեր ունեն մարզվածության կանխատեսման համար: Այդ իսկ պատճառով ՍՌՓ-ն օգտագործվում է ֆիզիկական մարզվածության կանխատեսման և գնահատման, ինչպես նաև գերմարզվածության վաղ հայտնաբերման և ֆիզիկական մարզումների գործընթացի հրատապ վերահսկման և օպտիմալացման (կարգավորման) համար [1,4,5,10-12,19,29,34,36]:

ՍՌՓ մեթոդի մասին

Ներկայումս հետազոտությունների իրականացման համար բազմաթիվ սարքավորումներ կան, որոնցից կարդիոինտերվալոգրամաների մշակման և ՍՌՓ-ի վերլուծության համար լայնորեն օգտագործվում է ռուս գիտնականների կողմից ստեղծված «Վարիկարդ» համալիրը, որը համապատասխան վերլուծող ծրագրով չափիչ սարք է: Համալիրը միկրոպրոցեսորային գործիք է, որն աշխատում է անհատական համակարգչով՝ կիրառական ծրագրային ապահովմամբ [30]: Այդ սարքավորումը 1994-2009 թթ. ստեղծվել է բժշկական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Ռ.Մ. Բանսկու՝ ՍՌՓ-ի մաթեմատիկական վերլուծության մեթոդի հիմնադիրներից մեկի անմիջական մեթոդական ղեկավարմամբ:

«Վարիկարդ» համալիրը նախատեսված է կիրառական ֆիզիոլոգիայի, պրոֆիլակտիկ բժշկության և կլինիկական պրակտիկայի տար-

բեր ոլորտներում ՍՌՓ-ի վերլուծության համար: Այն ապահովում է ՍՌՓ-ի վերլուծության բոլոր հիմնական մեթոդների՝ վիճակագրական վերլուծության, վարիացիոն պոլսամետրիայի, կորելյացիոն ռիթմագրաֆիայի, ավտոկորելյացիոն և սպեկտրալ անալիզի կիրառումը: Մեթոդը թույլ է տալիս հաշվարկել մոտ 40 տարբեր պարամետրեր (չափորոշիչներ)՝ երաշխավորված ինչպես ռուսական, այնպես էլ եվրոպական-ամերիկյան ստանդարտներով, որոնք առաջարկվել են Հյուսիս-ամերիկյան էլեկտրաֆիզիոլոգիական ընկերության և Սրտաբանների եվրոպական ընկերության կողմից [7]:

Ժամանակային հատվածում ՍՌՓ-ի անալիզը իրականացվում է վիճակագրական և երկրաչափական (վարիացիոն պոլսամետրիա, կորելյացիոն ռիթմագրաֆիա) մեթոդներով:

Կարդիոինտերվալների անալիզի *վիճակագրական* բնութագրիչները ներառում են պոլսի հաճախականությունը, ստանդարտ շեղումը, կարդիոինտերվալների ողջ զանգվածի փոփոխականության գործակիցը և մի շարք այլ ցուցանիշներ: *Վարիացիոն պոլսամետրիայի* կամ *կարդիոինտերվալագրաֆիայի* հիմքում ընկած է սրտի սինուսային ռիթմի հնարավոր փոփոխականության մաթեմատիկական վերլուծությունը՝ հիստոգրամների կառուցմամբ և մի շարք ցուցանիշների հաշվարկով, որոնցից առավել կիրառական է սրտի ռիթմի կարգավորման կենտրոնացվածության աստիճանն արտացոլող կարգավորիչ համակարգերի լարվածության ինդեքսը:

Կորելյացիոն ռիթմագրաֆիան (ԿՌԳ) կարդիոինտերվալների դինամիկ (փոփոխական) շարքի գրաֆիկական պատկերման մեթոդ է, երբ կոորդինատների ուղղանկյուն համակարգում կետերը կառուցվում են «ամպի» (սկատերոգրամմայի) տեսքով: Այս մեթոդի կարևոր առավելությունն այն է, որ թույլ է տալիս արդյունավետ ճանաչել և վերլուծել սրտի առիթմիաները: Այն ՍՌՓ-ի գնահատման առավել հաջողված երկրաչափական մեթոդ է:

Սրտի ռիթմի ավտոկորելյացիոն և սպեկտրալ անալիզը թույլ է տալիս դուրս բերել նրա ալիքային կառուցվածքը, R-R միջակայքի տևողության փոփոխության պարբերականությունը: Ավտոկորելյացիոն վերլուծությունն ուսումնասիրում է կարդիոինտերվալների դինամիկ շարքի ներքին կառուցվածքը, իսկ սպեկտրալ անալիզը նախատեսված է սրտի ռիթմի պարբերական գործընթացների քանակական գնահատման համար: Սպեկտրալ անալիզի ֆիզիոլոգիական իմաստն այն է, որ նրա միջոցով գնահատվում է սրտի ռիթմի կառավարման տարբեր մակարդակների ակտիվությունը: Ռիթմի ալիքային պարբերականությունն արտացոլում է կենտրոնական և ավտոնոմ կարգավորման հատվածի ազդեցությունը սինուսային հանգույցի վրա:

Սրտի ռիթմում առկա են երեք տիպի ալիքներ՝ շնչառական (արագ) և առաջին ու երկրորդ կարգի ոչ շնչառական (դանդաղ) ալիքներ: Շնչառական ալիքներն արագ պարբերական տատանումներ են 3-6 վ ժամանակահատվածով՝ կապված շնչառական ցիկլի ընթացքում սրտախորշերը արյունով լցվելու հետ, դրանք առաջանում են կարտոտիդային սինուսի, սիներակների և թափառող նյարդի կորիզի բարոնեցեպտորների հետ կապված ռեֆլեքսների ազդեցությամբ: Սրտային ռիթմի շնչառական պարբերականությունը արտացոլում է ավտոնոմ կարգավորման հարմարողական գործունեությունը՝ սրտի՝ որպես պոմպի աշխատանքի և արյան ներհոսքի ու արտահոսքի միջև օպտիմալ հարաբերակցություն փնտրելու նպատակով:

15-25 վ տևողությամբ առաջին կարգի ոչ շնչառական ալիքներն արտացոլում են վազոմոտորային կենտրոնների ակտիվացումը՝ անոթային համակարգի ընդհանուր հարմարողականության ապահովման նպատակով ի պատասխան արյան հարվածային և բուլետական ծավալի փոփոխությունների: LF վազոմոտորային ալիքները բնութագրում են անոթային լարվածության (տոնուսի) կարգավորման համակարգը:

25-50 վ տևողությամբ երկրորդ կարգի ալիքներն արտացոլում են կեղևային և ենթակեղևային նյարդահումորալ կառուցվածքների ակտիվացումը, որպեսզի օրգանիզմը հարմարվի կենսագործունեության փոփոխվող պայմաններին: VLF ալիքներն արտացոլում են գլխուղեղի կեղևի հոգեհուզական և գործառության վիճակները և էներգիանյութափոխանակային գործընթացների կարգավորման զգայուն ինդիկատորներ են (ցուցիչներ), շատ լավ են արտացոլում էներգադեֆիցիտ վիճակները:

ՍՌՓ-ի համակարգային գնահատումը կարող է իրականացվել ըստ կարգավորիչ համակարգերի ակտիվության ցուցանիշի (ԿՀԱՑ): Այն հաշվարկվում է միավորներով, հատուկ ալգորիթմի միջոցով, որը հաշվի է առնում վիճակագրական տվյալները, հիստոգրամմաների ցուցանիշները և կարդիոինտերվալների սպեկտրալ վերլուծության տվյալները: ԿՀԱՑ-ը թույլ է տալիս տարբերակել կարգավորիչ համակարգերի լարվածության տարբեր աստիճանները և բավականին արդյունավետ է օրգանիզմի ադապտացիոն հնարավորությունների գնահատման տեսանկյունից:

Մեթոդի տեսական և գործնական հիմունքները

Արյունամատակարարման համակարգը ամբողջական օրգանիզմի ադապտացիոն-հարմարողական գործունեության կարևորագույն ինդիկատոր է [13]: Այդ համակարգը մեծ զգայունությամբ է արձագան-

քում օրգանների պահանջների ամենաանշան փոփոխություններին՝ ապահովելով վերջիններիս ադեկվատ արյունամատակարարումը և միաժամանակ համաձայնեցնելով օրգանների այդ պահանջը ամբողջական օրգանիզմի՝ կենսաապահովման տեսանկյունից բազմաբնույթ գործունեության հեմոդինամիկ պահանջների հետ:

Ռ.Մ. Բանսկու և համահեղինակների կողմից տրվել է ստորև բերվող կարգավորման գործառական համակարգի մանրամասն բնութագիրը [15,16]:

Արյան շրջանառության կարգավորման բազմաշերտ, հիերարխիապես կազմակերպված գործառական համակարգի մեջ առանձին օղակների գերիշխող դերը որոշվում է օրգանիզմի ընթացիկ պահանջներով: Էֆերենտ սիմպաթիկ և վագուսային իմպուլսները, որոնք ուղղված են դեպի սինուսային հանգույց, համաձայնեցված են սրտի յուրաքանչյուր ցիկլի հետ, որը մոդուլացվում է կենտրոնական (օրինակ՝ վագոմոտորային և շնչառական կենտրոններով) և ծայրամասային (օրինակ՝ զարկերակային ճնշման տատանումներով և շնչառական շարժումներով) տատանումներով:

Սրտի ռիթմի կարգավորման առավել պարզ, երկբաղադրիչ մոդելը հիմնված է կիբեռնետիկական մոտեցման վրա, որի դեպքում սինուսային հանգույցի կարգավորման համակարգը կարող է ներկայացված լինել երկու փոխկապակցված շղթաների կամ մակարդակների տեսքով՝ կենտրոնական և ինքնավար ուղիղ և հակադարձ կապերով [14]:

Կարգավորման ինքնավար համակարգը պատասխանատու է սրտի ռիթմի շնչառական, իսկ կենտրոնականը՝ ոչ շնչառական պարբերականության (ցիկլերի) համար: Ընդ որում ինքնավար մակարդակի ազդեցությունը նույնականացվում է շնչառական, իսկ կենտրոնական մակարդակինը՝ ոչ շնչառական առիթմիայի հետ:

Կարգավորման ինքնավար (կամ պարասիմպաթիկ կարգավորման) մակարդակին են պատկանում հենց սինուսային հանգույցի բջիջները և պարասիմպաթիկ նյարդային համակարգը (թափառող նյարդերը և նրանց կորիզները երկարավուն ուղեղում), իսկ կենտրոնական մակարդակը կազմված է ևս երեք մակարդակներից, որոնց համապատասխանում են ուղեղի ոչ թե անատոմիական և ձևաբանական կառուցվածքները, այլ հենց որոշակի գործառական համակարգերը և կառավարման մակարդակները: Դրանք են.

1. ներհամակարգային կառավարման մակարդակը՝ սիմպաթիկ նյարդային համակարգի և երկարավուն ուղեղի վագոմոտորային կենտրոնի միջոցով:

2. Միջհամակարգային կառավարման մակարդակը (հումորալ-վեգետատիվ հոմեոստազ)՝ հիպոթալամուս-հիպոֆիզային համակարգի միջոցով:

3. Արտաքին միջավայրի հետ փոխազդեցության մակարդակը (օրգանիզմի հարմարողական գործունեությունը)՝ կենտրոնական նյարդային համակարգի (ներառյալ կարգավորման կեղևային մեխանիզմները) միջոցով:

Ստորին ինքնավար մակարդակի ակտիվության ցուցանիշ է շնչառական սինուսային առիթմիան: Ընդ որում շնչառական համակարգը դիտարկվում է որպես հակադարձ կապի մաս (տարր):

Բարձրագույն կենտրոնական մակարդակի ակտիվության ցուցանիշը ոչ շնչառական սինուսային առիթմիան է, որը բնութագրվում է սրտի ռիթմի տարբեր դանդաղ ալիքային բաղադրիչներով: Հակադարձ կապը ապահովվում է սրտի և անոթների բարոդնկալիչների, քեմոընկալիչների և այլ օրգանների ընկալչային գոտիներից եկող աֆերենտ իմպուլսների միջոցով [20]:

Այսպիսով, ՄՌՓ-ն արտացոլում է արյան շրջանառության համակարգի վրա կառավարման բազմաբնույթ համակարգերի ազդեցության մի բարդ պատկեր, իսկ սրտի ռիթմը կորեկցիայի է ենթարկվում կարգավորիչ համակարգերի միջոցով շրջակա միջավայրի և հենց օրգանիզմի վիճակի մասին ստացվող տեղեկատվության հիման վրա: Այդ մոտեցումը սկիզբ է առել պուլսային ախտորոշումից, որը ծագել է մի քանի հազար տարի առաջ Չինաստանում:

Օրգանիզմի կարգավորիչ համակարգերում ծագող շեղումները շատ ավելի վաղ են սկսվում, քան օրգանիզմի օրգանների և օրգան համակարգերի էներգիական, նյութափոխանակային, գործառական խանգարումները, առավել ևս՝ հիվանդությունը: Դրանք հիվանդության զարգացման վաղ ախտորոշման ցուցանիշներ են՝ առաջ անցնելով լաբորատոր և գործիքային ախտորոշման փոփոխություններից: Ուստի վեգետատիվ կարգավորման գնահատումը ընկած է մինչնոգոլոգիական ախտորոշման հիմքում:

Մեծ հետաքրքրություն են ներկայացնում Ն. Ի. Շլիկի հետազոտությունները, ով, կիրառելով ֆիզիոլոգիական գործառությունների վեգետատիվ կարգավորման ժամանակակից տեսությունը, ՄՌՓ-ի վերլուծության հիման վրա մշակել է երեխաների և անչափահասների սպորտային մարզումների հետ կապված խնդիրների լուծման նոր մոտեցում [35]: Օգտագործելով սրտի ռիթմի կառավարման երկբաղադրիչ մոդելի մասին պատկերացումները՝ Ն. Ի. Շլիկը առանձնացնում է վեգետատիվ կարգավորման չորս ձև՝ երկուսը կառավարման կենտրոնական մակարդակի գերակշռումով, երկուսը՝ ինքնավար մակարդակի գերա-

կշռումով (յուրաքանչյուր դեպքում չափավոր և արտահայտված գերակշռումով): Կարգավորման այդ խմբերը համապատասխանում են բոլորի կողմից ընդունված սիմպատոտոնիկ, նորմոտոնիկ և վագոտոնիկ տիպերին: Ընդ որում նորմոտոնիկ տիպը դիտարկվում է երկու՝ սիմպատո-նորմոտոնիկ (I խումբ) և վագո-նորմոտոնիկ (III խումբ) տարբերակներով: Որպես դասակարգման հիմք են ընդունվել ոչ թե վեգետատիվ (սիմպաթիկ և պարասիմպաթիկ) նյարդային համակարգի բաժինները, այլ ֆիզիոլոգիական գործառույթների վեգետատիվ կարգավորման կենտրոնական և ինքնավար մակարդակները: Այս ձևով Ն.Բ. Շլիկը ընդգծում է վեգետատիվ կարգավորման գործընթացներում միասնական կարգավորիչ մեխանիզմի բազմաթիվ օղակների մասնակցությունը, որը, ըստ ՄՌՓ-ի տվյալների, ֆիզիոլոգիական գործառույթների կարգավորման բարդ մեխանիզմի դիտարկման համակարգային մոտեցում է: Այսպիսի մոտեցումը կարևոր տեղեկատվություն է հաղորդում մարզիկների գործառույթային պաշարների, նրանց հարմարողական ունակությունների գնահատման և հաջողության կանխատեսման մասին, ինչպես նաև թույլ է տալիս բացահայտել մարզիկի օրգանիզմի հարմարողական ունակությունների խանգարումների սկզբնական նախանշանները:

Եզրակացություն

Վեգետատիվ նյարդային համակարգի սիմպաթիկ և պարասիմպաթիկ բաժինների և հումորալ ազդեցությունների սերտ սիմբիոզն ապահովում է օրգանիզմի օպտիմալ հարմարողականությունը ներքին և արտաքին միջավայրի փոփոխվող պայմաններին: Այս առումով ՄՌՓ-ն օժտված է նշանակալի պոտենցիալով՝ առողջ և սիրտ-անոթային ու այլ հիվանդություններով տառապող մարդկանց վեգետատիվ նյարդային համակարգի տատանումների դերի որոշման համար: Ընդ որում հնարավորություն է ստեղծվում գնահատելու ոչ միայն օրգանիզմի հարմարողական պատասխանի արդյունքը, այլև երևան հանելու այդ պատասխանում կարգավորիչ մեխանիզմի տարբեր մակարդակների և օղակների մասնակցությունը: ՄՌՓ-ի հետազոտությունները պետք է բարելավեն ֆիզիոլոգիական երևույթների, դեղամիջոցների ազդեցությունների և հիվանդությունների զարգացման մեխանիզմների մասին մեր պատկերացումները: Մեծաքանակ խմբերի վրա կատարվող պրոսպեկտիվ հետազոտություններն ուղղված են՝ որոշելու ՄՌՓ-ի զգայունությունը, առանձնահատուկ լինելը և ախտորոշիչ նշանակությունն այն հիվանդների համար, որոնք ունեն մահվան բարձր ռիսկ կամ այլ պաթոլոգիական վիճակ:

Սրտի ՍՌՓ-ի հետազոտությունն ունի կարևոր ախտորոշիչ և կանխորոշիչ նշանակություն տարբեր պաթոլոգիաների դեպքում, ինչպիսիք են, օրինակ՝ սիրտ-անոթային, նյարդային, շնչառական, էնդոկրին համակարգերի հիվանդությունները, հոգեհուզական և սթրեսային խանգարումները: ՍՌՓ-ի ցուցանիշների հաշվառման մեթոդը կարելի է կիրառել առողջ մարդկանց գործառական պատրաստվածության և սպորտամենների մարզվածության գնահատման, ինչպես նաև բժշկականսարքանական բնույթի տարբեր հետազոտությունների համար:

ՍՌՓ-ի տվյալների հոգեֆիզիոլոգիական ցուցանիշների վերլուծությունը հնարավորություն է տալիս գնահատելու գործունեության տարբեր, այդ թվում և մտավոր տիպերի «արժեքը», բացահայտելու մասնագիտության կամ պաշտոնի ոչ բավարար օպտիմալությունը:

ՍՌՓ-ի վերլուծության մեթոդին ծանոթացումը օգտակար կլինի ուսանողների և ասպիրանտների համար, որոնք մասնագիտանում են կենսատեխնիկական և բժշկական սարքավորումների և համակարգերի գծագրման և օգտագործման ոլորտում, ինչպես նաև կօգնի կենսաբժշկական հետազոտություններում:

ՍՌՓ-ի հետազոտության նկատմամբ հետաքրքրությունը չի մարում արդեն մի քանի տասնամյակ, և դա վկայում է այն մասին, որ այս մեթոդը թույլ է տալիս կիրառման տարբեր ոլորտներում ստանալ նոր և գործնականորեն կարևոր տեղեկատվություն:

Քանի որ գործնականում չկան այնպիսի գործառական վիճակներ կամ հիվանդություններ, որոնց չմասնակցեն վեգետատիվ կարգավորման մեխանիզմները, ապա ՍՌՓ-ի հետազոտության մեթոդի կիրառման ոլորտները գործնականում անսպառ են: Դա պայմանավորված է նրանով, որ այսօր այն, ըստ երևույթին, միակ մատչելի ոչ ինվազիվ և բավականին պարզ մեթոդն է վեգետատիվ կարգավորման գնահատման համար:

Ընդունված է 18.06.19

Особенности variability сердечного ритма

М.Р.Саргсян

В статье представлены история развития, области применения, теоретические и практические основы метода изучения и оценки variability сердечного ритма. Отмечено, что variability сердечного ритма отражает сложную картину разнообразных управляющих влияний на систему кровообращения, и ритм сердца корректируется регуляторными системами на основе информации о состоянии самого организма и окружающей среды. Variability сердечного ритма при этом обладает

значительным потенциалом для определения роли колебаний вегетативной нервной системы у здоровых и у пациентов.

При этом создается возможность оценить не только результат адаптационной реакции организма, но и выявить степень участия в этой реакции различных уровней и звеньев регуляторного механизма. Отклонения, возникающие в регуляторных системах организма, являются ранними прогностическими признаками развития патологических состояний, что повышает ценность исследования.

Features of Variability of the Heart Rhythm

M. R. Sargsyan

The article presents the history of the evolution, the areas of its application and the theoretical and practical fundamentals of research methods and the estimates of the heart rate variability. It is noted that the variability of cardiac rhythm reflects a complex picture of various controlling influences on the blood circulation system, and the heart rhythm is improved by the regulatory systems based on the information about the state of the organism itself and the environment. The cardiac rhythm variability, herewith, possesses a significant potential for determining the role of oscillatory vegetative nervous system among the healthy and unhealthy patients. Wherein, this makes it possible to estimate not only the result of the organism adaptation response, but also to identify the degree of the participation of various levels and links of the regulatory mechanism in this reaction. The deviations arising in the regulatory systems of the organism are early prognostic signs of the pathological development of the conditions which increases the value of this research.

Գրականություն

1. Մարգարյան Մ.Ռ., Աղաջանյան Մ.Գ., Ասատրյան Մ.Ռ., Մարգիկների սրտի ռիթմի վարիացիոն անալիզի մասին. 44-րդ միջազգային գիտաժողովի նյութեր, Երևան, 2018 թ., էջ 16 – 20:
2. Akselrod S., Gordon D., Ubel F.A. et al. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat to beat cardiovascular control. Science, 1981, 213: 220-2.
3. Bigger J.T., Fleiss J.L., Steinman R.C. et al. Frequency domain measures of heart period variability and mortality after miokardial infarction. Circulation, 1992, 85: 164-71].
4. D'Ascenzi F., Alvino F., Natali B.M. et al. Precompetitive assessment of heart rate variability in elite female athletes during play offs // Clin. Physiol. Funct. Imaging, 2013, vol. 34, №3. p. 230-236, 16.
5. Earnest C.P., Jurca R., Church T.S. et al. Relation between physical exertion and heart rate variability characteristics in professional cyclists during the Tour of Spain // Brit. J. Sports Med., 2004, vol. 38, №5, p. 568-575.

6. Ewing D.J., Martin C.N., Young R.J., Clarke B.F. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. *Diabetic Care*, 1985, 8: 491-8].
7. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*, 1996, Mar. 1, 93(5):1043-65].
8. Hon E.H., Lee S.T. Electronic evaluations of the fetal heart rate patterns preceding fetal death, further observations. *Am J Obstet Gynec*, 1965, 87: 814-26].
9. Kleiger R.E., Miller J.P., Bigger J.T., Moss A.J. and the Multi-center Post-Infarction Research Group. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.*, 1987, 59: 256-62.
10. Plews D.J., Laursen P.B., Kilding A.E. et al. Evaluating training adaptation with heart-rate measures: a methodological comparison // *Int J Sports Physiol Perform.*, 2013, vol. 8, №6, p. 688-91.
11. Агаджанян М.Г., Саркисян М.Р. Изучение характера вегетативной реактивности на ортостаз у спортсменов. Мат.Международ. научно-практической конф. II Европейские игры – 2019. Минск, 2019, часть 2, с. 3-5.
12. Агаджанян Н.А., Батоцуренова Т.Е., Семенов Ю.Н. Соревновательный стресс у представителей различных видов спорта по показателям variability сердечного ритма. Теория и практика физической культуры, 2006, 1, с. 2-5.
13. Баевский Р.М. Физиологические измерения в космосе и проблемы их автоматизации. М., 1970.
14. Баевский Р.М. К проблеме прогнозирования функционального состояния человека в условиях длительного космического полета. *Физиол. журнал СССР*, 1972, 6, с. 819-827.
15. Баевский Р. М. Анализ variability сердечного ритма: история и философия, теория и практика. *Клиническая информатика и телемедицина*, 2004, 1, с. 54-64.
16. Баевский Р.М., Иванов Г. Г. и др. Анализ variability сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем (метод. рекомендации). *Вестник аритмологии*, 2001, 24, с. 65–86.
17. Баевский Р.М., Кириллов О.И., Клецкин С.З. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе, М., 1984.
18. Бокерия Л. А., Бокерия О. Л., Волковская И. В. Variability сердечного ритма: методы измерения, интерпретация, клиническое использование. *Анналы аритмологии*, 2009, 4, с. 21-32.
19. Видулов А.Д., Немиров А.Д., Ларионова Е.Л. и др. Variability сердечного ритма у лиц с повышенным режимом двигательной активности и спортсменов. *Физиология человека*, 2005, т. 31, 6, с. 54-59.
20. Гаврилова Е.А. Использование variability ритма сердца в оценке успешности спортивной деятельности. *Практическая медицина*, 2015, т. 1, 3 (88), с.52-57.
21. Геворкян Э. С., Ксаджикян Н.Н. Анализ корректирующего влияния пихтового масла на психофизиологические показатели студентов в условиях экспериментального стресса. *Мед.наука Армении НАН РА*, 2018, т. LVIII, 4, с.95-104.
22. Геворкян Э. С., Минасян С.М. Адамян Ц. И. и др. Особенности регуляции ритма сердца абитуриентов при вступительных экзаменах. *Физиология человека*, 2004, т. 30, 3, с. 54-59.
23. Жемайтите Д.И. Возможности клинического применения и автоматического анализа ритмограмм. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Каунас, 1972.
24. Калакутский Л.И., Манелис Э.С. Аппаратура клинического мониторинга для отделений анестезиологии и реанимации. *Тюменский мед. журнал*, 2005, 1, с. 3-5.
25. Кулаицев А.П. Компьютерная электрофизиология и функциональная диагностика. Изд. 4-е, перераб. и доп. М., 2007, с.370-389.
26. Михайлов В.М. Variability ритма сердца. Опыт практического применения метода. Иваново, 2000.
27. Новикова Д.С., Попкова Т.В., Герасимов А.Н.и др. Взаимосвязь показателей variability ритма сердца с компонентами метаболического синдрома у жен-

- щин с ревматоидным артритом. Рациональная фармакотерапия в кардиологии, 2014, 10(1), с.18-24.
28. *Парин В.В., Баевский Р.М.* Введение в медицинскую кибернетику, М., 1966.
29. *Питкевич Ю.Э.* Вариабельность сердечного ритма у спортсменов. Гомельский государственный медицинский университет. Проблемы здоровья и экологии, 2010, т. 26, 4, с. 101-106.
30. *Семенов Ю.Н.* «Варикард 2.5.1» и программа «Эским – 6.2». Медицинская технология, 2017.
31. *Снежицкий В.А.* Методологические аспекты анализа вариабельности сердечного ритма в клинической практике. Медицинские новости, 2004, 9, с.37-43.
32. *Флейшман А.Н.* Вариабельность ритма сердца и медленные колебания гемодинамики: нелинейные феномены в клинической практике. Новосибирск, 2009.
33. *Хмельницкий И.В., Горбачев В.И.* Вариабельность ритма сердца при проведении анестезиологического пособия. Анналы аритмологии, 2016, т. 13, 2, с.96-102.
34. *Шилович Л.Л.* Перспективы диагностического применения метода анализа вариабельности сердечного ритма в спорте, 2012. Проблемы здоровья и экологии, 2012, 3 (33), с. 60-63.
35. *Шлык Н.И.* Сердечный ритм и тип регуляции у детей, подростков и спортсменов. Ижевск, 2009.
36. *Шлык Н.И., Зуфарова Э.И.* Нормативы показателей вариабельности сердечного ритма у исследуемых 16-21 года с разными преобладающими типами вегетативной регуляции. Вестник Удмуртского Университета. Биология. Науки о Земле, 2013, вып. 4, с.96-105.

Гематологические показатели в оценке радиозащитных свойств Cu и Mn хелатов Шиффовых оснований Никотинил-L-аминокислот

**Н.М. Оганесян, А.Г. Карапетян, А.М. Даллакян,
В.Д. Тоноян, Н.К. Арутюнян, Ж.Г. Петросян**

*Научный центр радиационной медицины и ожогов МЗ РА
0054, Ереван, Давидашен, п/я 25*

Ключевые слова: ионизирующая радиация, радиопротекторные соединения, выживаемость, продолжительность жизни, гематологические показатели

В современных условиях широкое использование ионизирующей радиации (ИР) в медицинских целях, масштабное развитие атомной энергетики (случаи непредвиденных ядерных аварий), недостаточный контроль за отработанными промышленными источниками радиации являются вероятными причинами опасного воздействия на жизнь и здоровье людей. Посему назрела насущная необходимость располагать безопасными и эффективными средствами защиты не только для групп повышенного риска, но и для защиты более широких слоев населения от вредного воздействия ИР. Разработка высокоэффективных нетоксичных радиопротекторов и радиовосстанавливающих агентов, удобных для широкого использования, способных обеспечить безопасность людей и защитить их здоровье в случае радиационных воздействий, является проблемой стратегического значения.

Целью работы было изучение и оценка потенциально новых радиопротекторных и радиовосстанавливающих агентов, основными компонентами которых являются Шиффовы основания – Никотинил-L-Тирозинат и Никотинил-L-Триптофанат и их Cu(II) и Mn(II) металлохелаты. Эти соединения имеют ряд преимуществ: являются недорогими, стабильными, легкими в применении, низкотоксичными и обладают пролонгированным действием.

Шиффовы основания, производные ароматических аминокислот и ароматических альдегидов, являются важным классом лигандов, металлокомплексы которых используются в получении биологически активных веществ [4,7-9]. Обзор литературы, а также собственные эксперимен-

тальные данные показывают, что многие Шиффовы основания биологически активны и проявляют, в числе других, противолучевое, противогрибковое, противомикробное, противоопухолевое, противовоспалительное, жаропонижающее действие [3,5]. Ряд исследований указывает на то, что Шиффовы основания становятся биологически более активными при комплексообразовании с металлоэлементами, в частности при образовании хелатных комплексов [6]. Поэтому исследование Cu(II)- и Mn(II)-содержащих хелатов Шиффовых оснований является перспективным подходом для разработки новых противолучевых препаратов. Предполагается, что эти комплексные соединения будут эффективны в уменьшении образования радиационно-индуцированных радикалов кислорода и в стимуляции процессов восстановления, удовлетворяя потребности облученных тканей в низкомолекулярных Cu(II) и Mn(II) хелатах, необходимых для их химической реактивности, также способствуя *de novo* синтезу металлоэлемент-зависимых ферментов для восстановления функциональной активности жизненно важных металлоэлемент-зависимых ферментов и белков с целью восстановления гемопоэтической активности и иммунокомпетентности, потерянных в результате радиационного повреждения.

Материал и методы

Исследования по изучению биологической активности соединений проводились на основе изменений в показателях крови.

Исследования по изучению противолучевых свойств хелатных соединений Cu(II)(Никотинил-L-Триптофана)₂ и Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂ проведены в опытах на белых крысах обоих полов в возрасте 6-6,5 месяцев, массой тела 180-200г. Используя различные схемы однократного профилактического введения соединений в организм, определяли показатели выживаемости и средней продолжительности жизни (СПЖ) животных в течение 30 дней после лучевого воздействия. Соединения вводили в организм подкожно из расчета 0,5 мл на 200-граммовую крысу в виде суспензионных растворов. Оценивали радиопротекторную активность металлохелатов при введении животным в дозах 20 мг/кг массы тела с использованием различных временных схем лечения: за 24, 6, 3 и 1 час до облучения.

Облучение животных проводили рентгеновскими лучами дозами 8,7Гр и 6,5Гр, на аппарате РУМ-17. В группу нормы вошли необлученные животные, не получившие соединений. В качестве контрольной группы были взяты облученные крысы, не получившие радиопротекторных комплексов (чистое облучение).

Эффективность защиты по предлагаемому способу оценивали по показателям 30-дневной выживаемости и средней продолжительности жизни облученных животных. Эффект анализировали в зависимости от

количества вещества, времени и способа его введения. Радиопротекторные свойства соединений оценивали также по показателям крови.

Данные, полученные по показателям выживаемости, обработаны с помощью статистических пакетов StatSoft и StatGraphics Plus [1,2]. Проведен регрессионный анализ данных. На основе изучения форм эмпирических линий регрессии найдены соответствующие теоретические кривые. Для этого использованы некоторые формы криволинейной зависимости процента выживаемости от времени: сплайн, полиномиальная и прямолинейная зависимость. Полученные таким образом формулы и коэффициенты дают возможность аналитического прогноза динамики изменения выживаемости, применив метод экстраполяции.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований по изучению биологической активности соединений, основными компонентами которых являются Шиффовы основания – Никотинил-L-Тирозинат и Никотинил-L-Триптофанат и их Cu(II) и Mn(II) металлохелаты, через 24 часа после введения в организм животных подкожно приведены ниже. В табл. 1 приведены данные по гематологическим показателям животных через 24 часа после однократного подкожного введения в организм соединений: $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)}_2$, $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофаната)}_2$, $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Тирозината)}_2$ и $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Триптофаната)}_2$ в дозе 20 мг/кг.

Согласно результатам анализов, при введении $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)}_2$ в дозе 20 мг/кг особых изменений в показателях крови не наблюдалось. Однако на фоне введения в организм 20 мг/кг $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофаната)}_2$ были зарегистрированы статистически достоверные изменения, проявляющиеся в сокращении времени свертываемости.

По сравнению с контрольной группой введение в организм $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Тирозината)}$ вызывало статистически достоверные изменения в количестве лейкоцитов, тромбоцитов и содержании общего белка. Отмечено уменьшение числа лейкоцитов, тромбоцитов и общего белка в плазме крови.

Согласно результатам анализов, введение животным 20 мг/кг $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Триптофаната)}_2$ вызывает статистически достоверные изменения в некоторых гематологических показателях и в содержании общего белка. Через 24 часа после инъекции $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Триптофаната)}_2$ у животных наблюдается достоверное снижение содержания общего белка и количества лейкоцитов и достоверное повышение времени свертываемости и уровня гемоглобина.

Исследования показали, что хелаты меди $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Тирозинат)}_2$ и $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофанат)}_2$ при предварительном введении в организм перед воздействием ионизирующей радиации в дозе

ЛД_{100/30} проявляют радиозащитную активность и способствуют повышению выживаемости животных (в процентах).

Таблица 1

Результаты анализа крови животных через 24 часа после подкожного введения в организм Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂, Cu(II)(Никотинил-L-Триптофаната)₂, Mn(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂ и Mn(II)(Никотинил-L-Триптофаната)₂ в дозе 20 мг/кг

Показатели	Cu(II) (Никоти- нил-L- Тиро- зинат) ₂	Cu(II) (Никоти- нил-L- Трип- тофанат) ₂	Mn(II) (Никоти- нил-L- Тирозинат) ₂	Mn(II) (Никоти- нил-L- Трипто- фанат) ₂
Эритроциты, норма: 5.38±0.37 x10 ¹² /л	5.82±0.43 n= 5	5.14±0.22 n= 5	5.86±0.37 n=5	6.12±0.37 n=5
Гемоглобин, норма: 152.3±1.5г/л	150.1±9.2 n= 5	139.7±8.4 n= 5	130.91±11.30 n=5	170.70±7.07 * n=5
Лейкоциты, норма: 15.60±0.92 x 10 ⁹ /л	15.80±0.96 n= 5	16.90±0.96 n= 5	12.00±1.23 * n=5	8.96±0.46 * n=5
Тромбоциты, норма: 508.5±11.3 x10 ⁹ /л	504.0±20.2 n= 5	496.0±7.7 n= 5	391.00±17.27 * n=5	549.00±29.75 n=5
Время свертываемос- ти крови, норма: 286.2±7.2сек	279.4±16.3 n= 5	226.0±14.4 * n= 5	295.00±12.48 n=5	326.40±9.60 * n=5
Общий белок в плазме крови, норма: 71.8±1.96 г/л	70.96±2.91 n= 5	68.5±1.2 n= 5	63.10±1.65 * n=5	64.14±1.46* n=5
Гематокрит, норма: 43.4±1.1 %	42.80±0.95 n= 5	40.0±2.7 n= 5	44.20±2.49 n=5	46.40±0.95 n=5

* Статистически достоверное (p≤0.05) изменение по сравнению с контрольной группой

Полученные в экспериментах показатели выживаемости и СПЖ животных, облученных в дозе 8.7 Гр на фоне предварительного введения в организм Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂ и Cu(II)(Никотинил-L-Триптофаната)₂, представлены в табл. 2 и на рисунке, приведенных ниже. Выживаемость чисто облученной группы составляет 0-10%, а СПЖ – 11-12 дней.

Согласно приведенным в табл. 2 и на рисунке данным по выживаемости и динамике гибели животных в 30-дневный постлучевой период, предварительное подкожное введение в организм Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂ в дозе 20 мг/кг улучшало показатели выживаемости при всех временных схемах введения, кроме схемы «за 6 часов до облучения», однако наилучший эффект был зарегистрирован при инъекции вещества за 24 часа до облучения в дозе 8.7 Гр.

На фоне предварительного подкожного введения в организм

$\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофана)}_2$ в дозе 20 мг/кг за 24 часа до облучения его радиозащитные свойства проявляются в наименьшей степени. Однако при использовании остальных временных схем инъекции вещества перед облучением (за 1, 3 и 6 часов) четко проявляется радиозащитное действие медного хелата. Наибольшей эффективности мы добились при введении за 1 час до облучения.

Таблица 2

Показатели выживаемости и СПЖ животных в течение 30-дневного периода после облучения рентгеновскими лучами в дозе 8.7 Гр, проведенного на фоне подкожного введения в организм 20 мг/кг $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)}_2$ и $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофана)}_2$ за 1,3,6,24 часа до облучения

Доза–время	Подкожное введение $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)}_2$	
	выживаемость, %	СПЖ, дни
20 мг/кг – 1 час	25	19.6
20 мг/кг – 3 часа	25	19.6
20 мг/кг – 6 часов	0	8.5
20 мг/кг – 24 часа	37.5	19.5
Подкожное введение $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофана)}_2$		
20 мг/кг – 1 час	30	16.8
20 мг/кг – 3 часа	20	15.2
20 мг/кг – 6 часов	25	14.6
20 мг/кг – 24 часа	10	14.1

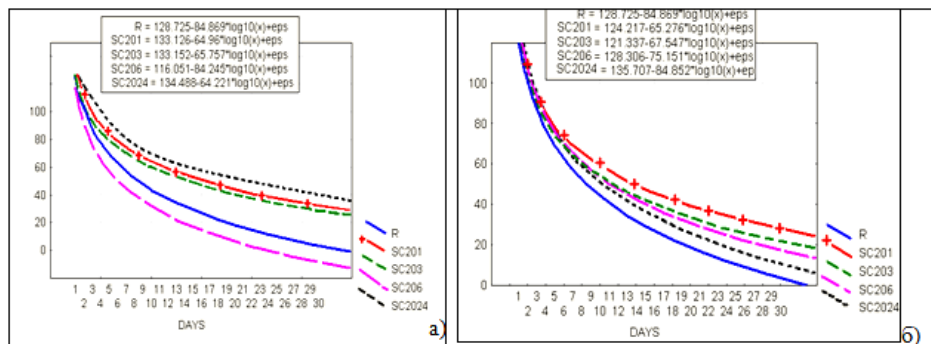


Рисунок. Логарифмические регрессионные кривые и формулы, описывающие динамику гибели животных в течение 30-дневного периода после облучения в дозе ЛД_{100/30}, осуществленного на фоне предварительного подкожного (sc) введения в организм: а) – $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)}_2$ и б) – $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофана)}_2$ в дозе 20 мг/кг за 1, 3, 6, 24 часа до облучения в дозе 8.7 Гр

Анализ показателей крови проводили на 1,7,14 и 30-е сутки после облучения и введения соединений. Установлено, что в фазу разгара в ранние сроки (7-е сутки) соединение $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофана)}_2$ смягчает поражающее действие облучения при дозе 6,5Гр, что особенно видно в доверительных сдвигах лейкоцитов, тромбоцитов и фонового

ПОЛ по сравнению с контрольными данными. Данные по времени свертываемости крови у крыс с предварительно введенным $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Тирозинат)}_2$ также достоверно разнятся от данных контрольных групп.

Радиозащитные свойства $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Триптофаната)}_2$ и $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Тирозината)}$ изучали в условиях облучения животных в дозе 6.5 Гр и предварительного введения в организм 20 мг/кг Mn(II) хелатов. На 7-е сутки после облучения анализировали показатели морфологического состава и времени свертываемости крови, гематокрита, содержания общего белка, фонового уровня ПОЛ в плазме крови. Для сравнения анализированы показатели животных, подвергнутых облучению в дозе 6.5 Гр без предварительной обработки. Полученные данные приведены в табл. 3.

Таблица 3

Показатели морфологического состава и времени свертываемости крови, гематокрита, содержания общего белка, фонового уровня ПОЛ в плазме крови животных на 7-е сутки после облучения в дозе 6.5 Гр

Показатели	6.5 Гр	$\text{Cu(II)(Никотинил-L-Тирозинат)}_2$ + 6.5 Гр	$\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофанат)}_2$ + 6.5 Гр	$\text{Mn(II)(Никотинил-L-Триптофанат)}_2$ + 6.5 Гр	$\text{Mn(II)(Никотинил-L-Тирозинат)}_2$ + 6.5 Гр
Время свертываемости крови, норма: 307.00±9.15 (сек)	333.00±5.35 P<0.05	460.0±48.0 P<0.02 P ₁ <0.02	335.0±17.3 P>0.05 P ₁ >0.05	256.00±20.54 P>0.05 P ₁ <0.05	315.00±16.99 P>0.05 P ₁ <0.05
Лейкоциты, норма: 8.48±0.50 x 10 ⁹ /л	2.76±0.27 P<0.001	3.20±0.23 P<0.001 P ₁ >0.05	4.56±0.19 P<0.001 P ₁ <0.001	3.08±0.42 P<0.001 P ₁ >0.05	6.20±1.07 P<0.05 P ₁ <0.01
Тромбоциты, норма: 483.00±34.55 x 10 ⁹ /л	183.00±7.68 P<0.001	207.0±10.5 P<0.001 P ₁ >0.05	303.0±24.9 P<0.01 P ₁ <0.01	219.40±7.68 P<0.001 P ₁ <0.002	233.30±23.13 P<0.001 P ₁ >0.1
Эритроциты, норма: 5.58±0.72 x 10 ¹² /л	5.17±0.05 P>0.05	5.11±0.32 P>0.05 P ₁ >0.05	5.76±0.58 P>0.05 P ₁ >0.05	5.13±0.25 P>0.05 P ₁ >0.5	4.23±0.10 P>0.05 P ₁ <0.001
Гемоглобин, норма: 163.30±7.07 г/л	116.90±6.90 P<0.001	97.8±5.7 P<0.001 P ₁ >0.05	117.7±3.9 P<0.001 P ₁ >0.05	136.10±1.79 P<0.01 P ₁ <0.05	127.50±11.0 P<0.01 P ₁ >0.05
Гематокрит, норма: 53.20±1.34 %	38.50±4.12 P<0.05	37.60±2.88 P<0.002 P ₁ >0.05	39.80±1.92 P<0.001 P ₁ >0.05	45.00±0.95 P<0.001 P ₁ >0.1	41.30±2.70 P>0.05 P ₁ >0.05
Общий белок в плазме крови, норма: 61.20±3.24 г/л	63.40±4.66 P>0.05	62.60±0.92 P>0.05 P ₁ >0.05	68.60±3.91 P>0.05 P ₁ >0.05	58.20±0.97 P>0.05 P ₁ >0.05	60.30±5.90 P>0.05 P ₁ >0.05
Фоновый ПОЛ, норма: 1.42±0.12 нмоль МДА/мл плазмы	1.09±0.19 P<0.05	1.38±0.06 P>0.05 P ₁ >0.05	1.62±0.12 P>0.05 P ₁ <0.05	1.80±0.10 P<0.05 P ₁ <0.01	1.37±0.21 P>0.05 P ₁ >0.25

Примечание. p – статистически достоверное изменение в сравнении с нормой; p₁ – статистически достоверное изменение в сравнении с облученными в дозе 6.5 Гр

Согласно полученным данным, на 7-е сутки после облучения в дозе 6.5 Гр в исследуемых показателях животных обеих групп (которым были введены соединения $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Тирозинат)}_2$ и $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Триптофанат)}_2$) в сравнении с нормой были отмечены существенные изменения. Однако радиационно-индуцированные нарушения были значительно сильнее выражены в контрольной (только облученные) группе животных без предварительной обработки. Так, у крыс, подвергнутых только облучению без предварительной обработки, было зарегистрировано резкое уменьшение лейкоцитов, тромбоцитов, гематокрита, уровня гемоглобина, фоновой активности ПОЛ, причем эти изменения были статистически достоверны не только в сравнении с нормой, но и с группой с профилактическим введением Mn(II) хелатов.

Таким образом, исследуя биологическую активность Шиффовых оснований с металлохелатами Cu(II) в дозе 20мг/кг, в показателях крови особых изменений не было отмечено. Только в случае с $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофанат)}_2$ наблюдалось достоверное сокращение времени свертываемости. В соединениях, где присутствовали Mn хелаты, биологическая активность проявлялась в большей степени – наблюдались достоверные изменения числа лейкоцитов и общего белка в плазме крови.

При исследовании динамики выживаемости животных после облучения в дозе 8,7Гр и предварительного введения Шиффовых оснований с металлохелатами Cu(II) и Mn(II) в дозе 20мг/кг была обнаружена наибольшая выживаемость – 37,5% (при введении Тирозината за 24 часа до облучения) и 30% (при введении Триптофаната за 1 час до облучения).

Согласно полученным данным, на 7-е сутки после облучения в дозе 6.5 Гр в исследуемых показателях животных обеих групп (которым были введены соединения $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Тирозинат)}_2$ и $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Триптофанат)}_2$) в сравнении с нормой были отмечены существенные изменения. Однако радиационно-индуцированные нарушения были значительно сильнее выражены в контрольной группе животных после введения соединений.

На 7-е сутки соединение $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофаната)}_2$ смягчает поражающее действие облучения при дозе 6,5Гр, что особенно видно в доверительных сдвигах лейкоцитов, тромбоцитов и фонового ПОЛ по сравнению с контрольными данными. Данные по времени свертываемости крови у крыс с предварительно введенным $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Тирозинатом)}_2$ также достоверно разнятся от данных контрольных групп. Все эти предварительные результаты говорят о наличии радиозащитных свойств изучаемых соединений, что делает необходимым дальнейшее более углубленное изучение свойств вышеперечисленных соединений.

Поступила 10.07.19

Արյունաբանական ցուցանիշները Նիկոտինիլ-L-ամինաթթուների Շիֆային հիմքերի Cu և Mn խելատների ճառագայթապաշտպանիչ հատկությունների գնահատման գործում

**Ն.Մ. Հովհաննիսյան, Ա.Գ. Կարապետյան, Ա.Մ. Դավլաթյան,
Վ.Զ. Տոնոյան, Ն.Կ. Հարությունյան, Ժ.Հ. Պետրոսյան**

Աշխատանքի նպատակն է պոտենցիալ նոր ճառագայթապաշտպանիչ և ճառագայթավերականգնող բաղկացուցչի գնահատումը, որի բաղադրամասն են կազմում Նիկոտինիլ-L- ամինաթթուների Շիֆային հիմքերի Cu և Mn խելատները:

Ուսումնասիրելով Cu(II) Շիֆային հիմքերի կենսաբանական ակտիվությունը՝ 20մգ/կգ դոզայով ներարկված կենդանիների մոտ նկատելի փոփոխություններ չեն հայտնաբերվել: Միայն Cu(II) (Նիկոտինիլ-L-Տրիպտոֆանատ)₂ – ի դեպքում նկատվեց արյան մակարդեղիության ժամանակի կրճատում: Այն միացություններում, որոնցում առկա են Mn խելատները, կենսաբանական ակտիվությունն առավել է դրսևորվում. նկատվում են լեյկոցիտների, ընդհանուր սպիտակուցների մակարդակների ակնհայտ փոփոխություններ:

8.7Գր դոզայով ճառագայթման և նախօրոք՝ 20մգ/կգ դոզայով Cu(II) և Mn(II) խելատներով Շիֆային հիմքերի ներարկման դեպքում կենդանիների ապրելունակության դինամիկայի հետազոտման ժամանակ հայտնաբերվել է առավելագույն ապրելունակությունը՝ 37,5% (24 ժամ մինչև ճառագայթումը Տիրոզինատի ներարկման դեպքում) և 30% (1 ժամ մինչև ճառագայթումը Տրիպտոֆանատի ներարկման դեպքում):

Համաձայն ստացված տվյալների՝ 6.5 Գր ճառագայթահարումից Mn(II)(Նիկոտինիլ-L-Տիրոզինատ)₂ և Mn(II)(Նիկոտինիլ-L-Տրիպտոֆանատ)₂ ներարկումից 7 օր անց կենդանիների 2 խմբի ցուցանիշներում էլ նկատվում էին զգալի փոփոխություններ: Սակայն ճառագայթումով պայմանավորված խանգարումներն առավել նկատելի են ստուգիչ խմբում:

Cu(II)(Նիկոտինիլ-L-Տրիպտոֆանատ)₂ միացությունը 6.5Գր ճառագայթահարման 7-րդ օրը մեղմում է վնասող ազդեցությունը, ինչը նկատելի է լեյկոցիտների, թրոմբոցիտների և ֆոնային լիպիդային պերօքսիդացման մակարդակների վրա ստուգիչ խմբերի համեմատ:

Cu(II)(Նիկոտինիլ-L-Տիրոզինատով)₂ նախօրոք ներարկված առնետների արյան մակարդեղիության ժամանակի ցուցանիշները նույնպես ակնհայտորեն տարբերվում են ստուգիչ խմբերի տվյալներից: Այդ բոլոր նախնական արդյունքները վկայում են հետազոտվող միա-

ցությունների ռադիոպաշտպանիչ հատկությունների մասին, ինչը անհրաժեշտ է դարձնում վերը նշված միացությունների հատկությունների հետազոտ ուսումնասիրությունը:

Hematological Indicators for Evaluation the Radioprotective Properties of Cu and Mn of Schiff's Bases Chelates of Nicotinyl-L-amino Acid Aculons

N.M. Hovhannisyan, A.G. Karapetyan, A.M. Dallakyan, V.J. Tonoyan, N.K. Harutyunyan, J.H. Petrosyan

The aim of the work was to study and evaluate potential new radioprotective and radioreducing agents, the main components of which are Nicotinyl-L-Tyrosinate and Schiff bases and Nicotinyl-L-Tryptophanate and their Cu (II) and Mn (II) metal chelates.

Investigating the biological activity of Schiff bases with Cu (II) metal chelates at a dose of 20 mg/kg in blood parameters, no significant changes were noted. Only in the case of Cu (II) (Nicotinyl-L-Tryptophanate)₂ there was a significant reduction in clotting time. In the compounds where Mn - chelates were present, the biological activity was manifested to a greater degree - significant changes in the number of leukocytes and total protein in the blood plasma were observed.

In the study of the dynamics of survival of animals after irradiation at a dose of 8.7Gy and prior administration of Schiff bases with metal chelates Cu (II) and Mn (II) at a dose of 20 mg/kg, the highest survival rate of 37.5% was found (upon administration of Tyrosinate 24 hours before irradiation) and 30% (with the introduction of Tryptophanate 1 hour before irradiation).

According to the data obtained, on the 7th day after irradiation at a dose of 6.5 Gy in the studied parameters of animals of both groups (which were administered the compounds Mn (II) (Nicotinyl-L-Tyrosine)₂ and Mn (II) (Nicotinyl-L-Tryptophanate)₂) in comparison with the norm, significant changes were noted. However, radiation-induced disorders were significantly more pronounced in the control group of animals after administration of the compounds.

On the 7th day, the Cu (II) compound (Nicotinyl-L-Tryptophanate)₂ alleviates the damaging effect of irradiation at a dose of 6.5Gy which is especially evident in confidence shifts of leukocytes, platelets and background POLO compared with the "control" data. Data on blood clotting time in rats with pre-administered Cu (II) (Nicotinyl-L-Tyrosinate)₂ also significantly differed from these control groups. All these preliminary results indicate the presence of the radioprotective properties of the compounds under study which makes it necessary to further more in-depth study of the properties of the compounds listed above.

Литература

1. Буреева Н.Н. Многомерный статистический анализ с использованием ППП STATISTICA, Нижний Новгород, 2007.
2. Вукотов Э.А. Основы статистического анализа. Практикум по статистическим методам и исследованию операций с использованием пакетов STATISTICA и EXCEL, М., 2008.
3. Baluja S., Solanki A., Kachhadia N. Journal of the Iranian Chemical Society, 2006, v.3, No. 4, p.312-317, 20-26.
4. Cimerman, Z., Miljanic S., Galic N. CROATICA Chemica Acta., 2000, 73: 81.
5. Malakyan M.H., et al. Proceedings of Conf. "Delayed Consequences of Ionizing Irradiation", 2007, p.243-244.
6. Rajavel R., Senthil Vandivu M., Anitha. C.E. Journal of Chemistry, 2008, v.5, No.3, p.620-626.
7. Sari N., S. Arslan E. Logoglu L. Sakiyan. Journal of Science, 2003, 16(2): 283-288.
8. Shalin Kumar, Durga Nath Dhar, P N Saxena. Journal of Scientific & Industrial Research. 2009, v.68, p.181-187.
9. Spinu C., Kriza A. Acta Chim Slov., 2000, 47: 179.

УДК 612.014

**Цитогенетическая оценка радиозащитных свойств
Cu и Mn хелатов Шиффовых оснований
Никотинил-L-аминокислот**

А.Г. Карапетян, А.М. Даллакян, В.Д. Тоноян

*Научный центр радиационной медицины и ожогов МЗ РА
0054, Ереван, Давидашен, п/я 25*

Ключевые слова: ионизирующая радиация, радиопротекторные соединения, выживаемость, продолжительность жизни, цитогенетические показатели

В XXI веке источники ионизирующих излучений широко представлены во всех сферах человеческой деятельности, что резко повышает вероятность поражения людей факторами радиационной природы. В связи с этим одной из многих задач, стоящих перед радиационной медициной и радиационной безопасностью, является поиск высокоэффективных и нетоксичных радиопротекторов, удобных для применения.

Целью данной работы является изучение и оценка потенциально новых радиопротекторных и радиовосстанавливающих агентов, основными компонентами которых являются Шиффовы основания – Никотинил-L-Тирозинат и Никотинил- L-Триптофанат и их Cu(II) и Mn(II) металлохелаты. Эти соединения низкотоксичны и обладают пролонгированным действием.

Шиффовы основания, производные ароматических аминокислот и ароматических альдегидов, являются важным классом лигандов, металлокомплексы которых используются в получении биологически активных веществ [5,7-9], обладающих противолучевым, антимикробным, противовоспалительным и др. свойствами. Ряд исследований указывает на то, что Шиффовы основания становятся биологически более активными при комплексообразовании с металлоэлементами, в частности при образовании хелатных комплексов [6].

Установлено, что под влиянием различных факторов внешней среды (химических, физических, стрессорных) возникают структурные изменения хромосомного аппарата. Повреждение генетического аппарата клетки является индикатором воздействия на организм и ионизирующей радиации (ИР) до того, как разовьются другие патологические процессы: физиологические, биохимические, иммунологические, морфологические.

Изучение структурных изменений в хромосомном аппарате культивированных лимфоцитов крови человека на основе анализа частоты aberrаций хромосом нестабильного типа является общепринятым методом биомониторинга и оценки цитогенетической активности новых соединений. Основными преимуществами данного метода являются высокая чувствительность и низкий спонтанный уровень aberrаций хромосом, позволяющие изучать закономерности лучевых повреждений и цитогенетические эффекты новосинтезированных соединений [10,11].

Материал и методы

С целью изучения мутагенной и радиопротекторной активности новосинтезированных металлокомплексов $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)}_2$, $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофаната)}_2$, $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Триптофаната)}_2$ и $\text{Mn(II)(Никотинил-L-Тирозината)}_2$ и соответствующих им Шиффовых оснований – Никотинил-L-Тирозината и Никотинил-L-Триптофаната, проведены исследования в условиях *in vivo* (клетки костного мозга белых крыс) как при чистом введении в организм, так и за 24 часа до облучения в дозе 4,8Гр.

Лимфоциты периферической крови в наших исследованиях являются тест-объектом при радиационно-индуцированных повреждениях кариотипа. Эти повреждения бывают либо в виде нарушения непрерывности, т.е. фрагментации хромосом, либо в виде перекомбинаций их участков (обменов). Все разнообразие хромосомных aberrаций сводится к нарушению их морфологии, что и исследуется в культуре соматических клеток – лимфоцитов периферической крови (рекомендация МАГАТЭ) [3,4], с некоторыми модификациями, принятыми в нашей лаборатории. Учитывались такие цитогенетические параметры, как частота хромосомных aberrаций (ХрА), пролиферативная активность (ПА) лимфоцитов и пloidность клетки (4n).

Радиопротекторную и радиовосстанавливающую активность изучаемых металлокомплексов исследовали *in vivo* в опытах на животных, определяя показатели выживаемости и средней продолжительности жизни (СПЖ) белых беспородных крыс массой 180-200 г в течение 30 дней после облучения рентгеновскими лучами в дозе 4,8Гр на аппарате РУМ-17, осуществленного на фоне предварительного подкожного введения в организм растворов металлохелатов в дозе 10, 20 и 40 мг/кг массы тела. Эти исследования проведены с использованием различных временных схем лечения за 24, 6, 3 и 1 час до облучения (контролем служили животные, облученные в дозе 4,8 Гр).

Статистическая обработка цифрового материала проведена с помощью ряда компьютерных программ, с использованием электронной

таблицы Microsoft Excel и специализированных статистических пакетов StatSoft, SPSS и StatGraphics Plus [1,2].

Результаты и обсуждение

Токсичность металлокомплексов определяли на основе цитогенетического скрининга.

В табл. 1 приведены цитогенетические показатели животных через 24 часа после введения в организм 10 мг/кг Cu(II) и Mn(II) хелатов. Из приведенной таблицы видно, что при введении в организм животных Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂ через 24 часа имело место двукратное повышение частоты хромосомных aberrаций (ХА) и увеличение числа полиплоидных клеток (ПК), что может свидетельствовать о наличии некоторых мутагенных свойств у данного металлокомплекса.

В отличие от Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂, через 24 часа после введения в организм животных другого хелата меди – Cu(II)(Никотинил-L-Триптофаната)₂, существенных изменений в цитогенетических показателях не наблюдалось.

На фоне введения животным Mn(II)(Никотинил-L-Триптофаната)₂ было зарегистрировано 2,8-кратное уменьшение пролиферативной активности ККМ и почти 3-кратное повышение уровня хромосомных aberrаций, что указывает на наличие определенных мутагенных свойств у этого Mn(II) комплекса.

Таблица 1

Цитогенетические показатели интактных животных (норма) и животных через 24 часа после введения в организм 10 мг/кг Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂; 10 мг/кг Cu(II)(Никотинил-L-Триптофаната)₂, 10 мг/кг Mn(II)(Никотинил-L-Триптофаната)₂, 10 мг/кг Mn(II) (Никотинил-L-Тирозината)

Группы исследования	Показатели		
	ПА	4n	ХрА
Норма	558,00	0,15	5,74
Cu(II)(Никотинил-L-Тирозинат) ₂	452,33	1,03	12,36
Cu(II)(Никотинил-L-Триптофанат) ₂	618,00	0,16	6,00
Mn(II)(Никотинил-L-Триптофанат) ₂	202,0	0,24	15,00
Mn(II)(Никотинил-L-Тирозинат)	219,0	1,12	3,00

Согласно данным табл. 1, в условиях введения животным $Mn(II)$ (Никотинил-L-Тирозината)₂ в дозе 10 мг/кг наблюдалось существенное снижение ПА ККМ крыс, однако при этом уровень ХрА не повышался.

На рисунке представлены кривые динамики гибели животных в течение 30 дней после воздействия ИР на организм в дозе 4,8 Гр, получивших перед облучением 20 мг/кг $Cu(II)$ (Никотинил-L-Тирозинат)₂ или 20 мг/кг $Cu(II)$ (Никотинил-L-Триптофанат)₂.

На рисунке представлены также логарифмические регрессионные кривые, описывающие выживаемость животных, подвергшихся облучению на фоне подкожного (sc) введения в организм $Cu(II)$ (Никотинил-L-Тирозината)₂ за 1 и 3 часа (а) и $Cu(II)$ (Никотинил-L-Триптофаната)₂ за 1,3 и 6 часов (б) до облучения в дозе 4,8 Гр в сравнении с контрольно облученными животными. Согласно кривым, при введении за 3 часа до облучения металлокомплекса $Cu(II)$ (Никотинил-L-Тирозината)₂ наблюдается наилучший результат (все животные были живы до конца эксперимента). В случае введения $Cu(II)$ (Никотинил-L-Триптофаната)₂, максимальное количество выживших животных было зафиксировано при введении за 6 часов до облучения.

Приведенные на рисунке кривые динамики гибели облученных животных четко показывают эффективность $Cu(II)$ (Никотинил-L-Тирозината)₂ и $Cu(II)$ (Никотинил-L-Триптофаната)₂ как радиопротекторов при условии предварительного введения в организм перед облучением в дозе 4,8 Гр.

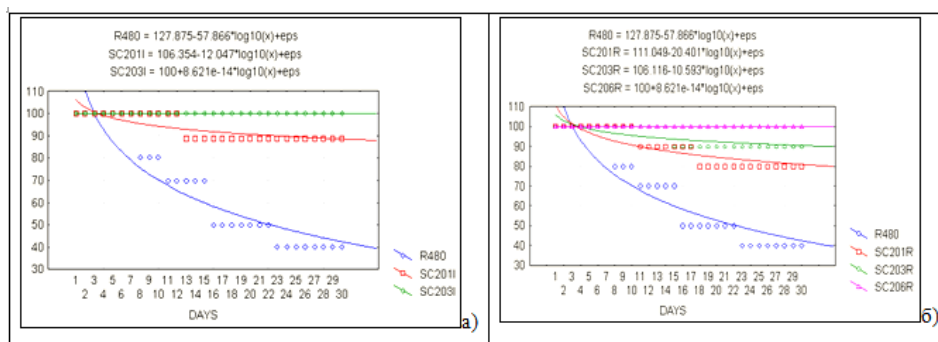


Рисунок. Логарифмические регрессионные кривые, описывающие выживаемость животных, подвергшихся облучению на фоне подкожного (sc) введения в организм $Cu(II)$ (Никотинил-L-Тирозината)₂ за 1 и 3 часа до облучения в дозе 4,8 Гр (сравнение с контрольно облученными животными).

В табл. 2 приведены цитогенетические показатели животных через 24 часа после облучения в дозе 4,8 Гр, осуществленного на фоне профилактического введения в организм 10 мг/кг $Cu(II)$ (Никотинил-L-Тирозината)₂ и $Cu(II)$ (Никотинил-L-Триптофаната)₂.

Таблица 2

Цитогенетические показатели животных через 24 часа после облучения в дозе 4,8 Гр, осуществленного на фоне профилактического введения в организм 10 мг/кг Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂ и Cu(II)(Никотинил-L-Триптофаната)₂.

Группы исследования	Эффект веществ на фоне облучения. Контроль — облученные в дозе 4,8 Гр животные без лечения		
	ПА	4п	ХрА
Контроль	59.0	1.24	43.5
Cu(II)(Никотинил-L-Тирозинат) ₂	88.00	2.72	34.0
Cu(II)(Никотинил-L-Триптофанат) ₂	253.0	0.59	23.1

Согласно полученным данным, через 24 часа после облучения на фоне введения в организм Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂ увеличивается число полиплоидных клеток, что может свидетельствовать о мутагенной активности и об отсутствии хроматинзащитного действия указанного металлокомплекса.

В отличие от Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂, другой хелат меди – Cu(II)(Никотинил-L-Триптофанат)₂ в дозе 10 мг/кг в условиях лучевого воздействия оказывает хроматинзащитный эффект. В последнем случае зарегистрировано 4-кратное увеличение пролиферативной активности клеток костного мозга и 2-кратное снижение частоты хромосомных аберраций по сравнению с показателями контрольно облученных животных.

Таким образом, при определении токсичности металлокомплексов на основе цитогенетического скрининга было обнаружено, что при введении животным Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂, Mn(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂ и Mn(II)(Никотинил-L-Триптофаната)₂ в дозе 10мг/кг через 24 часа после введения в организм наблюдаются изменение частоты ХА, пролиферативной активности, что может свидетельствовать о наличии некоторых мутагенных свойств. Только введение Cu(II)(Никотинил-L-Триптофаната)₂ не привело к существенным изменениям цитогенетических показателей.

Полученные нами кривые динамики выживаемости облученных животных четко показывают эффективность Cu(II)(Никотинил-L-Тирозината)₂ (при введении за 3 часа до облучения в дозе 20мг/кг) и Cu(II)(Никотинил-L-Триптофаната)₂ (при введении за 6 часов до облучения в дозе 20мг/кг), как радиопротекторов при условии предварительного введения в организм перед облучением в дозе 4,8 Гр.

Согласно полученным данным, через 24 часа после облучения на фоне введения в организм хелата меди – $\text{Cu(II)(Никотинил-L-Триптофана)}_2$ в дозе 10 мг/кг в условиях лучевого воздействия в 4,8Гр проявляется хроматинзащитный эффект, что является свидетельством радио-защитного свойства. Исследования будут продолжены.

Поступила 10.07.19

Նիկոտինիլ-L-ամինաթթուների Շիֆային հիմքերի Cu և Mn խելատների ճառագայթապաշտպանիչ հատկությունների բջջազենետիկական գնահատումը

Ա.Գ. Կարապետյան, Ա.Մ. Դավաթյան, Վ.Զ. Տոնոյան

Այս աշխատանքի նպատակն է ուսումնասիրել և գնահատել պոտենցիալ նոր ռադիոպաշտպանիչ նյութեր, որոնց հիմնական բաղադրիչներն են Nicotinyл-L-Tyrosinate; Nicotinyл-L-Tryptophanate Շիֆային հիմքերը և նրանց Cu(II) և Mn(II) մետաղական խելատները: Այս միացություններն օժտված են ցածր թունաբանական հատկություններով և երկարատև ազդեցության հնարավորությամբ:

Թունաբանական հատկությունները ըստ բջջազենետիկական ցուցանիշների որոշելիս պարզեցինք, որ $\text{Cu(II)(Nicotinyл-L-Tyrosinate)}_2$, $\text{Mn(II)(Nicotinyл-L-Tyrosinate)}_2$ և $\text{Mn(II)(Nicotinyл-L-Tryptophanate)}_2$ 10 մգ/կգ դոզայով ներարկելուց հետո՝ 24 ժամ անց, առկա է քրոմոսոմային արերացիաների հաճախականության փոփոխություն, որը կարող է որոշ թունաբանական հատկությունների ցուցանիշ հանդիսանալ: Միայն $\text{Cu(II)(Nicotinyл-L-Tryptophanate)}_2$ -ի ներարկումը չի հանգեցրել բջջազենետիկական ցուցանիշների զգալի փոփոխությունների:

Ապրելունակության կորերի շնորհիվ ստացանք, որ $\text{Cu(II)(Nicotinyл-L-Tyrosinate)}_2$ (20 մգ/կգ դոզայով, 3 ժամ ներարկումից առաջ) և $\text{Cu(II)(Nicotinyл-L-Tryptophanate)}_2$ (20 մգ/կգ դոզայով, 6 ժամ ներարկումից առաջ) ցուցաբերում են ճառագայթապաշտպանիչ հատկություններ նախապես օրգանիզմ ներարկման դեպքում 4,8Գր ճառագայթումից առաջ:

Ստացված տվյալների համաձայն՝ 4,8 Գր-ի ճառագայթահարման և 10 մգ/կգ դոզայով պղնձի խելատի $\text{Cu(II)(Nicotinyл-L-Tryptophanate)}_2$ ներարկման պայմաններում 24 ժամ հետո հայտնաբերվել է քրոմատին-պաշտպանողական ազդեցությունը, ինչը վկայում է ռադիոակտիվ հատկությունների առկայության մասին: Հետազոտությունները կշարունակվեն:

Cytogenetic Evaluation of the Radioprotective Properties of Cu and Mn Schiff's Bases Chelates of Nicotiny-L-Amino Acids

A.G. Karapetyan, A.M. Dallakyan, V.J. Tonoyan

The purpose of this work is to study and evaluate potential new radioprotective and radiovusting agents, the main components of which are the Nicotiny-L-Tyrosinate and Schiff bases and Nicotiny-L-Tryptophanate and their Cu(II) and Mn(II) metal chelates. These compounds are low toxic and have a prolonged action.

When determining the toxicity of metal complexes on the basis of cytogenetic screening, it was found that when Cu(II)(Nicotiny-L-Tyrosinate)₂, Mn(II)(Nicotiny-L-Tyrosinate)₂ and Mn(II) were introduced into animals (Nicotiny-L-Tryptophanate)₂ at a dose of 10mg/kg 24 hours after the introduction into the body, there is a change in the frequency of CA, proliferative activity, which may indicate the presence of some mutagenic properties. Only the introduction of Cu(II)(Nicotiny-L-Tryptophanate)₂ did not lead to significant changes in cytogenetic parameters.

The survival curves obtained by us for irradiated animals clearly show the effectiveness of Cu(II)(Nicotiny-L-Tyrosinate)₂ (when administered 3 hours before irradiation at a dose of 20 mg/kg) and Cu(II)(Nicotiny-L-Tryptophanate)₂ (when administered 6 hours before irradiation at a dose of 20 mg/kg) as radioprotectors provided that it was first introduced into the body before irradiation at a dose of 4.8 Gy.

According to the data obtained, 24 hours after irradiation with the introduction of copper chelate - Cu(II)(Nicotiny-L-Tryptophanate)₂ into the body at a dose of 10 mg/kg under radiation conditions of 4.8 Gy, the chromatin-protective effect is manifested, which is evidence of radioprotective properties. Research will be continued.

Литература

1. Буреева Н.Н. Многомерный статистический анализ с использованием ППП STATISTICA, Нижний Новгород, 2007.
2. Вукотов Э.А. Основы статистического анализа. Практикум по статистическим методам и исследованию операций с использованием пакетов STATISTICA и EXCEL, М., 2008.
3. Захаров А.Ф. и др. Хромосомы человека, М., 1982.
4. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment: Amanual. Vienna, 2001, Tech. Report Ser, N405, p.126.
5. Cimerman Z., Miljanic S., Galic N. CROATICA Chemica Acta., 73: 81, 2000.
6. Rajavel R., Senthil M. Vandivu, Anitha. C. E. Journal of Chemistry, 2008, v.5, No.3, p.620-626.
7. Sari N., Arslan S., Logoglu E., Sakiyan L. Journal of Science, 2003, 16(2): p.283-288.
8. Shalin Kumar, Durga Nath Dhar, Saxena P.N. Journal of Scientific & Industrial Research. 2009, v.68, p.181-187.
9. Spinu C., Kriza A. Acta Chim Slov., 2000, 47: 179.
10. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, 1988.
11. WHO, International Atomic Energy Agency, 2001.

УДК 547.262; 612.82

Синаптические процессы в нейронах гиппокампа, активированных энторинальной корой, на модели этанольной интоксикации с протекцией таурином

**М.А. Даниелян, В.П. Хачатрян, К.В. Карапетян,
М.В. Погосян, Дж.С. Саркисян**

*Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22*

Ключевые слова: одиночная спайковая активность, этанольная интоксикация, гиппокамп, энторинальная кора, таурин

Большинство хронически принимающих алкоголь страдает значительными когнитивными нарушениями, снижением внимания, приобретенной и рабочей памяти и потерей объема правого гиппокампа (Г) [15]. Хроническая алкогольная интоксикация вызывает кумулятивное повреждение тканей и органов. В частности, у алкоголиков выявлена редукция уровней цитоскелета вокруг ядер префронтальных корковых нейронов, протеасомной активности и потеря цитозольных α - и β -тубулинов в Г, хвостом ядре и мозжечке [5]. На мышинной модели алкоголизма в Г описано внутриядерное структурное переустройство хроматина [18].

Как известно, нервные стволовые клетки пролиферируют на протяжении всей жизни, формируя нейроны, астроциты и олигодендриты. Зубчатая извилина – одна из нейрогенных областей зрелого мозга, на которой впервые показано этаноловое снижение нейрогенеза [12]. У подверженных алкогольной интоксикацией мышей выявили нарушение многих шагов нейрогенеза, включая выработку и развитие новых нейронов. Показано, что злоупотребление алкоголем вызывает истощение стволовых клеток, а незрелые нейроны аффецируются вторично [8]. Чрезмерное потребление алкоголя ассоциируется с деформированной экспрессией генов, кодирующих глутаматные рецепторы в мозге [7]. Пренатальная обработка этанолом также изменяет глиальные глутаматные транспортеры [2]. Хроническое потребление алкоголя ведет к уменьшению белого вещества, потере олигодендроцитов, других глиальных клеток, торможению нейрогенеза в Г и обеднению олигодендроцитного миелина гликопротеина [13]. Выдвинута гипотеза, что сопутствующая этому демиелинизация содействует когнитивному дефициту при этанольном отравлении [13].

Подкреплено вовлечение ГАМКергической системы в алкоголизм

[4]. Развитие алкогольной зависимости ассоциируется с тремя мозговыми областями (Г, орбитофронтальной и префронтальной корой), в которых исследовали mRNA экспрессию субъединиц генов ГАМК(A), что повышает роль ГАМК(A) каналов в развитии алкогольной зависимости [6]. У крыс после острой и хронической интоксикации этанолом оценивалась экспрессия ионотропных ГАМК(A) рецепторов, кодирующих индивидуальные субъединицы [14]. Определены 24 дифференциально экспрессированных гена, которые могут играть роль в риске алкоголизма, и показана активация путей, ведущих к воспалению, гипоксии или стрессу и снижению таковых, играющих роль в нейрогенезе и миелинизации [11]. Однако точный субстрат хронической алкогольной подверженности, ведущий к структурным и функциональным нарушениям Г, во многом неизвестен, а уникальная клеточная композиция Г и когнитивные нарушения выделяются в контексте алкогольной зависимости [19]. Выдвинута гипотеза, что алкоголь редуцирует количество гранулярных клеток в человеческой зубчатой извилине и поэтому имеет вклад в наблюдаемую потерю объема Г[3]. Механизм снижения нейрогенеза в Г вследствие злоупотребления алкоголем остается полностью нераскрытым, и точные механизмы, лежащие в основе алкоголизма, продолжают оставаться неясными [17].

В настоящем исследовании предпринято изучение соотношения тетанических возбудительных и депрессорных постстимульных проявлений активности одиночных нейронов Г на высокочастотную стимуляцию (ВЧС) энторинальной коры (ЭК) мозга в условиях хронической этаноловой интоксикации, в сравнении с нормой, контролем без протекции и с протекцией таурином, с целью исключения эксайтотоксичности, свидетельствующей о его нейродегенеративном поражении и восстановлении исходного соотношения углублением депрессорных реакций.

Материал и методы

Проведены электрофизиологические исследования на 6 крысах линии Альбино (230 ± 30 г): интактных ($n=2$), на модели хронической интоксикации 15% этанолом на протяжении 10 дней ($n=2$) и в условиях ежедневной однократной протекции таурином в последующие 7 дней ($n=2$). Указанные животные находились на сухом корме и в качестве единственного источника жидкости получали 15% раствор этилового спирта. Все процедуры совершали согласно «Правилам по уходу за лабораторными животными» (НИН публикация за № 85-23, пересмотренная в 1985г.), а также особому руководству, предусматривающему заботу о животных, и комитетом национальной медицинской службы и здоровья (НИН публикация за № 80-23, пересмотренная в 1996г.). В стереотаксическом аппарате производили трепанацию черепа от брегмы до лямбды и вскрывали твердую мозговую оболочку. Стеклообразные микроэлектроды с диаметром кончика 1-2 μ М, заполненные 2MNaCl, вводили в Г, согласно стереотакси-

ческим координатам (AP-3.5; $L \pm 1.5-3.5$; $DV + 2.8-4.0$ мм) [16] для экстраклеточной регистрации спайковой активности одиночных нейронов. Стереотаксически ориентированный раздражающий биполярный электрод вводили в ЭК по координатам (AP-9, $L \pm 3.5$, $DV + 4.0$ мм). Осуществляли ВЧС ЭК (прямоугольными толчками тока длительностью 0.05 мс, амплитудой 0.12–0.18 мВ, силой тока 0.32 мА и частотой 50 и 100 Гц в течение 1 сек). Операции осуществляли на наркотизированных животных (пентобарбитал натрия 40 мг/кг, в/б) в следующей очередной последовательности: фиксация черепа в стереотаксическом аппарате, краниотомия с удалением костей от брегмы до лямбды и отсепаровкой твердой мозговой оболочки. Предварительно животные обездвигивались 1% дитилином (25 мг/кг, в/б) и переводились на искусственное дыхание.

Активность проявлялась в виде тетанической депрессии и потенциации (ТД и ТП), сопровождаемых посттетанической депрессией и потенциацией (ПТД и ПТП). Проводили анализ одиночной спайковой активности 307 нейронов Г. Постстимульные проявления активности оценивали on-line регистрацией и программным математическим анализом, позволяющим проводить селекцию спайков амплитудной дискриминацией, с выводом «растеров» перистимульного спайкинга нейронов, построением гистограмм суммы и диаграмм усредненной частоты спайков. Производили далее многоуровневую статистическую обработку для пре- и постстимульного отрезков времени. Для избираемых сравниваемых групп спайкинга строили суммированные и усредненные перистимульные (PETH Average) гистограммы и гистограммы частоты (Frequency Average). Анализ полученных данных производили по специально разработанному алгоритму, обеспечивающему достоверность перистимульных изменений межспайковых интервалов. Однородность двух независимых выборок контролировалась t-критерием Стьюдента. С целью повышения статистической достоверности перистимульных изменений межспайковых интервалов использовали также двухвыборочный критерий Вилкоксона-Манна-Уитни (Wilcoxon-Mann-Whitney test), в качестве непараметрического, оценивающего однородность независимых двух выборок. Использовалась также разновидность указанного теста – z-тест, определяющий его асимптотическую нормальность. Учет критических значений в сравнении с таковыми нормального распределения при уровнях значимости 0.05, 0.01 и 0.001 показывает, что в большинстве случаев спайкинга при ВЧС статистически значимое изменение достигало, как минимум, уровня 0.05.

Результаты и обсуждение

Производили экстраклеточную регистрацию спайковой активности одиночных нейронов Г в норме (198 нейронов, $n=2$), на подверженных хронической интоксикации этанолом (66 нейронов, $n=2$) и с протекцией таурином (43 нейрона, $n=2$).

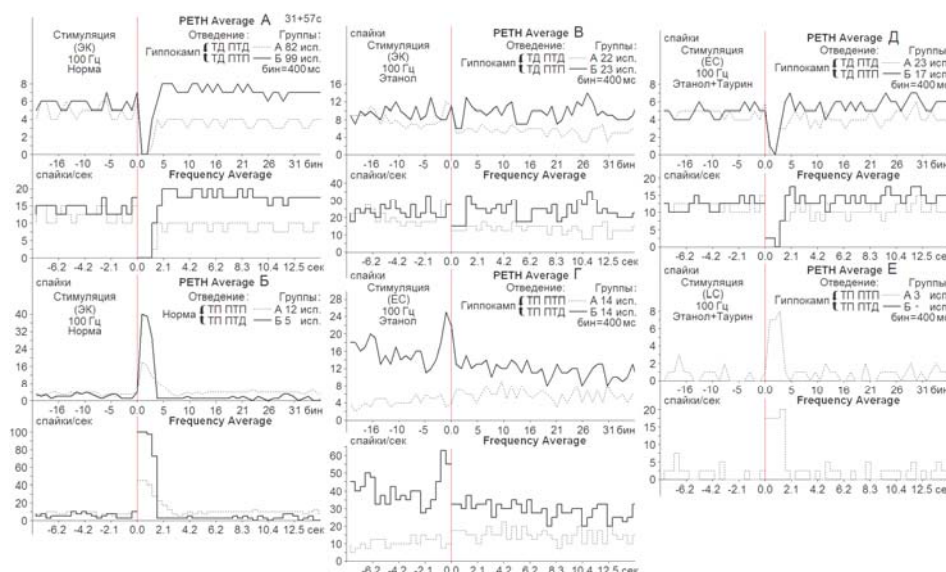


Рис. 1. Усредненные перистимульные (PETN Average) и гистограммы частоты (Frequency Average) депрессорных (А, В, Д) и возбудительных (Б, Г, Е) постстимульных проявлений активности нейронов Г в норме (А, Б), на модели этаноловой интоксикации (В, Г) и с протекцией турином (Д, Е). Остальные обозначения в тексте

Анализ данных показал, что в нейронах Г на ВЧС ЭК тетаническая депрессия в постстимульных депрессорных и разнонаправленных последовательностях в норме оценивалась в пределах 6.0- и 7.0-кратного занижения престимульной активности, а тетаническая потенция – порядка 4.5- и 10.0-кратного превышения соответственно (рис. 1 А, Б). В условиях этаноловой интоксикации значения постстимульных депрессорных проявлений активности нейронов Г оказались в пределах лишь 2.2- и 1.83-кратного занижения престимульной активности, а возбудительных – проявлялись также в незначительных пределах – 1.75- и 1.7-кратного превышения (рис. 1 В, Г). Иными словами, имело место резкое снижение параметров как депрессорных, так и возбудительных постстимульных эффектов (2.72-, 4.02-, 2.57- и даже 6.1-кратно соответственно). С использованием таурина обстоятельства изменились следующим образом: постстимульные депрессорные эффекты проявили тенденцию практического приближения к норме, достигнув 6.0- и 5.0-кратного снижения престимульной активности против 6.0- и 7.0-кратного в норме (рис. 1 Д). Что же касается потенции, то она значительно увеличилась, по сравнению с патологией, приблизившись к норме и даже превысив ее (6.0- против 4.5-кратного в норме и 1.75-кратного – лишь в патологии) (рис. 1Б, Г, Е). Однако не было зарегистрировано возбуждительно-депрессорной последовательности. Таким образом, очевиден протекторный эффект таурина.

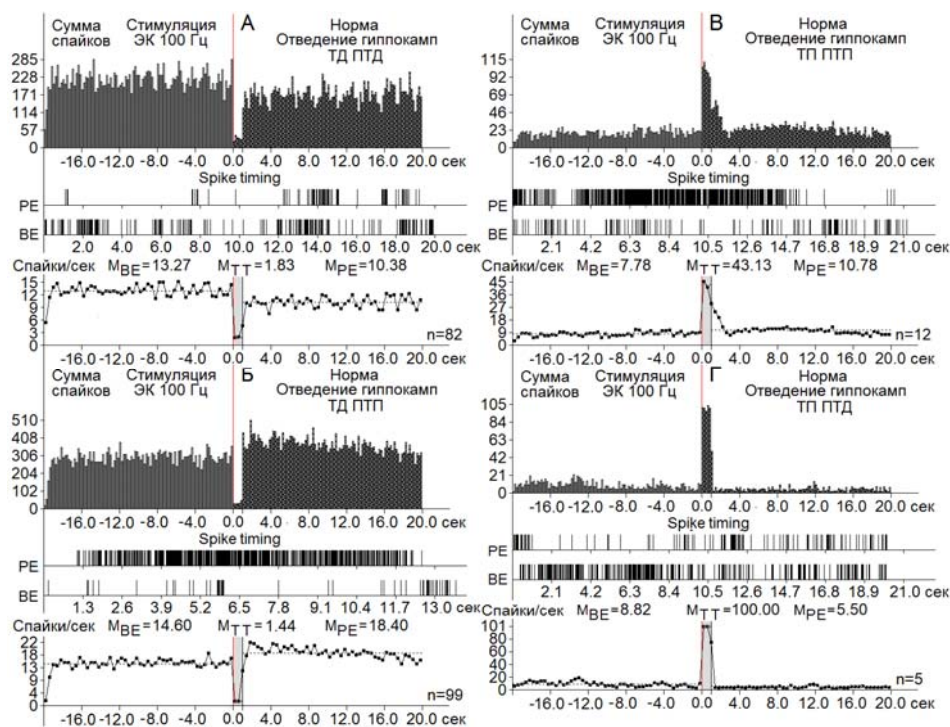


Рис. 2. А-Г – гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных депрессорных (ТД ПТД и ТД ПТП) (А, Б) и возбудительных (ТП ПТП и ТП ПТД) (В, Г) проявлений активности в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции) нейронов Г, вызванных ВЧС ЭК в норме. Здесь и на остальных рисунках: диаграммы частоты спайков, представленных в гистограммах, с усредненными значениями (М) для временных отрезков до стимуляции (ВЕ – before event), на время тетанизации (ТТ – time tetanization) и после стимуляции (РЕ – post event). Справа от диаграмм – количество испытаний (n)

В обеих депрессорных последовательностях в нейронах Гна ВЧС ЭК значения ТД в норме достигали 7.25- и 10.14-кратного занижения частоты престимульной активности (рис. 2 А, Б; рис.4 А). В условиях этаноловой интоксикации те же значения распределялись в пределах лишь 1.53- и 1.50-кратного занижения престимульной активности, т.е. имело место резкое снижение порядка 4.74- и 6.76-кратного (рис. 3 А, Б), а с использованием таурина степень выраженности депрессорных постстимульных эффектов резко повысилась, достигнув 9.03- и 6.43-кратного занижения престимульной активности (рис. 3 А, Б; рис. 4 В). Иными словами, с протекцией имело место приближение к норме (7.25- и 10.14-кратное) и превышение патологии (7.25- и 4.3-кратное). В норме степень выраженности тетанической потенциации в обеих последовательностях выявлялась порядка 5.54- и 11.34-кратного превышения постстимульной последова-

тельности в норме, в то время как в патологии она достигала лишь 1.6- и 1.3-кратного превышения (рис. 2 и 3; 4 А, Б). Иными словами, имелось резкое снижение в пределах 3.46- и 8.72-кратного. Наконец, возбудительные постстимульные эффекты в условиях протекции не регистрировались вообще.

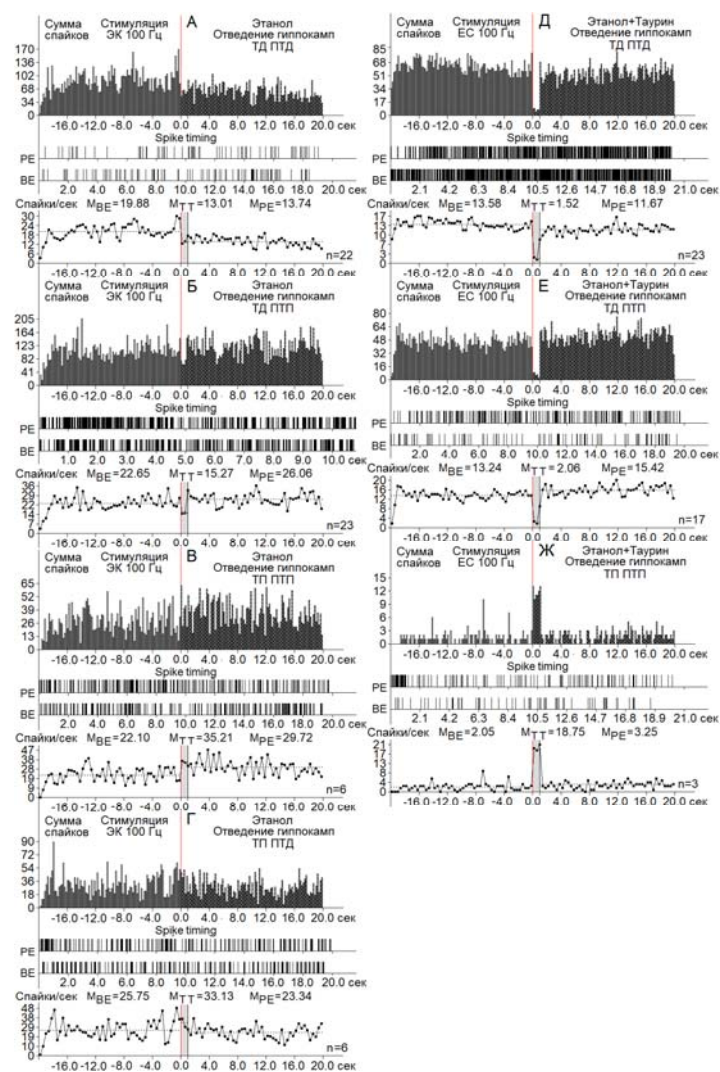


Рис. 3. А-Г – гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных депрессорных (ТД ПТД и ТД ПТП) (А, Б, Д, Е) и возбудительных (ТП ПТП и ТП ПТД) (В, Г, Ж) проявлений активности в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции) нейронов Г на вызванных ВЧС ЭК 10 дней спустя после этаноловой интоксикации (А-Г) и в условиях протекции таурином.

Справа от диаграмм – количество испытаний (n)

Престимульная частота активности нейронов Г при ВЧС ЭК в норме, предшествуемая депрессорными постстимульными эффектами, опре-

делялась в пределах 13.27 и 14.60, в патологии – 19.88 и 22.65, а с протекцией – 13.58 и 13.24 (рис. 2, 3 А, Б, Д, Е; рис. 5 А, Б). То есть, имело место 1.5-кратное превышение частоты престаимпульной активности в условиях интоксикации, с приближением к норме с протекцией. Престаимпульная частота активности, предшествуемая возбуждательными последовательностями, исчислялась в пределах 7.78 и 8.82 в норме, 22.10 и 25.75 – в патологии, с резким снижением даже ниже нормы – с протекцией (2.05), что оказалось 10.78-кратно ниже патологии (рис. 2 и 3 В, Г, Ж; рис. 5 В, Г). Таким образом, было выявлено резкое превышение частоты престаимпульной активности в условиях интоксикации без протекции, в сравнении с нормой, в пределах 2.84- и 3.0-кратного, и такое же резкое снижение с протекцией, даже ниже нормы, порядка 10.78-кратного – в сравнении с патологией, но только в случае, предшествуемом возбуждательной последовательностью. Очевидно значительное превышение частоты престаимпульной (фоновой) активности нейронов Г, в результате неизбежного развития в них эксайтотоксичности, что чревато апоптозом и гибелью, и успешное исключение эксайтотоксичности с протекцией.

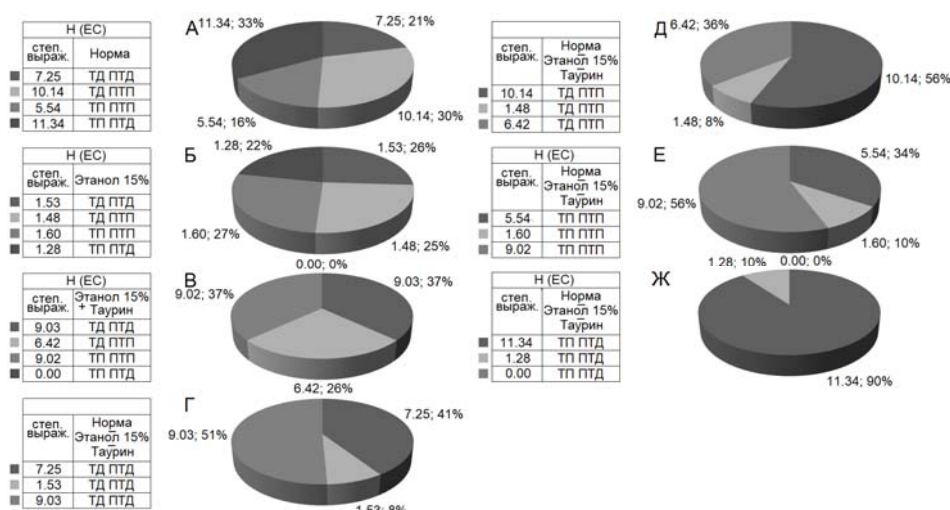


Рис. 4. Соотношение степени выраженности (по усредненной частоте) депрессорных (ТД ПТД), депрессорно-возбудительных (ТД ПТП), возбудительных (ТП ПТП) и возбужденно-депрессорных (ТП ПТД) постстимульных эффектов в одиночных нейронах Г на ВЧС ЭК в норме и на модели этаноловой интоксикации

В случае таковых депрессорных эффектов постстимульная частота нейронов Г достигала 1.83 и 1.44 в норме, 13.01 и 15.27 – при интоксикации и 1.52 и 2.06 – с протекцией (рис. 2 А, Б; рис. 3 А, Б, Д, Е; рис. 5 Д, Е). Очевидно резкое превышение постстимульной частоты в патологии порядка 7.11- и 10.60-кратного, в сравнении с нормой, и опять прибли-

жение к норме – с протекцией, что также свидетельствует об успешном противостоянии эксайтотоксичности, а следовательно – протекции. Наконец, постстимульная частота, сопровождающая постстимульные возбуждающие эффекты, оказалась порядка 43.13 и 100.0 в норме, 35.21 и 33.13 – при интоксикации и 18.75 с протекцией, но с исчезновением возбуждительно-депрессорной последовательности (рис. 2 В, Г; рис. 3 В, Г, Ж; рис. 5 Ж, З). Тем не менее, есть все основания констатировать успешный протекторный эффект таурина при алкогольной интоксикации.

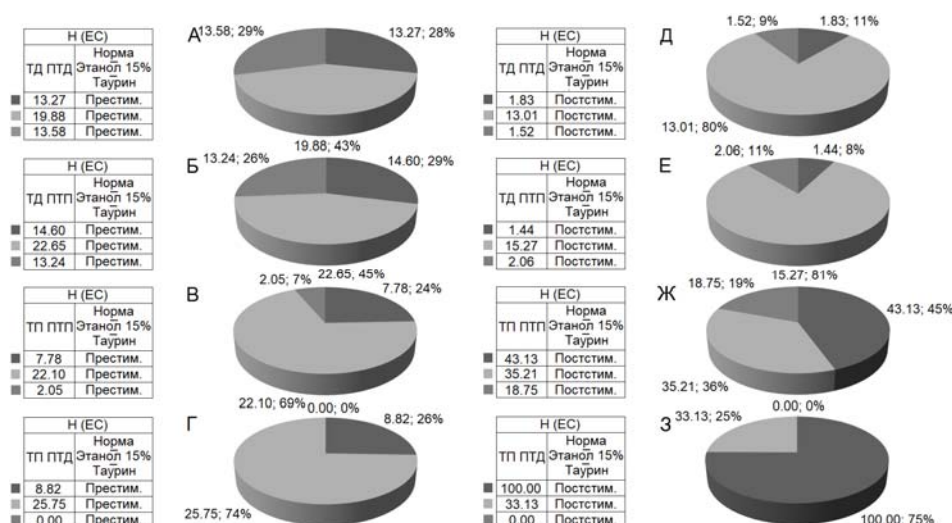


Рис. 5. Процентное соотношение степени выраженности (по усредненной частоте) пре- и постстимульной частоты активности нейронов Г на ВЧС ЭК, предшествующих и сопровождаемых постстимульными депрессорными (А, Б, Д, Е) и возбуждающими (В, Г, Ж, З) эффектами в норме, в условиях интоксикации этанолом и с протекцией таурином. Остальные обозначения на рисунке

В заключение, на модели этаноловой интоксикации в нейронах Г на ВЧС ЭК выявлена эксайтотоксичность, ведущая к нейродегенеративному поражению этой важной структуры мозга, ведающей кратковременной памятью, и апробированы возможности таурина, позволяющие рекомендовать его в качестве протектора. Эксайтотоксичность компенсирует недостаток возбуждения из-за гибели нейронов и возникает в результате нарушения кальциевой буферизации, генерации свободных радикалов, активации, сверхактивации глутаматных NMDA и AMPA рецепторов, приводящих к серьезным повреждениям нейронов [10] и их гибели [9]. Отмеченное в очередной раз свидетельствует о необходимости не только протекторного сохранения депрессорных эффектов, но и снижения чрезмерных возбуждающих эффектов [1].

Поступила 11.07.19

Էնտորինալ կեղևից ակտիվացված հիպոկամպի նյարդաբջիջների սինապտիկ պրոցեսները՝ տաուրինի պրոտեկցիայով, էթանոլային թունավորման մոդելում

Մ.Հ. Դանիելյան, Վ.Պ. Խաչատրյան, Բ.Վ. Կարապետյան,
Մ.Վ. Պողոսյան, Ջ.Ս. Սարգսյան

Հիպոկամպում երկու դեպրեսոր հետստիմուլային հաջորդականություններում պաթոլոգիայում տաուրինի կիրառմամբ բացահայտվել է ցուցանիշների նշանակալի բարձրացման արդյունքում (7.25- և 4.3-անգամյա) նորմային մոտեցում, որը վկայում է հաջողակ պրոտեկցիայի մասին: Ինտոքսիկացիայի պայմաններում ստացվել է հիպոկամպի նյարդաբջիջների ակտիվության նախաստիմուլային (ֆոնային) հաճախականության կտրուկ (1.5-անգամյա) բարձրացում, դեպրեսոր ռեակցիաներին նախորդողի դեպքում՝ մոտեցում նորմային պրոտեկցիայի պայմաններում: Դրդող ռեակցիաներին նախորդողի դեպքում առկա է եղել նախաստիմուլային ակտիվության հաճախականության ավելի կտրուկ բարձրացում (2.84- և 3,0-անգամյա) նորմայից և ուժգին (10.78-անգամյա) իջեցում պրոտեկցիայի ժամանակ՝ նույնիսկ նորմայից ցածր: Ակնհայտ է հետստիմուլային ակտիվության հաճախականության կտրուկ բարձրացումը, ուղեկցվող դեպրեսոր ռեակցիաներով պաթոլոգիայում՝ 7,11- և 10,60-անգամյա, համեմատած նորմայի հետ, և պրոտեկցիայի պայմաններում՝ կրկին նորմային մոտեցում: Այս ամբողջը վկայում է էթանոլի թունավորման ենթարկված հիպոկամպի նյարդաբջիջների, անխուսափելի էքսայտոտոքսիկություն զարգանալու արդյունքում, չափազանց դրդող էֆեկտների և տաուրինով, դեպրեսոր էֆեկտների վերականգնման միջոցով, վերջիններիս հաջողակ և պաշտպանիչ հակազդեցության մասին:

The Synaptic Processes in Hippocampal Neurons Activated by Entorhinal Cortex on the Model of Ethanol Intoxication with Protection by Taurine

M.H. Danielyan, V.P. Khachatryan, K.V. Karapetyan,
M.V. Poghosyan, J.S. Sarkissian

In both depressor post-stimulus sequences using taurine approaching to normal as a result of significant exceeding (7.25- and 4.3-fold) the indicators in pathology of hippocampal (H) has been revealed, that testify on the successful protection. The sharp (1.5-fold) exceeding of pre-stimulus (background) frequency of H neurons activity in condition of intoxication, in the case of the

preceded by depressor reactions, approaching to normal in condition of protection has been received. In the case of the preceded by excitatory reactions, there was even more dramatic (2.84- and 3.0-fold) exceeding of pre-stimulus activity frequency, in comparison with the norm, and powerful (10.78-fold) reducing protected, even below normal. Obviously sharp exceeding of post-stimulus activity frequency, accompanied by depressor reactions in pathology, order 7.11- and 10.60-fold, in comparison with the norm, and again approaching normal – with the protection. It in general, testifies about excessive excitatory effects in neurons of H, subjected by ethanol intoxication, as a result of the inevitable development excitotoxicity, and successful protective confronting her by taurine, through the restoration of depressor effects.

Литература

1. Саркисян Дж.С., Погосян М.В., Даниелян М.А. и др. Назначение депрессорных синаптических процессов в условиях специфической нейродегенеративной патологии и протекции. LAP LAMBERT Academic Publishing RU. 2018. 406(1-2):76-80.
2. Brolese G., Lunardi P., de Souza D.F., Lopes F.M., Leite M.C., Gonçalves C.A. Pre- and postnatal exposure to moderate levels of ethanol can have long-lasting effects on hippocampal glutamate uptake in adolescent offspring. PLoS One. 2015, 10(5):e0127845.
3. Dhanabalan G., Le Maître T.W., Bogdanovic N., Alkass K., Druid H. Hippocampal granule cell loss in human chronic alcohol abusers. Neurobiol Dis., 2018, 120: 63-75.
4. Enoch M.A., Zhou Z., Kimura M., Mash D.C., Yuan Q., Goldman D. GABAergic gene expression in postmortem hippocampus from alcoholics and cocaine addicts; corresponding findings in alcohol-naïve P and NP rats. PLoS One, 2012, 7(1):e29369.
5. Erdozain A.M., Morentin B., Bedford L., King E., Tooth D., Brewer C., Wayne D., Johnson L., Gerdes H.K., Wigmore P., Callado L.F., Carter W.G. Alcohol-related brain damage in humans. PLoS One, 2014, 9(4): e93586.
6. Jin Z., Bazov I., Kononenko O., Korpi E.R., Bakalkin G., Birnir B. Selective Changes of GABA(A) Channel Subunit mRNAs in the Hippocampus and Orbitofrontal Cortex but not in Prefrontal Cortex of Human Alcoholics. Front Cell Neurosci, 2012, 5:30.
7. Jin Z., Bhandage A.K., Bazov I., Kononenko O., Bakalkin G., Korpi E.R., Birnir B. Selective increases of AMPA, NMDA, and kainate receptor subunit mRNAs in the hippocampus and orbitofrontal cortex but not in prefrontal cortex of human alcoholics. Front Cell Neurosci, 2014, 8:11.
8. Le Maître T.W., Dhanabalan G., Bogdanovic N., Alkass K., Druid H. Effects of Alcohol Abuse on Proliferating Cells, Stem/Progenitor Cells, and Immature Neurons in the Adult Human Hippocampus., Neuropsychopharmacology, 2018, 43(4): 690-699.
9. Lucas D.R., Newhouse J.P. The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. AMA Archives of ophthalmology, 1957, 58(2): 193–201.
10. Matthew R.H., Heather L.S., Peter R.D. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. NCI, 2004, 45(5): 583–595.
11. McClintick J.N., Xuei X., Tischfield J.A., Goate A., Foroud T., Wetherill L., Ehringer M.A., Edenberg H.J. Stress-response pathways are altered in the hippocampus of chronic alcoholics. Alcohol, 2013, 47(7): 505-15.
12. Nixon K., Crews F.T. Binge ethanol exposure decreases neurogenesis in adult rat hippocampus. J Neurochem, 2002, 83(5):1087-1093.
13. Okamoto H., Miki T., Lee K.Y., Yokoyama T., Kuma H., Wang Z.Y., Gu H., Li H.P., Matsumoto Y, Irawan S, Bedi KS, Nakamura Y, Takeuchi Y. Oligodendrocyte

- myelin glycoprotein (OMgp) in rat hippocampus is depleted by chronic ethanol consumption. *Neurosci Lett.*, 2006, 406(1-2):76-80.
14. *Osechkina N.S., Ivanov M.B., Nazarov G.V., Batotsyrenova E.G., Lapina N.V., Babkin A.V., Berdinskikh I.S., Melekhova A.S., Voitsekhovich K.O., Lisitskii D.S., Kashina T.V.* Assessment of Expression of Genes Coding GABAA Receptors during Chronic and Acute Intoxication of Laboratory Rats with Ethanol. *Bull Exp Biol Med.*, 2016, 160(4): 452-454.
 15. *Ozsoy S., Durak A.C., Esel E.* Hippocampal volumes and cognitive functions in adult alcoholic patients with adolescent-onset. *Alcohol*, 2013, 47(1):9-14.
 16. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier, Academic Press, 5th ed., 2005, p.367.
 17. *Rowsey P.J., Crews F.T.* Persistent Adult Neuroimmune Activation and Loss of Hippocampal Neurogenesis Following Adolescent Ethanol Exposure: Blockade by Exercise and the Anti-inflammatory Drug Indomethacin. *Front Neurosci*, 2018, 28(12):200.
 18. *Sahay P., Shukla P.K., Ghimire H.M., Almagadi H.M., Tripathi V., Mohanty S.K., Rao R., Pradhan P.* Quantitative analysis of nanoscale intranuclear structural alterations in hippocampal cells in chronic alcoholism via transmission electron microscopy imaging. *Phys Biol.*, 2017, 14(2): 026001.
 19. *Staples M.C., Mandyam C.D.* Thinking after Drinking: Impaired Hippocampal-Dependent Cognition in Human Alcoholics and Animal Models of Alcohol Dependence. *Front Psychiatry*, 2016, Sep. 30, 7:162.

УДК 612.82+611.018.82+547.262

Влияние таурина на клеточные структуры черной субстанции крыс, подвергнутых этанольной интоксикации

В.П. Хачатрян

*Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22*

Ключевые слова: черная субстанция, этанольная интоксикация, таурин

Алкогольная энцефалопатия является одной из основных причин деменции и диагностируется у 10-30% пациентов с клиническими признаками слабоумия [9]. Алкоголь и его метаболит – ацетальдегид обладает нейротоксическим действием, прямо воздействуя на нервные клетки [1]. Хроническая алкогольная интоксикация вызывает функциональные и морфологические нарушения практически во всех системах и структурах головного мозга [7]. Функциональные изменения на уровне рецепторов и нейротрансмиттеров предшествуют более тяжелым структурным повреждениям нейронов. Алкогольная интоксикация, длительностью в несколько дней, также может вызывать гибель нейронов в некоторых отделах мозга [5]. Известно, что алкогольная энцефалопатия ассоциируется с повышенным риском производственного и транспортного травматизма, а также с асоциальным поведением. В связи с этим актуальной задачей является исследование патогенеза алкогольного поражения мозга с целью разработки методов профилактики и лечения.

Хроническая интоксикация этанолом приводит к развитию физической зависимости с неудержимым влечением к алкоголю, к развитию абстинентных расстройств после прекращения его систематического приема [4]. Одним из путей уменьшения токсического действия этанола на организм может быть использование веществ, способных прямо взаимодействовать со свободным ацетальдегидом и снижающих его уровень в крови, органах и тканях. К числу таких веществ относится таурин. Злоупотребление алкоголем приводит к дефициту таурина в организме и к тому же нарушает способность организма усваивать его [3]. Как сообщают зарубежные авторы, таурин может быть полезен в качестве средства для пациентов с алкогольной зависимостью [8]. Клинические исследования продемонстрировали, что применение таурина у испытуемых, употреблявших этанол, приводило к снижению содержания ацетальдегида в крови по

сравнению с контрольной группой, не получавшей препарат [10], то есть таурин помогает организму избежать те негативные последствия, которые возникают при изъятии алкоголя. Результаты исследований свидетельствуют о селективности алкогольного поражения мозга. Черная субстанция обладает избирательной чувствительностью к алкоголю [6].

Исходя из этого, целью исследования явилось изучение морфофункционального состояния черной субстанции крыс при алкоголизации 15% раствором этилового спирта и протекторного влияния биологически активного вещества таурина в динамике после этанольной интоксикации.

Материал и методы

Исследования проводили на 40 половозрелых крысах-самках Альбино, массой 200–250 г. Нормой служили интактные животные (n=5). Все экспериментальные животные находились на сухом корме и в качестве единственного источника жидкости получали воду либо 15% раствор этанола. Животные были разделены на контрольную группу (n=5, получавшие в течение 3 месяцев 15% раствор этилового спирта, после чего на 7 дней переведенные на воду, изъятие) и 3 опытные группы в зависимости от сроков приема алкоголя (10 дней, 1 и 3 месяца соответственно, по 5 животных в каждой группе).

Для изучения влияния таурина на клеточные структуры мозга крыс после алкоголизации животные также были подразделены на 3 группы (по 5 крыс в каждой группе), получавшие 15% раствор этилового спирта в течение 10 дней, 1 и 3 месяцев соответственно, после чего переведенные на воду и каждодневные инъекции водного раствора таурина в течение 7 дней (50 мг на 1 кг массы, в/б). Все работы с животными были проведены в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 2010/63/EU) и одобрены Этическим комитетом ЕГМУ им. М. Гераци.

С целью изучения морфофункционального состояния клеточных структур гиппокампа крыс был применён гистохимический метод выявления активности Ca^{2+} -зависимой КФ [2]. Животные были наркотизированы нембуталом (40–45 мг на 1 кг массы, в/б) с последующим изъятием мозга, который фиксировали в 5% растворе нейтрального формалина в течение 48 часов при +4°C. Производили ленточные серийные срезы головного мозга во фронтальной плоскости от лобного полюса полушарий до спинного мозга. Замороженные срезы, толщиной 40–50 мкм, согласно требованиям дальнейшей обработки, переносились в заранее свежеприготовленные соответствующие инкубационные смеси, предназначенные для выявления активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы. Последующие съемки полученных препаратов производились с помощью фотоап-

парата OPTONM-35 и фотонасадки AmScope MU800 через микроскоп OPTON (West Germany).

Результаты и обсуждение

Черная субстанция имеет сложную структуру и обильное кровоснабжение, что говорит о высокой роли ее компонентов в системе координации жизнедеятельности, она ответственна за тонус мышц и бессознательные, автоматические движения и отражает высокий уровень обменных процессов в ядре. Основной частью черной субстанции являются средних размеров нейроны с диффузным распределением хроматофильного вещества цитоплазмы, богатые пигментом нейромеланином. Мелкозернистый и глыбчатый меланин заполняет почти всю цитоплазму нервных клеток черной субстанции (рис. 1 А-В). У интактных животных черная субстанция состоит из клеток весьма разнообразной формы, но в основном из клеток полигональной формы, расположенных в пределах трёх групп. Все клетки содержат длинные аксоны, имеют несколько умеренно или слабо ветвящихся отростков. На телах и отростках клеток, а также вокруг нейронов чётко выделяются синаптические окончания – синаптосомы (рис. 1 Б). Осадок фосфата свинца в виде гранул равномерно локализован в цитоплазме перикариона, окружает со всех сторон светло окрашенное и центрально расположенное ядро и распространяется в довольно длинных отростках нейрона (рис. 1 Б, В). В аксонах полигональных клеток черной субстанции наблюдаются чередующиеся на равном расстоянии светлые и темные участки, что создает впечатление поперечной исчерченности (рис. 1 В). Среди нейронов чёрной субстанции наблюдается реакция ядер глиальных клеток.

Изучение морфофункционального состояния черной субстанции при 15% этанольной интоксикации показало нарушение нейроархитектоники в ранние сроки алкоголизации (рис. 1 Г-Е). Наблюдается уменьшение объема и удельной плотности нейронов. Характерная полигональная форма сменяется на шарообразную из-за набухания тел. Происходит вздутие и округление клеточных тел черной субстанции. Контуров клеток становятся неправильными, нечеткими, появляются участки, где клеточная оболочка неразличима (рис. 1 Д, Е). Встречаются также клетки с центральным хроматолизом. В цитоплазме происходит постепенное растворение хроматофильного вещества, из-за чего она принимает более светлую окраску. Хроматолиз базофильного вещества цитоплазмы наблюдается в разной степени выраженности: сегментарный, перинуклеарный и субтотальный (рис. 1 Д). По мере распада базофильного вещества ядро также уменьшается в размерах, происходит кариолизис. Все нейроны лишены отростков (рис. 1 Д).

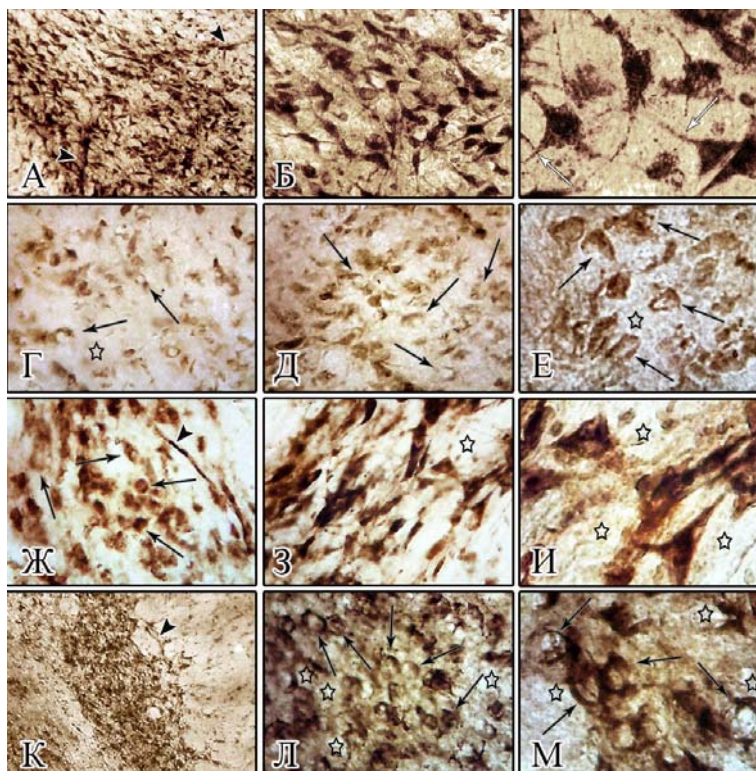


Рис. 1. Микрофотографии нейронов черной субстанции крыс в норме и при алкоголизации 15% раствором этанола в динамике (А-В – норма; Г-Е – алкоголизация в течение 10 дней; Ж-И – в течение 1 месяца и К-М – в течение 3 месяцев. А-В – нейроны полигональной формы, крупных и средних размеров с центрально расположенными ядрами и длинными отростками; белые стрелки – поперечная исчерченность в отростках; черные стрелки – хроматолиз; черная головка стрелки – сосуды; звездочки – околочелюточный отек). Г-Е – центральный хроматолиз, изменение формы и размеров клеток. Ж-И – полигональные гипертрофированные дегенерированные клетки с нечеткими контурами, гомогенно окрашенные ядра глиальных клеток, выявляются капилляры. К-М – шарообразные клетки, потерявшие форму и лишённые отростков.

Оптич.увеличение: $\times 100$ (К); $\times 160$ (А); $\times 400$ (Б, Г, Д, Ж, З, Л); $\times 1000$ (В, Е, И, М)

Таким образом, морфогистохимическая картина нейронов черной субстанции в ранние сроки этанольной интоксикации выявляет изменения по типу ретроградной дегенерации (первичного раздражения нервной клетки), значительное снижение плотности, изменение формы и размеров нейронов (уменьшение объема).

На срезах мозга животных, получавших 15% раствор этанола в течение 1 месяца, наблюдается нейродегенерация разной степени тяжести (рис. 1 Ж-И). В некоторых клетках имеется тенденция к округлению клеточного тела с постепенным распылением гранул хроматофильного вещества цитоплазмы, из-за чего последняя принимает более светлую окраску (рис.

1 Ж). Ядра несколько увеличены в размере, у некоторых нейронов занимают эксцентричное положение и становятся гиперхромными. В таких нейронах наблюдаются процессы хроматолиза. Отростки слабо выражены либо полностью отсутствуют (рис. 1 Ж, З). На фоне таких дегенерированных клеток и межклеточного отека выделяются нейроны, у которых прослеживаются отдельные отростки, но ядра их также интенсивно окрашены (рис. 1 И). Нейроны гипертрофируются, принимают веретенообразную форму. Фосфатазная активность цитоплазмы резко усилена, центрально расположенные ядра умеренно набухшие, а контуры нечеткие. В целом, у них выявляются длинные аксоны, но фосфатазная активность в них снижена. Дендриты представлены в виде коротких обрубков, соответствующих месту их отхождения от тела. В некоторых случаях от тел нейронов отходит короткий, утолщенный отросток (рис. 1 З). У таких нейронов крупноглыбчатый осадок фосфата свинца неравномерно распределен в теле клетки, свидетельствуя о возможном полном распаде. Также встречаются нейроны, в телах которых осадок распределен гомогенно. Такие клетки лишены отростков или они утолщены, вытянуты вместе с телами, создавая впечатление толстых неровных обрубков (рис. 1 Ж, З). Повсеместно реагируют ядра глиальных клеток (рис. 1 З, И). Сильно реагируют расширенные сосуды, пронизывающие SN, то есть имеет место очевидное улучшение васкуляризации (рис. 1 Ж).

Длительное использование 15% этанола привело к полному нарушению цитоархитектоники черной субстанции (рис. 1 К-М). Клетки, содержащие меланин, подверглись изменениям в большей степени, чем клетки, свободные от пигмента. Поэтому черная субстанция даже при макроскопическом исследовании выглядит обесцвеченной. Нейроны гипертрофированы, характерная полигональная форма сменяется на шарообразную из-за набухания тел. Начиная с центральных участков клетки происходит лизис гранул хроматофильного вещества цитоплазмы (рис. 1 Л, М). Фосфатазная активность сохраняется лишь по периферии нейрона. Ядра, постепенно перемещаясь к одному из полюсов клетки, принимают эксцентричное положение. На фоне межклеточного отека отростки не выявляются (рис. 1 К-М).

Таким образом, длительная алкоголизация 15% раствором этанола, помимо гибели нейронов черной субстанции и депигментации, приводит к резким морфологическим изменениям внутриклеточных структур, свидетельствующим о грубых метаболических нарушениях.

Для понимания возможного положительного влияния таурина на морфофункциональное состояние черной субстанции крыс при интоксикации 15% раствором этанола были проведены исследования после изъятия хронического воздействия этанола (контроль для таурина). Крысы получали в течение трех месяцев 15% раствор этилового спирта, после чего были переведены на воду (в течение 1 месяца).

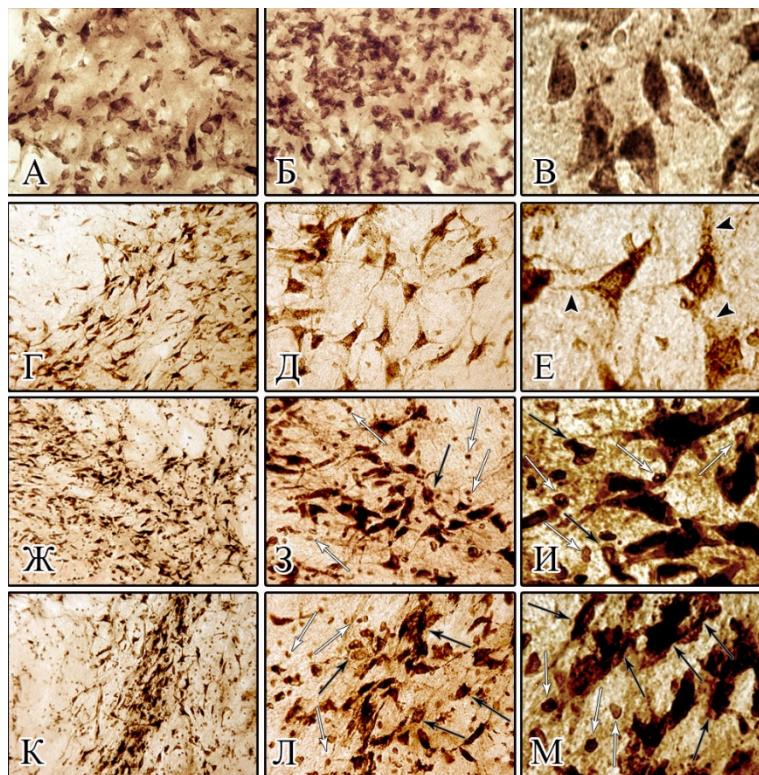


Рис. 2. Микрофотографии нейронов черной субстанции крыс после изъятия и в сочетании с инъекциями таурина после алкогольной интоксикации 15% этанолом в динамике (А-В – изъятие, подавление активности нейронов, укорочение или отсутствие отростков; Г-Е – 10 дней приема этанола с введением таурина; Ж-И – 1 месяц приема этанола с введением таурина; К-М – 3 месяца приема этанола с введением таурина). Г-Е – клетки полигональной формы, четкие границы, длинные отростки, ядро центрально расположено; Ж-И – гипертрофированные интенсивно окрашенные деформированные клетки, эктопия ядер; К-М – веретенообразные дегенерированные клетки с нечеткими контурами, короткими отростками и овальной формой клетки; Ж-М – гомогенно окрашенные ядра глиальных клеток (черная головка стрелки – поперечная исчерченность в отростках; черные стрелки – центральный хроматолиз; белые стрелки – ядра глиальных клеток).
Оптич. увеличение: $\times 160$ (Г, Ж, К); $\times 400$ (А, Б, Д, З, Л); $\times 1000$ (В, Е, И, М)

Анализ наших данных показал, что после изъятия этанола происходит постепенное восстановление размеров тел нейронов. В основном наблюдается спад фосфатазной активности, уменьшается количество хроматофильного вещества в цитоплазме клеток (рис. 2 А-В). Отростки как боковые, так и аксиальные не выявляются. Исходя из этого, можно предположить, что после изъятия этанола в нейронах черной субстанции изменения проявляются в виде аксональной реакции (или, как иначе называют, ретроградной дегенерацией). Единично встречаются нейроны, бога-

тые пигментом нейромеланином и содержащие короткие аксоны (рис. 2 А). Вышеописанные изменения свидетельствуют о частичном приспособлении, но в основном, о подавлении активности нейронов черной субстанции после изъятия этанола.

По сравнению с травмированными в результате этанольной интоксикации крысами, у животных с введением таурина демонстрируется регенерация клеток. У крыс, получавших таурин в течение 7 дней после кратковременной интоксикации, нейроны черной субстанции полностью восстанавливаются, их форма и размеры приближаются к таковым как у интактных крыс (рис. 2 Г-Е). Увеличивается плотность расположения нейронов и число клеток с сопровождающими волокнами. Среди крупных нейронов начинают реагировать мелкие округлые клетки (рис. 2 Е). Клетки приобретают характерную им полигональную форму, контуры клеток становятся отчетливыми, у них реагируют тонкие длинные отростки, что указывает на частичное восстановление их связей с соседними клетками и другими областями мозга. У большинства из них просматриваются светлоокрашенные центрально расположенные ядра, которые выделяются на фоне гиперхромной цитоплазмы. У некоторых нейронов сильно окрашена перинуклеарная зона, что указывает на повышенный метаболизм, а ближе к отросткам отчетливо различаются отдельные гранулы (рис. 2 Г, Д). Высокая активность Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы обнаруживается в ядрышках клеток. Осадок фосфата свинца в цитоплазме клеток мелкогранулярный, равномерно локализован, интенсивность окрашивания выражена умеренно, отмечается снижение фосфатазной активности в сравнении с нормой (рис. 2 Д, Е). Важно отметить, что ядра в нейронах занимают центральное расположение и резко ограничены от цитоплазмы выраженной мембраной, ядерно-цитоплазматическое соотношение не нарушено.

У животных, получивших таурин после месячного приема этанола, полигональность формы клеток черной субстанции в основном не восстановлена, но есть тенденция к восстановлению характерных размеров (рис. 2 Ж-И). Процесс хроматолиза не выявляется, однако, наряду с клетками, сохранившими форму и отростки, встречаются гипертрофированные дегенерированные нейроны, подвергнутые хроматолизу, с эктопированным ядром (рис. 2 З, И). Повсеместно реагируют ядра глиальных клеток (рис. 2 З, И). Внутрицитоплазматическая грануляция крупноглыбчатая и расположена обильно, вследствие чего нейроны выглядят интенсивно окрашенными (рис. 2 Ж-И). При приеме таурина наблюдается повышение активности КФ (повышение метаболизма) в цитоплазме и ядре клеток, усиление процессов фосфорилирования в черной субстанции, что говорит об активации обменных процессов, направленных на поддержание нарушаемого в результате алкогольной интоксикации гомеостаза организма и, в конечном итоге, служит обеспечению оптимальных условий для процессов клеточного выживания и регенерации.

У крыс, получавших таурин в течение 7 дней после длительной интоксикации, морфологическая картина характеризуется уменьшением объёма и плотности расположения нейронов, вздутием и округлением клеточных тел чёрной субстанции. У клеток нарушена полигональная форма, не наблюдается чёткого разграничения групп клеток (рис. 2 К-М). Контуры клеток неправильные, нечёткие, есть участки, где клеточная оболочка неразличима, не просматривается граница между телом и отростками, а также между ядром и цитоплазмой (рис. 2 Л, М). Местами в цитоплазме происходит растворение хроматофильного вещества, из-за чего она принимает более светлую окраску. У некоторых гипертрофированных шарообразных клеток отсутствуют отростки, наблюдается сильно выраженный хроматолиз. В этих клетках осадок фосфата свинца расположен под клеточной мембраной в виде кольца (рис. 2 Л). Из-за негативной фосфатазной активности ядра клеток не демонстрируются. Встречаются также клетки с центральным хроматолизом с интенсивно окрашенными ядрами, которые перемещаются к периферии. В межклеточном пространстве, на фоне сохранившихся и частично поражённых нейронов чёрной субстанции, обнаруживаются ядра глиальных клеток (рис. 2 Л, М). Как известно, глия играет большую роль в обменных процессах и является некоторым образом посредником между сосудами и нервными клетками, а также является системой специфической поддержки. Имеет место очевидное улучшение васкуляризации, нейроны с интенсивно окрашенными ядрами контактируют с микрососудами (рис. 2 К).

В целом, прием таурина после кратковременной алкоголизации приводит к восстановлению морфологической картины черной субстанции – демонстрируется регенерация клеток, форма и размеры клеток приближаются к норме, проявляются контуры, наблюдается увеличение плотности расположения клеток. При приёме таурина после средней и длительной алкоголизации в черной субстанции также отмечаются положительные изменения структурных свойств клеток по сравнению с поражёнными в результате токсичного влияния этанола нейронами. Однако полной картины восстановления морфологической картины нервных клеток не отмечается. Возможно, это связано с тем, что длительная алкоголизация 15% раствором этанола приводит к гибели нейронов черной субстанции и депигментации, а также к резким морфологическим изменениям внутриклеточных структур, свидетельствующим о грубых метаболических нарушениях. И такое кратковременное применение таурина не приводит к полному восстановлению структурных свойств нейронов черной субстанции, хотя к этому есть предпосылки. Таким образом, проведённые нами исследования по применению таурина после алкоголизации 15% раствором этанола показали, что если учитывать недлительную силу патологического воздействия, то в благоприятных условиях при своевременном и энергичном лечении значительная часть клеточных

изменений в черной субстанции является обратимой в достаточно короткий период времени.

Поступила 11.07.19

Տաուրինի ազդեցությունը էթանոլային թունավորման ենթարկված առնետների և նյուրի բջջային կառույցների վրա

Վ.Պ. Խաչատրյան

Հայտնաբերվել է, որ էթանոլի 15 %-անոց լուծույթը հանգեցնում է սև նյուրի բջիջների դեպիգմենտացիայի, արտահայտված դեգեներացիայի և մահվան: Վերջինս արագ հանգեցնում է ներբջջային կառույցների մորֆոլոգիական բացասական փոփոխությունների, առաջացնում է արտահայտված ներբջջային մետաբոլիկ բնույթի խանգարումներ: Ստացված կենդանական մոդելներին տաուրինի ներարկումները հանգեցնում են սև նյուրում նյարդաբջիջների վերականգնման: Կատարված հետազոտությունները վկայում են նյարդաբջիջների ներբջջային կառույցների մորֆոլոգիական ռեգեներացիայի մասին: Բարենպաստ պայմաններում տաուրինի սահմանված չափաքանակներով պարբերական և ժամանակի ներարկումները արագ և արդյունավետ վերականգնում են նյարդաբջիջների ներբջջային կառույցները:

The Effect of Taurine on the Cellular Structures of the Substantia Nigra of Rats Subjected to Ethanol Intoxication

V.P. Khachatryan

It has been established that alcoholization with a 15% ethanol solution leads to the death of neurons of the substantia nigra and depigmentation, to drastic morphological changes in intracellular structures indicating gross metabolic disturbances. In animals with the introduction of taurine, cell regeneration is demonstrated, there is a tendency to restore the morphological picture in the substantia nigra. In favourable conditions with timely and complex treatment, a significant part of cellular changes in the substantia nigra is reversible in a relatively short period of time.

Литература

1. *Зиматкин С.М., Пронько С.П., Бубен А.Л., Лиопо А.В.* Мат. международного симпозиума «Современные аспекты изучения алкогольной и наркотической зависимости». Гродно, 2004, с. 48-53.
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. *Нефёдов Л.И.* Таурин (биохимия, фармакология и медицинское применение). НАН Б., Гродно, 1999.
4. *Разводовский Ю.Е.* Медико-социальные аспекты алкоголизма. Гродно, 2005.
5. *Collins M.A., Corso T.D., Neafsey E.J.* Neuronal degeneration in rat cerebrocortical and olfactory regions during subchronic "binge" intoxication with ethanol: possible explanation for olfactory deficits in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res.* , 1996, v. 20, № 2, p.284-292.
6. *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, v. 1139, p.307-317.
7. *Fadda F., Rossetti Z.L.* Chronic ethanol consumption: from neuroadaptation to neurodegeneration. *Prog. Neurobiol.*1998, v. 56, №4, p. 385–431.
8. *Grant K.A., Woolfverton W.L.* Reinforcing and discriminative stimulus effects of Ca-acetyl homotaurine in animals. *Pharmacol. Biochem. and Behav.*, 1989, v.32, p. 607-611.
9. *Schlapfer T.E.* Alcohol and the brain--morphological and functional brain changes. *The Umsch.*, 2000, v. 57, № 4, p. 191-195.
10. *Watanabe A., Hobara N., Nagashima H.* Lowering of liver acetaldehyde but not ethanol concentrations by pretreatment with taurine in ethanol-loaded rats. *Experientia*, 1985, v. 41, № 11, p. 1421-1422.

ՀՏԴ 615.21:616-009.7

ԳԱԿԹ-ի և պիրոզլուտամինաթթվի ածանցյալների հականոցիցեպտիվ ակտիվության ուսումնասիրությունը

Ն.Հ. Ադամյան¹, Մ.Գ. Բալասանյան¹, Է.Ս. Սեկոյան²,
Ս.Հ. Գրիգորյան¹, Կ.Վ. Եղոյան³

¹ Մ.Հերացու անվան ԵՊԲՀ ֆարմակոլոգիայի ամբիոն

² Մ.Հերացու անվան ԵՊԲՀ ռեպրիլիտոլոգիայի, ֆիզիոթերապիայի և
սպորտային բժշկության ամբիոն

³ «Հայկենսատեխնոլոգիա» գիտաարտադրական կենտրոն
0025, Երևան, Կորյունի փ., 2

Բանալի բառեր. պիրոզլուտամիլԳԱԿԹ, պիրոզլուտամիլԳԱԿԹ-ի էթիլ
էթեր, պիրոզլուտամիլդիԳԱԿԹ, հականոցիցեպտիվ
ակտիվություն

Ցավի կառավարումը շարունակում է մնալ բժշկության կարևորագույն խնդիրներից մեկը, քանի որ այն իր բազմատեսակ դրսևորումներով ուղեկցում է տարբեր ախտաբանական վիճակների: Այս ոլորտում, բացի թմրաբեր ցավազրկողներից և ոչ ստերոիդային հակաբորբոքային դեղերից, լայնորեն կիրառվում են նաև մի շարք այլ դեղախմբեր՝ այսպես կոչված կո-անալգետիկներ, ներառյալ որոշ հակադեպրեսանտներ, հակացնցումային միջոցներ, տեղային անզգայացնողներ, որոնք հիմնական ազդեցության հետ մեկտեղ օժտված են նաև ցավազրկող ակտիվությամբ [15,21]: Եվ չնայած դեղերի այս լայն ընտրանուն՝ ցավազրկող հատկությամբ օժտված նոր միացությունների փնտրտուքը կարևորվում է՝ հաշվի առնելով գոյություն ունեցող դեղերին բնորոշ կողմնակի ազդեցությունները [5,13]: Նոր դեղերի ուսումնասիրության համար խթան է հատկապես ցավագոյացման նոր մոլեկուլյար մեխանիզմների բացահայտումը, որը մատնանշում է նոր թիրախներ և թելադրում դրանց վրա ազդող նոր կառուցվածքներ:

Ուշադրության արժանացնելով օրգանիզմում նոցիցեպցիայի և հականոցիցեպցիայի վերահսկման հումորալ մեխանիզմների կարևորությունը՝ ակնհայտ է դառնում, որ ախտաբանական պրոցեսների շտկումը ափիոներգիկ, մոնոամիներգիկ (նորադրենալին, սերոտոնին, դոֆամին), կանաբինոիդային, օրեքսինային, խոլին- և ԳԱԿԹ-երգիկ

ազդեցությամբ կարող է դառնալ ցավազրկող միջոցների ստեղծման արդյունավետ ուղի [1]:

Այսպես, ԳԱԿԹ-երգիկ նեյրոնները լայնորեն տարածված են ամբողջ ԿՆՀ-ում, ներառյալ ցավազգացողության և ցավի ընկալման համար պատասխանատու կառույցները, և հաստատված է, որ ԳԱԿԹ-երգիկ համակարգի ակտիվացումը ընկճում է ցավային գրգռափոխանցումը: ԳԱԿԹ ընկալիչների ազոնիստների հականոցիցեպտիվ ակտիվության բացահայտումը մեծ խթան հանդիսացավ՝ այս էնդոգեն միացության և նրա անալոգների հետագա ուսումնասիրությունները ընդլայնելու համար [7,8]: Որպես ԳԱԿԹ-ածանցյալներ՝ մասնավորապես զաբապենտինը, պրեգաբալինը նշանակալի արդյունքներ են գրանցել նեյրոպաթիկ ցավի բուժման սխեմաներում [15,16,17,21]: Հայտնի են ԳԱԿԹ-Բ ընկալիչների ազոնիստները՝ ֆենիբուտը, բակլոֆենը, որոնք կրկնում են ԳԱԿԹ-ի ընկճող ազդեցությունները ԿՆՀ-ում [2,4,15,19]:

Հականոցիցեպտիվ համակարգի հավասարակշռված գործունեության համար անհրաժեշտ աֆերենտ ինֆորմացիայի անընդհատ հոսքը ապահովվում է հիմնականում գլուտամատերգիկ համակարգով, ուստի ակնհայտ է այս համակարգի տարբեր տարրերի դիտարկումը որպես ցավազրկող ազդեցության թիրախներ [4,8,10]: Վերջին տարիներին ցավի կառավարման գործընթացներում հատկապես մեծ թափով ուսումնասիրվում է NMDA ընկալիչների նկատմամբ անտագոնիստական հատկություններով օժտված կետամինի, դեքստրոմետորֆանի, մեմանտինի, մագնեզիումի (Mg^{2+}) կլինիկական արդյունավետությունը՝ որպես կո-անալգետիկներ [3,11,15,18]:

Վերը նշվածը հիմք հանդիսացավ ուսումնասիրելու ԳԱԿԹ-ի և պիրոգլուտամինաթթվի պեպտիդների հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը: Պիրոգլուտամատը գլուտամինաթթվի ցիկլիկ ածանցյալն է և լայնորեն տարածված է կենսունակ բջիջներում և՛ որպես մի շարք նեյրոպեպտիդների N-էզրային մոդիֆիկացիա, և՛ որպես ազատ մետաբոլիտ: Հանդիսանալով գլուտամատի պոտենցիալ նախանյութ՝ այն սերտորեն կապված է գլուտամատերգիկ համակարգի բոլոր գործընթացների հետ: Բջիջներում կարող է վերածվել նաև գլուտամատի և ԳԱԿԹ-անման գրգռափոխանցիչների: Ներթափանցում է արյուն-ուղեղային պատնեշով՝ Na^{+} -կախյալ մոնոկարբօքսիլատային տրանսպորտային համակարգերի հետ կապվելով [9,10,12,15]:

Հականոցիցեպտիվ ազդեցության ուսումնասիրության համար մեր ընտրությունը կանգ առավ ԳԱԿԹ-ի և պիրոգլուտամինաթթվի ածանցյալների՝ պիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի, պիրոգլուտամիլԳԱԿԹ էթիլ էթերի, պիրոգլուտամիլդիԳԱԿԹ-ի վրա՝ որպես տեսականորեն մեծ

հետաքրքրություն ներկայացնող, սակայն դեռ չհետազոտված կենսաբանական ակտիվությամբ միացություններ:

Նյութը և մեթոդները

Հետազոտության մեջ օգտագործվել են 40 սեռահասուն, սպիտակ, ոչ ցեղական արու առնետներ՝ 125-254գ զանգվածով: Կենդանիները բաժանվել են 4 խմբի: Առաջին խումբը՝ կազմված 7 առնետից, հանդիսացել է ստուգիչ, և կենդանիները ստացել են 0,5 մլ թորած ջուր՝ ներորովայնային ներմուծմամբ (ն/ն): Երկրորդ, երրորդ և չորրորդ խմբերի կենդանիներին ներարկվել են փորձարկվող նյութերի ջրային լուծույթներ՝ 20մգ/կգ դեղաչափով, ն/ն: Երկրորդ խմբում ընդգրկված 10 առնետները ստացել են պիրոգլուտամիլԳԱԿԹ, երրորդ խմբի 12 առնետները՝ պիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի էթիլ էթեր, իսկ չորրորդ խմբի 11 առնետները՝ պիրոգլուտամիլդիԳԱԿԹ-ի լուծույթներ:

Ուսումնասիրվող նյութերի հականոցիցեպտիվ ակտիվությունը գնահատվել է Tail-flick թեստով, Analgesy-meter LE 7106 (Panlab) սարքով՝ ըստ պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածի փոփոխության [6,20]:

Հականոցիցեպտիվ ակտիվության գնահատման համար կենդանին տեղադրվել է հատուկ խողովակի մեջ, որը ֆիքսվում է արտափքումներով հարթակի վրա: Հարթակի վրա առկա է նաև ակոս, որի վրա տեղակայվում է առնետի պոչը: Զգայության շեմը գնահատելու նպատակով լույսի ճառագայթն ուղղվել է առնետի պոչի վերին մակերեսին՝ գրանցելով այն ժամանակահատվածը, որից հետո կենդանին հետ է ձգել պոչը: Գրանցվել է պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածը մինչև փորձարկվող նյութերի ներարկումը և ներարկումից 30, 60, 90 և 120 րոպե հետո: Պոչի հյուսվածքի վնասվածքներից (այրվածքից) խուսափելու համար լույսի ազդեցության տևողությունը չի գերազանցել 20 վայրկյանը:

Հականոցիցեպտիվ ակտիվությունը գնահատվել է նաև ԱՀԱ տոկոսի հաշվարկով՝ ըստ հետևյալ բանաձևի.

$$ԱՀԱ (\%) = \frac{(L_t - L_0)}{(L_{max} - L_0)} \times 100,$$

որտեղ՝ L_t – պոչի հետձգման լատենտ ժամանակն է ներարկումից 30, 60, 90, 120 րոպե անց,

L_0 – պոչի հետձգման ելքային լատենտ ժամանակն է,

L_{max} – միանվագ փորձարկման առավելագույն ժամանակն է, որը կիրառված մոդելում հավասար է 20 վրկ-ի:

Իրականացված բոլոր փորձերը կատարվել են Բիոէթիկայի ինստիտուցիոնալ կոմիտեի հետազոտվող կենդանիների օգտագործման և խնամքի ղեկավար սկզբունքների համաձայն [14]:

Հետազոտության տվյալների վիճակագրական մշակումն իրականացվել է IBM SPSS Statistics 20 և Microsoft Excel 2007 ծրագրերով: Ստացված տվյալները ներկայացված են խմբային միջին արժեքի $\pm$ ստանդարտ սխալի ($M \pm SE$) տեսքով: Տվյալների համեմատության համար կիրառվել է Ստյուդենտի t -չափանիշի երկկողմանի տարբերակը, տվյալները համարվել են վիճակագրորեն նշանակալի առաջին տիպի (α) սխալի 0.05-ից փոքր հավանականության դեպքում:

Արդյունքները և քննարկումը

Կատարված հետազոտությունների արդյունքներից ակնհայտ է դառնում, որ ուսումնասիրված ԳԱԿԹ-ի ածանցյալները ցուցաբերում են հականոցիցեպտիվ ակտիվություն, ինչի մասին են վկայում աղյուսակում բերված առնետների պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածի փոփոխությունները պիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի (ՊԳ), պիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի էթիլ էթերի (ՊԳԷ) և պիրոգլուտամիլդիԳԱԿԹ-ի (ՊԳԳ) ազդեցությամբ (աղյուսակ):

Աղյուսակում բերված արդյունքներից երևում է, որ ստուգիչ խմբում դիտարկման 30 և 60 րոպեների ընթացքում գրանցվել է պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածի մեծացում 20%-ի չափով, սակայն հաջորդ 90 և 120 րոպեների ընթացքում ուսումնասիրվող ցուցանիշն աստիճանաբար նվազել է՝ մոտենալով ելակետային արժեքին:

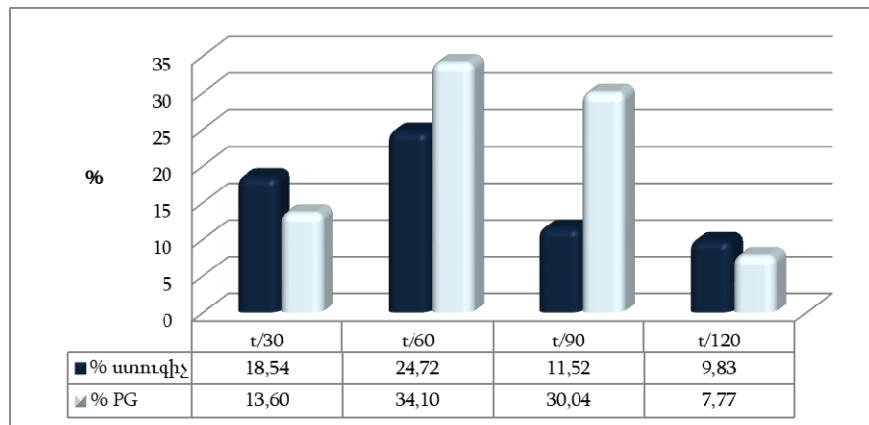
Աղյուսակ

Tail-flick թեստում գրանցված ՊԳ, ՊԳԷ, ՊԳԳ (20մգ/կգ) հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը ($M \pm SE$)

Ժամանակը ներարկումից հետո, ր	Պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածը, վրկ			
	Ստուգիչ – թորած ջուր (n=7)	ՊԳ (n=10)	ՊԳԷ (n=12)	ՊԳԳ (n=11)
0	5,09±0,26	5,66±0,48	5,03±0,21	5,42±0,28
30	6,03±0,29*	6,43±0,46	7,44±0,35	5,85±0,35
60	6,34±0,45*	7,59±0,43*	7,28±0,60*	7,41±0,46*
90	5,67±0,64	7,36±0,71	7,43±0,53*	6,84±0,37*
120	5,59±0,49	6,10±0,53	5,64±0,42	6,97±0,35*

* $p < 0,05$ (էլքային ցուցանիշի համեմատ)

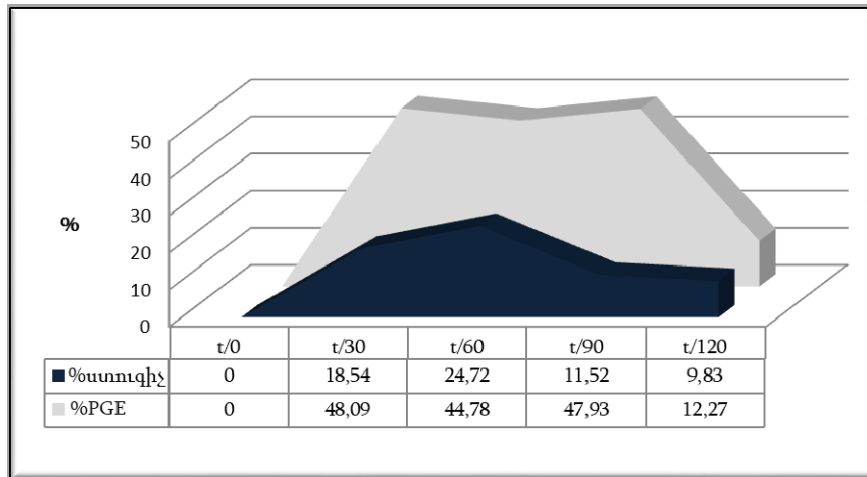
ՊԳ-ի 20մգ/կգ դեղաչափով ն/ո ներարկման պայմաններում կենդանիների պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածը աճել և առավելագույնի է հասել դիտարկման 60-րդ րոպեին՝ գերազանցելով ելակետային ցուցանիշը մոտ 34%-ով, իսկ 90 րոպե անց՝ 30%-ով, հաջորդիվ գրանցվել է ազդեցության նվազում, և դիտարկման 120-րդ րոպեին պոչի հետձգման լատենտ ժամանակն առանձնապես չի տարբերվել մեկնարկային արժեքից (նկ.1): Հատկանշական է, որ ուսումնասիրվող միացության ազդեցությամբ ստացված նոցիցեպցիայի մակարդակը բնութագրող ցուցանիշները գերազանցում են ոչ միայն ելակետային արժեքները, այլ նաև՝ ստուգիչ խմբում գրանցված համապատասխան ցուցանիշները: Այսպես, նոցիցեպցիայի շեմը ՊԳ-ի ներարկման 60-րդ րոպեին 20%-ով, իսկ 90-րդ րոպեին 30%-ով գերազանցում է ստուգիչ խմբի համապատասխան ցուցանիշները:



Նկար 1. PG-ի հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը (%) Tail-flick թեստում

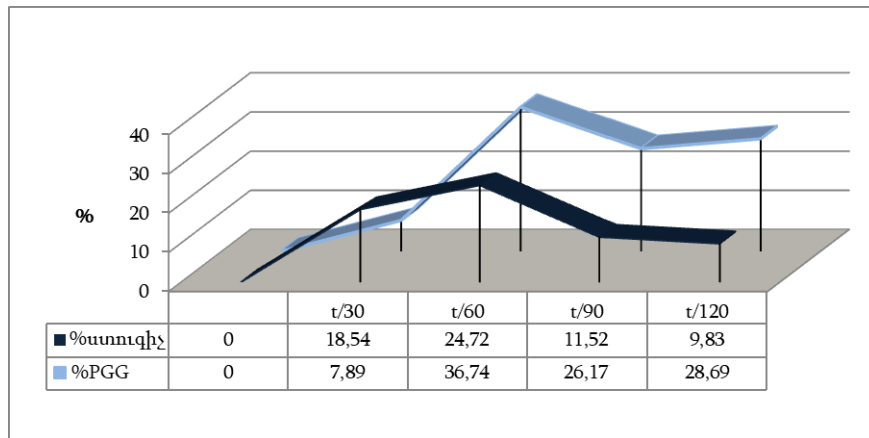
ՊԳԷ-ի 20մգ/կգ դեղաչափով ն/ո ներարկման պայմաններում ստացված պատկերն ուշադրության է արժանանում այն առումով, որ գրանցվում է հականոցիցեպտիվ ակտիվության ավելի արագ զարգացում, ինչի մասին է վկայում այն փաստը, որ դիտարկման արդեն իսկ 30-րդ րոպեին պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածը գերազանցում է ելակետային արժեքը մոտ 50%-ով: Ուսումնասիրվող ցուցանիշի հետագա մոնիթորինգը ցույց տվեց, որ մինչև դիտարկման 90-րդ րոպեն հետազոտվող միացությունը պահպանում է գրանցված ակտիվությունը առանց որևէ էական տեղաշարժի, որից հետո նոցիցեպցիայի շեմը սկսում է նվազել և արդեն դիտարկման 120-րդ րոպեին կազմում է 12% ելակետային արժեքի համեմատ (նկ.2): Այդ նույն գրանցման ժամանակահատվածներին համապատասխանող ցուցանիշների համեմատությունը ստուգիչ և ՊԳԷ ստացած կենդանիների

խմբերի միջև վկայում է, որ փորձարարական խմբի ցուցանիշները գերազանցում են ստուգիչ խմբի տվյալները 23%-ով՝ դիտարկման 30-րդ րոպեին և 31%-ով՝ 90-րդ րոպեին:



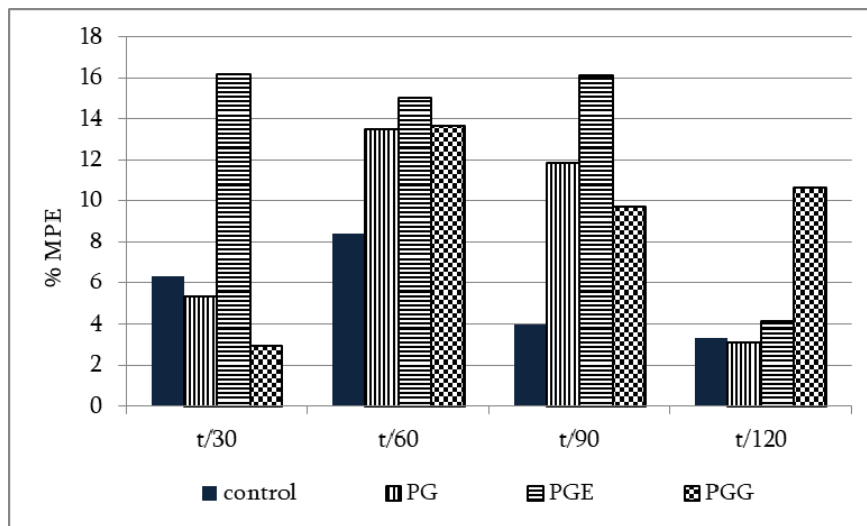
Նկար 2. PGE-ի հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը (%) Tail-flick թեստում

ՊԳԳ-ի 20մգ/կգ դեղաչափով ն/ո ներարկումն ուղեկցվում է կենդանիների պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածի մեծացմամբ, որն իր առավելագույն արժեքին է հասնում դիտարկման 60-րդ րոպեին՝ գերազանցելով ելակետային ցուցանիշը 37%-ով: Հաջորդիվ թեն գրանցվում է էֆեկտի նվազման միտում, սակայն միացության հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը պահպանվում է մինչև դիտարկման ավարտը (նկ.3): Ընդ որում ստուգիչ խմբի համեմատ այս խմբի կենդանիների մոտ հականոցիցեպտիվ ակտիվության աճի դինամիկա է նկատվում 60, 90, նույնիսկ 120-րդ րոպեներին՝ գերազանցելով ստուգիչ խմբի նշված ժամանակահատվածներին գրանցված արժեքները համապատասխանաբար՝ 17%, 21% և 25%-ով: Ավելին, ցավազրկող ազդեցության տևողությամբ ՊԳԳ-ն գերազանցում է ն՝ ՊԳ-ին, և՝ ՊԳԷ-ին, ինչի մասին է վկայում ուսումնասիրված միացությունների 120-րդ րոպեին պոչի հետձգման լատենտ ժամանակահատվածի ցուցանիշների համեմատությունը: Այսպես, եթե նշված ժամանակահատվածում ՊԳ-ի և ՊԳԷ-ի ցավազրկող ազդեցությունները գրեթե չեն տարբերվում ստուգիչ խմբի ցուցանիշից, ապա ՊԳԳ-ի գրանցած արդյունքը գերազանցում է թե՛ ստուգիչ խմբի, թե՛ ՊԳ-ի, թե՛ ՊԳԷ-ի արժեքները:



Նկար 3. PGG-ի հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը (%) Tail-flick թեստում

Հետազոտվող միացությունների հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը գնահատվել է նոցիցեպցիայի առավելագույն հնարավոր արժեքի տոկոսի (% ԱՀԱ) հաշվարկի միջոցով (նկ.4): Ինչպես վկայում են նկարում բերված արդյունքները, կատարված հաշվարկները ևս հաստատում են, որ ուսումնասիրված միացություններից առավել բարձր հականոցիցեպտիվ ազդեցությունը բնորոշ է ՊԳԷ-ին, իսկ ՊԳԳ-ն առանձնանում է ազդեցության երկարատևությամբ:



Նկար 4. ՊԳ-ի, ՊԳԷ-ի, ՊԳԳ-ի հականոցիցեպտիվ ազդեցության առավելագույն հնարավոր արժեքները (% ԱՀԱ)

Այսպիսով, ԳԱԿԹ-ի և պիրոգլուտամինաթթվի մնացորդներ պարունակող միացությունների շարքում նոր ցավազրկող միջոցների

փնտրտուքի նպատակով կատարված հետազոտությունները հնարավորություն տվեցին բացահայտելու հականոցիցեպտիվ ազդեցությամբ նոր միացություններ՝ պիրոգլուտամիլԳԱԿԹ, պիրոգլուտամիլԳԱԿԹ-ի էթիլ եթեր և պիրոգլուտամիլդիԳԱԿԹ, որոնք կախված կառուցվածքից ցուցաբերում են նոցիցեպցիայի շեմը տարբեր արտահայտվածության և տևողության երկարաձգելու ունակություն: Ստացված տվյալները թույլ են տալիս եզրակացնել, որ նշված միացությունները կարող են դիտարկվել որպես պոտենցիալ աղբյուր նոր ցավազրկող դեղամիջոցների ստեղծման համար:

Ընդունված է 12.07.19

Антиноцицептивная активность производных ГАМК и пироглутаминовой кислоты

**Н.А. Адамян, М.Г. Баласанян, Э.С.Секоян,
С.А. Григорян, К.В. Егоян**

Исследована антиноцицептивная активность пироглутамил ГАМК, этилового эфира пироглутамил ГАМК, пироглутамил диГАМК на крысах в тесте Tail-flick. Результаты проведенных экспериментов показали, что пироглутамил ГАМК и его производные в дозе 20мг/кг при внутривентральном введении проявляют антиноцицептивную активность, на что указывает их способность увеличивать латентное время отдергивания хвоста животных при световом воздействии. Полученные данные могут явиться основой для поиска новых средств с анальгетической активностью среди производных ГАМК и глутаминовой кислоты.

Antinociceptive Activity of GABA and Pyroglutamic Acid Derivatives

**N.H. Adamyan, M.G. Balasanyan, E.S. Sekoyan,
S.H. Grigoryan, K.V. Egoyan**

The antinociceptive activity of pyroglutamyl GABA, pyroglutamyl GABA ethyl ether and pyroglutamyl diGABA was investigated on rats by Tail-flick test. Obtained results of experimental data demonstrated that intraperitoneal administration of pyroglutamyl GABA and its derivatives in a dose of 20mg/kg appear antinociceptive activity, displayed by their ability to increase the tail-flick latency of animals during light exposure. The obtained data can be the basis for the development of new agents with analgesic activity among GABA and glutamic acid derivatives.

Գրականություն

1. Овсянников В.Г., Бойченко А.Е., Алексеев В.В., Каплиев А.В., Алексеева Н.С., Котиева И.М., Шумарин А.Е. Антиноцицептивная система. Медицинский вестник Юга России, 2014, (3), с.46-54.
2. Ahuja T., Mgbako O., Katzman C., Grossman A. Phenibut (β -Phenyl- γ -aminobutyric Acid) Dependence and Management of Withdrawal: Emerging Nootropics of Abuse. Case Rep Psychiatry, 2018.
3. Allen C.A., Ivester J.R. Low-Dose Ketamine for Postoperative Pain Management, 2018, Journal of Perianesthesia Nursing, 33 (4), p. 389-398.
4. Ben-Ari Y., Gaiarsa J.L., Tyzio R., Khazipov R. GABA: A Pioneer Transmitter That Excites Immature Neurons and Generates Primitive Oscillations, Physiol Rev., 2007, Oct; 87(4): 1215–1284.
5. Carter G.T., Duong V., Ho S., Ngo K.C., Greer C.L., Weeks D.L. Side effects of commonly prescribed analgesic medications, 2014, Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America, 25 (2), p. 457-470.
6. D'Amour F.E., Smith D.L., 1941, A Method for Determining Loss of Pain Sensation. J Pharmacol. Exp., Ther 72:74–79.
7. Dehkordi F.M., Kaboutari J., Zendehdel M., Javdani M. The antinociceptive effect of artemisinin on the inflammatory pain and role of GABAergic and opioidergic systems. Korean J. Pain, 2019, 32:160-167.
8. Enna S.J., McCarron K.E. The role of GABA in the mediation and perception of pain. Adv Pharmacol., 2006, 54:1-27.
9. Godugu B., Neta P., Simon-Manso Y., Stein S.E.: Effect of N-terminal glutamic acid and glutamine on fragmentation of peptide ions. J. Am. Soc. Mass. Spectrom., 2010, Jul;21(7):1169-76.
10. Koga K., Shimoyama S., Yamada A. et al. Chronic inflammatory pain induced GABAergic synaptic plasticity in the adult mouse anterior cingulate cortex. Mol Pain., 2018, 14.
11. Kreutzweiser D., Tawfic Q.A. Expanding Role of NMDA Receptor Antagonists in the Management of Pain. CNS Drugs, 2019, 33: 347.
12. Kumar A., Bachhawat A. Pyroglutamic acid: throwing light on a lightly studied metabolite. Curr. Sci., 2012, 102, 288–297.
13. Nagai J., Uesawa Y., Shimamura R., Kagaya H. Characterization of the Adverse Effects Induced by Acetaminophen and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Based on the Analysis of the Japanese Adverse Drug Event Report Database. Clin J Pain., 2017, 33(8):667–675.
14. National Research Council(US). Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition. Washington, DC: The National Academies Press(US), 2011.
15. Pain: Current Understanding of Assessment, Management, and Treatments. Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations, 2001.
16. Rajappa G.C., Vig S., Bevanaguddaiah Y., Anadaswamy T.C. Efficacy of Pregabalin as Premedication for Post-Operative Analgesia in Vaginal Hysterectomy. Anesth Pain Med., 2016, 6(3).
17. Rian W. Manville, Geoffrey W. Abbott. Gabapentin is a potent activator of KCNQ3 and KCNQ5 potassium channels. Mol Pharmacol., 2018, Oct., 94(4):1155-1163.
18. Suzuki M. Role of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists in postoperative pain management, Curr Opin Anaesthesiol. Oct. 2009, 22(5):618–622.
19. Suzuki T., Nurrochmad A., Ozaki M., Khotib J., Nakamura A., Imai S., Shibasaki M., Yajima Y., Narita M. Effect of a selective GABA(B) receptor agonist baclofen on the mu-opioid receptor agonist-induced antinociceptive, emetic and rewarding effects, Neuropharmacology, 2005, Dec., 49(8): 1121–1131.

-
20. *Tamrat Y., Nedi T., Assefa S., Teklehaymanot T., Shibeshi W.* Anti-inflammatory and analgesic activities of solvent fractions of the leaves of *Moringa stenopetala* Bak. (Moringaceae) in mice models. *BMC Complement Altern Med.*, 2017, 17(1):473.
 21. *Viswanath O., Urits I., Jones M.R. et al.* Membrane Stabilizer Medications in the Treatment of Chronic Neuropathic Pain: a Comprehensive Review. *Curr Pain Headache Rep.*, 2019, May, 1;23(6):37.

ՀՏԴ 577.152.353 : 615.214

Մտամոլության L-արգինին կախյալ մեխանիզմները դեքսամֆետամինով մակածված երկրենո խանգարման ժամանակ

Մ.Ռ. Հովհաննիսյան

*ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվ. կենսաքիմիայի ինստիտուտ
0014, Երևան, Պ. Սևակի փ., 5/1*

Բանալի բառեր. ազոտի օքսիդի սինթազ, արգինազ, բջջապլազմա, լեյկոցիտներ, կեղևալիմֆական համակարգ, միտոքոնդրիում, մտամոլություն

Երկրենո խանգարումը (ԵԽ) դրսևորվում է ընկճվածության, հիպոմանիայի ու մանիայի պարբերաբար կրկնվող դրվագներով, և հիվանդների 75%-ը ունեն ժառանգական նախահակվածություն [32,31]: Սթրեսը ԵԽ ռիսկի գործոն է, ու վերջին տարիներին այդ հիվանդների թիվը զգալի աճել է և կազմում է բնակչության 1%-ը [14]: Այնուամենայնիվ ԵԽ ախտաբանական մեխանիզմներն առ այսօր լիովին պարզաբանված չեն, ու հիվանդների կեսից ավելին չեն ենթարկվում ավանդական բուժման [7]: Այդ առումով հեռանկարային է ԵԽ հակադիր դրվագների հիմքում ընկած կենսաքիմիական տեղաշարժերի ուսումնասիրությունը՝ նոր թերապևտիկ թիրախներ բացահայտելու համար:

ԵԽ մտամոլության կամ մանիակային դրվագները բնութագրվում են դյուրագրգիռ վիճակով, էներգիայի աճով, քնի նվազումով, որոնք դրսևորվում են նեյրոտրանսմիսիայի պրոցեսների խթանման պայմաններում, որոնց կարգավորման մեջ, ըստ ժամանակակից պատկերացումների, մեծ դեր է խաղում ազոտի օքսիդի սինթազը (NOS) [15]: NOS-ը սինթեզում է L-արգինինից NO, որը նոր սերնդի նյարդափոխադրիչ և նյարդակարգավորիչ է և ներգրավվում է դոֆամինի, նորադրենալինի, սերոտոնինի, ադրենալինի, գլուտամատի, ասպարտատի սինթեզի և արտազատման, քայքայման և հետկլանման մեխանիզմների մեջ ու մասնակցում տրամադրության դրսևորումներին [27]: Դա թույլ է տալիս NOS-ը դիտարկել որպես հեռանկարային թերապևտիկ թիրախ աֆեկտիվ խանգարումների ժամանակ [37]: NOS-ի հետ սերտորեն կապված է արգինազը, որը մրցակցում է նույն սուբստրատի՝

արգինինի հետ և սահմանափակելով արգինինի պարունակությունը հյուսվածքներում՝ կարող է NOS-միջնորդավորված և NOS-անկախ ուղիներով մասնակցել նեյրոտրանսմիսիայի գործընթացներին [24]: Ավելին, արգինազը կարող է ներգրավվել ԵՄ ախտաբանության մեջ [21]: Սակայն այդ ուղղությամբ հետազոտությունները սակավաթիվ են և հակասական, ինչը մասնավորապես պայմանավորված է արգինազի երկու իզոմերով՝ բջջապլազմային Ա1 և միտոքոնդրիումային Ա2, որոնք ներկայացված են օրգանիզմի գրեթե բոլոր հյուսվածքներում [10] և ունեն տարբեր ֆունկցիոնալ նշանակություն:

Ներկայացված աշխատանքում ԵՄ մտամոլության փուլում հետազոտվել են արգինազի իզոմերը և նիտրերգիկ համակարգը գլխուղեղ-արյուն համակարգում առնետի դեքսամֆետամինով մակաձված ԵՄ մոդելում:

Նյութը և մեթոդները

Աշխատանքում օգտագործվել են *α*-ամֆետամին սուլֆատ (դեքսամֆետամին, AMPH) (Sigma, St. Louis, Mo.), L-արգինին·HCl, դեքստրան (Leuconostoc spp. Mr=100.000), HEPES, EDTA և “Reanal” (Հունգարիա) և “Рeаxim” (Ռուսաստան) արտադրության այլ ռեակտիվներ:

Հետազոտություններն անցկացվել են համաձայն կենդանիների հետ աշխատելու Եվրախորհրդի՝ 22.09. 2010թ. ցուցումների և ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի կենսաբժշկական էթիկայի հանձնաժողովի կանոնների: Փորձերն իրականացվել են 2-3 ամսական 150-200 գ քաշով սպիտակ արու առնետների վրա, որոնք պահվել են ինստիտուտի վիվարիումում՝ բնական լույսի, սենյակային ջերմաստիճանի պայմաններում:

Կենդանիները բաժանվել են խմբերի (n=18 առնետ/ խումբ). ստուգիչ - առողջ առնետներ, ԵՄ-առնետներ, որոնց պարբերաբար ներարկվել են AMPH-ի աճող դոզաներ՝ 2-6 մգ/կգ քաշին (18 ներարկում՝ 0.2 մլ AMPH միանվագ ներմկանային ներարկմամբ յուրաքանչյուր աշխատանքային օր, դադար հանգստյան օրերին):

AMPH-ի ներարկումների ռեժիմը՝ 2 մգ/կգ – 5 օր, 3 մգ/կգ – 4 օր, 4 մգ/կգ – 3 օր, 5 մգ/կգ – 3 օր, 6 մգ/կգ – 3 օր:

Գլխատվելուց առաջ կատարվել է վարքային բնութագրի հետազոտություն:

Ստերեոտիպային վարքը գնահատվել է ըստ համապատասխան սանդղակի [11]:

Վարքային բնութագիրը՝ շարժողական, հետազոտական, ռիսկային վարքը, գրումինգը, դեֆեկացիաները գնահատվել են բաց դաշտ և բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոս թեստերի միջոցով [1,6]:

Կենսաբանական նյութի ստացումը: Գլխուղեղից անջատվում են նախաճակատային կեղևը, զոլավոր մարմինը, հիպոկամպը և հիպոթալամուսը, որոնք հոմոգենիզացվում են սառը 20 մՄ HEPES բուֆերում՝ 0.25 Մ սախարոզով, 2 մՄ դիթիոտրեիտով, pH 7.4 (1:10 կշիռ/ծավալ) Պոտերի հոմոգենիզատորի օգտագործմամբ (1500 պտ/ր 3 ր):

Արյան լեյկոցիտների անջատումը: Արյունը ստացվում է գլխատման ժամանակ 3.8 % $\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5.5 \text{H}_2\text{O}$ հականակարդիչի մեջ, ավելացնում են 6 % դեքստրան ($\text{Mr}=100.000$ ՝ պատրաստված 0,9 % NaCl լուծույթում) 1:1 ծավալների հարաբերությամբ, ինկուբացնում (60 ր 37°C) ու նստեցնում են էրիթրոցիտները, ապա կատարվում է լեյկոցիտներ ու թրոմբոցիտներ պարունակող պլազմայի դեկանտացիա, որը ցենտրիֆուգում են 1000 պ/ր 5 ր, և նստվածքում անջատվում են լեյկոցիտները [4]: Լեյկոցիտները լվացվում և հոմոգենիզացվում են Պոտերի հոմոգենիզատորով (1500 պտ/ր 3 ր) 20 մՄ HEPES բուֆերում, որը պարունակում է 0.25 Մ սախարոզ, 2 մՄ դիթիոտրեիտով, pH 7.4:

Բջջապլազմայի ու միտոքոնդրիումների անջատումը նյարդային հյուսվածքներից և լեյկոցիտներից կատարվում է դիֆերենցիալ ցենտրիֆուգման եղանակով [2]:

Գլխուղեղի բաժինների հոմոգենատներից նստեցվում են կորիզները և բջջային բեկորները 3000 պտ/ր 10 ր ցենտրիֆուգմամբ, իսկ վերնստվածքը կրկին ցենտրիֆուգվում է 15000 պտ/ր 20 ր, վերնստվածքում անջատվում է բջջապլազման, նստվածքում՝ միտոքոնդրիումները, որոնք լվացվում և հոմոգենիզացվում են 20 մՄ HEPES բուֆերում՝ 0.25 Մ սախարոզով, 2 մՄ դիթիոտրեիտով, pH 7.4:

Լեյկոցիտների հոմոգենատներից նստեցվում են կորիզները և բջջային բեկորները 1200 պ/ր 10 ր 4°C ցենտրիֆուգմամբ, ստացված վերնստվածքը ցենտրիֆուգում են 11000 պ/ր 20 ր 4°C, ու անջատվում են վերնստվածքում՝ բջջապլազման, նստվածքում՝ միտոքոնդրիումները, որոնք լվացվում և հոմոգենիզացվում են 20 մՄ HEPES բուֆերում՝ 0.25 Մ սախարոզով, 2 մՄ դիթիոտրեիտով, pH 7.4:

Արգինազի ակտիվության որոշումը: Նմուշներն ինկուբացվում են 37°C 60 ր ռեակցիոն խառնուրդում՝ 20 մՄ HEPES բուֆեր, 2 մՄ դիթիոտրեիտով, pH 7.4, 0.05 Մ $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.2 Մ L-արգինին-HCl, ռեակցիան կանգնեցվում է 10 %-անոց CaCl_2 -ով, նմուշները ցենտրիֆուգվում են 15000 պ/ր, 3 ր, ու սպիտակուցազուրկ վերնստվածքում

որոշվում է L-օրնիտինի պարունակությունը, որն առաջացել է արգինազային ռեակցիայում [16]: Ջուգահեռ վերահսկման փորձերում նմուշներն ինկուբացվում են արգինազի իզոմերի ոչ սելեկտիվ արգելակիչ 60 մՄ L-վալինի առկայությամբ:

Արգինազի ակտիվությունն արտահայտվել է՝ մկմոլ L-օրնիտին/մգ սպիտակուց/ժ:

L-օրնիտինի պարունակության որոշումը կատարվում է սպիտակուցագուրկ վերնստվածքում, որին ավելացնում են 4.5 %-անոց նինհիդրին (0.5 : 1 ծավալների հարաբերությամբ), տաքացնում 90 °C 25 ր ջրային բաղնիքում և սառեցնելուց հետո կլանումը չափում են 505 նմ ալիքի երկարությամբ ընդդեմ ստուգիչի (բոլոր ռեակտիվների միևնույն նմուշը) [16]:

Օրնիտինի քանակը հաշվարկվում է L-օրնիտինի ճշգրտման կորով:

Ազոտի օքսիդի սինթազի ակտիվության որոշումը: Նմուշներն ինկուբացնում են 22 ժ 37°C ռեակցիոն խառնուրդում՝ 20 մՄ HEPES բուֆեր 2 մՄ դիթիոտրեյտոլով, pH 7.4, NOS-ի սուբստրատ՝ 0.2 Մ L-արգինին-HCl, NOS-ի կոֆակտորներ՝ 0.2 մՄ NADPH, 6 մկՄ FAD, 5.5 մկՄ FMN, 20 մկՄ (6R)-5,6,7,8-տետրահիդրո-L-բիոպտերինդիհիդրոքլորիդ [13,28]: Ջուգահեռ ստուգիչ փորձերում ռեակցիոն խառնուրդին ավելացնում են NOS-ի ոչ ընտրողական արգելակիչ՝ 5 մՄ N^G-մոնոմեթիլ-L-արգինին հիդրոքլորիդը [3]: Ռեակցիան կանգնեցվում է՝ 0.5 Մ NaOH և 10 %-անոց ZnSO₄ ավելացմամբ, նմուշները ցենտրիֆուգում են (15000 պ/ր, 3 ր), և սպիտակուցագուրկ վերնստվածքում որոշվում է նիտրիտների պարունակությունը, որն առաջացել է NOS-ի ռեակցիայում:

NOS-ի ակտիվությունն արտահայտվել է՝ նմոլ (NO₂⁻)/մգ սպիտակուց/22 ժ:

NO-ի կայուն մեթաբոլիտների պարունակության որոշումը: Սպիտակուցագուրկ վերնստվածքներին ավելացնում են Գրիս-Իլոսվայի ռեակտիվը (0.17% սուլֆանիլաթթու, 0.05 % α-նաֆտիլամին, 12.5 % քացախաթթու) 1:1 ծավալային հարաբերությամբ և կլանումը չափում են 546 նմ ալիքի երկարությամբ ընդդեմ ստուգիչի (բոլոր ռեակտիվների միևնույն նմուշը) [30]:

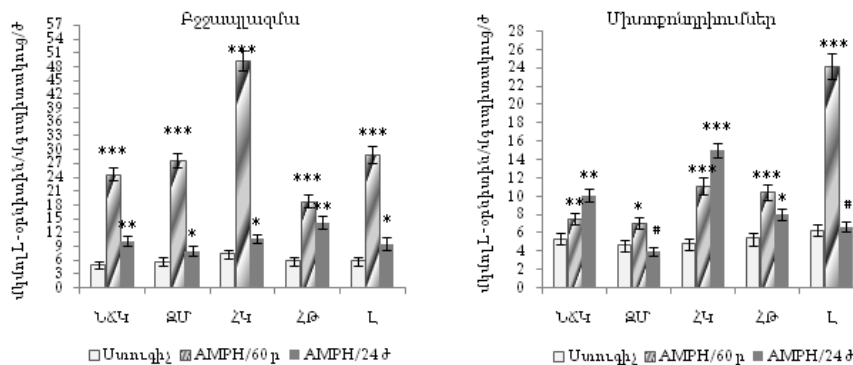
Նիտրիտների կոնցենտրացիան հաշվարկվում է NaNO₂-ի ճշգրտման կորով:

Սպիտակուցը որոշվել է Լոուրիի մեթոդով. քանակը հաշվարկվել է ճշգրտման կորով, և որպես չափորոշիչ ընդունվել է եզան բյուրեղային շիճուկի ալբումինը [22]:

Վիճակագրական վերլուծությունն իրականացվել է պարամետրիկ միագործոն դիսպերսիոն անալիզի (one-way Anova) և Հոլմ-Սիդակի հետդիսպերսիոն թեստի միջոցով (Sigma Stat 3.5 for Windows): Տվյալները ներկայացվել են միջին (M) $\pm$ ստանդարտ սխալի միջինը (SEM): Հավաստիության չափանիշը ընդունվել է $p < 0.05$:

Արդյունքները և քննարկումը

Աշխատանքում օգտագործվել է առնետի ԵՖ մոդել՝ հոգեխթանիչ դեքսամֆետամինի (AMPH) աստիճանաբար աճող դոզաների պարբերական ներմուծմամբ, որը համապատասխանում է մարդու ԵՖ էնդոֆենոտիպին [12,29]: Մեր փորձերում AMPH-ի ներմուծումներն առաջացնում են մտամոլությանը նման դրսևորումներ՝ գերակտիվություն, իսկ 4-6 մգ/կգ դոզաների դեպքում՝ նաև ստերեոտիպիա, որը 30-60 րոպե հետո փոխվում է գերակտիվության, իսկ 24 ժ հետո՝ ընկճվածության [25]: Մտամոլության փուլում բացահայտվել է արգինազի իզոձևերի խթանում կեղևալիմբիական համակարգի բաժիններում և արյան լեյկոցիտներում (նկ. 1): Բջջապլազմայում Ա1-ի ակտիվությունն աճում էր 5, 4.9, 6.7, 3.2 և 5.1, իսկ միտոքոնդրիումներում՝ Ա2-ը 1.4, 1.5, 2.3, 1.9 և 3.8 անգամ՝ նախաձևակատային կեղևում (ՆՃԿ), զուլավոր



Նկ. 1. Արգինազի իզոձևերի ակտիվությունը գլխուղեղի կեղևալիմբիական համակարգի բաժիններում և արյան լեյկոցիտներում՝ դեքսամֆետամինով (AMPH) մակաձված ԵՖ մտամոլության փուլում: Այստեղ և ստորև գծապատկերներում արդյունքները ներկայացվել են որպես $M \pm SEM$, $n=18$, և դրանց տարբերության հավաստիությունը (p) գնահատվել է ստուգիչի համեմատ: Հավաստիության չափանիշը՝ $p < 0.05$: # $p > 0.05$,

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

մարմնում (ՁՄ), հիպոկլամպում (ՀԿ), հիպոթալամում (ՀԹ) և լեյկոցիտներում, համապատասխանաբար՝ ստուգիչի համեմատ: Արդյունքում գլխուղեղում Ա1-ի ակտիվությունը գերազանցում էր Ա2-ը, ինչը կանդրադառնա ենթաբջջային նյութափոխանակության վրա, որը կրնա լինի պրոլինի և գրգռիչ ամինաթթու գլուտամատի սինթեզի ուղղությամբ օրնիտինամինոտրանֆերազի ներգրավմամբ [10]: Դա կարող է խթանել գլուտամատերգիկ տրանսմիսին՝ նպաստելով գրգռման ու գերակտիվության զարգացմանը և հանգեցնելով մտամոլության: Նշենք, որ գլուտամատը մասնակցում է ամֆետամինային շարքի հոգեխթանիչների նեյրոտրանսմիսիային և ԵՖ ախտաբանությանը [17]:

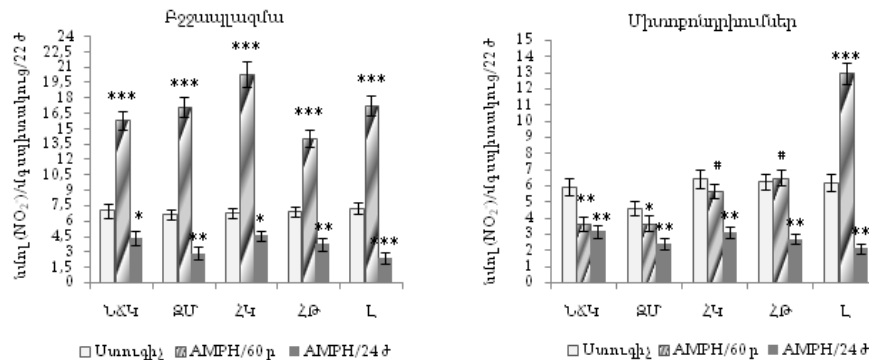
Այնուամենայնիվ, Ա2-ի ակտիվությունը խթանվում է միտոքոնդրիումներում և օրնիտինդեկարբոքսիլազի ներգրավմամբ ուղղորդում է L-օրնիտինի փոխարկումը պուտրեսցինի, ապա պոլիամինների, որոնք մասնակցում են բջիջների դիֆերենցմանը և պրոլիֆերացիային, ինչպես նաև սթրես-պատասխանին [20]: Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ Ա2-ի խթանումը կարող է մասնակցել պոլիամինների մակարդակի աճին, որը ցուցադրվել է ԵՖ-ով և շիզոֆրենիայով հիվանդների գլխուղեղում (post mortem) և պլազմայում [33]: Չի բացառվում, որ Ա2-միջնորդավորված պոլիամինների սինթեզը կարող է հանգեցնել գլխուղեղում միկրո- և աստրոգլիոզի, որը զարգանում է մետամֆետամին օգտագործող թմրամոլների մոտ, որոնք և հաճախ հիվանդանում են ԵՖ-բ [36]:

AMPH-ի ներմուծման ավարտից 24 ժ հետո՝ ընկճվածության ժամանակ, Ա2-ի ակտիվությունը շարունակում է աճել ՆՃԿ-ում և ՀԿ-ում, որոնք կարևոր դեր են խաղում ԵՖ-ի ախտաբանության մեջ՝ գերազանցելով ստուգիչին 1.9 և 3.2 անգամ՝ համապատասխանաբար: Միաժամանակ դիտվում է արգինազի իզոմերների ակտիվության նվազման միտում, սակայն այն գերազանցում է ստուգիչին՝ Ա1-ը՝ 2.0, 1.4, 1.5, 2.4 և 1.7 անգամ՝ ՆՃԿ-ում, ՁՄ-ում, ՀԿ-ում, ՀԹ-ում և լեյկոցիտներում՝ համապատասխանաբար, իսկ Ա2-ը՝ միայն ՀԹ-ում՝ 1.5 անգամ, վերջինս կարգավորվում է ՁՄ-ում ու լեյկոցիտներում (նկ. 1):

Լեյկոցիտներում արգինազի իզոմերների խթանման ժամանակ Ա1-ի ակտիվությունը գերիշխում է Ա2-ի նկատմամբ և կարող է ազդել մակրոֆագերի ֆենոտիպի դրսևորմանը, քանի որ Ա1-ը բնորոշ է M2 հակաբորբոքային մակրոֆագերին, իսկ Ա2-ը՝ M1 բորբոքային մակրոֆագերին [35]: Այդպիսի հակադիր ազդեցության շնորհիվ արգինազի իզոմերները կարող են կարգավորել իմունային պատասխանը: Բացի այդ, Ա1-ը և Ա2-ը ճնշում են ախտածին մանրէների աճը, և Ա1-ը նեյտրոֆիլներում ցուցաբերում է հակասնկային ակտիվություն [26]: Դա

նույնպես կարող է նվազեցնել գերակտիվացած իմունային պատասխանը:

Հստ կուտակված տվյալների՝ NOS-ի բոլոր իզոմերները մասնակցում են ԵՄ-ի ախտաբանությանը, և դրանց էքսպրեսիան և ակտիվությունը փոփոխվում են ԵՄ հիվանդների մոտ բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում [27]: Դրանից ելնելով՝ մեր աշխատանքում հետազոտվել է NOS-ի ընդհանուր ակտիվությունը: Նկար 2-ում երևում է, որ մտամոլության փուլում խթանվում է և NOS-ը, որի ընդհանուր ակտիվությունն աճում է գլխուղեղի հյուսվածքների բջջապլազմայում՝ միաժամանակ կրկնակի խթանվելով լեյկոցիտների բջջաբաղադրամասերում:



Նկ. 2. Ազոտի օքսիդի սինթազի ենթաբջջային ակտիվությունը գլխուղեղի կեղևալիմբիկական համակարգի բաժիններում և արյան լեյկոցիտներում՝ դեքսամֆետամինով (AMPH) մակաձված ԵՄ մտամոլության փուլում

NOS-ի ընդհանուր ակտիվությունը խթանվում է ՆՃԿ-ի, ՋՄ-ի, ՀԿ-ի և ՀԹ-ի բջջապլազմայում՝ 2.3, 2.6, 3.1 և 2.1 անգամ, իսկ ՆՃԿ-ի և ՋՄ-ի միտոքոնդրիումներում թեթևակի նվազում էր 1.6 և 1.3 անգամ, ստուգիչի համեմատ, համապատասխանաբար, և չէր փոփոխվում ՀԿ-ում և ՀԹ-ում: Հենց բջջապլազմային NOS-ը հիմնական դեր է խաղում հասուն նեյրոնների միտոքոնդրիումներից կալցիումի արտազատման ժամանակ, ինչը նպաստում է նեյրոտրանսմիտերների արտազատմանը վիզիկուլներից սինապտիկ ճեղք: Նիտրերգիկ համակարգը կարող է նաև խթանել կալցիում կախյալ գրգռման գործընթացները ագեոլիլտլինի, cGMP-ի միջոցով [15]: Այսպիսով, NOS-ի և արգինազի միաժամանակյա խթանումը, ներգրավելով վերը նշված նյութափոխանակության տեղաշարժերը, այդ թվում՝ գլուտամատերգիկ/NO ուղին, կարող է մասնակցել ԵՄ-ի մտամոլության գործընթացներին:

Մեր փորձերի ընթացքում՝ 24 ժ հետո՝ ընկճվածության ժամա-

նակ, արգինազի իզոմերների ակտիվության նվազմանը զուգահեռ (ինչը նշվել է վերևում), նվազում է նաև NOS-ի ակտիվությունը՝ ՆՃԿ-ի, ՋՄ-ի, ՀԿ-ի, ՀԹ-ի և լեյկոցիտների բջջապլազմայում՝ 1.6, 2.4, 1.5, 1.9 և 3.1 և միտոքոնդրիումներում՝ 1.9, 1.9, 2.1, 2.3 և 2.9 անգամ, ստուգիչի համեմատ, համապատասխանաբար (նկ. 2): Այդ նվազումը մասնավորապես կարող է պայմանավորվել արգինազի և NOS-ի փոխադարձ արգելակմամբ: Արգինազը ճնշում է NOS-ի ակտիվությունը՝ սահմանափակելով NOS-ի սուբստրատի՝ արգինինի պարունակությունը, որը միաժամանակ անհրաժեշտ է NOS-ի հիմնական կոֆակտոր տետրահիդրոբիոպտերինի (BH4) սինթեզի համար: Ցուցադրվել է, որ L-արգինինի սննդային հավելումը բարձրացնում է BH4-ի մակարդակը առնետի էնդոթելային բջիջներում [18]: L-արգինինը և BH4-ը անհրաժեշտ են NOS-ի մոնոմերների ակտիվ դիմերների հավաքի, ինչպես նաև ֆերմենտի կառուցվածքի, կոնֆորմացիայի և կատալիտիկ ակտիվության համար [5]: Բացի այդ, արգինազն առաջացնում է միզանյութ, որը նույնպես խոչընդոտում է iNOS-ի մոնոմերներից ակտիվ դիմերների ձևավորումը [23]: Ցուցադրվել է նաև NOS/NO-ի արտադրության արգելակում գլխուղեղի միտոքոնդրիումներում Ա2-ի կողմից [34]: Ա2-ը պոլիամինների միջնորդությամբ արգելակում է iNOS-ի տրանսլյացիան ու NO-ի գերարտադրությունը [9]: NOS-ը իր հերթին կարող է ճնշել արգինազի ակտիվությունն առաջին միջանկյալ արգասիքի՝ N^G -հիդրօքսի-L-արգինինի միջոցով, որը արգինազի իզոմերների հզոր արգելակիչ է [8]:

Ուշագրավ է, որ արգինազը, նվազեցնելով արգինինի և BH4-ի մակարդակը, կարող է ճնշել մոնոամինային նյարդափոխադրիչների կենսասինթեզը, քանի որ BH4-ը արոմատիկ ամինաթթուների՝ տրիպտոֆան-, թիրոզինի և հիդրօքսիլազների հիմնական կոֆակտորն է [19]: Դա կարող է իր դերը խաղալ մտամոլությունից ընկճվածության անցնելու գործընթացում:

Այսպիսով, մտամոլության փուլում առաջին անգամ դեքսամֆետամինով մակաձված ԵՄ-ի ժամանակ բացահայտվել է արգինազի իզոմերների և NOS-ի խթանում կեղևալիմբիական համակարգի բաժիններում, որն ակտիվացնում է մտամոլության հիմքում ընկած մոլեկուլային մեխանիզմները: Այդ ֆերմենտային համակարգերի խթանումը դիտվում է և՛ արյան լեյկոցիտների բջջապլազմայում, և՛ միտոքոնդրիումներում՝ ներգրավվելով իմունային պատասխանի խթանման և ԵՄ-ի հոգեմոլունային մեխանիզմներում: Ելնելով վերը նշվածից՝ հետա-նկարային է արգինազի և NOS-ի հետագա հետազոտությունը կլինիկայում՝ որպես թերապևտիկ թիրախ աֆեկտիվ հիվանդությունների ժամանակ:

Ընդունված է 19.07.19

L-аргинин-зависимые механизмы мании при дексамфетамин-индуцированном биполярном расстройстве

М. Р. Оганнисян

Впервые выявлено значительное повышение активности изоформ аргиназы и цитоплазматической синтазы оксида азота в регионах кортико-лимбической системы в маниакальной фазе дексамфетамин-индуцированного биполярного расстройства, что стимулирует молекулярные механизмы маниакального поведения. Стимулирование активности вышеуказанных ферментов в цитоплазме и митохондриях лейкоцитов крови активирует иммунный ответ, включаясь в психоиммунные механизмы биполярного расстройства. Полученные результаты указывают на перспективность дальнейшего изучения аргиназы и NOS для использования в качестве терапевтических мишеней при аффективных расстройствах.

L-Arginine-dependent Mechanisms in Mania Following Dexamphetamine-Induced Bipolar Disorder

M. R. Hovhannisyan

For the first time, a significant increase in the activity of arginase isoforms and cytoplasmic nitric oxide synthase is revealed in the regions of corticolimbic system in the manic phase of dexamphetamine-induced bipolar disorder, suggesting the involvement of these enzymes in the molecular mechanisms underlying mania. These enzymes are activated also in the cytoplasm and mitochondria of blood leukocytes, and stimulating immune response may be involved in the psychoimmune processes in bipolar disorder. The results obtained offer the prospects of the further study the arginase and NOS for use as therapeutic targets in affective disorders.

Գրականություն

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М., 1991.
2. Дижс Г.П., Ещенко Н.Д., Дижс А.А., Красовская И.Е. Введение в технику биохимического эксперимента. СПб., 2003.
3. Проскуряков С.Я., Конопляников А.Г., Скворцов В.Г. и др. Структура и активность ингибиторов NO-синтаз, специфичных к L-аргинин связывающему центру. Биохимия, 2005, 70 (1), с.14–32.
4. Фрик Г., Прейснер З.С., Иенсен Г.Л., Бурмейстер Ю. В кн.: Иммунологические методы (под ред. Х. Фримеля), М., 1979.

5. Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J.*, 2001, 357, 593–615.
6. Augustsson H., Meyerson B. Exploration and risk assessment: a comparative study of male house mice (*Mus musculus*) and two laboratory strains. *Physiol. Behav.* 2004, 81 (4), 685–698.
7. Blanco C., Compton W.M., Saha T.D. *et al.* Epidemiology of DSM-5 bipolar I disorder: results from the National epidemiologic survey on alcohol and related conditions—III. *J. Psychiatr. Res.*, 2017, (84), p.310–317.
8. Boucher J.L., Moali C., Tenu J.P. Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization. *Cell Mol. Life Sci.* 1999, 55, (8-9), 1015–1028.
9. Bussiere F.I., Chaturvedi R., Cheng Y. *et al.* Spermine causes loss of innate immune response to *Helicobacter pylori* by inhibition of inducible nitric oxide synthase translation. *J. Biol. Chem.*, 2005, 280, 2409–2412.
10. Cederbaum S.D., Yu H., Grody W.W. *et al.* *Mol. Genet. Metab.*, 2004, 81 (1), 38–44.
11. Costall B., Nylor R., Olley J. The substantia nigra and stereotyped behavior. *Eur. J. Pharmacol.*, 1972, 18, p.95–106.
12. Einat H., Shaldubina A., Bersudsky Y., Belmaker R.H. Prospects for the Development of Animal Models for the Study of Bipolar Disorder. p. 19-31. In *Bipolar disorders: basic mechanisms and therapeutic implications*—2nd ed./edited by J.C. Soares, A.H. Young. Informa Healthcare USA, Inc. New York, London, 2007, 1–420.
13. Gagnon C., Leblond F.A., Filep J.G. Peroxynitrite production by human neutrophils, monocytes, lymphocytes challenged by lipopolysaccharide. *FEBS Lett.*, 1998, 431 (1), 107–110.
14. Geddes J.R., Miklowitz D.J. Treatment of bipolar disorder. *Lancet*, 2013; 381: 1672–1682.
15. Ghasemi M., Claunich J., Niu K. Pathologic role of nitrergic neurotransmission in mood disorders. *Prog Neurobiol.* 2018, 173, 54-87.
16. Iyamu E.W., Asakura T., Woods G.W. A colorimetric microplate assay method for high throughput analysis of arginase activity in vitro. *Anal. Biochem.* 2008, 383 (2), 332–334.
17. Kim Y., Santos R., Gage F., Marchetto M.C. Molecular Mechanisms of Bipolar Disorder: Progress Made and Future Challenges. *Frontiers in Cellular Neuroscience.* 2017, 11, 30-41.
18. Kohli R., Meininger C.J., Haynes T.E. *et al.* Dietary L-arginine supplementation enhances endothelial nitric oxide synthesis in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Nutr.*, 2004 (134), 600–608.
19. Kudlow P., Cha D.S., Carvalho A.F., McIntyre R.S. Nitric oxide and major depressive disorder: pathophysiology and treatment implications. *Curr. Mol. Med.*, 2016, 16, 206–215.
20. Limon A., Mamdani F., Hjelm B.E. *et al.* Targets of polyamine dysregulation in major depression and suicide: Activity-dependent feedback, excitability, and neurotransmission. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 2016, 66, 80-91.
21. Liu P., Jing Y., Collie N.D. Altered brain arginine metabolism in schizophrenia. *Translational Psychiatry.*, 2016, 6 (8), 871–881.
22. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, 265–275.
23. Moeslinger T., Friedl R., Volf I., Brunner M. *et al.* Urea induces macrophages proliferation by inhibition of inducible nitric oxide synthesis. *Kidney Int.*, 1999, 56 (2), 581–588.
24. Morris S.M.Jr. Arginases and arginine deficiency syndromes. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*, 2012, 15 (1), 64–70.
25. Movsesyan H.A., Alchujyan N.Kh., Aghababova A.A. *et al.*, Effects of d-amphetamine on the regional activity of arginase isoforms in the rat corticolimbic brain. *Ученые записки ЕГУ, Химия и Биология/ Proceedings of the YSU, Chemistry and biology*, 2016, 3, с. 40-47.

26. *Munder M.* Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system. *British J. Pharmacol.*, 2009, 158, 638–651.
27. *Philippu A.*, Nitric Oxide: A Universal Modulator of Brain Function, *Curr. Med. Chem.*, 2016, 23 (24), 2643.
28. *Radi R.* Peroxynitrite, a Stealthy Biological Oxidant. *The Journal of Biological Chemistry.*, 2013, 288 (37), 26464–26472.
29. *Robinson T.E., Camp D.M.* Long-lasting effects of escalating doses of d-amphetamine on brain monoamines, amphetamine-induced stereotyped behavior and spontaneous nocturnal locomotion. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1987, 26 (4), 821–827.
30. *Schmidt H.H.H.W., Kelm M.* Determination of nitrite and nitrate by the Griess reaction. In: *Feelisch M., Stamler J.S.*, eds. *Methods in Nitric Oxide Research*. Wiley, Chichester., 1996, 491–497.
31. *Soares J.C., Young A.H.*, Bipolar disorders: basic mechanisms and therapeutic implications. 2nd ed/ Eds., *Medical Psychiatry* / 35, 2007, Informa Healthcare USA, Inc.
32. *Sullivan P.F., Daly M.J., O'Donovan M.* Genetic architectures of psychiatric disorders: the emerging picture and its implications. *Nat Rev Genet*, 2012, 13: 537–551.
33. *Svinarev V.I., Syatkin S.P., Frolov V.A. et al.* The role of polyamines in etiopathogenesis of schizophrenia. Springer Wien New York. *Amino Acids*. 2007, 33, 43–48.
34. *Tate D.J.Jr., Vonderhaar D.J., Caldas Y.A. et al.* Effect of arginase II on L-arginine depletion and cell growth in murine cell lines of renal cell carcinoma. *J. Hematol. Oncol.*, 2008 (1), 14–19.
35. *Timosenko E., Hadjinicolaou A.V., Cerundolo V.* Modulation of cancer-specific immune responses by amino acid degrading enzymes *Immunotherapy*. 2017, 9 (1), 83–97.
36. *Tong J., Fitzmaurice P., Furukawa Y. et al.* Is brain gliosis a characteristic of chronic methamphetamine use in the human? *Neurobiol Dis*. 2014, 67, 107–118.
37. *Zhou Q.G., Zhu X.H., Nemes A.D., Zhu D.Y.* Neuronal nitric oxide synthase and affective disorders. *IBRO reports.*, 2018, 5, 116–132.

УДК 577.1+618.11-006+618.14-006

Changes in Glutathione Activity in Pathophysiology of Reproductive Organs Cancers

G. A. Hovhannisyan

*H. Buniatian Institute of Biochemistry NAS RA
5/1 P. Sevag str., 0014, Yerevan, RA*

Keywords: glutathione, gynecological cancer, antioxidant defense, oxidative stress

It is an established fact that oxidative stress, caused by an imbalance between prooxidants (such as reactive oxygen species (ROS)) and antioxidants, plays an important role in carcinogenesis of reproductive organs' cancer. Many studies have investigated the presence of antioxidants and their transcripts in the female reproductive tract indicating that the balance between ROS and antioxidants greatly influences the reproductive activities in females, such as endometrial changes in different luteal phases, folliculogenesis, ovulation, fertilization, placental growth, embryogenesis, and implantation [20]. Thus, antioxidants are critical for maintaining the redox balance in the ovaries and uterus to support normal reproductive function. However, their exact molecular mechanisms and roles during carcinogenesis have not been fully elucidated yet.

GSH is considered the major representative of nonenzymatic antioxidants present in oocytes, embryos [20] and uterus as well. GSH is involved in many cellular functions, including cell proliferation, differentiation, and apoptosis [20]. The studies on ovarian physiology have shown that the increase in steroid production in the growing follicle causes an increase in P450, resulting in ROS formation. Follicular ROS promotes apoptosis, whereas GSH and follicular stimulating hormone (FSH) counter balance this action in the growing follicle [1]. However, high intracellular GSH levels are important contributors to pathologies such as, cellular transformation and resistance to radiation and antineoplastic treatments in cancer cells [15, 18].

Many antineoplastic agents, in particular the alkylating agents, are designed to modify DNA and react with electrophilic sites. Glutathione therefore is thought to intercept and inactivate these agents before they can act to kill the cancer cell. Furthermore, GSH is known to mediate resistance to both cisplatin and carboplatin through several mechanisms such as drug uptake reduction and increased intracellular drug detoxification/ inactivation increased DNA repair and inhibition of apoptosis drug-induced oxidative stress [5]. Specifically in ovarian cancer, although with some controversy, several reports

already associated high GSH levels or glutathione S-transferase P1 (GSTP1) activity with cisplatin or carboplatin resistance. High levels of GSH are required in well-oxygenated normal tissue to protect the cells against oxidative stress, since competing reactions of GSH are very rapid. This suggests that low to moderate decrease in GSH contents will have little effect on the radiosensitivity and chemosensitivity of normal cells. In contrast, under low oxygen tensions (hypoxia), such as those that are frequently seen in tumor tissues, GSH may play a dominant protective role. Therefore, depletion of GSH in the hypoxic tumor tissues will make them more susceptible to radiotherapy and chemotherapy [5]. Thus, in the context of altering the tumor microenvironment a systematic understanding of GSH fluctuations pattern, as a major non enzymatic antioxidant in reproductive organs, is required.

Recently, we have shown that changes in Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein phosphatase calcineurin (CN) activity in the pathophysiology of ovarian and uterine cancer depends on the stage of the disease [8, 12]. Expression and activity of CN are modulated by intracellular redox status. GSH has been shown to promote CN phosphatase activity [2]. Therefore, taking into account all of above mentioned, in this study, we have considered advisable to investigate also the changes in GSH activity in plasma and tumor tissue samples of previously untreated patients with primary ovarian and uterine cancer depending on the stage of disease.

Material and Methods

Sample collection and preparation. The blood and tissue samples from postoperative material of untreated patients with the I (n=6), II (n=7) and III (n=5) stages of primary ovarian cancer and I (n=17), II (n=8) and III (n=8) stages of primary uterine adenocarcinoma were provided by the National Centre of Oncology after V.A. Fanarjyan (NCO MH RA). The plasma of healthy donors (n=6) and histologically checked healthy parts of remote tissue (n=8 for uterine and n=4 for ovaries) were used as a control. The protocol was approved by the Research-related Ethics Committee of the H. Buniatian Institute of Biochemistry NAS RA (IRB0001621, IORG 0009782, Ref. let. #5). Histological study of the postoperative material was conducted by the Laboratory of Clinical Pathomorphology at the NCO MH RA. The most cases of ovarian cancer were diagnosed as a moderately and poorly differentiated adenocarcinoma. Age of patients ranged from 45-80, and the average age was 61 years. In case of uterine carcinoma, moderately differentiated endometrioid adenocarcinoma was diagnosed mostly. Age of patients ranged from 35-76, and the average age was 61 years as well.

Blood (1.5-2 ml) was collected into sodium citrate (3.2%)-coated vacutainer tubes and centrifugated at 1500 rpm for 10 min. Plasma was separated and stored at -32°C . Tissue samples were homogenized with 5

volumes of 50 mM Tris-HCl, pH 7.5 buffer, containing 0.05% Triton-X-100, 0.1 mM EDTA, 1 mM dithiothreitol (DTT), protease inhibitors, and centrifugated at 20000×g for 60 min at 4°C. The supernatant was separated and stored at -32°C as well.

The protein content in samples was determined by Bradford assay [4].

Glutathione activity. The activity of GSH was studied using DTNB/GR enzyme recycling method [16]. GSH is oxidized by 5,5-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) resulting in the formation of GSSG and 5-thio-2-nitrobenzoic acid (TNB). GSSG is then reduced to GSH by glutathione reductase using reducing equivalent provided by NADPH. The rate of TNB formation is proportional to the sum of GSH and GSSG present in the sample and is determined by measuring the formation of TNB at 412 nm using LABLine-022 microplate reader (LABLINE Diagnostics, Austria).

Statistical analysis. Experiments were performed at least three times. The results were expressed as the means $\pm$ SEM. Statistical analyses were performed using Origin 6.1 software. Statistical significance was defined at $p < 0.05$ and was determined with one-way ANOVA.

Results and Discussion

Results obtained revealed that plasma GSH activity of the both ovarian and endometrial cancer patients changed in a parallel manner (Fig. a, b). It was demonstrated dramatic 2.9 fold and 2.8 fold decreases in ovarian and uterine cancer patients respectively, for the I stage of disease compared with the control groups. The significant increase was found in the II (2.4 fold and 4.7 fold, respectively) and III stages of disease (5.6 fold and 5.2 fold, respectively) compared with the I stage. In uterus tumor tissue GSH activity demonstrated the same picture as in plasma. We have found statistically significant 2.3 fold decrease in the I stage of disease compared with the control group (Fig. a). In

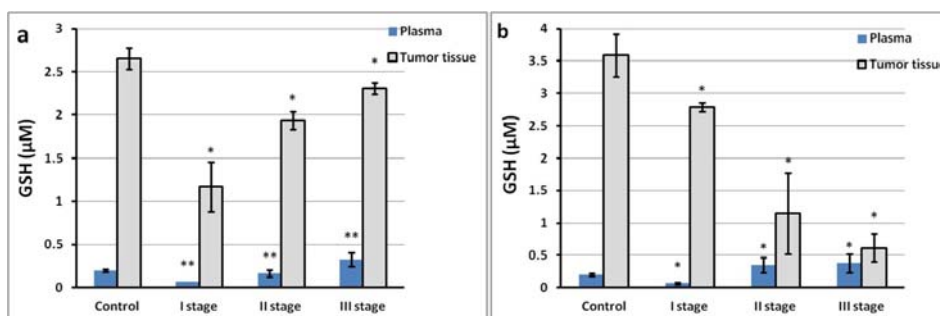


Fig. GSH activity in plasma and tumor tissue of the primary uterine (a) and ovarian (b) cancer patients with the I, II and III stages of disease. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ for the I stage compared with control, and for the II and III stages compared with the I stage (one-way ANOVA)

the II and III stages of disease it demonstrated 1.7 fold and 2 fold increases respectively, compared with the I stage. As one can see from Fig.1b, in ovarian tumor tissue GSH activity was shown to be decreased in parallel with the stages of disease: 1.3 fold in the I stage of disease compared with the control and 2.4 fold and 4.6 fold in the II and III stages of disease, respectively, compared with the I stage.

Glutathione is a ubiquitous tripeptide that functions as an important intracellular radical scavenger. It protects cells against ROS, as well as against many toxins, mutagens, and drugs [11]. Recent studies have demonstrated that GSH levels are elevated in various human cancer tissues including breast and ovary, as compared with normal tissue in these regions. It was reported that elevated GSH levels in tumor tissue are associated with resistance to chemotherapy [13].

It is well known that tumor milieu is enriched with ROS with their huge impact on cancer initiation and progression [8]. However, in cancer cells, ROS is held at low to moderate levels to induce cell proliferation and cell survival, and to avoid high level induced cell damage and at an excessive level induced cell death [9]. Being the major intracellular antioxidant, GSH could undergo a sharp depletion for the initial stages of cancer progression as a major adapting factor for cancer cells to regulate and limit oxidative stress. Furthermore, the gradual increase of the GSH activity in the II and III stages of disease could be explained by the recovery of GSH recycling and recovering systems, mainly by glutathione reductase (GR). GR is considered as a central enzyme of cellular antioxidant defense, as it catalyzes the reduction of oxidized glutathione disulfide (GSSG) to the sulfhydryl form, glutathione. Recently Ana Todorović et al. have shown that compared to patients with polyps and myoma, levels of GR protein and GR mRNA were elevated in women with both hyperplasia and adenocarcinoma [17]. It is known that many types of treatment resistant malignant tumors are characterized by the increased expression of enzymes involved in the GSH metabolism [3]. Thus, indirectly, our results also pointed out the possible therapy resistance of uterine adenocarcinoma, as the high level of GSH was previously recorded in some radio- or chemoresistant cancers, such as breast tumor, melanoma, and lung cancer [17].

The finding that stage dependent changes of GSH activity in plasma and tumor tissue of the ovarian cancer patients was not parallel, probably, indicates existence of difference in schemes of regulation. Fluctuations of FSH expression and activity along with the differences in stage dependent changes between levels of systematic circulating estrogen and its local counterparts is among factors that most probably could explain obtained data. It is well documented that in ovaries FSH interacts with estrogen to regulate the synthesis of GSH [6]. Moreover, level of circulating FSH in women of postmenopausal age is quite elevated [19], which is in consistent with our data regarding GSH plasma levels in ovarian cancer.

More recently, we have shown that CN activity in plasma and tumor tissue of patients with primary ovarian and uterine cancer changes depending on the tumor stage of the disease [8, 12]. CN widely involved in signaling pathways of the immune response and cancer [7, 14]. GSH is known to protect disulfide bonds of CN from ROS attacks via reduction of oxidized ones and, thus, protect CN from inactivation [10]. There is need for additional studies to explain the finding that changes in CN and GSH activities in reproductive organs cancer were not parallel.

In conclusion, in this study we have shown that GSH activity in gynecological cancers changes depending on the stage of disease.

Acknowledgment

The study was supported by the State Committee of Science, Ministry of Education and Science, RA in the frame of the project #16A1f10. We thank to National Center of Oncology, Ministry of Healthcare RA, particularly the Laboratory of Clinical Pathomorphology (head S. Davtyan), for the provided oncological samples.

Accepted on 31.07.19

Գլուտաթիոնի ակտիվության փոփոխությունը վերարտադրողական օրգանների քաղցկեղի պաթոֆիզիոլոգիայում

Գ. Ա. Հովհաննիսյան

Վերջերս ցույց ենք տվել $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ -կախյալ պրոտեին ֆոսֆատազ կալցինեյրինի (CN) ներգրավվածությունը ձվարանների և արգանդի քաղցկեղի պաթոֆիզիոլոգիայում և պարզել ենք, որ քաղցկեղով հիվանդների պլազմայի և ուռուցքային հյուսվածքներում CN-ի ակտիվության փոփոխությունները կախված են հիվանդության փուլից: CN-ի էքսպրեսիան և ակտիվությունը պայմանավորված են ներբջջային օքսիդավերականգնողական կարգավիճակով: Ցույց է տրվել, որ գլուտաթիոնը (GSH), որը բջջի հիմնական հակաօքսիդանտներից է, նպաստում է CN-ի ֆոսֆատազային ակտիվությանը: Բացի այդ, GSH-ը սերտորեն կապված է գինեկոլոգիական քաղցկեղի բուժման հիմնական մեթոդների հանդեպ քիմիո-և ռադիոկայունության դրսևորման հետ: Այս աշխատանքում ուսումնասիրել ենք GSH-ի ակտիվության փոփոխությունը ձվարանների և արգանդի առաջնային քաղցկեղով չբուժված հիվանդների պլազմայում և ուռուցքային հյուսվածքում: Արդյունքները

ցույց են տվել, որ GSH-ի ակտիվության փոփոխությունները նույնպես կախված են հիվանդության փուլից: Ստացված տվյալներն ընդլայնում են գիտելիքները գինեկոլոգիական քաղցկեղի զարգացման ընթացքում օրգանիզմի հակաօքսիդանտային ակտիվության փուլից կախված փոփոխությունների ներգրավման մասին:

Изменения активности глутатиона в патофизиологии рака репродуктивных органов

Г.А. Оганисян

Недавно нами получены данные об участии $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ -зависимой протеинфосфатазы кальцинейрина (CN) в патофизиологии рака яичников и матки, а также показано, что изменения активности CN в плазме и опухолевой ткани онкологических больных зависят от стадии заболевания. Экспрессия и активность CN модулируется внутриклеточным окислительно-восстановительным статусом. Было показано, что глутатион (GSH), один из основных клеточных антиоксидантов, способствует фосфатазной активности CN. Кроме того, GSH тесно связан с химио- и радиорезистентностью к основным методам лечения гинекологического рака. В данной работе мы изучили изменения активности GSH в образцах плазмы и опухолевой ткани ранее нелеченых пациентов с первичным раком яичников и матки. Полученные результаты показали, что изменения в активности GSH также зависят от стадии заболевания. Полученные данные расширяют знания о причастности стадийно-зависимых изменений антиоксидантной активности организма при прогрессировании гинекологического рака.

References

1. Agarwal A., Aponte-Mellado A., Premkumar J B., Shaman A., and Gupta S. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2012, doi:10.1186/1477-7827-10-49.
2. Alba G., Santa-Mari'a C., Reyes-Quiroz E. M., Bekay R., Geniz I., Marti'n-Nieto J., Pintado E., Sobrino F. Calcineurin expression and activity is regulated by the intracellular redox status and under hypertension in human neutrophils. *Journal of Endocrinology*, 2012, 214, p. 399–408.
3. Bansall A., Simo M. S. Glutathione metabolism in cancer progression and treatment resistance. 2018, Supp. Info <http://doi.org/10.1083/jcb.201804161>.
4. Bradford M. M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 1976, 72, p. 248-254.

5. *Gamcsik P. M., Kasibhatla S. M., Teeter D. S., Colvin O. M.* Glutathione Levels in Human Tumors. Biomarkers: biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals, 2012, doi.org/10.3109/1354750X.2012.715672.
6. *Hoang D. Y., Nakamura N. B., Luderer U.* Follicle-Stimulating Hormone and Estradiol Interact to Stimulate Glutathione Synthesis in Rat Ovarian Follicles and Granulosa Cells. Biology of reproduction, 2009, 81, p. 636–646.
7. *Hogan P.G., Chen L., Nardone J., Rao A.* Transcriptional regulation by calcium, calcineurin, and NFAT. Genes Dev., 2003, 17, p. 2205-2232.
8. *Hovhannisyanyan G., Sarukhanyan F., Zakaryan H., Hunanyan O., Barkhudaryan N.* The study of calcineurin activity in pathophysiology of uterine cancer. FEBS OpenBio, 2018, 8 (Suppl. 1), p. 297.
9. *Kumari S., Badana K. A., Mohan G. M., Shailender G., Malla R.* Reactive Oxygen Species: A Key Constituent in Cancer Survival. Biomarker Insights, 2018, 13, p. 1–9.
10. *Liou G-Y., Storz P.* Reactive oxygen species in cancer. Free Radic Res., 2010, 44(5), doi:10.3109/10715761003667554.
11. *Noctor G., Queval G., Mhamdi A., Chaouch S., Foyer H. Ch.* Glutathione. American Society of Plant Biologists, 2011, doi: 10.1199/tab.0142.
12. *Sarukhanyan F.P., Hovhannisyanyan G.A., Hunanyan O.V., Zakaryan H.H., Barkhudaryan N.H.* The study of calcineurin activity in pathophysiology of ovarian cancer, Biolog. Journal of Armenia, 2017, 3 (69), p. 159-163.
13. *Schnelldorfer Th., Gansauge S., Gansauge F., Schlosser S., Beger G. H., Nussler K. A.* Glutathione Depletion Causes Cell Growth Inhibition and Enhanced Apoptosis in Pancreatic Cancer Cells. CANCER, 2000, 89 (7), p. 1440-1447.
14. *Shou J., J., Xie J., You L., Jing Z., Yao J., Han W., Pan H.* Nuclear factor of activated T cells in cancer development and treatment. Cancer Letters, 2015, 361, p. 174-184.
15. *Singha S., KhanaR A., Gupta K. A.* Role of glutathione in cancer pathophysiology and therapeutic interventions. Journal of experimental therapeutics & oncology. 2012, 9, p. 303-316.
16. *Tipple E. T., Rogers K. L.* Methods for the Determination of Plasma or Tissue Glutathione Levels. Methods Mol Biol., 2012, 889, p. 315–324.
17. *Todorovi'c A., Peji'c S., Gavrilovi'c L., Pavlovi'c I., Stojiljkovi'c V., Popovi'c N., Pajovi'c B. S.* Expression of Antioxidant Enzymes in Patients with Uterine Polyp, Myoma, Hyperplasia, and Adenocarcinoma. Antioxidants, 2019, 8(97), doi:10.3390/antiox8040097.
18. *Traverso N., Ricciarelli R., Nitti M. et al.* Role of Glutathione in Cancer Progression and Chemoresistance, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2013, Article ID 972913, doi.org/10.1155/2013/972913.
19. *Vahidroodsari F., Ayati S., Yousefi Z., Saeed S.* Comparing Serum Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Level with Vaginal PH in Women with Menopausal Symptoms, OMJ, 2010, 25, p. 13-16.
20. *Wang Sh., He G., Chen M., Zuo T., Xu W., Liu X.* The Role of Antioxidant Enzymes in the Ovaries. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017, Article ID 4371714, doi.org/10.1155/2017/4371714.

Особенности визуализации аденоматозных узлов щитовидной железы на фоне аутоиммунного тиреоидита, по данным соноэластографии

**А. Р. Хачатрян¹, А.Х. Авакян¹, Г.Д. Варданян²,
Г.А. Аветисян², А.А. Мадоян¹, К.А. Поркшеян²**

¹МЦ “Диалаб”

0051, Ереван, Мамиконянци, 41

²ЕГМУ им. М. Гераци, кафедра лучевой диагностики

0025, Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: щитовидная железа, аденоматозные узлы, аутоиммунный тиреоидит, соноэластография

В структуре патологии органов эндокринной системы заболевания щитовидной железы (ЩЖ) по частоте встречаемости занимают второе место после сахарного диабета, а в эндемичных регионах составляют 50% от общего количества эндокринопатий [9]. В структуре узловых образований (УО) коллоидный зоб встречается до 80%, доброкачественные фолликулярные опухоли – до 10–15%, а рак ЩЖ – до 5% [22].

Среди всех УО ЩЖ наибольшие трудности в дооперационной дифференциальной диагностике вызывают доброкачественные опухоли – аденомы [13]. В литературе приводятся разноречивые данные о частоте фолликулярных аденом в структуре общепринятого собирательного понятия «узловой зоб». По данным разных авторов, они составляют от 10 до 30% [1, 14, 21]. Аденомы ЩЖ в детском возрасте являются актуальной на сегодняшний день проблемой, так как они вызывают наибольшие трудности в дооперационной дифференциальной диагностике УО ЩЖ [10].

Для диагностики УО ЩЖ в первую очередь проводится клиническое обследование и пальпация ЩЖ и регионарных лимфоузлов [7]. Пальпаторно УО ЩЖ выявляют в 4–8% случаев. Пальпация шеи является очень неточным методом определения размеров и не дает никакого представления о морфологии, однако именно пальпируемое образование чаще является основным показанием к проведению ультразвукового исследования (УЗИ) [2]. УЗИ определяет узлы ЩЖ в 19–67% случаев в популяции, и это один из самых точных методов выявления УО, однако данный метод имеет низкую точность в дифференциации доброкачественных

и злокачественных поражений [28]. Для стратификации риска злокачественности новообразований ЩЖ по УЗИ была предложена система TI-RADS (Thyroid Imaging Reporting and Data Systems) [32]. По результатам проведенного X. Wei et al. метаанализа TI-RADS [31], чувствительность и специфичность этого диагностического инструмента составили 79 и 71% соответственно; это указывает на то, что категории TI-RADS являются эффективным инструментом для оценки доброкачественных и злокачественных узлов ЩЖ и для принятия решения о дальнейшей биопсии. Тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ) узлов ЩЖ в настоящее время является неотъемлемой частью обследования и включается в рекомендации Американской Тиреоидологической Ассоциации для оценки УО ЩЖ благодаря своей высокой чувствительности и специфичности [24, 29]. Морфологическую характеристику узла до его хирургического удаления можно уточнить только путем проведения ТАБ. Несмотря на то что при большинстве видов узловой трансформации ткани ЩЖ точность метода, по мнению ряда авторов, достигает 96–98%, при некоторых видах патологии ЩЖ, например при аутоиммунном тиреоидите (АИТ), в 25 % случаев он дает ограниченную информацию из-за недостаточного количества клеточных элементов в биоптате [20].

В некоторых странах для идентификации неопределенных образований ЩЖ используется скинтиграфия ЩЖ, но из-за низкой специфичности не может применяться в качестве исследования первой линии. КТ и МРТ, согласно рекомендациям Американской Тиреоидологической Ассоциации 2015 г. [29], а также российским клиническим рекомендациям по диагностике и лечению рака ЩЖ у взрослых 2017 г. [2], применяются по индивидуальным показаниям при большом размере новообразования, экстратиреоидном распространении, подозрении на метастазы и др. Таким образом, на основании проанализированных литературных данных, УЗИ и ТАБ остаются основными диагностическими методами при УО ЩЖ. Правильная интерпретация этих двух исследований помогает врачу снизить риск ненужных инвазивных процедур и помогает в идентификации пациентов с повышенным риском рака.

Отсутствие абсолютно значимых и патогномоничных сонографических признаков для различных заболеваний ЩЖ способствовало совершенствованию методов ультразвукового исследования. Закономерный интерес вызывает технология ультразвуковой эластографии, позволяющая оценивать жесткость исследуемой ткани. В клиническую практику внедрены два вида данной технологии: компрессионная (качественная) эластография и эластография сдвиговой волной (ЭСВ) [6, 23, 25, 27].

Проблема АИТ – одна из актуальных клинических проблем, решение которой требует дальнейших комплексных исследований. Это определяется тем, что АИТ является самым распространенным заболеванием ЩЖ и составляет 46% всей тиреоидной патологии [12, 18]. Его рас-

пространенность составляет от 6 до 10% среди взрослого населения и от 0,1 до 1,2% среди детей [11]. Заболеваемость АИТ не имеет тенденции к снижению и выросла за последние 6–10 лет в 10 и более раз [19]. Узлообразование на фоне АИТ, по данным гистологического исследования, выявляется у 1/3 больных [4, 17]. Проблема операций на ЩЖ при гипердиагностике узлообразования на фоне АИТ остро стоит перед хирургами. Упрощенный подход, основывающийся только на данных УЗИ, неизбежно приводит к выполнению необоснованных операций, частота которых достигает 21% [8, 15]. В то же время диагностика истинного узлообразования на фоне АИТ представляет определенные трудности, что связано со специфическими изменениями в ЩЖ при этом заболевании. Показано, что основные трудности в диагностике узлов ЩЖ на фоне АИТ состоят в низкой выявляемости заболевания при УЗИ и ухудшении точности цитологической диагностики [8]. Часто на фоне АИТ бывает трудно во время УЗИ выявить подозрительные на злокачественные УО ЩЖ, потому что ультразвуковая картина АИТ очень разнообразна [30]. Достаточно часто доброкачественные узлы на фоне АИТ при УЗИ имеют признаки злокачественных (неоднородная структура, отсутствие четкой капсулы, неправильная форма), и наоборот; кроме того, довольно часто на фоне АИТ в ткани ЩЖ одновременно формируются узлы доброкачественной и злокачественной природы.

Дооперационные методы диагностики не позволяют установить достоверный морфологический диагноз УО ЩЖ на фоне АИТ. По данным Блувштейна Г.А. (2012), АИТ был диагностирован при до- и интраоперационном цитологическом исследовании у 76 (8,1%) оперированных [3]. При плановом гистологическом исследовании диагноз АИТ подтвердился у 40 (54,2%) пациентов. Очевидно, что ошибки диагностики могут привести к неверному решению об объеме операции. Однако даже при том, что операции на ЩЖ считаются одними из самых безопасных в современной практике, они могут сопровождаться множеством осложнений. Самые опасные из них, непосредственно связанные с хирургической процедурой, включают повреждение возвратного или восходящего гортанного нерва и паращитовидной железы. Все это еще раз подчеркивает важность своевременной диагностики с использованием новейших технологий и выбора оптимальной тактики лечения УО ЩЖ. Вышеизложенные данные указывают на то, что проблема диагностики и хирургического лечения УО ЩЖ на фоне АИТ еще далека до своего завершения. В связи этим целью нашей работы явилось определение особенностей визуализации аденоматозных узлов щитовидной железы на фоне аутоиммунного тиреоидита, по данным соноэластографии.

Материал и методы

Обследовано 140 больных и 30 пациентов контрольной группы в МЦ “Диалаб”. Основную группу составили 70 больных с аденомой щитовидной железы (ЩЖ), 30 больных аутоиммунным тиреоидитом (АИТ) и 40 больных с аденомой ЩЖ на фоне АИТ. У 30 больных контрольной группы не было выявлено какой-либо патологии со стороны ЩЖ. Средний возраст составил $43,13 \pm 1,56$ лет: 22 (73,3%) женщины ($43 \pm 1,56$ лет) и 8 (26,7%) мужчин ($42,88 \pm 2,23$ лет). В гормональном статусе также не было выявлено каких-либо патологических отклонений.

Диагноз АИТ был поставлен на основании больших диагностических признаков, сочетание которых позволяет установить диагноз АИТ с достаточной вероятностью: первичный гипотиреоз (манифестный или стойкий субклинический); наличие антител к ткани ЩЖ в диагностически значимых титрах и ультразвуковые признаки аутоиммунной патологии. При отсутствии хотя бы одного из больших диагностических признаков диагноз АИТ носит лишь вероятностный характер. Из 30 больных АИТ 23 (76,7%) женщины, средний возраст которых был $40,21 \pm 2,43$ лет. У 7 (23,3%) мужчин средний возраст составил $38,28 \pm 4,19$ лет.

Обследовано 70 больных с аденомой ЩЖ, средний возраст которых составил $50,01 \pm 12,01$ лет: 59 (84,3%) женщин (средний возраст – $49 \pm 12,35$ лет) и 11 (15,7%) мужчин ($55,9 \pm 8,01$ лет). Из 40 больных с аденомой на фоне АИТ 37 (92,5%) составили женщины (средний возраст – $52 \pm 1,5$ года), 3 (7,5%) – мужчины (средний возраст – $47 \pm 8,89$ лет).

Диагнозы верифицированы при цитологическом исследовании, по данным ТАБ, и при гистологическом исследовании, по данным хирургических вмешательств.

Всем больным и пациентам контрольной группы проведено УЗИ ЩЖ с применением эластографии. УЗИ проведено на аппаратах Toshiba Aplio-400 и Toshiba Aplio-500 (Япония) стандартным методом и с применением эластографии. Использовался поверхностный датчик с частотой 10-14 МГц. Проводился анализ ультразвукового изображения ЩЖ по шкале TI-RADS.

Компрессионная эластография (Strain Elastography – SE) и ЭСВ (Shear Wave Elastography – SWE) проведены у всех больных. Результаты более чем 10-летнего практического применения компрессионной эластографии [26] показали, что она является эффективным дополнением к традиционному УЗИ для дифференциальной диагностики УО ЩЖ. Однако при использовании данной технологии велик субъективный фактор, поскольку получаемые качественные параметры жесткости тиреоидной ткани и узлов ЩЖ существенно зависят от степени компрессии датчиком [16]. Принципиальным отличием ЭСВ является возможность проведения количественного анализа эластических свойств тканей путем измерения

значений скорости сдвиговой волны или модуля Юнга, что повышает точность диагностики и существенно снижает субъективный фактор [5].

Статистическая обработка проведена с использованием методов математической статистики: расчет оценок числовых характеристик случайных величин, методы проверки статистических гипотез, в частности Критерий Хи-квадрат Пирсона, точный критерий Фишера, критерий Уилкоксона для непараметрических данных, t-критерий Стьюдента, дисперсионный анализ (ANOVA). Определялись также среднее значение показателя (M), стандартное отклонение (σ). Достоверным считалось общепринятое в медицинских исследованиях значение $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В последнее десятилетие многие авторы отмечают количественное увеличение аденом в структуре УО ЩЖ. Наряду с этим приводятся данные и о качественных изменениях: увеличение числа больных с множественными аденомами, а также с сочетанной патологией – аденомы с узловым коллоидным зобом, аутоиммунным тиреоидитом и раком ЩЖ [13]. Учитывая тот факт, что в доступной литературе практически нет работ, посвященных сравнительному анализу соноэластографических критериев УО ЩЖ на фоне АИТ, нам представилось интересным изучить эту проблему.

Для того, чтобы установить, меняется ли соноэластографическая картина аденомы на фоне АИТ, мы первоначально поставили перед собой задачу сравнить соноэластографические критерии паренхимы ЩЖ в контрольной группе и у больных АИТ.

В контрольной группе среднее значение коэффициента Strain Ratio составило $1,08 \pm 0,07$ (max – 2,0; min – 0,4); среднее значение при эластографии сдвиговой волны в kPa – $15,9 \pm 0,87$ (max – 29,5; min – 10), в m/s – $2,27 \pm 0,01$ (max – 3,1; min – 1,85).

При АИТ соответствующие показатели следующие: среднее значение коэффициента Strain Ratio – $1,52 \pm 0,08$ (max – 2,6; min – 0,72); среднее значение коэффициента упругости при эластографии сдвиговой волны в kPa – $33,05 \pm 2,14$ (max – 64; min – 16), в m/s – $3,25 \pm 0,1$ (max – 4,5; min – 2,34).

При сравнительном анализе полученных данных установлено, что соноэластографические критерии при АИТ статистически достоверно выше, чем в контрольной группе: Strain Ratio – в 1,4 раза ($t = 3,14$; $p < 0,005$), при эластографии сдвиговой волны коэффициент упругости в kPa – в 2,1 раза ($t = 7,04$; $p < 0,000$), в m/s – в 1,4 раза ($t = 7,0$; $p < 0,000$).

Следующей задачей нашего исследования было сравнение соноэластографических критериев аденомы ЩЖ на фоне неизменной паренхимы и на фоне АИТ. В группе больных с аденомой ЩЖ на фоне неизменной

паренхимы среднее значение коэффициента Strain Ratio составило $1,6 \pm 0,06$ (max – 2,9; min – 0,4); среднее значение коэффициента упругости при эластографии сдвиговой волны в kPa – $23,8 \pm 1,03$ (max – 35; min – 11,7), в m/s – $2,62 \pm 0,06$ (max – 4,3; min – 1,85).

В группе больных с аденомой ЩЖ на фоне АИТ показатели следующие: среднее значение коэффициента Strain Ratio составило $1,91 \pm 0,12$ (max – 3,8; min – 0,6); среднее значение коэффициента упругости при эластографии сдвиговой волны в kPa – $38,2 \pm 1,99$ (max – 63; min – 15,9), в m/s – $3,36 \pm 0,11$ (max – 4,54; min – 2,01).

Анализ полученных данных показывает, что соноэластографические показатели при аденоме на фоне АИТ выше, чем при аденоме на фоне неизменной паренхимы. Так, Strain Ratio выше в 1,2 раза ($t = 2,58$; $p < 0,01$), при эластографии сдвиговой волны коэффициент упругости в kPa – в 1,6 раза ($t = 6,4$; $p < 0,000$), в m/s – в 1,3 раза ($t = 6,16$; $p < 0,000$).

Для диагностики УО ЩЖ используют ТАБ с последующим цитологическим исследованием пунктата. Наличие в пунктате даже небольшого количества лимфоцитов (5–10 в поле зрения) и плазматических клеток указывает на выраженную лимфоидную инфильтрацию ЩЖ. Положительный результат исследования подтверждает диагноз АИТ, однако отрицательный результат его не исключает, так как не всегда можно гарантировать попадание иглы в зону лимфоидной инфильтрации. Для повышения информативности ТАБ проводят при необходимости под контролем УЗИ. По данным Трунина Е. М. и соавт. (2008), у большинства больных (91%) УО ЩЖ на фоне АИТ протекают под масками другой тиреоидной патологии, на долю истинного узлообразования, требующего хирургического лечения, приходится более половины (58,6%) случаев. Дооперационные методы диагностики не позволяют установить достоверный морфологический диагноз УО ЩЖ на фоне АИТ. При анализе морфологической структуры узлов на фоне АИТ авторами выявлено, что коллоидные узлы сопровождаются АИТ в 10,5 % случаев, доброкачественные аденомы — в 12,8%, папиллярные карциномы — в 19,4 %, фолликулярные карциномы — в 15,0 % [20]. Наши данные с высокой степенью достоверности показывают, что в таких случаях на этапе дооперационной диагностики целесообразно применять соноэластографию. Применение последней наряду с ТАБ и УЗИ в серошкальном режиме повысит точность дооперационной диагностики и уменьшит количество необоснованных оперативных вмешательств.

Поступила 02.08.19

**Աուտոիմուն թիրեոիդիտի ֆոնի վրա ընթացող վահանագեղձի
ադենոմատոզ հանգույցների պատկերավորման
առանձնահատկությունները ըստ սոնոէլաստոգրաֆիայի
տվյալների**

**Ա.Ռ.Խաչատրյան, Հ.Խ. Ավագյան, Գ.Զ. Վարդանյան, Գ.Ա. Ավետիսյան,
Ա.Հ. Մադոյան, Զ.Ա. Պոբկշեյան**

Վահանագեղձի (ՎԳ) հիվանդությունները, ըստ հանդիպման հաճախականության, գրավում են երկրորդ տեղը էնդոկրին համակարգի ախտահարումների կառուցվածքում, իսկ էնդեմիկ շրջաններում կազմում են էնդոկրինոպատիաների 50%-ը: Ադենոմաների տարբերակիչ ախտորոշումը նախավիրահատական շրջանում որոշ դեպքերում դժվարացած է լինում: Աուտոիմուն թիրեոիդիտի (ԱԻԹ) ժամանակ դեպքերի 25%-ում բարակասեղային բիոպսիան (ԲԱԲ) տալիս է սահմանափակ տեղեկատվություն բիոպտատում բջջային տարրերի ոչ բավարար քանակի պատճառով: Աշխատանքի նպատակն է ԱԻԹ-ի ֆոնի վրա ընթացող ՎԳ ադենոմատոզ հանգույցների պատկերավորման առանձնահատկությունների որոշումը՝ ըստ էլաստոգրաֆիայի տվյալների: <<Դիալաբ>> ԲԿ-ում հետազոտված են 140 հիվանդ և ստուգիչ խմբի 30 պացիենտ (70 հիվանդ՝ ՎԳ ադենոմայով, 30-ը՝ ԱԻԹ-ով և 40-ը՝ ԱԻԹ-ի ֆոնի վրա ընթացող ադենոմայով): Հաստատվել է, որ ԱԻԹ-ի ժամանակ սոնոէլաստոգրաֆիկ ցուցանիշները հավաստիության մեծ աստիճանով ավելի բարձր են, քան ստուգիչ խմբում: ԱԻԹ-ի ֆոնի վրա ընթացող ադենոմայի ժամանակ սոնոէլաստոգրաֆիկ ցուցանիշները նույնպես բարձր են չփոփոխված պարենխիմայում հայտնաբերված ադենոմայի նույն ցուցանիշների համեմատ: Մեր տվյալները ցույց են տալիս, որ այդ դեպքերում նախավիրահատական ախտորոշման փուլում ցանկալի է կիրառել սոնոէլաստոգրաֆիան, որը ԲԱԲ-ի և B ռեժիմում անցկացվող գերձայնային հետազոտության հետ կրաժարացնի նախավիրահատական ախտորոշման ճշգրտությունը և կնվազեցնի ոչ հիմնավորված վիրահատական միջամտությունների քանակը:

Autoimmune Thyroiditis Associated Thyroid Adenomatous Nodules' Visualization Features in Accordance with Sonoelastography Data

**A.R. Khachatryan, H.Kh. Avagyan, G.J. Vardanyan, G.A. Avetisyan,
A.H.Madayan, K.A. Porksheyen**

The thyroid pathology occupies the second place in the structure of the endocrine organs' diseases. Its incidence rate reaches 50% of the total number of endocrinopathies in endemic regions. The benign tumors (adenomas) seldom cause significant difficulties in preoperative differential diagnosis among all thyroid nodules. FNA in patients with autoimmune thyroiditis (AIT) in 25% of cases provides restricted information due to the insufficient number of cellular elements in the biopsy. The purpose of this study was to determine the peculiarities of visualization of thyroid adenoma in the presence of AIT according to elastography. 140 patients and 30 patients of the control group were examined in the MC "Dialab" (70 patients with thyroid adenoma, 30 – with AIT and 40 patients with thyroid adenoma in presence of autoimmune thyroiditis). It was found that the rate of AIT sonoelastographic indicators in patients with AIT were higher comparatively to the patients of control group and comparatively to the patients with an unchanged parenchyma associated adenoma with a high degree of confidence in both cases. Our data show that in such cases, at the stage of preoperative diagnosis, the performance of sonoelastography is advisable. The implementation of the latter along with FNA and Grey Scale mode ultrasound will definitely increase the accuracy of preoperative diagnosis and reduce the number of unreasonable surgical invasions.

Литература

1. *Афанасьева З.А., Галеева А.В.* Доброкачественная узловатая патология щитовидной железы у детей: диагностика и лечение. Современные аспекты хирургической эндокринологии. Ижевск, 2009, с.16-17.
2. *Бельцевич Д.Г., Ванушко В.Э., Румянцев П.О. и др.* Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению высокодифференцированного рака щитовидной железы у взрослых, 2017 год. Эндокринная хирургия, 2017, т. 11, 1, с. 6-27. //doi.org/10.14341/serg201716-27.
3. *Блувштейн Г.А., Греков В.В.* Сложности морфологической диагностики заболеваний щитовидной железы. Новости хирургии, 2012, т. 20, 5, с. 18-23.
4. *Ветшев П.С., Карпова О.Ю., Салиба М.Б.* «Ахиллесова пята» в хирургии щитовидной железы. Проблемы эндокринологии, 2007, т. 53, 2, с. 3-8.
5. *Зыкин Б.И., Постнова Н.А., Медведев М.Е.* Ультразвуковая эластография (обзор). Медицинский алфавит. Диагностическая радиология и онкотерапия, 2013, 1-2, с.14-19.
6. *Катрич А.Н., Охотина А.В., Шамахян К.А., Рябин Н.С.* Ультразвуковая эластография сдвиговой волной (SWE) в диагностике очаговых образований щито-

- видной железы. Кубанский научный медицинский вестник, 2017, 1(162), с. 53-59.
7. Качко В.А., Семкина Г.В., Платонова Н.М., Ванушко В.Э., Абросимов А.Ю. Диагностика новообразований щитовидной железы. Эндокринная хирургия, 2018, т.12, 3, с. 109-127. doi: <https://doi.org/10.14341/serg9977>.
 8. Керимов Э. С. Узловой зоб на фоне аутоиммунного тиреоидита. Автореф. дис. канд. мед. наук. СПб., 2009.
 9. Кухтенко Ю.В., Косивцов О.А., Михин И. В., Рясков Л.А. Результаты хирургического лечения пациентов с различными заболеваниями щитовидной железы. Вестник ВолгГМУ, 2015, 6, с. 67—71.
 10. Морозов Д.А., Пименова Е.С., Мирокова Е.Д. Аденомы щитовидной железы у детей. Вестник РАМН, 2015, 70 (5): 513–518. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1436
 11. Петунина Н. А. Клиника, диагностика и лечение аутоиммунного тиреоидита. Пробл. эндокринологии, 2002, 6 (48), с. 16–21.
 12. Пиксин И. Н., Романов М. Д., Вилков А. В., Шевяк П. И. Лечебно-диагностическая тактика при хроническом аутоиммунном тиреоидите. Современные аспекты хирургической эндокринологии. Мат., X Российского симпозиума по хирургической эндокринологии, Смоленск, 2002, с. 302–304.
 13. Пинский С.Б., Белобородов В.А. Аденома щитовидной железы. Сибирский медицинский журнал, 2010, 3, с. 73-77.
 14. Привалов В.А., Кулаев И.А., Сергейко С.В. и др. Клинико-анатомические особенности рака щитовидной железы: 35-летний опыт хирургического лечения. Современные аспекты хирургической эндокринологии. Рязань, 2005, с.274-280.
 15. Полянский А. В., Мисакян В. М., Кижватов С. И., Рововой А. А. Хирургическое лечение узловых образований щитовидной железы на фоне аутоиммунного тиреоидита. Современные аспекты хирургической эндокринологии. Мат. IX Российского симпозиума по хирургической эндокринологии. Смоленск, 2002, с. 321–323.
 16. Сенча А.Н., Могутов М.С., Беляев Д.В., Сергеева Е.Д. Ультразвуковая эластография в диагностике рака щитовидной железы. Ультразвуковая и функциональная диагностика, 2010, 3, с.8-16.
 17. Старкова Н. Т. Структурные изменения щитовидной железы. Пробл. эндокринологии, 2002, 1 (48), с. 3–6.
 18. Суздальцев И. В., Пыхтин Ю.Ю., Кубанов С.И. Диагностика узловых образований щитовидной железы на фоне аутоиммунного тиреоидита. Кубанский научный медицинский вестник, 2009, 1 (106), с.115-118.
 19. Толстокоров А. С. Пункционные методы диагностики и лечения заболеваний щитовидной железы. Анналы хирургии, 2007, 5, с. 18–21.
 20. Трунин Е. М., Керимов Э. С., Мурт Л. Л. Узловая трансформация щитовидной железы на фоне аутоиммунного тиреоидита. Вестник Санкт-Петербургского университета, 2008, вып.2, с. 104-110.
 21. Черников Р.А., Слепцов И.В., Бубнов А.Н. и др. Неинформативные цитологические заключения после тонкоигольной аспирационной биопсии узлов щитовидной железы. Рак щитовидной железы. Современные принципы диагностики и лечения. СПб., 2009, с.147-149.
 22. Brito J.P., Yarur A.J., Prokop L.J., et al. Prevalence of thyroid cancer in multinodular goiter versus single nodule: a systematic review and meta-analysis. Thyroid. 2013, 23(4):449-455. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2012.0156>.
 23. Cosgrove D., Bamber J., Dietrich C.F., et al. EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Ultrasound Elastography. Part 2: Clinical Applications. DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0033-1335375> Published on-line: 2013.
 24. Davies L., Welch H.G. Current thyroid cancer trends in the United States. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg., 2014, 140(4):317-322. doi: <https://doi.org/10.1001/jamaoto.2014.1>.
 25. Dudea S. M., Botar-Jid C. Ultrasound elastography in thyroid disease. Med. Ultrason., 2015, vol. 17, no. 1, 74-96. DOI: 10.11152/mu.2013.2066.171.smd

-
26. *Frey H.* Real-time elastography: a new ultrasound procedure for reconstruction of tissue elasticity / *Frey H.* Radiology, 2003, v. 43, 10, p. 850-855.
 27. *Friedrich-Rust M., Vorlaender C., Dietrich C.F., Kratzer W., Blank W., Schuler A., Broja N., Cui X.W., Herrmann E., Bojunga J.* Evaluation of Strain Elastography for Differentiation of Thyroid Nodules: Results of a Prospective DEGUM Multicenter Study. *Ultraschall Med.*, 2016 Jun., 37(3):262-70.
 28. *Gharib H., Papini E., Garber J.R., et al.* American Association of Clinical Endocrinologists, American College of Endocrinology, and Associazione Medici Endocrinologi Medical Guidelines for Clinical Practice for the Diagnosis and Management of Thyroid Nodules, 2016, Update. *Endocr Pract.*, 2016, 22(Supplement 1):1-60.
 29. *Haugen B.R., Alexander E.K., Bible K.C., et al.* 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: The American Thyroid Association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid.* 2016, 26(1):1-133. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2015.0020>.
 30. *Ohmori N., Miyakawa M., Ohmori K., Takano K.* Ultrasonographic findings of papillary thyroid carcinoma with Hashimoto's thyroiditis//. *Intern Med.*, 2007, vol. 46, 9, p. 547–550.
 31. *Wei X., Li Y., Zhang S., Gao M.* Meta-analysis of thyroid imaging reporting and data system in the ultrasonographic diagnosis of 10,437 thyroid nodules. *Head Neck.* 2016, 38(2):309-315. doi: <https://doi.org/10.1002/hed.23878>.
 32. *Yoon J.H., Lee H.S., Kim E.K., et al.* Malignancy risk stratification of thyroid nodules: comparison between the thyroid imaging reporting and data system and the 2014 American Thyroid Association management guidelines. *Radiology*, 2016, 278(3):917-924. doi: <https://doi.org/10.1148/radiol.2015150056>.

УДК 616 -002.5:616.89

Клинико-эпидемиологические особенности туберкулеза у больных с психическими заболеваниями

М. Д. Сафарян, Г. Р. Минасян, А.П. Геворкян

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

Ключевые слова: туберкулез, психические заболевания, клинические формы туберкулеза

Туберкулез является одной из актуальных проблем здравоохранения в мире [1, 5]. В Армении за последние 5 лет наблюдается снижение показателей заболеваемости и смертности от туберкулеза. Так, если в 2012 г. заболеваемость, распространенность и смертность от туберкулеза составляли 35,1 на 10^5 ; 44,4 на 10^5 ; 3,5 на 10^5 , то в 2017 г. соответственно – 22,8 на 10^5 ; 29,9 на 10^5 ; 2,2 на 10^5 населения. На фоне снижения основных эпидемиологических показателей наблюдается утяжеление клинической структуры туберкулеза с реверсией распространенных, генерализованных, остропрогрессирующих процессов. Серьезной проблемой, влияющей на общую ситуацию, продолжает оставаться туберкулез у социально-дезадаптированных групп населения, в том числе имеющих психические отклонения различных степеней выраженности. Среди психических больных туберкулез встречается чаще, чем в общей популяции. Сочетание этих двух тяжелых и социально значимых заболеваний взаимно отягощается: с одной стороны, возникают хронические распространенные формы туберкулеза, с другой – утяжеляется течение психических заболеваний. Среди психических заболеваний наиболее часто туберкулез выявляется у больных с шизофренией (4-е место после умственной отсталости), реже – с атеросклеротическим слабоумием и другими психическими заболеваниями [2-4].

Целью данного исследования является изучение эпидемиологической ситуации и клинического течения туберкулеза среди психических больных, корреляции между психическими заболеваниями и тяжестью легочных форм туберкулеза.

Материал и методы

Настоящее исследование основано на клинико-катамнестическом наблюдении больных, страдающих психическими расстройствами, поступивших на специализированное лечение в психотуберкулезное отделение по поводу легочных форм туберкулеза.

В работе использованы архивный, рентгенологический, лабораторный, аналитический и статистический методы, а также интервьюированный метод экспертных оценок. Все обследованные больные были разделены на 2 группы: I группа – основная (50 чел.), куда были включены больные, имеющие одновременно туберкулез и психические заболевания; II группа – контрольная (43 чел.) – больные с туберкулезом без психических расстройств. Больные обеих групп получали стандартную двухэтапную химиотерапию в течение 6-8 месяцев. Большинство обследованных пациентов психотуберкулезного стационара страдали параноидной формой шизофрении (78%).

Результаты и обсуждение

Микобактерии туберкулеза, обнаруженные в мокроте больных, были чувствительны ко всем противотуберкулезным препаратам первого ряда. Распределение экспериментальных групп по полу показало, что большинство больных составляли мужчины (в I группе – 85%, во II – 73%). Среди больных с сочетанием туберкулеза легких и шизофренией преобладали лица в возрасте 30-50 лет (67,2%). В возрасте до 20 лет больные с сочетанием этих двух патологий встречались крайне редко. Среди детей и подростков больные с психическими заболеваниями не регистрировались. В контрольной группе также большинство больных (73,4%) составляли лица в возрасте от 30 до 50 лет. Распределение больных в соответствии с длительностью течения шизофрении на момент обнаружения туберкулеза показало, что пациентов со сроком течения заболевания до 10 лет было выявлено 32%, в остальных случаях – срок наблюдения был свыше 10 лет. В исследуемой группе у 28,2% больных имелись признаки перенесенного в прошлом туберкулеза в виде небольших остаточных изменений или крупных кальцинатов, локального пневмосклероза, плевральных шварт. Вредные привычки у пациентов исследуемых групп распределялись в следующей последовательности: курение – в 71,1% случаев, прием алкоголя – в 3,1% случаев. Нами был проанализирован метод выявления туберкулеза у пациентов исследуемых групп. В I клинической группе туберкулез у психических больных был выявлен при профилактических осмотрах в 80%, в остальных случаях – при обращении с соответствующими жалобами. В контрольной группе в 92% случаев туберкулез был выявлен при обращении с жалобами общего интоксикационного характера.

Анализ симптоматики туберкулезного процесса у больных шизофренией показал, что бессимптомное начало туберкулеза отмечено у больных I группы в $57,2 \pm 5,1\%$, значительно реже имело место острое начало – $14,3 \pm 3,2\%$, подострое – в $28,5 \pm 6,1\%$. У больных II группы бессимптомное течение наблюдалось лишь в $12,3 \pm 3,1\%$, острое – в $18,2 \pm 1,3\%$, подострое – в $69,5 \pm 3,1\%$.

Распределение больных по клиническим формам туберкулеза, согласно классификации, представлено в таблице.

Таблица

Основные формы туберкулеза у больных в исследуемых группах

Группа	Формы туберкулеза			
	очаговый	инфильтративный	диссеминированный	фиброзно-кавернозный
I	$21,0 \pm 3,25\%$	$53,1 \pm 2,1\%$	$17,0 \pm 3,1\%$	$2,1 \pm 2,1\%$
II	$18,0 \pm 2,1\%$ $p > 0,05$	$61,3 \pm 7,1\%$ $p > 0,05$	$11,1 \pm 2,1\%$ $p > 0,05$	$1,5 \pm 1,1\%$ $p > 0,05$

Согласно представленной таблице, в обеих группах преобладали инфильтративные формы туберкулеза легких ($53,1$ и $61,3\%$). Однако учитывая, что у больных I, основной, группы туберкулез был выявлен, в основном, при профилактическом обследовании (80%), количество малых форм туберкулеза, а именно очаговый туберкулез, составил 21% .



Рисунок. Закрытие полостей распада в исследуемых группах

Сравнительный анализ прекращения бактериовыделения в исследуемых группах показал, что через 2 месяца лечения у больных I группы мокрота абациллировалась в 60% случаев, полное абациллирование мокроты у всех больных наступило через 6 месяцев лечения. У больных II контрольной группы уже через 3 месяца лечения мокрота абациллировалась в 85% , через 6 месяцев – в 100% случаев. Что касается закрытия полостей распада в обеих группах, то результаты, представленные на рисунке, показали, что в I группе после окончания лечения закрытие полостей распада наблюдалось лишь в 63% , в то время как во II, контрольной, в 86% случаев.

Таким образом, частота развития туберкулеза среди больных с психическими заболеваниями выше, чем среди больных без психических расстройств. Среди больных с сочетанием туберкулеза легких и психи-

ческими заболеваниями преобладают лица мужского и женского пола в возрасте 30-50 лет. Социальный профиль среднестатистического пациента с сочетанием туберкулеза легких и психическими заболеваниями выглядит следующим образом: мужчины 40 лет, страдающие более 10 лет шизофренией, безработные. Основным методом выявления легочных форм туберкулеза у больных с психическими заболеваниями является крупнокадровое флюорографическое обследование органов грудной клетки. Эффективность лечения по абациллированию мокроты и закрытию полостей распада у пациентов с психическими заболеваниями ниже, чем среди больных туберкулезом без психических заболеваний.

Поступила 13.06.19

Տուբերկուլյոզի կլինիկահամաճարակաբանական առանձնահատկությունները հոգեկան հիվանդների շրջանում

Մ.Դ. Սաֆարյան, Գ.Ռ. Մինասյան, Ա.Պ. Գևորգյան

Այս հետազոտության նպատակը հոգեկան հիվանդությունների հետ համակցված թոքերի տուբերկուլյոզով (պալարախտով) տառապող հիվանդների կլինիկահամաճարակաբանական առանձնահատկությունների ուսումնասիրությունն է:

Պարզվել է, որ ֆթիզիոհոգեբուժական ստացիոնարի հիվանդների մեծ մասը տառապում են շիզոֆրենիայի պարանոիդ ձևով: Գերակշռում էին թոքերի ներսպանկային տուբերկուլյոզով տառապող 40 տարեկան տղամարդիկ, որոնք 10 տարուց ավելի ունեն շիզոֆրենիա:

Clinical and Epidemiological Features of Tuberculosis in Patients with Mental Illness

M.D. Safaryan, G.R. Minassian, A.P. Gevorgyan

The aim of this study is to observe peculiarities of the evidence-based medicine in patients suffering from pulmonary tuberculosis coexisting with psychiatric disorders.

It has been found that most of the patients of the phthisio-psychiatric stationary suffer from paranoid schizophrenia. 40 years old men with infiltrative pulmonary tuberculosis, who had schizophrenia for more than 10 years, prevailed.

Литература

1. *Зубова Е.Ю.* Туберкулез легких в психиатрических стационарах. ISSN 1810-0198 Вестник ТГУ, 2012, вып 1, т. 17, с. 257-262.
2. *Мишин В.Ю., Лосев Л.В., Цыганков Б.Д., Шевчук Е.Ю.* Течение и эффективность лечения больных туберкулезом легких, страдающих шизофренией. Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2008, 6, с. 6-10.
3. *Перельман М.И., Богадельникова И.В.* Фтизиатрия. Учебник, М., 2010.
4. *Шаманова Н.В.* Туберкулез легких у больных шизофренией. Иркутская областная психиатрическая больница N 2. Бюл. ВСНЦ СО РАМН, 2011, 2 (78).
5. *Shu-Chen Kuo, Yung -Tai Chen, Szu-yuan Li, Yi-Tzu Lee, Albert C Yang, Te-Li Chen et al.* "Incidence and outcome of newly-diagnosed tuberculosis in schizophrenics: a 12-year, nationwide, retrospective longitudinal study " BMC infectious diseases, 2013, 29 July.

ՀՏԴ 613.2+614

Սննդային հավելումները և մարդու առողջությունը

Թ.Ս. Մարգարյան

*Արարատի մարզ, Արտաշատի թ. 1 հ/դ
0701, ք. Արտաշատ, Մարքսի փ., 13*

Բանալի բառեր. մարդու առողջությունը, առողջության պահպանում,
սննդային հավելումներ

Անձի կրթության և դաստիարակության գործում հսկայական դեր է կատարում սեփական առողջությունը պահպանելու, նրա նկատմամբ պատասխանատվության զգացողության բարձրացման տեսակետների զարգացումը: Այս առումով մեծ է այն միջավայրի դերը, որտեղ կրթվում և դաստիարակվում է տվյալ անհատը: Մարդու կենսունակության և առողջության համար անհրաժեշտ է էներգիա, որը նա ստանում է սննդի միջոցով: Մարդկանց առողջությունը կախված է միջավայրի և սննդի էկոլոգիական մաքրությունից: Մոտոնոր մարդուն անհրաժեշտ է ապրելու և ստեղծագործելու համար: Կենդանի օրգանիզմի կենսագործունեությունը, աճը, զարգացումն ապահովում են սննդանյութերը: Մարդու օրգանիզմի բնականոն կենսագործունեության համար անհրաժեշտ են տարբեր սննդանյութեր: Միօրինակ սնունդը, սննդամթերքում այս կամ այն սննդանյութի անբավարարությունը օրգանիզմում կարող են բազմաթիվ հիվանդությունների առաջացման պատճառ դառնալ [1]: Ըստ փորձագետների՝ առողջության վրա ազդող ամենակարևոր գործոնը ապրելակերպն է: Մարդու կողմից սեփական անձի առողջապահական դերի գիտակցումը կարևորվում է, քանի որ մենք օրգանիզմը տարբեր թույներից զերծ պահելու, դրանց կենսաբանական ազդեցությունից խուսափելու, սննդի տեսակետից առողջ ապրելակերպ վարելու խնդիր ունենք: Բազմաթիվ հիվանդություններ կարելի է կանխարգելել՝ փոխելով ապրելակերպը: Ուստի առողջությունը անձի ապրելակերպի ընտրության խնդիր է:

Մենք բոլորս ցանկանում ենք առողջ լինել, բայց շատերն առանց վարանելու մեծ չափաբաժիններով օգտագործում են անուշահոտ ըմպելիքներ, քաղցրավենիքներ, չիպսեր... և այս շարքը կարելի է շարունակել:

նակել անվերջ: Հաճախ մարդը ձգտում է ուտել ոչ միայն օգտակար, այլև հաճույք պատճառող սնունդ: Մարդիկ սնունդ ընտրելիս վերցնում են չափսերով ավելի մեծը, գույնով ավելի վառը, համով ավելի հաճելի, առանց մտահոգվելու, որ այդ ամենը ստացված է պարզապես սննդային հավելումների միջոցով: Այս պարագայում անհրաժեշտություն է առաջանում հանրակրթական դպրոցում սովորողներին տեղեկացնելու առողջությունը խաթարող այն սննդային հավելումների մասին, որոնք առավել հաճախ են կիրառվում մեր կողմից յուրացվող սննդամթերքի արտադրության մեջ: Երկրագնդի բնակչության շեշտակի աճը մարդկությանը ստիպեց սննդի հայթայթման այլ ուղիներ փնտրել: Ժամանակակից սննդային արտադրությունն անհնար է պատկերացնել առանց սննդային հավելումների: Դրանք նյութեր են, որոնց առկայությունը պարտադիր է այս կամ այն տեսակի սննդի ստեղծման համար: Այդ նյութերի շարքում հսկայական թիվ են կազմում վտանգավոր սննդային հավելումները, որոնք աստիճանաբար բացասական ազդեցություն են թողնում մեր և մեր երեխաների առողջության վրա: Ի դեպ, պետք է նշել, որ տարբեր երկրներում կարող են արգելված լինել այս կամ այն հավելումներով վաճառվող մթերքները: Հայաստանում վիճակն անհամեմատ մտահոգիչ է, քանի որ արգելված հավելանյութերի ցուցակը շատ փոքր է, սակայն կան մեծ թվով հավելանյութեր, որոնք չպետք է տեղ գտնեն սննդի արտադրության մեջ: 1500-ից ավելի տարբեր նշանակության բնական և քիմիական ծագում ունեցող սննդային հավելումներից շատերը մենք ամեն օր ընդունում ենք սննդի հետ ու նույնիսկ չենք նկատում: Մեր խանութներում առկա գրեթե ողջ մթերքը պարունակում է քիմիական հավելումներ՝ անուշաբույրեր, գունանյութեր, կոնսերվանտներ և այլ քիմիական նյութեր: Այս մասին գիտեն գրեթե բոլոր սպառողները: Հաճախորդները նաև տեղյակ են, որ այդ հավելումներն օգտակար չեն, իսկ որոշ դեպքերում անգամ վնասակար ազդեցություն են ունենում առողջության վրա: Կան վիճակագրական տվյալներ, որ որոշ հավելումների առկայությունը սննդում հանգեցրել է փոքր երեխաների մոտ ալերգիկ երևույթների դրսևորման և ադեստամոքսային համակարգի խանգարման: Հետևաբար՝ ցանկալի է, որ յուրաքանչյուր ծնող տեղյակ լինի հավելումների նշաններից, և գնելիս ինքը որոշի՝ կարելի՞ է այդ իր երեխային, թե՞ ոչ [2]:

Այժմ տեսնենք, թե որոնք են հավելումները և ինչպես են նշվում: Սննդային հավելումները նյութեր են, որոնք տեխնոլոգիական նպատակներով ավելացվում են պարենային ապրանքներին արտադրության, փաթեթավորման, փոխադրման կամ պահեստավորման ընթացքում: Սննդային հավելումները էժան և հեշտ միջոց են, որոնք մթերքին

տալիս են ցանկալի հատկություններ՝ որոշակի համ, հոտ, գույն կամ պահպանման երկարատևություն: Նախկինում սննդին ավելացված քիմիական նյութերի անվանումները գրվում էին փաթեթավորված սննդի պիտակի վրա ամբողջությամբ: Սակայն տարիների ընթացքում սննդին ավելացվող այդ նյութերի քանակն այնքան ավելացավ, որ դրանց բոլորի անվանումներն այլևս հնարավոր չէր տեղավորել պիտակի վրա:



Նկ. 1



Նկ. 2

1953թ. Եվրոպայում որոշեցին սննդային հավելումների ամբողջական քիմիական անվանումները փոխարինել **E**-տառով և որոշակի թվային արժեքով: Ըստ այդ համակարգի՝ սննդային հավելումները ըստ ազդեցության բաժանվում են մի քանի խմբի: Խմբերը տարբերվում են ըստ E տառից հետո գրվող առաջին թվի, օրինակ՝ E100, E200 [1]:

Սննդային հավելումների խմբերն են E100 – E199 գունանյութերը, E200 – E299 կոնսերվանտները, E300 – E399 հակաօքսիդիչները, E400 – E499 կայունացուցիչները, E500 – E599 թթվայնության կարգավորիչները, E600 – E699 համային խմորիչները, E700 – E800 հակաբիոտիկները, E900 – E999 քաղցրացուցիչները և E1000 – E1599 այլ լրացուցիչ հավելանյութեր:

Նախորդ հրապարակման մեջ մենք նշել ենք, որ սննդային ներկանյութերը և կոնսերվանտները [2] գրանցվում են E100 – E199 կոդերով: Դրանց ավելացմամբ մթերքը վերականգնում է իր բնական գույնը, որ կորցրել էր վերամշակման ընթացքում: Ներկանյութերն օգտագործում են՝ նաև մթերքին ավելի վառ ու պայծառ երանգ հաղորդելու համար, քան այն ունի իրականում: Այժմ, բացի բուսական ծագմամբ ներկանյութերից, հիմնականում կիրառում են քիմիական ճանապարհով ստացված հավելումները: Օրինակ, E102-տարտրազինը ոսկեգույն երանգով սինթետիկ նյութ է, օգտագործվում է պաղպաղակների, դոն-

դողների, մրգային և բանջարեղենային պահածոների, արագ պատ-
րաստվող սուպերի, գազավորված ըմպելիքների արտադրության մեջ:
Մեծ Բրիտանիայում կատարված վերջին ուսումնասիրությունները
ցույց տվեցին, որ E-102 պարունակող սնունդ օգտագործելու դեպքում
երեխաների մոտ նկատվում են հիպերակտիվություն և ուշադրության
վատացում [3]:

Սննդին կարմրամանուշակագույն երանգ է հաղորդում քարա-
ծխային խեժից ստացված քիմիական նյութ ամարանտը՝ E-123-ը: Ամա-
րանտով հագեցած սննդի օգտագործումից մարդու մոտ կարող են
առաջանալ ռինիտ, եղնջացան, ինչը կարող է բացասական ազդե-
ցություն ունենալ լյարդի և երիկամների աշխատանքի վրա: Վարկած-
ներ կան, որ E-123-ը կարող է հղիության շրջանում հանգեցնել պտղի
մոտ բնածին արատների առաջացման: E-123-ը և E-124-ը խստիվ ար-
գելվում են ասպիրինի նկատմամբ զգայունություն ունեցող մարդկանց:
Այս գունանյութերն ուժեղ ալերգեններ են, որոնք կարող են առաջաց-
նել անաֆիլակտիկ շոկ կամ հանգեցնել ասթմայի ուժեղ նոպայի:

Մարդկությունը կոնսերվանտներ օգտագործել է դեռևս հազար-
ամյակներ առաջ: Ամենահին կոնսերվանտներից են աղը, սպիրտը,
քացախը: Իսկ այժմ սննդի արտադրության մեջ նախապատվությունը
տալիս են սինթետիկ ծագմամբ նյութերին, քանի որ նրանց արդյու-
նավետությունն ավելի բարձր է, իսկ ինքնարժեքը՝ ավելի ցածր: Կոն-
սերվանտները նման են հակաբիոտիկներին, որոնք արտադրանքի մեջ
ոչնչացնում են կենսաբանական կյանքը: Հետևաբար՝ սնունդը գերծ է
մնում հետագա փչացումից: Այսօր սննդում կոնսերվանտների օգտա-
գործումը հասել է այնպիսի ծավալների, որ մի քանի տարվա ընթաց-
քում կուտակվելով նրանց քանակը մարդու օրգանիզմում կհասնի
կրիտիկական սահմանի: Իսկ դա կհանգեցնի տարբեր օրգանների
մուտացիաների, կարևոր կենսական համակարգերի խանգարումների,
ինչպես նաև քրոնիկ հիվանդությունների և քաղցկեղի առաջացման:
Մեծ քանակությամբ կոնսերվանտների ամենօրյա օգտագործման
պատճառով Արևմուտքի բազմաթիվ երկրների գերեզմանոցներում
հայտնաբերվել են այնպիսի դիեր, որոնք բնականոն քայքայման չեն՝
ենթարկվել: Առավել վտանգավոր կոնսերվանտներից է E240-ը՝
մրջնալոգեհիդր, որը պարունակում են պահածոյացված մթերքները:
Մրջնալոգեհիդր թունավոր է, ուժեղ ազդեցություն ունի կենտրոնական
նյարդային համակարգի վրա և համարվում է քաղցկեղածին: Առավել
վտանգավոր է կոնցենտրիկ E236 – մրջնաթթուն, որը, նույնիսկ քիչ
քանակով թափվելով մաշկի վրա, առաջացնում է այրվածքներ, իսկ
գոլորշիները կարող են վնասել շնչուղիները: Մեծ չափաբաժնով E236-ի
օգտագործումը կարող է առաջացնել սուր գաստրիտ, վնասել տեսողա-

կան նյարդը, որը կհանգեցնի կուրության, լյարդի և երիկամների հիվանդությունների: Սակայն մրջնաթթուն արագ մշակվում և արտազատվում է օրգանիզմի կողմից: Հետևաբար փոքր չափաբաժիններով E236-ի օգտագործումն առաջացնում է տեղային անզգայացում և ունի հակաբորբոքային ազդեցություն:

E222-ը՝ նատրիումի հիդրոսուլֆիտ, սննդում օգտագործվում է որպես կոնսերվանտ կամ հակաօքսիդանտ, ունի նաև սպիտակեցնող հատկություն: Այն լայն կիրառություն ունի գինու արտադրության մեջ՝ որպես համի և հետագա թթվեցումից պահպանման միջոց: Չնայած E222-ը համարվում է խիստ թունավոր, բարձր կոնցենտրացիաներով օգտագործումը կարող է առաջացնել աղեստամոքսային հիվանդություններ և լուրջ ալերգիկ ռեակցիաներ, սակայն դասվում է թույլատրելի սննդային հավելումների շարքում:

Սննդամթերքը օքսիդացումից և գունաթափումից պահպանում են հակաօքսիդիչները, որոնք նշվում են E300 – E399 կոդով: Դրանցից է E338-ֆոսֆորական թթուն, որն անօրգանական թույլ թթու է, սննդում օգտագործվում է որպես թթվայնության կարգավորիչ: Չնայած ֆոսֆորական թթուն ընդգրկված է անվտանգ սննդային հավելումների ցանկում, սակայն անհրաժեշտ է պահպանել սպառման թույլատրելի չափաբաժինները: Հետազոտողների մի մասը գտնում է, որ E338-ի օգտագործումը հանգեցնում է ոսկրերի խտության նվազման, իսկ ատամնաբույժներն էլ պնդում են, որ ըմպելիքներում պարունակվող ֆոսֆորական թթուն քայքայում է ատամի էմալը և նպաստում կարիեսի առաջացմանը: Այսպիսով, H_3PO_4 -ը, լինելով թույլ հանքային թթու, օգտակար է միայն թույլատրելի սահմաններում:

E322 – լեցիտինը բնական ծագում ունեցող հակաօքսիդանտ է: Այն կարող է կատարել նաև էմուլգատորի դեր: Լեցիտին հիմնականում պարունակում է ձվի դեղնուցը: Բացի ձվի դեղնուցից, լեցիտին պարունակում են նաև մսամթերքը, լյարդը, տարատեսակ բուսական յուղերը: Բուսական յուղերի վերամշակումը լեցիտինի հիմնական արդյունաբերական ստացման եղանակն է: Լեցիտինն ունի շատ օգտակար հատկություններ: Լեցիտինն անհրաժեշտ է մարդու նորմալ ֆունկցիոնալ գործունեության համար: Լեցիտին պարունակում են լյարդի և ուղեղի հյուսվածքները: Լեցիտինն ունի դեղերի արդյունավետությունը բարձրացնող հատկություն: E322-ը՝ որպես սննդային հավելում, հիմնականում կիրառվում է շոկոլադների արտադրության մեջ: Պետք է նկատի ունենալ, որ E322-ով հարուստ սնունդը հաճախ առաջացնում է ալերգիաներ: Ալերգիաների նկատմամբ հակում ունեցող մարդիկ պետք է զգույշ օգտագործեն վերը նշված սննդի այդ տեսակը [4]:

Եթե սննդի պիտակի վրա դուք տեսնում եք E400 – E499 ցուցա-

նիշներով գրառումներ, ապա նշված սնունդը մշակված է կայունացուցիչներով: Կայունացուցիչները սննդային հավելումներ են, որոնք օգտագործվում են սննդի ձևավորման և այդ ձևի հետագա պահպանման համար: Ավելի հաճախ կայունացուցիչներ օգտագործում են հաց, կաթնամթերք, հրուշակեղեն և մսամթերք վերամշակող արտադրություններում: Կայունացուցիչները հիմնականում ստանում են բնական նյութերից՝ խնձորից, ցիտրուսային մրգերից և այլն: Սակայն կան նաև որոշ կայունացուցիչներ, որոնք ստանում են արդյունաբերական ճանապարհով: Այս հավելանյութերը հիմնականում անվտանգ են մարդու առողջության համար:

Էմուլգատորներ են կոչվում այն սննդային հավելումները, որոնք օգտագործվում են՝ միմյանց չխառնվող տարբեր նյութերից համասեռ զանգված ստանալու համար, օրինակ՝ ջրի և բուսական յուղի խառնուրդը: Էմուլգատորները նախատեսված են ապրանքի մածուցիկության և պլաստիկության համար:

Էմուլգատորները գրանցված են E500 – E599 սահմանում, սակայն էմուլգատորի դեր կարող է կատարել միաժամանակ մեկ այլ սննդային հավելում: Օրինակ՝ E322 –ը օգտագործվում է ինչպես կայունացուցիչ, այնպես էլ որպես էմուլգատոր:

Համի և բույրի ուժեղացուցիչները նշվում են E600 – E699 կոդերի միջակայքում: Այս հավելանյութերը կարող են վերացնել մթերքի բնական տհաճ համը: Սրանց օգնությամբ սննդին հաղորդում են ախորժեղի համ և հաճելի բույր: Որպես համի և բույրի ուժեղացուցիչներ՝ հաճախ օգտագործվում են գլուտամինաթթուն և նրա աղերը՝ նատրիումի գլուտամատը (E621), կալիումի գլուտամատը (E622), կալցիումի գլուտամատը (E623), ամոնիումի գլուտամատը (E624), մագնեզիումի գլուտամատը (E625): Համի ուժեղացուցիչներից օրինակ՝ E620-ը՝ գլուտամինաթթուն, սպիտակ բյուրեղային, թթու համով, ջրում վատ լուծվող նյութ է, իսկ էթանոլի և եթերների ներկայությամբ դառնում է բոլորովին անլուծելի: Այն հիմնականում առկա է արյան պլազմայում, ինչպես նաև սպիտակուցներում, կիրառվում է նաև բժշկության մեջ հոգեկան և նյարդային խանգարումների ժամանակ: Ի տարբերություն գլուտամինաթթվի՝ նրա աղերը լավ են լուծվում ջրում, այդ իսկ պատճառով որպես սննդային հավելում ավելի հաճախ կիրառվում են գլուտամինաթթվի աղերը: Օրինակ՝ նատրիումի գլուտամատը՝ E621-ը, զգալիորեն բարձրացնում է լեզվի ռեցեպտորների զգայունությունը և հետևաբար՝ նաև մարդու համային զգացողությունները: Համի նման ուժեղացուցիչները հաճախ օգտագործվում են պահածոների և արագ պատրաստվող սննդի արտադրության մեջ: Հանդիպում են նաև չիփ-

սերի, ձկան և մսի պահածոների, սոուսների, մայոնեզների և կետչուպների մեջ:

Հակաբիոտիկները նշվում են E700- E800 կոդերով: Բարեբախտաբար ԱՊՀ երկրներում հակաբիոտիկների օգտագործումը մարդու համար նախատեսված սննդի մեջ չի թույլատրվում: Հակաբիոտիկներն օգտագործում են միայն կենդանիների համար նախատեսված կերերում [5]:

Քաղցրացուցիչները գրանցված են E900- E999 կոդերով: Հաճախ օգտագործվող քաղցրացուցիչներից են ասպարտամը (E651) և նատրիումի ցիկլոմատը (E652): Ասպարտամը ստանում են սինթետիկ ճանապարհով: Այն փոխարինում է շաքարին: Ունի քաղցր համ: Ասպարտամի քաղցրությունը մոտ 200 անգամ գերազանցում է շաքարի քաղցրությանը: Ասպարտամը լավ լուծվում է ջրում և հոտ չունի: Այն 80 օրում քայքայվում է, այդ պատճառով չի օգտագործվում այնպիսի ապրանքներում, որոնք հետագայում ենթարկվելու են ջերմային մշակման: Ասպարտամի մեծ առավելությունն այն է, որ շատ քաղցր է և սննդի մեջ օգտագործվում է շատ քիչ քանակներով, որն էլ բերում է ապրանքի ցածր կալորիականության: Ասպարտամն օգտագործում են դիետիկ սնունդների, ոչ ալկոհոլային խմիչքների, մաստակների և այլնի արտադրության մեջ:

Նատրիումի ցիկլոմատը՝ E652, նույնպես օգտագործվում է սննդի մեջ, որպես քաղցրացուցիչ՝ շաքարին փոխարինող: Ի տարբերություն ասպարտամի՝ սա առավել դիմացկուն է ջերմային տատանումների նկատմամբ և կարող է օգտագործվել այնպիսի մթերքներում, որոնք ենթարկվելու են ջերմային մշակման: Սննդային հավելում E652-ը չի մարսվում մարդու օրգանիզմի կողմից և օրգանիզմից արտազատվում է մեզի հետ: 1969թ. առնետների վրա կատարվել են հետազոտություններ, որից հետո E652-ը դասել են քաղցկեղածին նյութերի շարքում: Սակայն այսօր բազմաթիվ փորձագետներ կարծում են, որ E652-ը ուղղակիորեն չի հանգեցնում քաղցկեղի, բայց կարող է նպաստել այլ քաղցկեղածինների առաջացմանը [6,7,8,9]:

Այսպիսով, մենք փորձեցինք հակիրճ ներկայացնել սննդի մեջ շատ հաճախ կիրառվող հավելումները, որոնցից ոչ բոլորն են վտանգավոր, իսկ նրանց մի մասն էլ պարունակվում են բնական մթերքների բաղադրության մեջ կամ կարող են սինթեզվել մարդու օրգանիզմում:

Սակայն չպետք է մոռանալ, որ հավելանյութերի մեջ մեծ տոկոս են կազմում նաև վնասակար և մարդու առողջության համար վտանգներ կայացնող սննդային հավելումները:

Սննդային հավելումների մեջ մեծ խումբ են կազմում այն նյութերը, որոնք առաջ են բերում ալերգիկ ռեակցիաներ: Ուստի ասթմայով

տառապող և ալերգենների նկատմամբ զգայուն մարդիկ պետք է իրենց սննդից բացառեն այն մթերքները, որոնք պարունակում են հետևյալ հավելանյութերը՝ E102, E104, E107, E110, E122, E124, E131, E132, E142, E211, E216, E217, E222, E223, E224, E225 և այլն [7,8]:

Սննդային հավելումներից պետք է զգուշանան նաև աղեստամոքսային հիվանդություններ ունեցող մարդիկ, քանի որ այդ նյութերից շատերը կարող են հիվանդության սրացման պատճառ դառնալ, օրինակ՝ E110, E217, E222, E227 և այլն [9]:

Սննդամթերք ձեռք բերելիս պետք է առաջնորդվել հետևյալ ցուցումներով.

ա. առաջին հերթին պետք է խուսափել կիսաֆաբրիկատներից (խինկալիներ, կոտլետներ). դրանք հիմնականում մեծաքանակ հավելումներ են պարունակում:

բ. Ցանկացած սննդատեսակ ընտրելիս պետք է խուսափել վառ գունավորում, սուր հոտ ունեցող սննդատեսակներից:

Ընդունված է 25.07.19

Пищевые добавки и здоровье человека

Т.С. Маргарян

В деле образования и воспитания личности огромную роль играет забота о собственном здоровье, развитие подходов к чувству ответственности по отношению к нему. В этом случае большое значение имеет среда, в которой данная личность получает образование и воспитание. В сохранении здоровья большую роль играет пища, с помощью которой человек получает энергию для своей жизнедеятельности.

Какую пищу мы употребляем, какие добавки содержит она, как эти добавки влияют на наше здоровье – все эти вопросы мы постарались раскрыть в данной статье.

Food Additions and Human Health

T.S. Margaryan

While educating and growing up a person, the personal health care, the development of high responsibility levels play an important role. From this point of view the role of the environment, where a person was educated and grown up, is great. Food has a great role in the health care as a human get all the necessary energy for his/her vital activity from it. What kind of food do we use, what additions does it contain, how do they

influence on our health? Do they promote the health improvment or spoil it.

Studying the existing literature we have tried to give on explanation to the above mentioned problems in this article.

Գրականություն

1. <<Առողջ սնունդ, առողջ սերունդ>>, հեղ.՝ Տ.Թանգամյան և այլք, ուսումնաս-
օժանդակ ձեռնարկ աշակերտների և ուսուցիչների համար, Երևան, Դիջի
պրինտ, 2018թ.:
2. <<Սննդի արտադրությունում կիրառվող սննդային հավելումները և դրանց
ազդեցությունը մարդու առողջության վրա>>, Թ. Մարգարյան և այլք
www.aniedu.am. (ԿԳՆ,ԿԱԻ-ի կայք, ուսուցիչների համար, հոդվածներ),
2018թ.:
3. Журнал «Биология в школе», 2009, 7, 8.
4. Зайцев А.Н. О безопасных пищевых добавках и «зловещих» символах «Е», журнал
«Экология и жизнь», 1999, 4.
5. Оценка некоторых пищевых добавок и контаминантов. 41 доклад объединенных
экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам, Женева – М., 1994.
6. Сарафанова Л. А. Пищевые добавки (энциклопедия), 2004.
7. Эксперт. ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам, Женева – М., 1974.
8. www.dobavkam.net
9. www.findfood.ru
10. www.prodobavki.com

ՀՏԴ [614.2+615.1](479.25)

**Դեղերի պատշաճ արտադրական գործունեության
համապատասխանության դիտարկումների
պլանավորման սկզբունքները Հայաստանի
Հանրապետությունում**

Մ.Կ. Շաքարյան

*Ակադեմիկոս Էմիլ Գաբրիելյանի անվան դեղերի և բժշկական
տեխնոլոգիաների փորձագիտական կենտրոն*

Բանալի բառեր. պատշաճ արտադրական գործունեություն, ՊԱԳ,
որակի ապահովում, որակի կառավարման համա-
կարգ, ՊԱԳ դիտարկում, դեղերի ոլորտը կարգավո-
րող կառույց՝ ԴՏՀ/Ս

Ներածություն

Երկրում շրջանառվող դեղերի արտադրության փուլում որակի ապահովման երաշխիքների տրամադրման համար անհրաժեշտ է, որ դեղերի ոլորտը կարգավորող կառույցը հավաստիացնի ՀՀ-ում գրանցված դեղերի արտադրատարածքների համապատասխանությունը պատշաճ արտադրական գործունեության (ՊԱԳ) պահանջներին: Դա հնարավոր է իրագործել արտադրատարածքի դիտարկման միջոցով կամ ՊԱԳ համապատասխանությունը վկայող փաստաթղթերի փորձաքննության հիման վրա: Մյուս կողմից, ՊԱԳ համապատասխանության դիտարկումներն (այսուհետ՝ ՊԱԳ դիտարկում) իրականացնելը ՀՀ-ում գրանցված դեղերի բոլոր արտադրատարածքներում պահանջում է մարդկային և ֆինանսական մեծածավալ ռեսուրսներ, ժամանակատար է և կարող է ուղղակիորեն խոչընդոտել դեղերի ֆիզիկական մատչելիության ապահովումը: Ուստի հարցի լուծման այլընտրանքային ուղիների որոնումը խիստ արդիական է:

Հետազոտության նպատակն է համապատասխան ուսումնասիրությունների արդյունքում մշակել ՊԱԳ դիտարկումների պլանավորման սկզբունքները և արդյունավետ գործելակերպը [7-10]:

Նյութը և մեթոդները

Ուսումնասիրության ընթացքում կիրառվել են համակարգային, վերլուծական, համեմատական, մաթեմատիկական վերլուծության, փորձագիտական գնահատման մեթոդները:

Ուսումնասիրվել են Դեղագործական տեսչությունների համագործակցության սխեմա կազմակերպության (ԴՏՀ/Մ) ՊԱԳ դիտարկումների պլանավորման նպատակով ռիսկերի վերլուծության մոդելը և ՊԱԳ դիտարկումների հաշվետվությունների փոխադարձ ճանաչման սկզբունքները, Եվրամիության ռիսկերի վրա հիմնված դիտարկումների պլանավորման օրենսդրությունը, Ավստրալիայի դեղերի ոլորտը կարգավորող կառույցի ուղեցույցը արտերկրյա դիտարկումների կազմակերպման վերաբերյալ, ՌԴ ՊԱԳ դիտարկումների պլանավորման համակարգը, Առողջապահության համաշխարհային կազմակերպության երաշխավորությունները ՊԱԳ դիտարկմանը փոխարինող փորձաքննության մասին, Միջազգային ներդաշնակեցման խորհրդի (ICH) որակի համակարգի ու ռիսկերի վերլուծությանն առնչվող փաստաթղթերը: Ուսումնասիրվել են նաև ՀՀ-ում գրանցված դեղերի ավելի քան 600 արտադրողների ռիսկայնության մակարդակը գնահատելու մոտեցումները [3,6]:

Արդյունքները և քննարկումը

Մեր կողմից իրականացված ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ դեղերի ոլորտի զարգացած կարգավորում ունեցող երկրներում դեղերի արտադրատարածքների ՊԱԳ դիտարկումների հաճախականությունը, տևողությունը և ինքնին ՊԱԳ դիտարկումը կատարվում են՝ հիմնվելով ռիսկերի վերլուծության արդյունքների վրա [9]: Ռիսկերի վրա հիմնված դիտարկումների կազմակերպման հիմնաքարը երկրում շրջանառվող դեղերի բոլոր արտադրատարածքների դիտարկումներ իրականացնելու անհնարինությունն է: Բոլոր արտադրատարածքներում դիտարկում իրականացնելը պահանջում է հսկայական ռեսուրսներ, առաջացնում է գրանցման գործընթացի երկարաձգում և որակի ապահովման տեսանկյունից իմաստագուրկ է բոլոր այն դեպքերի համար, երբ առնվազն համարժեք դիտարկման արդյունքում փաստվել է արտադրողի ՊԱԳ համապատասխանությունը: Այս գաղափարի շուրջ է ձևավորվել նաև դեռևս 1970 թվականին Դեղագործական տեսչությունների համաձայնագիրը՝ PIC-ը և ԴՏՀՄ-ն, որին ներկայում անդամակցում են զարգացած դեղերի կարգավորում ունեցող շուրջ 49 երկիր [5]:

Ուստի, բոլոր այն դեպքերում, երբ ստեղծված են դեղերի ոլորտը կարգավորող մարմինների կողմից իրականացվող դիտարկումների արդյունքների ճանաչման պատշաճ հիմքերը, հնարավոր է արտադրատարածքի ՊԱԳ համապատասխանության հավաստումը առանց արտադրատարածքում դիտարկում իրականացնելու [7,8]:

Մեր ուսումնասիրությունների արդյունքում պարզ է դարձել, որ Հայաստանում գրանցված դեղերի բոլոր արտադրատարածքների ՊԱԳ համապատասխանության հավաստման համար անհրաժեշտ կլինի իրականացնել տարեկան ավելի քան 200 դիտարկում՝ հաշվի առնելով, որ ՊԱԳ դիտարկումների առավելագույն պարբերականությունը 3 տարի է (բանաձև 1).

$$D = \frac{A}{P} = \frac{> 600}{< 3} = > 200 \quad (1)$$

որտեղ՝

D - դիտարկումների թիվը,

A - արտադրողների ընդհանուր թիվը,

P - դիտարկումների իրականացման պարբերականությունը:

Տարեկան 200 դիտարկում իրականացնելու համար անհրաժեշտ է կատարել օրական մոտ մեկ դիտարկում (բանաձև 2):

$$WD = AD - NWD = 365 - NWD \quad (2)$$

որտեղ՝

WD - աշխատանքային օրերի թիվը տարվա ընթացքում,

AD - տարվա օրերի թիվը,

NWD - ոչ աշխատանքային օրերի թիվը տարվա ընթացքում:

Ոչ աշխատանքային օրերի թիվը հաշվարկվում է հետևյալ բանաձևով.

$$NWD = WW \times 2 + 7 + 20 = 52 \times 2 + 7 + 20 = 131,$$

որտեղ *WW*-ը շաբաթների թիվն է տարվա ընթացքում, իսկ «2»-ը շաբաթվա ոչ աշխատանքային օրերի թիվն է, 7 ու 20 հաստատունները համապատասխանաբար ՀՀ-ում սահմանված ամանորյա տոնական ու արձակուրդային օրերի թվերն են տարվա ընթացքում: Արդյունքում աշխատանքային օրերը տարվա ընթացքում կազմում են 234 օր.

$$WD = AD - NWD = 365 - NWD = 365 - 131 = 234 :$$

Այսպիսով, 234 օրվա ընթացքում անհրաժեշտ կլինի իրականացնել ավելի քան 200 ՊԱԳ դիտարկում, այսինքն՝ 1 օրվա ընթացքում գրեթե 1 դիտարկում: Սակայն, հաշվի առնելով, որ ՊԱԳ դիտարկումը միջինում իրականացվում է 3 աշխատանքային օրվա (օրենսդրությամբ ամրագրված է 5 օր) ընթացքում, իսկ դրա նախապատրաստման ու արդյունքներն ամփոփելու համար անհրաժեշտ են ևս առնվազն 3-4 օր, ապա միջինում մեկ ՊԱԳ դիտարկման ամբողջական իրականացման համար անհրաժեշտ ժամկետը կկազմի 10 աշխատանքային օր: Ուստի, ավելի քան 200 դիտարկում իրականացնելու համար անհրաժեշտ կլինի ավելի քան 2000 աշխատանքային օր (բանաձև 3).

$$IWT = IT \times IN = 200 \times 10 = 2000 \text{ աշխատանքային օր,} \quad (3)$$

որտեղ՝

IWT - դիտարկումների ընդհանուր ժամանակահատվածը,
IT - մեկ դիտարկման համար անհրաժեշտ ժամանակը,
IN - դիտարկումների թիվը:

Այսպիսով, 234 աշխատանքային օրերի ընթացքում 2000 օրվա աշխատանքները կազմակերպելու համար անհրաժեշտ կլինի ունենալ միաժամանակ դիտարկումներ իրականացնող առնվազն 9 խումբ (2000/234=8.5) փորձագետներ, որոնք կկարողանան իրագործել նախատեսված աշխատանքը, որն իր հերթին նշանակում է մոտ 20 ՊԱԳ փորձագետ, մինչդեռ մեր կողմից իրականացված համեմատական վերլուծությունները ցույց են տվել, որ փոքր ռեսուրսներ ունեցող դեղերի ոլորտը կարգավորող մարմիններում ՊԱԳ փորձագետների թիվը չի գերազանցում 4-ը: Մասնավորապես համեմատության համար ուսումնասիրվել են ՊԱԳ և պատշաճ կարգավորման ներդրման համանման տվյալներ և պատմություն ունեցող երկրների փորձը, ինչպիսիք են հետխորհրդային Մերձբալթյան երկրները՝ Լատվիան, Լիտվան և Էստոնիան (աղ. 1):

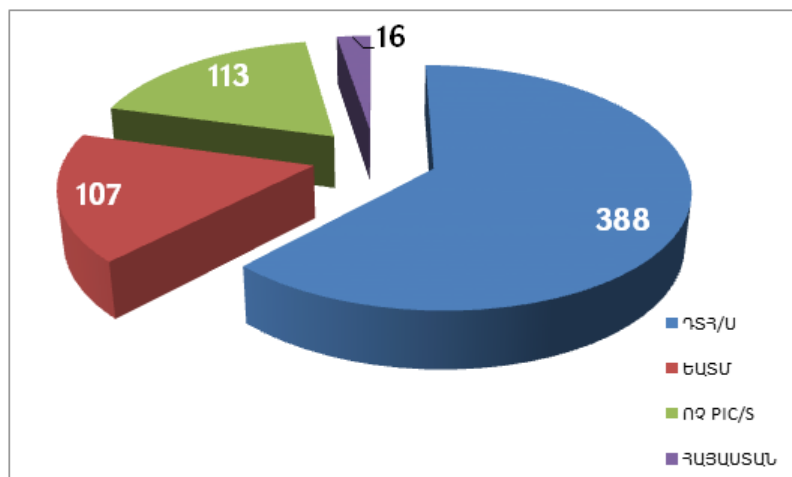
Աղյուսակ 1

Մերձբալթյան երկրների և Հայաստանի համեմատական տվյալները

	ԼՍՏՎԻԱ	ԼԻՏՎԱ	ԷՍՏՈՆԻԱ	ՀԱՅԱՍՏԱՆ
ՊԱԳ փորձագետների թիվը	4	3	1	4
Արտադրողների թիվը	40	32	27	12
Գրանցված դեղերի թիվը	7436	6825	6565 ^[4]	4528
Բնակչության թիվը (մարդ)	2,291,000	2,921,920	1,319,133	2,924,816
Տարածքը (կմ ²)	64,589	65,200	45,226	29,800

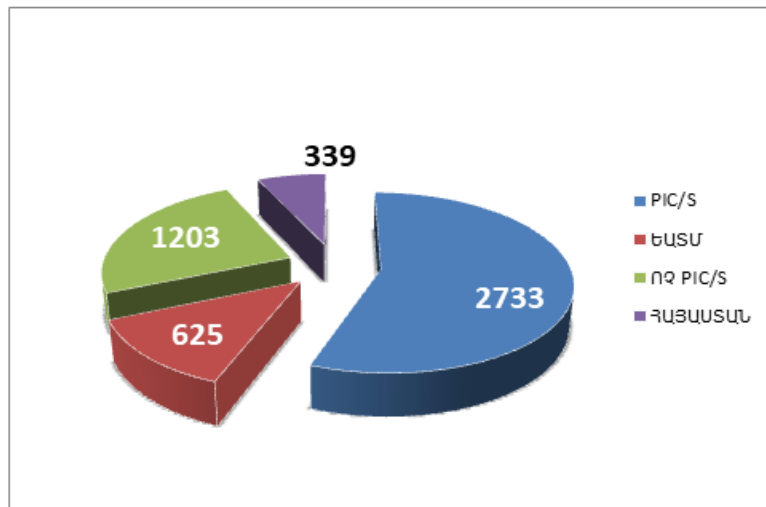
Մեր ձբալթյան երեք երկրներում իրավիճակի վերլուծությունը ցույց է տվել, որ չնայած այն հանգամանքին, որ գրանցված դեղերն ավելին են, քան ՀՀ-ում գրանցվածները, միևնույնն է, դրանց ՊԱԳ փորձագետները առավելագույնը 4-ն են, որոնք չեն կարող իրականացնել բոլոր արտադրատարածքների դիտարկումները: Այլ է պատկերը Ռուսաստանի Դաշնությունում, որտեղ ՊԱԳ դիտարկումների կազմակերպման փորձը ցույց է տալիս, որ վերջին տարիներին որդեգրվել է երկրում գրանցվող բոլոր արտադրատարածքների դիտարկման քաղաքականություն, որը հակասում է առաջավոր փորձի սկզբունքներին: Այնուամենայնիվ, ԴՏՀ/Ս անդամ-երկրների տարածքում իրականացվող դիտարկումները գրեթե բոլոր դեպքերում փաստում են արտադրողի համապատասխանությունը ՊԱԳ պահանջներին: ՊԱԳ անհամապատասխանությունները վերաբերում են գրանցման դոպետում առկա և արտադրատարածքում փաստացի վիճակի, այլ ոչ ՊԱԳ պահանջների անհամապատասխանություններին: Զարգացած երկրների կարգավորիչ մարմինները երկրում գրանցվող դեղերի արտադրատարածքների դիտարկումների կազմակերպման համար առաջնորդվում են ռիսկերի վերլուծության վրա հիմնված մոտեցումներով:

Մեր կողմից 2017 թվականին իրականացված ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ Հայաստանում գրանցված դեղերի արտադրատարածքների գերակշռող մասը գտնվում է ԴՏՀ/Ս անդամ-պետություններում: Մեծ թիվ են կազմում նաև ԵԱՏՄ անդամ-երկրներում տեղակայված ընկերությունները (նկար 1):



Նկար 1. ՀՀ-ում գրանցված դեղերի արտադրատարածքները ըստ ԴՏՀ/Ս անդամ-երկրների

ՀՀ-ում գրանցված դեղերի արտադրողների շուրջ 63%-ը գտնվում են ՂՏՀ/Ս անդամ-երկրներում, ԵԱՏՄ անդամ-պետություններում տեղակայված արտադրողների մասնաբաժինը կազմում է 17%, իսկ այլ երկրներում գործունեություն իրականացնող արտադրողներին՝ 18%: ՀՀ-ում արտադրողները 2018 թվականի դրությամբ 24-ն են, որոնցից գրանցված դեղեր ունեն միայն 16-ը, ընդ որում ՀՀ-ում գրանցված դեղերը, ըստ ՂՏՀ/Ս անդամ-երկրների, ունեն նկար 2-ում ներկայացված պատկերը:



Նկար 2. ՀՀ-ում գրանցված դեղերը ըստ ՂՏՀ/Ս անդամ-երկրների

Այսպիսով, ՊԱԳ համապատասխանության հավաստման շրջանակներում կարելի է քննարկել հետևյալ սխեմաները.

- 1) երբ արտադրատարածքը ենթարկվել է ՊԱԳ դիտարկման վստահելի իրավասու կազմակերպության կողմից,
- 2) երբ արտադրատարածքը ենթարկվել է դիտարկման այլ իրավասու կազմակերպության կողմից:

Այն դեպքում, երբ արտադրատարածքը չի ենթարկվել հուսալի իրավասու կազմակերպության ՊԱԳ դիտարկման, անհրաժեշտ կլինի իրականացնել ՊԱԳ դիտարկում, իսկ այն դեպքում, երբ առկա է հուսալի իրավասու կազմակերպության ՊԱԳ համապատասխանության հաշվետվությունը, կախված ռիսկերի վերլուծության արդյունքներից, կարելի է չնախաձեռնել ՊԱԳ դիտարկում:

Պարտադիր դիտարկումներ կատարելու արտադրական տարածքները մոտ 114-ն են, որոնց՝ դիտարկում իրականացնելու 3 տարին մեկ կիրառվող պարբերականության դեպքում կստացվի տարեկան 38 ($\frac{114}{3} = 38$) արտադրողի դիտարկում: Հաշվի առնելով վերը նշված այն

տվյալը, որ մեկ դիտարկման ընդհանուր տևողությունը կազմում է երկու շաբաթ, ապա 38 դիտարկման համար անհրաժեշտ ժամանակը կկազմի շուրջ 76 շաբաթ: 76 շաբաթվա աշխատանքը երկու ՊԱԳ փորձագետներից բաղկացած թիմով աշխատելու պարագայում կկազմի յուրաքանչյուր թիմի համար 38 շաբաթ, ինչը նշանակում է, որ դրանք հնարավոր կլինի իրականացնել տարվա պլանի շրջանակներում (հաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ տարվա աշխատանքային շաբաթները 48-ն են): Սակայն այդ դիտարկումների իրականացումը հնարավոր չէ կազմակերպել նախքան գրանցման հայտի բավարարելը, և անհրաժեշտ է սահմանել այն սկզբունքները, որոնց հիման վրա դիտարկումների մի մասը կիրականացվեն նախքան դեղի գրանցումը, իսկ մյուս մասը՝ գրանցումից հետո:

Այլ երկրների փորձի ուսումնասիրությունները ցույց են տալիս, որ արտադրական տարածքների ռիսկայնությունը որոշվում է ըստ.

1) արտադրատարածքի ներքին ռիսկի և

2) արտադրատարածքի ՊԱԳ համապատասխանության պատմության [2]:

Արտադրատարածքի ներքին ռիսկը ներառում է արտադրատարածքում իրականացվող գործընթացների կրիտիկականությունն ու դրանց բարդությունը: Այս երկու չափանիշների համադրությամբ որոշվում է արտադրատարածքի ներքին ռիսկը, իսկ յուրաքանչյուրի համար սահմանվում են համապատասխան միավորներ (աղ. 2):

Աղյուսակ 2

Արտադրատարածքում ներքին ռիսկայնության գնահատման ցուցանիշներ

ԲԱՐԴՈՒԹՅՈՒՆ	ԿՐԻՏԻԿԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ		
	1	2	3
1	1 (ցածր)	2 (ցածր)	3 (միջին)
2	2 (ցածր)	4 (միջին)	6 (բարձր)
3	3 (միջին)	6 (բարձր)	9 (բարձր)

Աղյուսակում «բարդություն» սյունակում նշված թվերն արտացոլում են արտադրատարածքում տեղի ունեցող գործընթացների բարդությունը՝ ըստ աճման կարգի, իսկ «կրիտիկականություն» սյունակում նշվածները՝ կրիտիկական գործընթացների գնահատականն ըստ աճման կարգի:

Որպես **արտադրատարածքի բարդության** ցուցանիշներ կարող են դիտարկվել, օրինակ՝ արտադրատարածքի մեծությունը (ինչքան մեծ է, այնքան մեծ միավոր կարելի է սահմանել), արտադրական և մատակարարման գործընթացների թիվը (ինչքան մեծ են տարբեր գործընթացները, այնքան կարելի է մեծ միավոր սահմանել), սարքավորումները և օդի համակարգը (ինչքան քիչ են առանձնացումները, այնքան տարածքը կհամարվի ռիսկային, և մեծ միավոր կարելի է նշանակել), անձնակազմի թիվը (մեծ թվով անձնակազմը բերում է մեծ ռիսկերի), շուկաները, որտեղ մատակարարվում են դեղերը (մեծ թվով շուկաները նույնպես համարվում են ավելի ռիսկային), պայմանագրային արտադրություն կամ որակի հսկում իրականացնողների թիվը (դրանց մեծ թիվը նույնպես կարող է համարվել համեմատաբար ռիսկային):

Որպես **գործընթացի բարդության** ցուցանիշներ կարելի է համարել ստերիլ և ասեպտիկ արտադրությունը, պարամետրիկ բացթողման գործընթացի առկայությունը, հսկման ենթակա կրիտիկական գործընթացների թիվը (ինչքան շատ են նշվածները, այնքան ռիսկային է համարվում):

Որպես արտադրանքի բարդության ցուցանիշներ կարող են դիտարկվել նաև ինքնին՝ ցածր կոնցենտրացիաներով կամ ուժեղ ազդող դեղերի, կամ երկարատև ձերբագատմամբ դեղաձևերի, կենսաբանական դեղերի արտադրության առկայությունը, վերափաթեթավորման և վերամշակման գործընթացները, բացի այդ **արտադրանքի բարդության** մասին պատկերացում կազմելու համար կարելի է քննարկել, օրինակ՝ արտադրանքի բաղադրիչների թիվը (ինչքան շատ են բաղադրիչները, այնքան արտադրանքը կհամարվի բարդ և կստանա մեծ միավոր), պահման պայմանները (այն արտադրանքները, որոնք պահանջում են պահման հատուկ պայմաններ, ինչպիսիք են սառնարանային պայմանները և ռադիոդեղագործական արտադրանքների պահման պայմանները):

Կրիտիկականության չափանիշները գնահատվում են՝ ելնելով արտադրվող դեղերի մատչելիությանն առնչվող հարցերից և արտադրատարածքում իրականացվող ծառայությունների բնույթից: Մասնավորապես ամենաբարձր կրիտիկականության ռիսկի ցուցանիշ կարելի է սահմանել, օրինակ՝ հիմնական դեղեր արտադրող ընկերությունը, որի արտադրանքը հնարավոր չէ ձեռք բերել այլ ընկերություններից: Դրանց օրինակ կարող են հանդիսանալ կարևոր պատվաստանյութերը կամ արյան արտադրանքները: Ծառայություններից բխող կրիտիկականության չափանիշներ կարելի է քննարկել այնպիսի դեպքերը, երբ ընկերությունում իրականացվում են անալիտիկ ծառայություններ մի քանի այլ արտադրողների համար, և ընկերության գործունեության

դադարեցումը կարող է նշանակալի բացասական ազդեցություն թողնել արտադրանքի մատչելիության վրա: Կրիտիկականության ռիսկի ցածր ցուցանիշ սահմանվում է այն ընկերությունների համար, որոնք առնչություն չունեն հիմնական դեղերի արտադրության հետ և չեն իրականացնում պայմանագրային արտադրական և որակի հսկման ծառայություններ:

Արտադրատարածքի գնահատման մյուս կարևոր ցուցանիշը վերաբերում է ընկերության գործունեությանը՝ արտադրատարածքի ՊԱԳ համապատասխանության պատմությանը: ՊԱԳ կանոններից շեղումների բազմազանությունն ու դրանց քանակը բարձրացնում են ռիսկայնության աստիճանը (աղ. 3):

Աղյուսակ 3

ՊԱԳ համապատասխանությանն առնչվող ռիսկերի դասակարգումը

ԹԵՐՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ	ՊԱԳ ՌԻՍԿԵՐ
>1 կրիտիկական թերություն	Բարձր
1- 5 խոշոր թերություններ	Միջին
0 խոշոր կամ կրիտիկական թերություններ	Ցածր

Այսպիսով, ունենալով արտադրատարածքների գնահատման երկու կարևորագույն ցուցանիշները՝ ներքին ռիսկերի և ՊԱԳ համապատասխանության պատմության վերաբերյալ, հնարավորություն է առաջանում ձևավորելու արտադրատարածքի ռիսկայնությունը՝ ունենալով արդեն մեկ ցուցանիշ (աղ. 4):

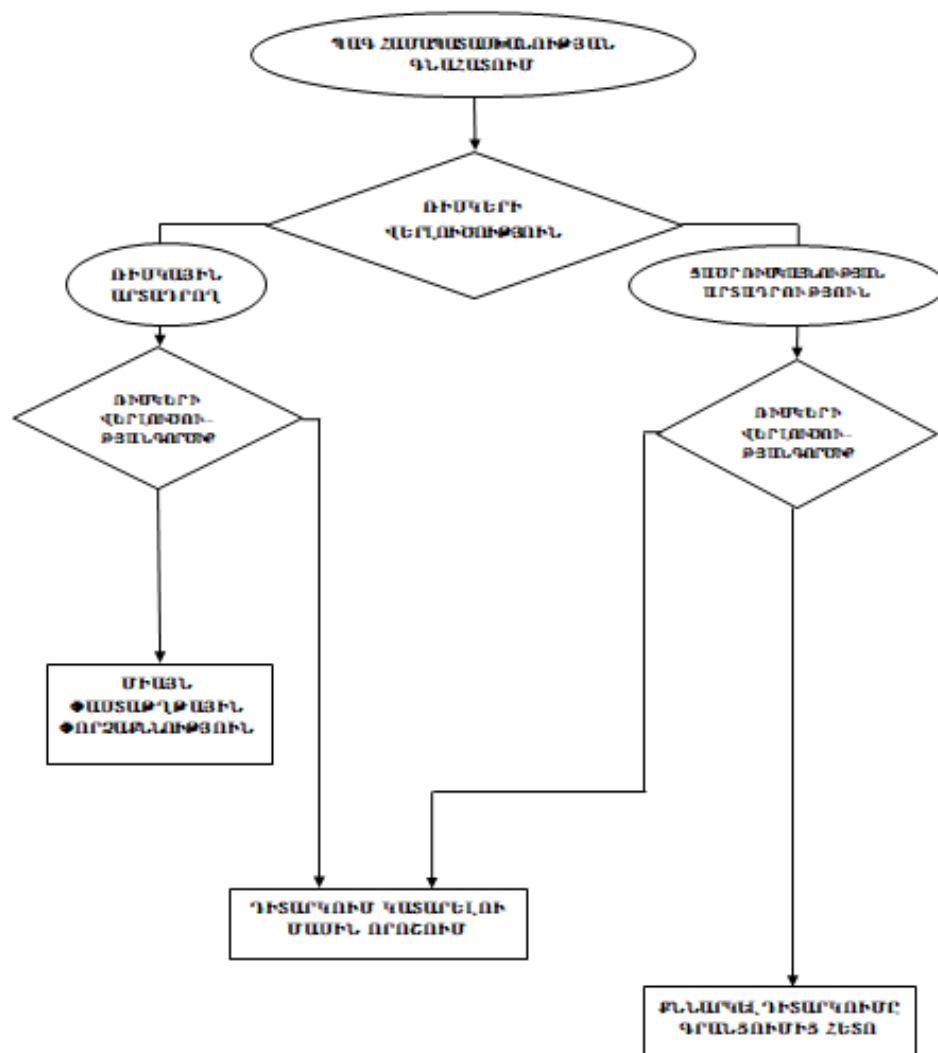
Աղյուսակ 4

ՊԱԳ համապատասխանության և ներքին ռիսկերի համադրման արդյունքում ձևավորվող ռիսկերը

ՊԱԳ ՊԱՏՄՈՒԹՅԱՆ ՌԻՍԿ	ՆԵՐՔԻՆ ՌԻՍԿ		
	ՑԱԾՐ	ՄԻՋԻՆ	ԲԱՐՁՐ
Ցածր	Ռիսկ դասը = A	Ռիսկ դասը = A	Ռիսկ դասը = B
Միջին	Ռիսկ դասը = A	Ռիսկ դասը = B	Ռիսկ դասը = C
Բարձր	Ռիսկ դասը = B	Ռիսկ դասը = C	Ռիսկ դասը = C

Արտադրատարածքը, որը համարվում է բարձր ռիսկային, պետք է դիտարկվան ենթարկվի հնարավորինս արագ, իսկ հատուկ դեպ-

քերում, երբ հայտնաբերված թերությունները հնարավոր չէ արագ վերացնել, ապա պետք է ձեռնարկել համապատասխան միջոցներ՝ արտադրատարածքի գործունեությունը կասեցնելու նպատակով, ընդհուպ շուկայահանված արտադրանքի հետհավաքի ելքը: Այս իմաստով ռիսկերի վերլուծության վրա հիմնված մոդելը կիրառելի չէ, քանի որ այդ մոդելը նախատեսված է միայն դիտարկումներ կազմակերպելու, ռիսկերը որոշելու համար, ընթացիկ դիտարկումների կազմակերպման համանմանությամբ [3,6]:



Նկ. 3. Ռիսկերի վերլուծության ալգորիթմ

Երկրում գրանցված դեղերի արտադրատարածքների ներքին ռիսկի գնահատումը, ինչպես նաև ՊԱԳ համապատասխանության պատմությունից բխող ռիսկը դիտարկումների պլանավորման համատեքստում հնարավոր է և անհրաժեշտ կատարել դեղերի գրանցման փորձաքննության ընթացքում արտադրատարածքի ՊԱԳ համապատասխանության գնահատման շրջանակներում՝ ուսումնասիրելով արտադրատարածքի դոպեն և սահմանելով համապատասխան ցուցանիշներ 1, 2 կամ 3-ական միավոր՝ ըստ բարդության աստիճանի:

Այսպիսով, ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ Հայաստանում գրանցվող դեղերի բոլոր արտադրատարածքների ՊԱԳ համապատասխանության դիտարկում իրականացնել կարգավորիչ մարմնի կողմից հնարավոր չէ: Դրա համար բավարար չեն ՊԱԳ փորձագետները, արտադրատարածքների թիվը բավականին շատ է, և դիտարկումներ իրականացնելու դեպքում կառաջանան գրանցման փորձաքննության ժամկետի խիստ երկարաձգումներ: Դիտարկումների իրականացման ընթացակարգը չի սահմանում այն սկզբունքները, որոնք կարգավորում են դիտարկումների նախաձեռնումը և ապահովում են թափանցիկություն արտադրատարածքի դիտարկում կատարելու վերաբերյալ կանոնակարգիչ մարմնի կողմից կայացվող որոշման վերաբերյալ:

Եզրակացություններ

1. ՀՀ-ում գրանցվող դեղերի բոլոր արտադրատարածքների ՊԱԳ դիտարկում իրականացնելն իրատեսական չէ և ենթադրում է որակի ապահովման տեսանկյունից չհիմնավորված գործընթացներ:
2. Անհրաժեշտ է ստեղծել պատշաճ իրավական հիմքեր՝ համապատասխան երկրների իրավասու կազմակերպությունների կողմից կատարված դիտարկումների հաշվետվությունների ճանաչումն ապահովելու նպատակով.
 ա) անդամակցել ԴՏՀ/Մ միջազգային կազմակերպությանը և կիրառել ՊԱԳ դիտարկումների արդյունքները,
 բ) կնքել համապատասխան պայմանագիր ժամանակավոր ոչ ԴՏՀ/Մ անդամ-երկրների կարգավորող մարմինների հետ մինչև ԴՏՀ/Մ անդամ դառնալը:
3. Անհրաժեշտ է, որ գրանցված դեղերի արտադրատարածքների վերաբերյալ ՊԱԳ դիտարկումների հաշվետվությունները ներկայացվեն և կիրառվեն որպես ՊԱԳ համապատասխանության փորձաքննության մաս:

4. Թափանցիկության ապահովման նպատակով անհրաժեշտ է ապահովել այն բոլոր համապատասխան միջոցները, որով հայտատուն դեղերի գրանցման հայտը ներկայացնելու շրջանակներում հնարավորություն կունենա տիրապետելու արտադրատարածքի հնարավոր դիտարկում իրականացնելու մասին որոշում ընդունելու ալգորիթմին և պլանավորելու իր ծախսերը:
5. Առաջարկվում է ռիսկերի վերլուծության գործիքի միջոցով ստացված միջին և բարձր ռիսկայնության արտադրողների դիտարկումն իրականացնել դեղը գրանցելուց առաջ:
6. Առաջարկվում է դեղերի գրանցման ընթացքում արտադրատարածքների դիտարկում կատարելու մասին որոշումը կայացնել՝ օգտվելով ռիսկերի վերլուծության հետևյալ ալգորիթմից (նկ. 3):

Ընդունված է 18.03.19

Принципы планирования инспекций на соответствие надлежащей производственной практике лекарственных средств в Республике Армения

М.К.Шакарян

Исследования регуляторной системы инспектирования на соответствие надлежащей производственной практике (НПП) лекарственных средств в Республике Армения показали невозможность инспектирования всех производственных участков, вовлеченных в процесс производства зарегистрированных в стране лекарств. Для того чтобы проинспектировать всех 618 производителей необходимы большие ресурсы и организаторские внедрения, и есть большой риск задержки при регистрации, что может привести к физической недоступности лекарственных средств на рынке. Исследования международного опыта показали, что отчет инспекций НПП может послужить основополагающим документом для установления соответствия производственного участка требованиям надлежащей производственной практики. В соответствии с этим положением нами была предложена модель для оценки рисков при планировании инспекций, в частности для установления времени инспекций – до или после регистрации препаратов. Также все те производственные участки, находящиеся в странах Евразийского экономического союза, деятельность которых соответствует требованиям НПП, и все производные участки, которые находятся на территории стран-участниц Схемы по сотрудничеству фар-

мацевтических инспекций могут быть не проинспектированы регулятором Армении.

В ходе исследования была установлена неизбежность присоединения регуляторного органа лекарств Республики Армения к международным соответствующим организациям для того, чтобы обеспечить возможность доступа к отчетам инспекций НПП.

Elaboration of Principles of the Good Manufacturing Practice Inspection Planing in the Republic of Armenia

M.K.Shakaryan

The studies conducted on the system of good manufacturing practice (GMP) inspections in the Republic of Armenia have shown that it is not possible to inspect all the manufacturing sites involved in manufacture of medicinal products authorized in the Republic of Armenia. In order to inspect all the 618 sites large resources and organizational matters are necessary and there is a significant risk that due to all this procedures there will be some delays in marketing authorization process leading to physical shortages of these medicines. The studies towards on experience of internationally adopted principles showed that the reports of those manufacturer's inspection could be a base for establishing compliance of a manufacturer to the GMP within the marketing authorization procedure instead of conducting an inspection. Based on this provisions it has been suggested a scientifically justified model for risk assessment within inspection planning procedure, particularly a criteria for defining when to conduct an inspection: after or prior to marketing authorization issuance. Moreover, the manufacturing sites located at the Eurasian Economic Union area and in the countries which are attending Pharmaceutical Inspection Co-Operation Scheme could be not inspected by the regulatory authority of the Republic of Armenia.

During the studies it has been realized that regulatory authority of the Republic of Armenia must join international relevant organizations in order to have access to the good manufacturing practice inspection reports.

Գրականություն

1. ՀՀ կառավարության 2013թ. սեպտեմբերի 26-ի «Հայաստանի Հանրապետությունում դեղերի և դեղանյութերի արտադրության պատշաճ արտադրական գործունեության կանոններին համապատասխանության դիտարկման» կարգը հաստատելու մասին N1089 որոշում:
2. Conduct of Inspections of Pharmaceutical Manufacturers or Importers, Compilation of Community Procedures on Inspections and Exchange of Information, Brussels, Belgium 2013, p.76-96.

3. EMA A Model for Risk Based Planning for Inspections of Pharmaceutical Manufacturers, Compilation of Community Procedures on Inspections and Exchange of Information, Brussels, Belgium 2013, p.76-96.
4. <http://ravimiregister.ravimiamet.ee/en/default.aspx?pv=HumRavimid.Otsing>.
5. <https://picscheme.org/en/members>.
6. PIC/S A RECOMMENDED model for risk-based inspection planning in the gmp environment, PI 037-1, Genva, Switzerland, 2012, p.17.
7. PIC/S GMP inspection reliance, PI 048-1, Geneva, Switerland, 2018, p.9.
8. TGA GMP clearance guidance, version 18.0, Australia, 2017, p.67.
9. WHO Regulating medicine manufacturers: is an on-site inspection the only option?, World Health Organization Drug Information, vol.31, №2, Geneva, Switzerland, 2017, p.153-157.
10. WHO, Guidance on good practices for desk review for good manufacturing practices, confirmation in lieu of on-site assessment, World Health Organization Technical Report series 1010, Geneva, Switzerland, 2018, p.35.

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Ակնարկներ

<i>Սարգսյան Ա.Ս., Սուլթանյան Տ.Լ.</i> Կրծքավանդակից ելքի համախտանիշ: Կլինիկական և ախտորոշիչ բնութագրերը, բուժման մեթոդները	3
<i>Սարգսյան Մ.Ռ.</i> Սրտի ռիթմի փոփոխականության առանձնահատկությունները	12
Փորձարարական և կանխարգելիչ բժշկություն	
<i>Հովհաննիսյան Ն.Մ., Կարապետյան Ա.Գ., Դալլաբյան Ա.Ս., Տոնոյան Վ.Ջ., Հարությունյան Ն.Կ., Պետրոսյան Շ.Հ.</i> Արյունաբանական ցուցանիշները Նիկոտինիլ-Լ-ամինաթթուների Շիֆային հիմքերի Cu և Mn խելատների ճառագայթապաշտպանիչ հատկությունների գնահատման գործում	24
<i>Կարապետյան Ա.Գ., Դալլաբյան Ա.Ս., Տոնոյան Վ.Ջ.</i> Նիկոտինիլ-Լ-ամինաթթուների Շիֆային հիմքերի Cu և Mn խելատների ճառագայթապաշտպանիչ հատկությունների բջջազենետիկական գնահատումը	34
<i>Դանիելյան Մ.Հ., Խաչատրյան Վ.Պ., Կարապետյան Բ.Վ., Պողոսյան Մ.Վ., Սարգսյան Ջ.Ս.</i> Էնտորինալ կեղևից ակտիվացված հիպոկլամպի նյարդաբջիջների սինապտիկ պրոցեսները տաուրինի պրոտեկցիայով, էթանոլային թունավորման մոդելում	41
<i>Խաչատրյան Վ.Պ.</i> Տաուրինի ազդեցությունը էթանոլային թունավորման ենթարկված առնետների սև նյութի բջջային կառույցների վրա	52
<i>Աղամյան Ն.Հ., Բալասանյան Մ.Գ., Սեկոյան Է.Ս., Գրիգորյան Ս.Հ., Եղոյան Կ.Վ.</i> ԳԱԿԹ-ի և պիրոգլուտամինաթթվի ածանցյալների հականոցիցեպտիվ ակտիվության ուսումնասիրությունը	62
<i>Հովհաննիսյան Մ.Ռ.</i> Մտամոլության Լ-արգինին կախյալ մեխանիզմները դեքսամֆետամինով մակաձված երկբևեռ խանգարման ժամանակ	72
<i>Հովհաննիսյան Գ. Ա.</i> Գլուտաթիոնի ակտիվության փոփոխությունը վերարտադրողական օրգանների քաղցկեղի պաթոֆիզիոլոգիայում	83
Կլինիկական բժշկություն	
<i>Խաչատրյան Ա.Ռ., Ավագյան Հ.Խ., Վարդանյան Գ.Ջ., Ավետիսյան Գ.Ա., Մադոյան Ա.Հ., Պորկշեյան Բ.Ա.</i> Աուտոիմուն թիրեոիդիտի ֆոնի վրա ընթացող վահանագեղձի ադենոմատոզ հանգույցների պատկերավորման առանձնահատկությունները ըստ սոնոէլաստոգրաֆիայի տվյալների	90
<i>Սաֆարյան Մ.Դ., Մինասյան Գ.Ռ., Գևորգյան Ա.Պ.</i> Տուբերկուլոզի կլինիկահամաճարակաբանական առանձնահատկությունները հոգեկան հիվանդների շրջանում	100
<i>Մարգարյան Թ.Ս.</i> Սննդային հավելումները և մարդու առողջությունը	105

<i>Շաքարյան Մ. Կ.</i> Դեղերի պատշաճ արտադրական գործունեության համապատասխանության դիտարկումների պլանավորման սկզբունքները Հայաստանի Հանրապետությունում	114
---	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

<i>Саркисян А.С., Султанян Т.Л.</i> Синдром грудного выхода. Клинические и диагностические понятия, методы лечения	3
---	---

<i>Саргсян М.Р.</i> Особенности вариабельности сердечного ритма	12
--	----

Экспериментальная и профилактическая медицина

<i>Оганесян Н.М., Карапетян А.Г., Даллакян А.М., Тоноян В.Д., Арутюнян Н.К., Петросян Ж.Г.</i> Гематологические показатели в оценке радиозащитных свойств Cu и Mn хелатов Шиффовых оснований Никотинил-L-аминокислот	24
---	----

<i>Карапетян А.Г., Даллакян А.М., Тоноян В.Д.</i> Цитогенетическая оценка радиозащитных свойств Cu и Mn хелатов Шиффовых оснований Никотинил-L-аминокислот	34
---	----

<i>Даниелян М.А., Хачатрян В.П., Карапетян К.В., Погосян М.В., Саркисян Дж.С.</i> Синаптические процессы в нейронах гиппокампа, активированных энторинальной корой, на модели этанольной интоксикации с протекцией таурином	41
--	----

<i>Хачатрян В.П.</i> Влияние таурина на клеточные структуры черной субстанции крыс, подвергнутых этанольной интоксикации	52
---	----

<i>Адамян Н.А., Баласанян М.Г., Секоян Э.С., Григорян С.А., Егоян К.В.</i> Антиноцицептивная активность производных ГАМК и пироглутаминовой кислоты	62
--	----

<i>Оганнисян М. Р.</i> L-аргинин-зависимые механизмы мании при дексамфетамин-индуцированном биполярном расстройстве	72
--	----

<i>Оганисян Г. А.</i> Изменения активности глутатиона в патофизиологии рака репродуктивных органов	83
---	----

Клиническая медицина

<i>Хачатрян А. Р., Авакян А.Х., Варданян Г.Д., Аветисян Г.А., Мадоян А.А., Поркшеян К.А.</i> Особенности визуализации аденоматозных узлов щитовидной железы на фоне аутоиммунного тиреоидита, по данным соноэластографии	90
---	----

<i>Сафарян М. Д., Минасян Г. Р., Геворкян А.П.</i> Клинико-эпидемиологические особенности туберкулеза у больных с психическими заболеваниями	100
---	-----

<i>Маргарян Т.С.</i> Пищевые добавки и здоровье человека	105
---	-----

<i>Шакарян М.К.</i> Принципы планирования инспекций на соответствие надлежащей производственной практике лекарственных средств в Республике Армения	114
--	-----

CONTENTS

Reviews

<i>Sargsyan A.S., Sultanyan T.L.</i> Thoracic Outlet Syndrome. Clinical and Diagnostic Aspects, Methods of Treatment	3
<i>Sargsyan M.R.</i> Features of Variability of the Heart Rhythm	12

Experimental and Preventive Medicine

<i>Hovhannisyan N.M., Karapetyan A.G., Dallakyan A.M., Tonoyan V.J., Harutyunyan N.K., Petrosyan J.H.</i> Hematological Indicators for Evaluation the Radioprotective Properties of Cu and Mn of Schiff's Bases Chelates of Nicotiny-L-Amino Acid Aculons	24
<i>Karapetyan A.G., Dallakyan A.M., Tonoyan V.J.</i> Cytogenetic Evaluation of the Radioprotective Properties of Cu and Mn Schiff's Bases Chelates of Nicotiny-L-Amino Acids	34
<i>Danielyan M.H., Khachatryan V.P., Karapetyan K.V., Poghosyan M.V., Sarkissian J.S.</i> The Synaptic Processes in Hippocampal Neurons Activated by Entorhinal Cortex on the Model of Ethanol Intoxication with Protection by Taurine	41
<i>Khachatryan V.P.</i> The Effect of Taurine on the Cellular Structures of the Substantia Nigra of Rats Subjected to Ethanol Intoxication	52
<i>Adamyany N.H., Balasanyan M.G., Sekoyan E.S., Grigoryan S.H., Egoyan K.V.</i> Antinociceptive Activity of GABA and Pyroglutamic Acid Derivatives	62
<i>Hovhannisyan M.R.</i> L-Arginine-dependent Mechanisms in Mania Following Dexamphetamine-Induced Bipolar Disorder	72
<i>Hovhannisyan G.A.</i> Changes in Glutathione Activity in Pathophysiology of Reproductive Organs Cancers	83

Clinical Medicine

<i>Khachatryan A.R., Avagyan H.Kh., Vardanyan G.J., Avetisyan G.A., Madoyan A.H., Porsksheyan K.A.</i> Autoimmune Thyroiditis Associated Thyroid Adenomatous Nodules' Visualization Features in Accordance with Sonoelastography Data	90
<i>Safaryan M.D., Minassian G.R., Gevorgyan A.P.</i> Clinical and Epidemiological Features of Tuberculosis in Patients with Mental Illness	100
<i>Margaryan T.S.</i> Food Additions and Human Health	105
<i>Shakaryan M.K.</i> Elaboration of Principles of the Good Manufacturing Practice Inspection Planing in the Republic of Armenia	114