

ՀՏԴ 612.44.018:616.893-053.8-092.9

Ստեփոզիդի ազդեցությունը ֆրոկտոզով հարստացված սնունդ ստացող առնետների վնասված նստանյարդի գործառույթային վերականգնման ցուցանիշների վրա

Լ. Գ. Ավետիսյան¹, Վ. Ա. Չավուշյան¹, Կ. Վ. Միմոնյան¹,
Վ. Տ. Ղոչիկյան³, Լ. Է. Հովհաննիսյան²,
Մ. Ա. Բաբախանյան²

¹ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա.Օրբելու անվ. ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտ,

²ՀՀ ԳԱԱ Հ. Դավթյանի անվ. հիդրոպոնիկայի ինստիտուտ

³ՀՀ ԳԱԱ “Հայկենսատեխնոլոգիա” ԳԱԿ

Երևան 0028, Օրբելի եղբ. փ., 22

Բանալի բառեր. նստանյարդի վնասում, ֆրոկտոզ, ստեփոզիդ

Ծայրամասային նյարդերի վնասումից հետո վնասվածքի օջախի հեռադիր հատվածի աքսոնները, կորցնելով կապը նեյրոնի մարմնից, կազմափոխվում են, և, մինչդեռ Ուոլլերյան դեգեներացիան ապահովում է աքսոնային վերաաճմանը նպաստող միկրոմիջավայրի ստեղծմանը, նյարդաբջջի ֆենոտիպի փոփոխությունները արագացնում են աքսոնային ռեգեներացիան: Նյարդի ինքնաբուխ վերականգնման գլխավոր թերություններից են համարվում շարժողական և զգայական աքսոնների վերաճի ընթացքում սպեցիֆիկ ուղիներով թիրախավորված թերի վերանյարդավորումը [2]:

Ցույց է տրված, որ լաբորատոր առնետների մոտ դիետիկ ֆրոկտոզը մասնակցում է նյութափոխանակային համախտանիշի առաջացմանը և զարգազմանը [12]: Մեծ քանակությամբ ֆրոկտոզի ընդունումը առաջացնում է գերշաքարարյունություն, գերտրիգլիցերիդարյունություն, գերինսուլինարյունություն, գլյուկոզի նկատմամբ տոլերանսություն և հակաօքսիդանտային ներուժի խաթարում, որոնք, ի վերջո, բերում են ինսուլինային ռեզիստենտության [16]: Ինսուլինն ունի նյարդափոփոխիչ գործառույթներ և ազդում է նեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական հատկությունների [9], նյարդամիջնորդանյութերի ընկալիչների [20] և անցուղիներով իոնների փոխադրման վրա [5]: Ֆրոկ-

տոգով հարուստ սննուները առնետների մոտ ի հայտ է բերել մեծ քանակությամբ ջրածնի պերօքսիդի և հակաբորբոքային մարկերների առաջացում [15], ինչն էլ արգելակում է գործառության վերականգնումը և հետվնասվածքային աքսոնային աճը [19]: Միևնույն ժամանակ, հակաբորբոքային պատասխանը կարևոր է Ուոլլերյան դեգեներացիայի նորմալ զարգացման համար և արագացնում է հյուսվածքների գործառության վերականգնումը ծայրամասային նյարդի վնասումից հետո [8]:

Ինսուլինի զգայունացնողները և հակաօքսիդանտները արդյունավետ միջոց են ֆրոկտոզով հարուցված եթե ոչ բոլոր խանգարումների, ապա դրանց մեծամասնության կանխարգելման համար [7], և այդ թիրախների նկատմամբ դեղաբույսերի օգտագործումը արդիական է [16, 23]: Ցույց է տրված, որ ինչպես ինսուլինով, այնպես էլ ստեիայի (մեղրախոտ) թուրմով բուժումը վերականգնում է ինսուլինի ընկալիչ/PI3K/Akt (ֆոսֆոինոզիտիդ-3-կինազի ազդակային ուղի) ուղիների արգելակիչով հարուցված գլյուկոզի զավթման նվազեցումը, ինչը հաստատում է այն վարկածը, որ ստեիան, փոփոխելով PI3K/Akt ուղիները, նմանակում է ինսուլինի ազդեցությունը [17]: Առավել դեղաբանական ակտիվություն դրսևորում է ստեիայի ստեիոզիդ բաղադրիչը [4]:

Տվյալ հետազոտության նպատակն է եղել ֆրոկտոզով հարուցված սնունդ և հայկական ստեիայից առանձնացված ստեիոզիդ ստացող առնետների մոտ գնահատել վնասված նստանյարդի զգայական (ծալման ռեֆլեքսի թեստ) և շարժողական (նստանյարդի ստատիկական ցուցիչ) գործառությունների վերականգնման աստիճանը, ինչպես նաև վնասված նյարդի հեռադիր բաժնի բարձրահաճախ խթանմամբ հարուցված ողնուղեղի համակողմյա և հակակողմյա մոտոնեյրոնների պատասխանների էլեկտրաֆիզիոլոգիական ցուցանիշները:

Նյութն ու մեթոդները

Հայկական մեղրախոտի՝ ստեիայի (*Stevia rebaudiana*) թուրմից կենսակատալիտիկ ֆերմենտային տրանսգլիկոզիլացման ճանապարհով ստեիոզիդի և ռեբաուդիոզիդ A-ի ստացման համար օգտագործվել են *Bacillus stearothermophilus* B-5076-ի և *Bacillus macerans* BIO-4m-ի բարձր արդյունավետությամբ օժտված ցիկլոդեքստրին գլյուկանոտրանսֆերազներ [1]: Փորձարկումներում օգտագործված ստեիոզիդի փոշին պարունակում է 90% ստեիոզիդ և 10% ռեբաուդիոզիդ A:

Փորձարկումներն իրականացվել են $230 \pm 20^\circ\text{C}$ ալբինո արու առնետների հետևյալ խմբերում. I խմբի առնետները ($n=7$) 6 շաբաթ ստա-

ցել են դիետիկ ֆրուկտոզ (50%) խմելու ջրի հետ, այնուհետև իրականացվել է ձախակողմյան նստանյարդի ճմլում-վնասման կեղծ վիրահատություն, որից հետո շարունակել են ստանալ ֆրուկտոզ ևս 3 շաբաթ: II խմբի առնետները (n=7) 6 շաբաթ ստացել են դիետիկ ֆրուկտոզ (50%) խմելու ջրի հետ, որից հետո իրականացվել է ձախակողմյան նստանյարդի ճմլում-վնասման վիրահատություն: Կենդանիները շարունակել են ստանալ ֆրուկտոզ ևս 3 շաբաթ՝ միաժամանակ ներմկանային եղանակով ստանալով ստերիլ թորած ջուր (0.1մլ): III խմբի առնետները (n=7) 6 շաբաթ ստացել են դիետիկ ֆրուկտոզ (50%) խմելու ջրի հետ, որից հետո իրականացվել է ձախակողմյան նստանյարդի ճմլում-վնասման վիրահատություն: Կենդանիները շարունակել են ստանալ ֆրուկտոզ ևս 3 շաբաթ՝ միաժամանակ ներմկանային ձևով ստանալով ստերիլիզացիայի ջրային լուծույթ (0.1մլ) 2 մգ/կգ/օր չափաբաժնով:

Ծալման ռեֆլեքսի և նստանյարդի ստատիկական ցուցիչի չափումները իրականացվել են ճմլում-վնասումից հետո 1-28 օրերի ընթացքում, իսկ ռդնուդեղի մոտոնեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտությունները՝ ճմլումից 30 օր անց:

Նստանյարդի վիրահատություն

Ձախակողմյան նստանյարդի ճմլումը ազդրի վերին երրորդ մասում իրականացվել է նեմբուտալային (40 մգ/կգ, ն/վ) անզգայացման պայմաններում՝ 30 վայրկյանի ընթացքում արյունահոսությունը կասեցնող սեղմիչով առաջին ատամի դիրքով սեղմման արդյունքում: Այնուհետև կատարվել է մաշկի և մկանային շերտի ամբողջականության վերականգնում և բիցիլին-3-ի ենթամաշկային ներարկում:

Ծալման ռեֆլեքսի թեստ

Նստանյարդի ճմլումից 1-28 օրերի ընթացքում II և III խմբերում անցկացվել է զգայական և շարժողական գործառույթների վերականգնման դինամիկայի համեմատական վերլուծություն: Ծալման ռեֆլեքսի թեստն իրականացվել է 2 մմ միջէլեկտրոդային հեռավորությամբ 1 մմ տրամագծով 2 պղնձե մետաղալարերով կազմված երկբևեռ էլեկտրոդով հետին վնասված և առողջ թաթերի ներբանների արտաքին կողմը հոսանքով (0.1-10 volts) գրգռելու ճանապարհով: Գրանցվել է ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի նվազագույն արժեքը:

Նստանյարդի ստատիկական ցուցիչ (ՆՄՑ)

ՆՄՑ տվյալները ստանալու համար առնետները տեղադրվել են ապակե հատակով պլաստիկ արկղի մեջ և 5 րոպե գտնվել հանգստի վիճակում՝ հարմարման նպատակով: Այնուհետև թվային տեսախցիկի օգնությամբ անցկացվել են հետին թաթերի մակերեսների նկարահանումներ հանգստի պատահական ժամանակահատվածներում:

Նկարները փոխադրվել են Adobe Photoshop ծրագրի գծագրական հենահարթակ և «քանոն» գործիքի օգնությամբ չափվել առողջ և վնասված թաթերի I-V մատների (toe-spread-TS) և II-IV մատների (intermediate toe-spread-ITS) լայնքով՝ հաջորդաբար հաշվարկելով յուրաքանչյուր կողմի համար յուրաքանչյուր պարամետրի միջին թվաբանականները և ստանդարտ շեղումները: Նստանյարդի ստատիկական ցուցիչը հաշվարկվել է հատուկ մշակված բանաձևով [3].

$$\text{ՆՍՑ} = (108.4 \times \text{TSF}) + (31.85 \times \text{ITSF}) - 5.49,$$

որտեղ TSF (I-V մատների լայնության գործոնը) = TS վնասված-TS առողջ/TS առողջ, իսկ ITSF (II-IV մատների լայնության գործոնը) = ITS վնասված-ITS առողջ/ITS առողջ:

Վիճակագրական վերլուծություն

Ներկայացված միջին $\pm$ SD տվյալները և վիճակագրական վերլուծությունն իրականացվել է GraphPad Prism ծրագրի օգնությամբ: Վիճակագրական հավաստիությունը գնահատվել է համաձայն Ստյուդենտի t-չափանիշի: Արժեքները, որոնց $p < 0.05$, համարվել են վիճակագրորեն հավաստի տարբերվող:

Արտաբջջային գրանցման էլեկտրաֆիզիոլոգիական մեթոդը և ողնուղեղի մենավոր մոտոնեյրոնների հրահրված ակտիվության վերլուծությունը

Ուրետանային անզգայացման ենթարկված (1.1 գ/կգ, ներորովայնային) և մկանաթուլացնող դիթիլինով (25 մգ/կգ, ներորովայնային) անշարժացված առնետները ֆիքսվել են ստերեոտաքսիկ ապարատին՝ ստանալով արհեստական շնչառություն: Գերձայնային դանակի օգնությամբ իրականացվել է ողնուղեղի տրանսսեկցիա T2 մակարդակի վրա և ողնուղեղի գոտկասրբանային բաժնի դորսալ լամինէկտոմիա: Վնասված նստանյարդի հեռադիր հատվածի բարձր հաճախականությամբ խթանումը (ԲՀԽ) (100 Հց 1վրկ-ի ընթացքում) իրականացվել է երկբևեռ արձաթե էլեկտրոդով՝ կիրառելով 0.05 մվ տևողության և 0.10 - 0.14 մԱ ամպլիտուդով ուղղանկյունաձև հոսանք: Համակողմյա և հակակողմյա մոտոնեյրոններից արտաբջջային սեպային ակտիվության գրանցման համար NaCl-ի 2մոլյարանոց լուծույթով լցված և մինչև 1 մկմ ծայր ունեցող ապակե միկրոէլեկտրոդը բազմակի իջեցվել է ողնուղեղի գոտկային հատվածի գորշ նյութի առջևի եղջյուրների մեջ (L4-L6 համակողմյա և հակակողմյա՝ վնասված նյարդի համեմատ)՝ ըստ ստերեոտաքսիկ ատլասի կոորդինատների ($L \pm 0.7-1.6$ մմ, $V + 1.7-1.85$ մմ): Մոտոնեյրոնների իմպուլսային հոսքը ընտրվել է ամպլիտուդային դիսկրիմինատորի միջոցով: Հետագա ծրագրային վերլուծությունը կատարվել է առանձին նեյրոնների նախախթանիչ, հետխթանիչ, ինչպես նաև

ԲՀԽ-ի ժամանակահատվածի սեպային ակտիվության համար: Դրանց հիման վրա կառուցվել են միջին հաճախականությունների հիստոգրամներ՝ արտահայտող բազմամակարդակ վիճակագրական վերլուծության տվյալները (ներառյալ միջինացված հաճախականություն $\pm SD$)՝ տարբերակված նախախթանային, հետխթանային և ԲՀԽ-ի տետանիզացիայի ժամանակահատվածներում: Վերլուծության նպատակն է նախախթանիչ, հետխթանիչ, ինչպես նաև ԲՀԽ-ի ժամանակահատվածներում որոշել սեպային հոսքի հաճախականության տարբերությունների վիճակագրական հավաստիությունը ($0.05 - 0.001$ մակարդակներով): Սեպային հոսքի վերլուծությունը ի հայտ բերեց պատասխանների տարբեր համակցություններ. ազդակային հոսքի շատացման / արագացման տեսքով՝ տետանիկ պոտենցիալացիա (ՏՊ) և հետտետանիկ պոտենցիալացիա (ՀՏՊ), ինչպես նաև ազդակային հոսքի նվազեցման / դանդաղեցման տեսքով՝ տետանիկ դեպրեսիա (ՏԴ) և հետտետանիկ դեպրեսիա (ՀՏԴ): Գրանցվել են նաև պատասխանների խառը համակցություններ՝ ՏՊ-ՀՏԴ և ՏԴ-ՀՏՊ: Պատասխանների արտահայտվածությունը գնահատվում է ըստ նախախթանային, հետխթանային, ինչպես նաև ԲՀԽ-ի ժամանակահատվածների սեպային հոսքի հաճախականության վիճակագրորեն հավաստի տարբերությունների: Կենդանիների I խմբում գրանցվել են 297 համակոդմյա, II խմբում՝ 281 համակոդմյա և 136 հակակոդմյա, իսկ III խմբում՝ 296 համակոդմյա և 63 հակակոդմյա մոտոնեյրոններ:

Արդյունքները և դրանց քննարկումը

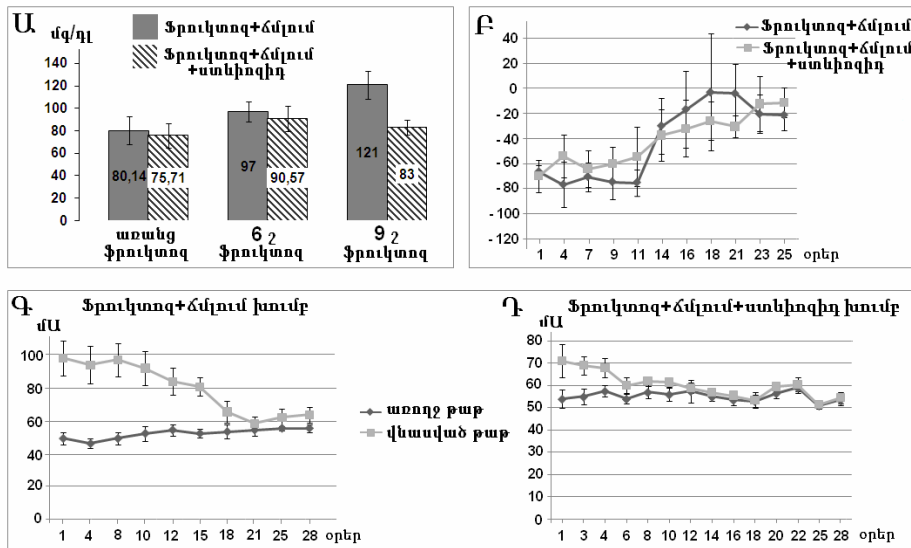
Գլյուկոզի պարունակությունը արյան պլազմայում

II խմբում գլյուկոզի նախնական միջինացված մակարդակը արյան պլազմայում կազմել էր 80.14 ± 12.42 մգ/դլ, իսկ ֆրոկտոզի ընդունումից 6 և 9 շաբաթ անց՝ համապատասխանաբար 97.0 ± 9.02 ($p=0.01$) և 121.0 ± 12.38 մգ/դլ ($p=0.0001$) (Նկար, Ա): III խմբում գլյուկոզի նախնական միջինացված մակարդակը պլազմայում կազմել էր 75.71 ± 11 մգ/դլ, ֆրոկտոզի ընդունումից 6 շաբաթ անց՝ 90.57 ± 11.18 ($p=0.03$), իսկ 9 շաբաթ անց, ներառյալ նաև 3 շաբաթվա ընթացքում ստևիոզիդի ներարկումը, 83 ± 6.27 մգ/դլ ($p=0.15$) (Նկար, Ա):

Շարժողական գործառույթի վերականգնում

Համաձայն ՆՍՑ-ի միջինացված ցուցանիշների՝ առկա է շարժողական գործառույթի կտրուկ վատթարացում II խմբում (ՆՍՑ = -77.4 ± 6.27 , $p=0.13$), որը պահպանվում է մինչև 11-րդ օրը: Ճմլում-վնասումից հետո՝ 18-րդ օրը, ՆՍՑ-ի ցուցանիշները կազմել են -3.04 ± 20.86 ($p=0.24$) (Նկար, Բ): 18-28 օրերի ընթացքում դիտվել է շարժողական գործառույթի

վատթարացման միտում, քանի որ ՆՍՑ-ի ցուցանիշը 28-րդ օրը կազմել է 21.30 ± 12.12 ($p=0.07$): III խմբում նկատվում է աստիճանական վերականգնում և 18-րդ օրը ՆՍՑ= -25.52 ± 15.28 ($p=0.9$): Հաջորդող օրերին ՆՍՑ-ի ցուցանիշները կայուն չեն և 28-րդ օրը ՆՍՑ= -11.16 ± 12.06 ($p=0.4$) (Նկար, Բ): Այսպիսով, II խմբում հայտնաբերվել է նստանյարդի շարժողական գործառույթի ցուցանիշների մասնակի վերականգնում նստանյարդի ճնշումից 18 օր անց, սակայն նաև հետագա վատթարացման միտում՝ սկսած 21-րդ օրից: Նստանյարդի ճնշումից 28 օր անց III խմբում (Նկար, Բ), ի տարբերություն II-ի, շարժողական գործառույթի ցուցանիշները ավելի բարձր են:



Նկար: Գլյուկոզի պարունակությունը արյան պլազմայում (Ա): Նստանյարդի աստտիկական ցուցիչի միջինացված ցուցանիշները (միջին $\pm$ SD) II և III խմբերում. ՆՍՑ=0 նախավիրահատական ցուցանիշն է կամ առողջ և վնասված թաթերի միջև տարբերության բացակայությունը (Բ): Առողջ և վնասված վերջույթներում ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի մեծության միջինացված արժեքները (միջին $\pm$ SD) II (Գ) և III (Դ) խմբերում հետվիրահատական 1-28 օրերի ընթացքում:

Զգայական գործառույթի վերականգնում

II խմբում (Նկար, Գ) նստանյարդի վնասումից 1 օր անց ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի միջինացված արժեքը առողջ վերջույթի համար կազմում է 50 ± 3.5 մԱ է, իսկ վնասված վերջույթի համար՝ 98 ± 10.4 մԱ ($p<0.0001$): Ճնշումից 18 օր անց առկա է ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի մեծության ցուցանիշների հավասարեցման միտում. 54 ± 4.2 մԱ՝ առողջ և 66 ± 6.5 մԱ՝ վնասված վերջույթներում

($p=0.0085$): Հավասարեցման միտումը նկատվել է նաև վնասվածքին հաջորդող օրերին, և 21-րդ օրը ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի մեծության ցուցանիշները կազմել են 55 ± 3.5 մԱ՝ առողջ և 59 ± 4.2 մԱ՝ վնասված վերջույթներում ($p = 0.014$): 28-րդ օրը ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի մեծության ցուցանիշը առողջ վերջույթում կազմել է 56 ± 2.2 մԱ, իսկ վնասված վերջույթում՝ 64 ± 4.9 մԱ ($p=0.014$): Այսպիսով, II խմբում ճմլում-վնասումից 21 օր անց ցույց է տրվել վնասված վերջույթի զգայական գործառույթի վերականգնում: III խմբում (Նկար, Դ) նստանյարդի վնասումից 1 օր անց ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի միջինացված արժեքը առողջ վերջույթի համար կազմում է 54 ± 4.2 , իսկ վնասվածի համար՝ 71 ± 7.4 ($p=0.002$): Ճմլումից 6 օր անց նկատվել է ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի մեծության պարամետրերի ակնհայտ հավասարեցում. առողջ վերջույթում՝ 54 ± 2.2 մԱ, իսկ վնասված վերջույթում՝ 60 ± 3.5 մԱ ($p=0.012$): 12-րդ օրը ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի մեծության արժեքները գրեթե հավասարվել են և կազմել 57.5 ± 5 մԱ՝ առողջ և 59 ± 2.2 մԱ՝ վնասված վերջույթներում ($p=0.56$): Հետվիրահատական օրերին ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի հավասարված մեծությունը անփոփոխ պահպանվել է մինչև հետվիրահատական 28-րդ օրը՝ համապատասխանաբար, 53.5 ± 2.2 մԱ՝ առողջ և 54.5 ± 2.7 մԱ՝ վնասված ($p=0.54$) վերջույթներում: Այսպիսով, III խմբում ցույց է տրվել վնասված վերջույթի զգայական գործառույթի արագացված վերականգնում ճմլում-վնասումից արդեն 12 օր անց:

Ողնուղեղի մոտոնեյրոնների ակտիվության ուսումնասիրությունը վնասված նստանյարդի հեռադիր բաժնի բարձր հաճախականությամբ իջանման պայմաններում

Համաձայն վերլուծության՝ I խմբում գերակշռում են ՏԴ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող նեյրոնները (51,18%) և ԲՀԽ-ի ժամանակահատվածի պատասխանները առավել արտահայտված են. 4.4, 3.3անգամյա պոտենցիացիա և 6.5, 3.3անգամյա դեպրեսիա համեմատած II խմբի հետ (համապատասխանաբար՝ 2.7, 3.8 անգամ և 1.6, 2.2 անգամ): I խմբի ֆոնային ակտիվությունը բոլոր տիպի պատասխաններ դրսևորող նեյրոններում ցածր է, և բացակայում են անոռակտիկ միավորները: II խմբում տետանիկ պոտենցիացիան ԲՀԽ-ի ժամանակ ՏՊ-ՀՏՊ պատասխաններով համակողմյա մոտոնեյրոններում (Ադյուսակ, Ա) արտահայտված է 2.6 անգամ ($21.62 : 8.14$ սեպ/վրկ), իսկ ՏՊ-ՀՏԴ պատասխաններով նեյրոններում՝ 3.8 անգամ ($27.18 : 7.10$ սեպ/վրկ): Տետանիկ դեպրեսիան ԲՀԽ-ի ժամանակ ՏԴ-ՀՏԴ պատասխաններով նեյրոններում արտահայտված է 1.6 անգամ ($21.62 : 8.14$

սեպ/վրկ), իսկ ՏԴ-ՀՏՊ պատասխաններով ներդրվում է 2.2 անգամ (27.18 : 7.10 սեպ/վրկ):

Աղյուսակ

Համակողմյա (Ա) և հակակողմյա (Բ) մոտոնեյրոնների պատասխանների թվային արժեքները կենդանիների II և III խմբերում

Ա						Բ				
Պատասխանների տիպերը	Տոկոսային բաշխումը բոլոր պատասխանների տիպի	Մ ՆՆ Սեպ/վրկ	Մ ԲՀՆ Սեպ/վրկ	Մ ՀՆ Սեպ/վրկ	Խմբեր	Պատասխանների տիպերը	Տոկոսային բաշխումը բոլոր պատասխանների տիպի	Մ ՆՆ Սեպ/վրկ	Մ ԲՀՆ Սեպ/վրկ	Մ ՀՆ Սեպ/վրկ
ՏՊ-ՀՏՊ	30.25 %	8.14	21.62	12.20	II	ՏՊ-ՀՏՊ	22.79 %	4.29	8.95	6.21
	36.49 %	5.16	25.30	8.67	III		12.70 %	2.22	5.25	4.58
ՏՊ	-	-	-	-	II	ՏՊ	-	-	-	-
	5.74 %	2.07	24.47	2.05	III		-	-	-	-
ՀՏՊ	6.41 %	12.87	12.85	18.97	II	ՀՏՊ	-	-	-	-
	1.69 %	1.37	2.07	12.60	III		-	-	-	-
ՏՊ-ՀՏԴ	15.30 %	7.10	27.18	4.21	II	ՏՊ-ՀՏԴ	23.53 %	6.18	13.32	4.54
	21.96 %	5.22	22.74	2.24	III		6.35 %	2.91	7.25	1.30
ՏԴ-ՀՏԴ	26.69 %	16.17	10.10	12.00	II	ՏԴ-ՀՏԴ	38.97 %	11.38	5.26	5.96
	13.85 %	10.15	4.22	6.60	III		33.33 %	10.96	4.00	5.14
ՏԴ	-	-	-	-	II	ՏԴ	-	-	-	-
	4.05 %	8.67	3.83	8.80	III		3.17 %	6.15	0.50	6.74
ՀՏԴ	-	-	-	-	II	ՀՏԴ	-	-	-	-
	3.72%	12.93	13.18	9.04	III		-	-	-	-
ՏԴ-ՀՏՊ	14.23 %	14.02	6.44	18.70	II	ՏԴ-ՀՏՊ	12.50 %	6.40	2.72	8.84
	10.14 %	6.91	3.80	10.10	III		36.51 %	5.52	2.70	7.84
Անտեակտիվ	7.12 %	16.15	16.31	16.71	II	Անտեակտիվ	2.21 %	1.73	2.92	1.67
	2.36 %	10.19	11.29	10.31	III		7.94 %	0.66	0.60	0.69

Այս խմբի անտեակտիվ մոտոնեյրոնները ցուցաբերում են բարձր սեպային ակտիվություն. 16.15 – 16.71 սեպ/վրկ (Աղյուսակ, Ա): II խմբի հակակողմյա մոտոնեյրոններում (Աղյուսակ, Բ) տետանիկ պոտենցիալի ինչպես ՏՊ-ՀՏՊ, այնպես էլ ՏՊ-ՀՏԴ պատասխաններով ներդրվում արտահայտված է 2.1 անգամ: ՏԴ-ՀՏԴ և ՏԴ-ՀՏՊ պատասխանները դրսևորող հակակողմյա մոտոնեյրոններում տետանիկ դեպրեսիան արտահայտված է համապատասխանաբար 2.1 և 2.3 անգամ: III խմբում ՏՊ-ՀՏՊ պատասխանները դրսևորող համակողմյա ներդրողների (Աղյուսակ, Ա) տոկոսային մասնաբաժինը գերակշռող է (36.49%), և նրանցում գրանցվել է լավ արտահայտված տետանիկ պոտենցիալ (25.30 : 5.16 = 4.9 անգամ): Առհասարակ, այս խմբի ԲՀՆ-ի ժամանակահատվածի պատասխանները բարձր են II խմբի ցուցանիշներից, իսկ անտեակտիվ ներդրողների թիվը կազմում է 2.36%՝ համեմատած II խմբի (7.2%) նույն ներդրողների հետ: III խմբում հակակողմյա մոտոնեյրոններում (Աղյուսակ, Բ) տետանիկ պոտենցիալի

SՊ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող նեյրոններում արտահայտված է 2.4 անգամ ($5.25 : 2.22$ սեպ/վրկ), իսկ SՊ-ՀՏԴ պատասխաններ դրսևորող նեյրոններում՝ 2.5 անգամ ($7.25 : 2.91$ սեպ/վրկ): ՏԴ-ՀՏԴ և ՏԴ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորած հակակողմյա մոտոնեյրոններում տետանիկ դեպրեսիան արտահայտված է համապատասխանաբար 2.7 ($10.96 : 4$ սեպ/վրկ) և 2 անգամ ($5.52 : 2.70$ սեպ/վրկ):

Ծայրամասային նյարդի վնասման առավել տարածված մոդելներից է կրծողների մոտ նստանյարդի ճմլումը՝ աքսոնոտմեզիսը [10], որի հետևանքով շվանյան բջիջների միելինազրկումը և պրոլիֆերացիան առաջացնում են իոնային անցուղիների ակտիվության էական փոփոխություններ՝ դրան հաջորդող ազդակի փոխանցման խանգարումներով [11]: Ծայրամասային նյարդերի վնասումները ողնուղեղում առաջացնում են պլաստիկ փոփոխություններ, որոնք ներառում են դրդող և արգելակող սինապտիկ կապերի գործառության փոփոխություններ, նոր կապերի ձևավորում և զգայական ու շարժողական կենտրոնական քարտեզների վերակազմավորում [14]: Տրավմատիկ վնասվածքով պայմանավորված նյարդաբջջային դեգեներացիան [6] և սինապսների կորուստը [22] կարող են պատճառ հանդիսանալ աքսոնային ոչ գործառության միավորների, որոնցով էլ, ըստ երևույթին, պայմանավորված է ողնուղեղի անոթակտիվ մոտոնեյրոնների մասնաբաժնի աճը ճմլում-վնասումից 30 օր անց, ինչպես նաև նրանցում պատասխանների արտահայտվածության նվազումը: II խմբում հակակողմյա մոտոնեյրոններում, ի տարբերություն համակողմյա մոտոնեյրոնների, առավել շատ գրանցվել էին ՏԴ պատասխաններ, ընդ որում, ՏԴ-ՀՏԴ պատասխանները գերիշխում էին (38.97%) գրանցված բոլոր պատասխաններում՝ մատնանշելով արգելակման գերակայությունը ճյուղավորվող նոր կապերում:

Գնահատելով ստեիոգիդի նյարդապաշտպան ներգործության էլեկտրաֆիզիոլոգիական պարամետրերը՝ նշենք, որ III խմբում ՏԴ պատասխանները առավել արտահայտված են հակակողմյա մոտոնեյրոններում ($12.3, 2.7$ և 2 անգամյա հաճախականության նվազում)՝ ի համեմատ այդպիսիների համակողմյա մոտոնեյրոններում ($2.3, 2.4, 1.8$ անգամ): III խմբի հակակողմյա մոտոնեյրոններում գրանցվել են ավելի պակաս արտահայտված ՏՊ պատասխաններ ($2.5, 2.4$ անգամյա հաճախականության բարձրացում)՝ համեմատած համակողմյա մոտոնեյրոնների ($11.8, 4.4, 4.9$ անգամ) հետ, ինչը մատնանշում է համակողմյա մոտոնեյրոնների սինապտիկ փոխանցման դրական հարմարողական փոփոխությունների մասին: III խմբում համակողմյա մոտոնեյրոնների ՏՊ պատասխանները ($36.49+5.47+21.96=63.92\%$) գերակշռել են ՏԴ պատասխանների ($13.85+4.05+10.14=28.04\%$) նկատմամբ՝

նշված պարամետրերը մոտեցնելով նորմային, ինչպես նաև նկատվել է համակողմյա մոտոնեյրոնների պատասխանների տեսակների զանազանության ավելացում (SՊ-ՀՏՊ, SՊ-ՀՏԴ, ՏԴ-ՀՏԴ, ՏԴ-ՀՏՊ, ՀՏՊ, ՀՏԴ, ՏՊ, ՏԴ), ինչը, հավանաբար, ապացուցում է կարճաժամկետ սինապտիկական պլաստիկականության մեխանիզմների ձևավորման գործում ստեիոգլիդի կարգավորող դերը:

Ծայրամասային և կենտրոնական նյարդային համակարգերի նյարդաախտաբանության մեջ վաղ բորբոքային գործընթացները դիտարկվում են որպես գործառության վերականգնման արգելակիչներ: Ցույց է տրվել բորբոքային TNF- α / NF- κ B առանցքի դերը առնետների նստանյարդի վնասմանը հաջորդող գործընթացներում [19]. TNF- α շվանյան բջիջներում միջնորդում է վնասումով խթանված NF- κ B ԴՆԹ կապը և արգելակում է քսոնի աճը վնասումից հետո: Ծայրամասային նյարդի վնասումից հետո վաղ դեգեներացիայի ժամանակ TNF- α կարևոր դեր է խաղում կենտրոնական և ծայրամասային տերմինալներում [18]: Ստեիոգլիդը հայտնի է հակաբորբոքային ակտիվությամբ [13], որը, հավանաբար, որոշիչ դեր է ունեցել մեր մոդելում թե՛ նյարդաբջիջների և նյարդաթելերի, թե՛ շաքարի և ինսուլինի մետաբոլիզմի կարգավորման հարցերում: Բավական է նշել, որ ստեիոգլիդը նվազեցնում է ինսուլինային դիմադրողականությունը հյուսվածքներում բորբոքման նվազեցման ճանապարհով՝ TNF- α -ի կարգավորման միջոցով [21]: Ստեիոգլիդի ակտիվության թիրախների բազմազանությունը դարձնում է այն շահավետ հեռանկարային միջոց դիաբետի ժամանակ վնասված նստանյարդի գործառության վերականգնումը խթանելու գործընթացում:

Поступила 25.05.16

Воздействие стевиозида на показатели функционального восстановления поврежденного седалищного нерва крыс в условиях фруктозой обогащенной диеты

**Л. Г. Аветисян, В. А. Чавушян, К. В. Симонян, В. Т. Кочикян,
Л. Э. Оганнисян, М. А. Бабаханян**

Интенсивное потребление фруктозы вызывает изменения функционирования центральной и периферической нервных систем, которые повышают уязвимость периферических нервов к травматическому повреждению.

Целью изучения явилась оценка эффектов стевиозида из Армянской стевии (*Stevia rebaudiana*) на степень моторного и чувствительного

восстановления, а также на электрофизиологические параметры ответов мотонейронов спинного мозга при высокочастотной стимуляции дистального участка поврежденного седалищного нерва. Крысы-альбиносы получали с питьевой водой диетическую фруктозу (50%) в течение 6 нед, после чего производили краш повреждение левого седалищного нерва. В течение 3 недель после повреждения животные продолжали получать фруктозу, а часть животных – фруктозу и инъекцию стевиозида. В группе фруктоза+краш+стевиозид выявлено: 1) неполное восстановление статической моторной функции на 18-й день и приближение к исходным показателям на 25-й день после краш повреждения седалищного нерва; 2) восстановление чувствительной функции на 18-й день; 3) при высокочастотной стимуляции дистального участка поврежденного седалищного нерва уменьшение доли ареактивных мотонейронов, доминирование возбуждения в ответах ипсилатеральных мотонейронов и торможения – в контралатеральных мотонейронах. В целом, стевиозид из Армянской стевии способен увеличивать позитивные адаптивные изменения центральной нервной системы, которые активируют функциональное восстановление после краш-повреждения седалищного нерва крыс в условиях фруктозой обогащенной диеты.

Impact of stevioside on indices of the functional recovery of rat's injured sciatic nerve in conditions of fructose-rich diet

**L. G. Avetisyan, V. A. Chavushyan, K. V. Simonyan, V. T. Ghochikyan,
L. E. Hovhannisyan, M. A. Babakhanyan**

Excess fructose consumption causes changes in functioning of the central and peripheral nervous systems, which increase the vulnerability of peripheral nerve to traumatic injury. The aim of this study was to evaluate the effect of stevioside from Armenian *Stevia rebaudiana* on the degree of motor and sensory recovery, as well as the electrophysiological parameters of responses of motoneurons of spinal cord at high-frequency stimulation of the distal part of the injured sciatic nerve in conditions of fructose-rich diet. Male albino rats had obtained with drinking water dietary fructose (50%) for 6 weeks, after which underwent crush injury of the left sciatic nerve. Some of the animals received fructose postinjury for 3 weeks and others received fructose stevioside injection. In fructose+crush+stevioside group we revealed: i) incomplete recovery of static motor function from the 18rd day, reaching the preinjury indices on day 25 after sciatic nerve crush; ii) recovery of sensory function on day 18 after crush-injury; iii) decrease of portion of areactive motoneurons at high-frequency stimulation of the distal part of the injured sciatic nerve, domination

of excitation in ipsilateral motoneurons responses, and inhibition in contralateral motoneurons. Generally, in conditions of sciatic nerve crush-injury at fructose-rich diet stevioside from Armenian *Stevia rebaudiana* is able to increase the positive adaptive changes of central nervous system in rats, improving the functional recovery.

Գրականություն

1. Кочикян В. Т. Трансгликозилирование стевиозида и ребаудиозида А с применением бактериальных ЦГТаз. Биол.журн.Армении, 2004, 3-4 (56), с.150–154.
2. Allodi I., Udina E., Navarro X. Specificity of peripheral nerve regeneration: interactions at the axon level. Progress in Neurobiology, 2012, Vol. 98, 1, p.16–37.
3. Bervar M. Video analysis of standing – an alternative footprint analysis to assess functional loss following injury to the rat sciatic nerve. J. Neurosci. Methods, 2000;109–116.
4. Brahmachari G., Mandal L.C., Roy R., Mondal S., Brahmachari A.K. Stevioside and related compounds - molecules of pharmaceutical promise: a critical overview. Arch. Pharm. (Weinheim), 2011 Jan; 344(1): 5–19.
5. Fadool D., Tucker K., Phillips J., Simmen J. Brain insulin receptor causes activity-dependent current suppression in the olfactory bulb through multiple phosphorylation of Kv1.3. J. Neurophysiol., 2000; 83(4):2332.
6. Farooqui A.A. Neurochemical aspects of neurotraumatic and neurodegenerative diseases. Springer, New York, 2010.
7. Faure P., Rossini E., Wiernsperger N. et al. An insulin sensitizer improves the free radical defense system potential and insulin sensitivity in high fructose-fed rats. Diabetes, 1999; 48, 353–357.
8. Gaudet A.D., Popovich P.G., Ramer M.S. Wallerian degeneration: gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury. J. Neuro, 2011; 30; 8:110.
9. Kovacs P., Hajna A. In vivo electrophysiological effects of insulin in the rat brain. Neuropeptides, 2009, 43(4):283–293.
10. Magill C., Tong A., Kawamura D. et al. Reinnervation of the tibialis anterior following sciatic nerve crush injury: A confocal microscopic study in transgenic mice. Exp. Neurol., 2007; 207; 64–74.
11. Mert T., Gunay I., Polat S. Alterations in conduction characteristics of crushed peripheral nerves. Restor. Neurol., 2005, Neurosci., Vol. 23, 5-6: 347-354.
12. Miller A., Adeli K. Dietary fructose and the metabolic syndrome. Curr. Opin. Gastroenterol., 2008, 24:204–209.
13. Mohd-Radzman N.H., Ismail W.I., Adam Z. et al. Potential Roles of Stevia rebaudiana bertonii in abrogating insulin resistance and diabetes: A review. Evid. Based Complement. Alternat. Med., 2013, Vol. 2013, Article ID 718049, 10 pages.
14. Navarro X., Vivó M., Valero-Cabré A. Neural plasticity after peripheral nerve injury and regeneration. Progress in Neurobiology, 2007, Vol. 82, 4, p. 163–201.
15. Nyby M.D., Abedi K., Smutko V. et al. Vascular Angiotensin type 1 receptor expression is associated with vascular dysfunction, oxidative stress and inflammation in fructose-fed rats. Hypertens. Res., 2007;30:451–457.
16. Rasineni K., Desiredd S. Preventive effect of Catharanthus roseus (Linn.) against high-fructose diet-induced insulin resistance and oxidative stress in male Wistar rats. Journal of Diabetes Mellitus, 2011, Vol.1, 3, p 63-70.
17. Rizzo B., Zamboni L., Angeloni C. et al. Steviol glycosides modulate glucose transport in different cell types. Oxidative Medicine and Cellular Longevity (2013), Vol. 2013, 11 pages.

18. *Schäfers M., Geis C., Brors D., Yaksh T.L., Sommer C.* Anterograde transport of tumor necrosis factor- α in the intact and injured rat sciatic nerve. *J. Neurosci.*, 2002 Jan 15;22(2):536-45.
19. *Smith D., Tweed Ch., Fernyhough P., Glazner G.W.* Activation of NF- κ B in axons and schwann cells at site of sciatic nerve crush and role in modulating axon regeneration in adult rats: Studies with Etanercept. *J. Neuropathol., Exp. Neurol.*, 2009 Jun; 68(6): 691–700.
20. *Wan Q., Xiong Z.G., Man H.Y. et al.* Recruitment of functional GABA(A) receptors to postsynaptic domains by insulin. *Nature*, 1997; 388(6643):686–690.
21. *Wang Z., Xue L., Guo C., et al.* Stevioside ameliorates high-fat diet-induced insulin resistance and adipose tissue inflammation by downregulating the NF- κ B pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 2012, Vol. 417, 4, p.1280–1285
22. *Wishart T.M., Parson S.H., Gillingwater T.H.* Synaptic vulnerability in neurodegenerative disease. *J. Neuropathol., Exp. Neurol.*, 2006, Vol. 65, p.733–739.
23. *Yin J., Zhang H., Ye J.* Traditional Chinese medicine in treatment of metabolic syndrome. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets*, 2008;8(2): 99–111.