

ՀՏԴ 615.21:616.831616.8-009.2

Ցիտիկոլինի ազդեցությունը սակավաշարժությամբ պայմանավորված առնետների խաթարված հիշողության և գլխուղեղում ԳԱԿԹ-ի քանակական տեղաշարժերի վրա

Տ.Ս. Գրիգորյան

Մ.Հերացու անվ. ԵՊՀ աղանդակի Ս.Հ. Միրզոյանի անվ.

Ֆարմակոլոգիայի ամբիոն

0025, Երևան, Կոռյունի, փ., 2

Բանալի բառեր. սակավաշարժություն, ԳԱԿԹ, հիշողություն և ուսուցման գործընթացներ

Ուղեղի իշեմիկ խանգարումների զարգացման կարևորագույն ռիսկի գործոն է հանդիսանում սակավաշարժ ապրելակերպը [8] և փորձարարական պայմաններում ցույց է տրված, որ հիպոկլինեզիայի պայմաններում ուղեղային հյուսվածքում զարգանում են քրոնիկ իշեմիզացմանը բնորոշ կենսաքիմիական, կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ ախտաբանական տեղաշարժեր [1]:

Հետիշեմիկ փոփոխություններից կարևորագույններից են համարվում հիշողության և ուսուցման գործընթացի խանգարումները, որոնք կաթվածից հետո զարգացող կլինիկայում ամենահաճախ հանդիպող շեղումներից են [11]: Այսպես վիճակագրական տվյալները վկայում են, որ սուր իշեմիկ խանգարումներից հետո կախված տարբեր գործոններից, 20-80% հիվանդների մոտ արձանագրվում է հիշողության և կոգնիտիվ խանգարումներ [10]: Սա է պատճառը, որ ներկայումս կիրառվող դեղերի արդյունավետությունը բնութագրելու համար հեղինակները որպես կարևոր ցուցանիշ մատնանաշում են կիրառվող միջոցի հիշողությունը վերականգնելու ունակությունը [9]:

Հաշվի առնելով գամմա-ամինակարազաթթվի (ԳԱԿԹ) մասնակցությունը հիշողության ձևավորման և ուսուցման գործընթացներում, ինչպես նաև այն փաստը, որ բջջի իշեմիկ վնասման կարևոր մեխանիզմներից է հանդիսանում ԳԱԿԹ-գլուտամատային հավասարակշռության խախտումը, երբ գերիշխում է գլուտամատի առաջացումը՝ բերելով գլուտամատային էքսայտատորսիկականության [6], բջջի

իշեմիկ խանգարումների դեղաբանական կանխման տրամաբանական ուղղություններ հանդիսացան գլուտամատի ազդեցությունը ընկճող կամ ԳԱԿԹ համակարգի ակտիվությունը խթանող միջոցների փորձարկումը՝ որպես բուժման հեռանկարային ուղղություն [5]:

Նյութը և մեթոդները

Վերը նշվածը հիմք հանդիսացավ ուսումնասիրելու ցիտիկոլինի ազդեցությունը սակավաշարժությամբ (ՄՇ) հարուցված հիշողության և ուղեղային հյուսվածքում ԳԱԿԹ-ի քանակական տեղաշարժերի վրա: Ցիտիկոլինը՝ հանդիսանալով էնդոգեն ծագման պատրաստուկ, օժտված է ուղեղային արյան շրջանառությունը խթանելու, ուղեղային հյուսվածքի նյութափոխանակությունը բարելավելու և հետիշեմիկ վարքային տեղաշարժերը կանխելու հատկությամբ, մինևույն ժամանակ բնութագրվում է բարձր անվտանգությամբ:

ՄՇ փորձարարական մոդելավորումը առնետների մոտ իրականացվել է համաձայն И.В.Фёдоров-ի [3] նկարագրած մոտեցման:

Ըստ այդ մոտեցման, 170-250գ քաշով անցեղ կենդանիները նստեցվել են անհատական պլեքսիգլասե վանդակի մեջ, որում կենդանիների շարժումները չափազանց սահմանափակ են՝ բացառությամբ շնչառական շարժումների: Ստեղծված պայմաններում առնետները կարող էին կատարել մեկ քայլ առաջ կամ ետ և պտույտ՝ իրենց առանցքի շուրջը: Միասին հավաքված 5 հավասար վանդակները կազմում են 32 x 12 x 6 սմ չափսով տուփ:

Կենդանիների հիշողության և ուսուցման գործընթացները գնահատվել են պասիվ խուսափման պայմանական ռեֆլեքս (ՊԽՊՌ) թեստի օգնությամբ [2]: ՊԽՊՌ թեստի սարքն իրենից ներկայացնում է 50 սմ բարձրության վրա գտնվող բաց հենահարթակ՝ միացված էլեկտրոդային հատակով մութ խցիկին:

Առնետները՝ շնորհիվ կրծողներին բնորոշ բնիկային ռեֆլեքսի, անցնում են մութ խցիկ, որից հետո խցիկի շարժական դուռը փակվում է և կենդանիները ենթարկվում են էլեկտրոդային հատակի միջոցով հաղորդվող ուսուցողական էլեկտրացավային գրգիռի (0.3-0.6 մԱ հոսանքով, 3 անգամ, յուրաքանչյուրը 3 վրկ տևողությամբ): Հիշողական հետքի ձևավորման ցուցանիշ է համարվում կենդանու մինչև մութ մեկուսախուց առաջին մուտքի լատենտ ժամանակը, որը գրանցվում է առավելագույնը 180 վրկ. ընթացքում: Կենդանիների ռեֆլեքսը համարվել է ձևավորված, եթե դիտարկման նշված ժամանակի ընթացքում կրկնակի փորձի արդյունքում առնետները մուտք չեն գործել մութ խցիկ: Հետազոտության մեջ չեն ընդգրկվել այն կենդանիները, որոնք

անմիջապես մուտք են գործել մութ խցիկ՝ վերջինները դիտարկվել են որպես կենդանիներ, որոնց մոտ ռեֆլեքսը չի ձևավորվել:

ԳԱԿԹ-ի քանակական պարունակության որոշումը առնետների գլխուղեղում իրականացվել է բարձր արդյունավետության հեղուկայի քրոմատագրման եղանակով (ԲԱՀՔ) [7]: Փորձի իրականացման նպատակով առնետները գլխատվել են, որից հետո գլխուղեղը արագ առանձնացվել է սառույցի վրա և պահվել 2-8°C սառնարանային պայմաններում: Այնուհետև, գլխուղեղից առանձնացվել են հիպոթալամուսը, հիպոկամպը և կեղևը: Ուղեղի առանձնացված հատվածները առանձին-առանձին հոմոգենացվել են 2 ծավալ սառցային քացախաթթվի 0.4 մոլ/լ լուծույթում, որից հետո ցենտրիֆուգվել են 10000 պ/ր պայմաններում: Սուպերնատանտները պահվել են -20 C պայմաններում մինչ ԳԱԿԹ-ի որոշումը:

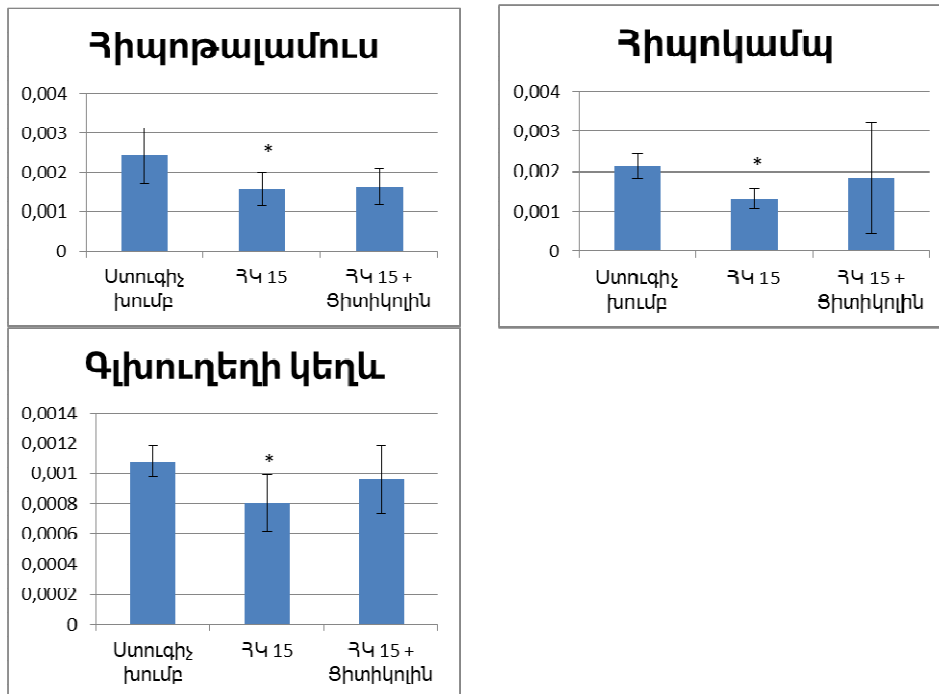
Կատարված հետազոտության արդյունքները ներկայացված են խմբային միջին արժեքի $\pm$ ստանդարտ շեղման ($M \pm SD$) կամ սխալի ($M \pm SE$) տեսքով՝ կախված հետազոտության մեջ կիրառվող թեստից: Բաշխման նորմալությունը Կոլմոգորով-Սմիրնովի թեստով ստուգելուց հետո կիրառվել են համապատասխան պարամետրիկ թեստեր՝ գնահատվել է Ստյուդենտի անկախ ընտրանքների համար t – թեստի երկկողմանի տարբերակը: Հաշվարկները կատարվել են IBM SPSS Statistic 22 և Microsoft Excel 2007 ծրագրի միջոցով: Ստացված արդյունքների վիճակագրական մշակումը իրականացվել է ըստ ANOVA միագործոն դիսպերսված անալիտիկ մեթոդի [4]: Ստացված արդյունքների հավաստիությունը գնահատվել է ըստ Стьюдент-ի t -չափանիշի: ԳԱԿԹ-ի քանակական պարունակությունը որոշվել է ուղեղի հետևյալ կառույցներում՝ հիպոթալամուս, հիպոկամպ, կեղև:

Արդյունքները և դրանց քննարկումը

Հետազոտությունների արդյունքները ցույց տվեցին, որ ԳԱԿԹ-ի քանակությունը ուղեղային հյուսվածքում ՄՇ պայմաններում միատեսակ չէ փոփոխվում՝ կախված գլխուղեղի կառույցներից: 15 օր տևողությամբ ՄՇ-ի հետևանքով գրանցվել է ԳԱԿԹ-ի քանակության նվազեցում ուղեղի բոլոր նշված կառույցներում ($n=9$):

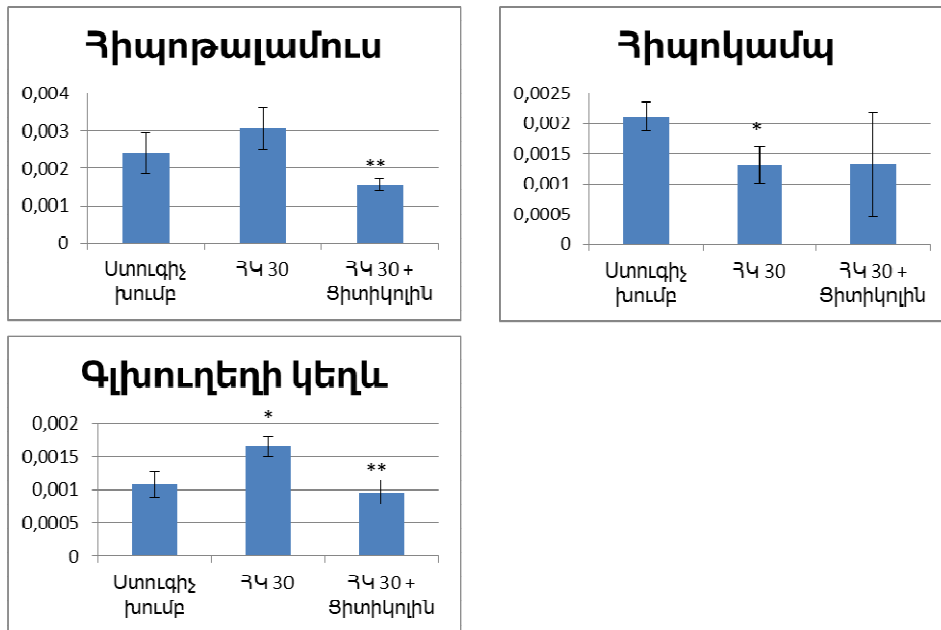
Ինչպես վկայում են վիճակագրական մշակման արդյունքները առավել արտահայտված է հիպոթալամուսի և հիպոկամպի ԳԱԿԹ-սինթեզող համակարգը, որտեղ ուսումնասիրվող նյարդափոխադրիչի քանակը նվազել էր 34,85%-ով (0,002416 մկգ/մլ-ից մինչև 0,001574 մկգ/մլ) և 37,71%-ով (0,002124 մկգ/մլ-ից մինչև 0,001323 մկգ/մլ) համապատասխանաբար: Գլխուղեղի կեղևում գրանցվել է ԳԱԿԹ-ի քա-

նակական պարունակության իջեցում մինչև 25,78% (0,001082 մկգ/մլ-ից մինչև 0,000803 մկգ/մլ) (նկ. 1): Նշված փոփոխությունները բերված են ստուգիչ խմբի համեմատ ($n=5$): Ցիտիկոլինի 15-օրյա տևողությամբ ներարկման դեպքում հիպոկինեզիայի պայմաններում ($n=11$) գրանցվեց, դեղի սակավաշարժությամբ պայմանավորված ԳԱԿԹ-ի նվազեցումը կանխելու ունակությունը: Հիպոկամպում և գլխուղեղի կեղևում հիպոկինեզիայի պայմաններում նկատվող ԳԱԿԹ-ի պարունակության անկումը ցիտիկոլինը կանխում է 37,19%-ով (0,001323 մկգ/մլ-ից մինչև 0,001815 մկգ/մլ) և 19,67%-ով (0,000803 մկգ/մլ-ից մինչև 0,000961 մկգ/մլ) համապատասխանաբար:



Նկ. 1. ԳԱԿԹ-ի քանակական փոփոխությունները (մկգ/մլ) 15-օրյա ՄՇ պայմաններում և ցիտիկոլինի ազդեցությամբ (12,5 մկգ/կգ, ն/ո), $M \pm SD$
 $*p < 0,05$ ՝ ստուգիչ խմբի հետ համեմատ

Ինչ վերաբերում է հիպոթալամուսում արձանագրված ԳԱԿԹ-ի քանակական փոփոխություններին, ապա այստեղ պատրաստուկի ազդեցությամբ իջեմիկ փոփոխությունների առանձնակի տարբերություններ չնկատվեցին:



Նկ 2. ԳԱԿԹ-ի քանակական փոփոխությունները (մկգ/մլ) 30-օրյա ՀԿ պայմաններում և ցիտիկոլինի ազդեցությամբ (12,5 մկգ/կգ, ն/ո), $M \pm SD$

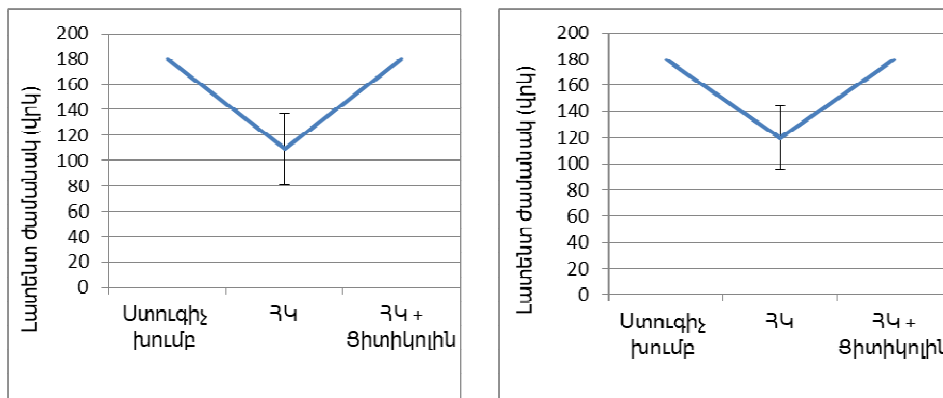
* $p < 0,05$ ՝ ստուգիչ խմբի հետ համեմատ

** $p < 0,05$ ՝ 30-օրյա ՀԿ-ի համեմատությամբ

Սակավաշարժության ժամանակահատվածը մինչև 30 օր մեծացնելիս ԳԱԿԹ-ի քանակական փոփոխությունների ուղղվածությունը փոխվում է և նկատվում է ուսումնասիրվող ամինաթթվի քանակական աճ ($n=5$)՝ հիպոթալամուսում և գլխուղեղի կեղևում համապատասխանաբար 26,82%-ով (0,002416 մկգ/մլ-ից մինչև 0,003064 մկգ/մլ) և 52,49%-ով (0,001082 մկգ/մլ-ից մինչև 0,00165 մկգ/մլ) ստուգիչ խմբի համեմատությամբ ($n=5$) (նկ. 2): Իսկ հիպոկամպում գրանցվել է ԳԱԿԹ-ի քանակության նվազում մինչև 38% (0,002124 մկգ/մլ-ից մինչև 0,001316 մկգ/մլ) կենդանիների նույն խմբի համեմատությամբ:

30-օրյա հիպոկինեզիայի պայմաններում ցիտիկոլինի ամենօրյա ներարկմը օրական երկու անգամ (12,5մկգ/կգ, $n=13$) հիպոթալամուսում և գլխուղեղի կեղևում էլ ավելի է իջեցնում ԳԱԿԹ-ի մակարդակը, նվազեցնելով այն 48,89%-ով (0,003064 մկգ/մլ-ից մինչև 0,001566 մկգ/մլ), և մինչև 41,69% (0,00165 մկգ/մլ-ից մինչև 0,000962 մկգ/մլ) համապատասխանաբար, համեմատ նույն տևողությամբ ՄՇ ենթարկված կենդանիների խմբի տվյալների: Հիպոկամպում սակավաշարժությամբ պայմանավորված ԳԱԿԹ-ի քանակական անկման վրա ցիտիկոլինը որևէ ազդեցություն չցուցաբերեց:

Փորձերի հաջորդ շարքում ուսումնասիրվել է առնետների մոտ ցիտիկոլինի ազդեցությունը ՄՇ հարուցված ուսուցման գործընթացների և հիշողության խանգարումների վրա: ՄՇ հարուցված հիշողության խաթարումները ՊԻՊՌ թեստում գրանցելիս պարզվեց, որ ՄՇ ենթարկված կենդանիների մոտ ($n=34$) նկատվում է հիշողության որոշակի կորուստ: Այսպես, ՄՇ 15-րդ օրը ստուգիչ խմբի առնետների 40%-ի մոտ գրանցվել է հիշողության խաթարում, որոնց լուսավորված հարթակի վրա անցկացրած լատենտ ժամանակահատվածը նվազել է միջինում մինչև $109,2 \pm 96,9$ վրկ ($n=10$): 30 օր տևողությամբ ՄՇ ենթարկված ոչ բոլոր առնետների մոտ է նկատվել հիշողության կորուստ ($n=10$)՝ հիշողությունը պահպանած կենդանիների թվի տոկոսային հարաբերակցությունը համանաման էր 15-օրյա ՄՇ պայմաններում դիտարկվող նույն ցուցանիշին: Հիշողության կորստով առնետների հարթակի վրա անցկացրած լատենտ ժամանակը նվազել էր մինչև $120 \pm 82,4$ վրկ (նկ. 3):



Նկ. 3. ՊԻՊՌ թեստի արդյունքները 15 և 30 օր տևողությամբ ՄՇ ենթարկված կենդանիների ստուգիչ խմբում և ցիտիկոլինի ($12,5$ մգ/կգ, ն/ո) ներարկման պայմաններում, $M \pm SE$

Թե՛ 15 օր ($n=8$), և թե՛ 30 օր ($n=6$) տևողությամբ սակավաշարժության պայմաններում ցիտիկոլինի կիրառման արդյունքում կենդանիների մոտ դիտվել է հիշողության լիարժեք պահպանում՝ կենդանիները ամբողջ դիտարկման ժամանակահատվածի ընթացքում գտնվել են լուսավորված հարթակի վրա՝ խուսափելով մուտք գործել մութ խցիկ:

Կատարված հետազոտությունները բացահայտում են ցիտիկոլինի հիպոկլինեզիայով պայմանավորված հիշողության խափանումները կանխելու հատկությունը: Նշված ազդեցության իրականացման

մեջ, անկասկած, մանակցում է պատրաստուկի սակավաշարժությանը բնորոշ ԳԱԿԹ-ի քանակական տեղաշարժերը կանխելու ունակությունը: Ստացված փորձերի արդյունքները ակնհայտորեն վկայում են, որ ցիտիկոլինի արդյունավետությունը շարժողական սահմանափակմամբ հարուցված քրոնիկ իշեմիայի պայմաններում բավական արտահայտված է, ինչը մատնանշում է, որ դեղի կարևոր կիրառման ոլորտ կարող է հանդիսանալ այսօր մեծ վտանգ ներկայացնող սակավաշարժ ապրելակերպով պայմանավորված տեղաշարժերի շտկումը:

Поступила 15.03.18

Влияние цитиколина на расстройства памяти и количественные сдвиги ГАМК в мозге у крыс в условиях гипокинезии

Т.С. Григорян

Данные, полученные в тесте условного рефлекса пассивного избегания, свидетельствуют о способности цитиколина предотвращать расстройства памяти, вызванные ограничением двигательной активности крыс продолжительностью 15 и 30 суток. Анализ количественных сдвигов ГАМК в мозговой ткани под влиянием цитиколина, на фоне хронической ишемизации мозговой ткани в условиях гиподинамии, показывает, что одним из возможных механизмов указанных эффектов цитиколина может служить его способность устранять наблюдаемые при гипокинезии изменения содержания ГАМК.

Таким образом, представленные данные могут служить доказательной основой для применения цитиколина в качестве потенциального средства с целью устранения нарушений, вызванных ограничением двигательной активности.

Influence of citicoline on hypokinesia induced memory loss and GABA quantitative changes in rat brain

T.S. Grigoryan

Data obtained in passive avoidance test have shown that citicoline eliminates memory disturbances under the condition of hypokinesia induced by movement restriction lasting 15 and 30 days. Measurement of GABA quantity changed in brain tissue indicated that one of the possible mechanisms of citicoline's mentioned effects could be its ability to prevent the changes in brain GABA content developed during chronic ischemization of cerebral tissue caused by hypodynamia. Thus the presented results could serve as an evidence

that citicoline is a potentially effective agent for movement restriction-induced disturbances.

Գրականություն

1. *Акопян В.П.* Гипокинезия и мозговое кровообращение, М., 1999.
2. *Буреши Я., Бурешиова О., Хьюстон П.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения (перв. с англ). М., 1991.
3. *Федоров И.В.* Обмен веществ при гиподинамии, М., 1982.
4. Analyzing ANOVA Designs. Biometrics Information Handbook 5, 1995; 07, p. 9.
5. *Green A.R., Hainsworth A.H., Jackson D.M.* GABA potentiation: a logical pharmacological approach for the treatment of acute ischaemic stroke. *Neuropharmacology*, 2000, 10;39(9): 1483-94.
6. *Hu Y., Zhan Q., Zhang H., Liu X., Huang L., Li H. and Yuan Q.* Increased Susceptibility to Ischemic Brain Injury in Neuroplastin 65-Deficient Mice Likely via Glutamate Excitotoxicity. *Front. Cell. Neurosci.*, 2017, 11: 110.
7. *Kang X., Xiao J., Huang X., Gu Z.* Optimization of dansyl derivatization and chromatographic conditions in the determination of neuroactive amino acids of biological samples. *Clin. Chim. Acta*, 2006; 366(1-2):352-6.
8. *Kim J., Tanabe K., Yokoyama N., Zempo H., Kuno S.* Objectively measured light-intensity lifestyle activity and sedentary time are independently associated with metabolic syndrome: a cross-sectional study of Japanese adults. *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.*, 2013; Mar 4;10:30.
9. *Neuhaus A.A., Couch Y., Hadley G., Buchan A.M.* Neuroprotection in stroke: the importance of collaboration and reproducibility. *Brain*, 2017, Aug 1;140(8):2079-2092.
10. *Sun J.H., Tan L., Yu J.T.* Post-stroke cognitive impairment: epidemiology, mechanisms and management. *Ann. Transl. Med.*, 2014, Aug;2(8):80.
11. *Xing Ch., Arai K., Lo E. and Hommel M.* Pathophysiologic cascades in ischemic stroke. *Int. J. Stroke*, 2012; 7(5): 378–385.