

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
Լ.Ա. ՕՐԲԵԼՈՒ ԱՆՎԱՆ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ ԼԻԼԻԹ ԳԱԳԻԿԻ

**ՖԻՏՈԹԵՐԱՊԻԱՅԻ ՆՅԱՐԴԱՊԱՇՏՊԱՆ ԱՐԴՅՈՒՆԱՎԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳՆԱՀԱՏՈՒՄԸ
ԴԻԱԲԵՏԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ ՎՆԱՍՎԱԾ ՆՍՏԱՆՅԱՐԴԻ ՎԵՐԱԿԱՆԳՆՄԱՆ
ԺԱՄԱՆԱԿ**

Գ.00.09 – «Մարդու և կենդանիների ֆիզիոլոգիա» մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման
ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ - 2017

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. Л.А. ОРБЕЛИ

АВЕТИСЯН ЛИЛИТ ГАГИКОВНА

**ОЦЕНКА НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФИТОТЕРАПИИ ПРИ
ВОССТАНОВЛЕНИИ ПОВРЕЖДЕННОГО В УСЛОВИЯХ ДИАБЕТА СЕДАЛИЩНОГО
НЕРВА**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
03.00.09 – «Физиология человека и животных»

ЕРЕВАН – 2017

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվան Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի գիտական խորհրդում:

Գիտական ղեկավար՝

կ.գ.դ. Վ. Ա. Չավուշյան-Պապյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

բ.գ.դ., պրոֆեսոր Ս. Վ. Գրիգորյան

կ.գ.թ., Լ. Է. Համբարձումյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

Երևանի պետական համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը կկայանա 2017թ. նոյեմբերի 16-ին ժամը 14⁰⁰-ին ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվան Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում, ֆիզիոլոգիայի 023 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0028, Երևան, Օրբելի եղբ. փող. 22):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա. Օրբելու անվան Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի գրադարանում և info@physiol.sci.am կայքում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքվել է 2017թ. հոկտեմբերի 12-ին:

023 մասնագիտական խորհրդի
գիտքարտուղար, կ.գ.թ.



Ն. Է. Թադևոսյան

Тема диссертации утверждена на ученом совете Института физиологии им. Л. А. Орбели НАН РА

Научный руководитель:

д.б.н. В. А. Чавушян-Папян

Официальные оппоненты:

д.м.н., профессор С. В. Григорян

к.б.н., Л. Э. Амбарцумян

Ведущая организация:

Ереванский государственный университет

Защита диссертации состоится 16 ноября 2017г. в 14⁰⁰ч. на заседании специализированного совета 023 по Физиологии, в Институте физиологии им. Л. А. Орбели НАН РА (РА, 0028, г. Ереван, ул. бр. Орбели 22).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физиологии им. Л. А. Орбели НАН РА и на сайте info@physiol.sci.am.

Автореферат разослан 12 октября 2017г.

Ученый секретарь специализированного
совета 023, к.б.н.



Н. Э. Тадевосян

ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Թեմայի արդիականությունը: Ներկայումս, համաձայն առողջապահության համաշխարհային կազմակերպության տվյալների, նկատվում է երկրորդ տիպի շաքարային դիաբետի տարածվածության կտրուկ աճ՝ պայմանավորված ոչ ճիշտ սննդակարգով: Կլինիկական տվյալները հաստատում են, որ հատկապես մտահոգիչ է ֆրոլուտոգի հիմքով ըմպելիքների ինտենսիվ օգտագործումը [Nolan C. et al., 2011]: Գրական ակնարկները և փորձարարական տվյալները նույնպես հաստատում են, որ ֆրոլուտոգի ինտենսիվ ընդունումը նպաստում է մետաբոլիկ համախտանիշի զարգացմանը և երկրորդ տիպի շաքարային դիաբետի ռիսկի բարձրացմանը ինչպես մարդկանց, այնպես էլ կրծողների մոտ [Miller A. et al., 2008; Toop C., Gentili Sh., 2016; Lozano I. et al., 2016]: Այն արտահայտվում է ճարպակալումով, հիպերգլիցեմիայով, հիպերլիպեմիայով, գլյուկոզի նկատմամբ տոլերանտության խանգարումով, ինսուլինային ռեզիստենտականությամբ [Bray G. 2008; Stanhope K. et al., 2009; Reddy S. et al., 2008; Lozano I. et al., 2016; Toop C., Gentili Sh., 2016]:

Նյութափոխանակության խանգարումների առանցքային մեխանիզմ է համարվում օքսիդացնող սթրեսը, իսկ հակաօքսիդանտային թերապիան զգալիորեն կանխարգելում է ինսուլինային ռեզիստենտականության զարգացումը [Styskal J. et al., 2012]:

Ֆրոլուտոգով հարստացված սննդակարգը 2-րդ տիպի դիաբետի առաջացման պատճառ է դառնում՝ ազդելով ինչպես ծայրամասային, այնպես էլ կենտրոնական նյարդային համակարգերի վրա [Lee-Kubli C. et al., 2014]: Դիաբետով հիվանդների մոտավորապես 60%-ը տառապում են զարգացող նեյրոպատիայով [Sima A., 2003], որի պաթոգենեզը ներառում է նյութափոխանակային գործոններ [Cameron N. et al., 2001]: Այս գործոնների շարքում առանձնապես ներգրավված է օքսիդացնող սթրեսը, որը դիաբետի ժամանակ միավորում է գլյուկոզի նյութափոխանակության 4 այլ հիմնական ուղիները [Feldmen E., 2003], այդ թվում՝ բարձրացված գլիկացիայի վերջնանյութերի ձևավորումը, որն ընկած է դիաբետիկ նեյրոպատիաների ախտաբանության հիմքում:

Նյարդի վնասման հետևանքները հանդիսանում են կարևոր կլինիկական և սոցիալական խնդիրներ: Միշտ չէ, որ աքսոնային ռեգեներացիան ապահովում է համապատասխան գործառույթային վերականգնում, այդ պատճառով հիվանդները չեն ունենում շարժողական և զգայական բնականոն վերահսկողության վերականգնում [Allodi I. et al., 2012]: Ե՛վ վնասված նյարդը սեփական թիրախից երկար ժամանակ զրկված լինելու դեպքում (քրոնիկական աքսոտոմիա), և՛ հեռադիր նյարդային ծայրատի շվանյան բջիջների երկարատև նյարդավորման բացակայության (քրոնիկական դեներվացիա) պայմաններում տեղի է ունենում շարժիչ նեյրոնների քանակության նվազում [Gordon T., 2016]: Չնայած ճվված-վնասված ծայրամասային նյարդը պահպանում է անատոմիական ամբողջականությունը՝ ինքնաբերական վերականգնումը, այս թե այն կերպով, վերանյարդավորում է թիրախ հյուսվածքը [Mazzer P. et al., 2008], այնուամենայնիվ, վերանյարդավորման ժամանակահատվածի երկարաձգումը բարձրացնում է թիրախ հյուսվածքի դեներվացիոն ատրոֆիայի հնարավորությունը: Այդ պատճառով նյարդի ռեգեներացիայի արագացումը որոշիչ է բավարար գործառույթային արդյունքի հաստատման համար: Շարժողական վերականգնման բացակայությունը երկարաժամկետ նյարդավորման բացակայությունից հետո ոչ թե աքսոնների անհաջող

աճի, այլ ավելի շատ սինապսների ոչ լիարժեք փոխակերպման արդյունք է [Ma C. et al., 2011; Sakuma M. et al., 2016]: Հատկանշական է, որ ծայրամասային նյարդի վնասումից հետո ինքնաբերական կամ թերապևտիկ հրահրված ոչ բոլոր վերականգնված գործառնություններն են համապատասխանում նոր սինապսային կապերի ձևավորմանը կամ ակտիվացմանը (վերականգնված սինապտիկ հոմեոստազ)՝ համեմատած աքսոնային նախընտրելի ռեգեներացիայի հետ [Kang H. et al., 2014]:

Ծայրամասային նյարդերի վնասումից հետո վնասվածքի օջախի հեռադիր հատվածի աքսոնները, կորցնելով կապը նեյրոնի մարմնի հետ, կազմափոխվում են: Մինչդեռ Ուոլբերյան դեգեներացիան նպաստում է աքսոնային վերաճմանը բարենպաստ միկրոմիջավայրի ստեղծմամբ, նյարդաբջջի ֆենոտիպի փոփոխություններն արագացնում են աքսոնային ռեգեներացիան: Մյուս կողմից, ֆրոկտոգոլ հարուստ սնունդն առնետների մոտ ի հայտ է բերում մեծ քանակությամբ ջրածնի պերօքսիդի և հակաբորբոքային մարկերների առաջացում [Nyby M. et al., 2007], ինչն էլ արգելակում է գործառնության վերականգնումը և հետվնասվածքային աքսոնային վերաճը/սպարաուտինգը [Smith D. et al., 2009]: Միևնույն ժամանակ հակաբորբոքային պատասխանը կարևոր է Ուոլբերյան դեգեներացիայի բնականոն զարգացման համար, իսկ վերջինս արագացնում է հյուսվածքների գործառնության վերականգնումն ու նյարդային գործառնությոնը ծայրամասային նյարդի վնասումից հետո [Gaudet A. et al., 2011]:

Ինսուլինի զգայունացնողները և հակաօքսիդանտները արդյունավետ միջոց են ֆրոկտոգոլ հարուցված նյութափոխանակության խանգարումների, մասնավորապես շաքարախտի կանխարգելման համար [Faure P. et al., 1999], և այդ թիրախների նկատմամբ դեղաբույսերի օգտագործումը արդիական է [Rasineni K. et al., 2011; Yin J. et al., 2008]: Դիաբետի թեթև ձևերի բուժման համար հաճախ օգտագործվում է *Stevia rebaudiana*-ն (Հայկական մեղրախոտ): Հայտնի են նրա հակազլիկեմիկ, հակաօքսիդանտային և հակաբորբոքային ազդեցությունները՝ անհրաժեշտ ինսուլինային ռեզիստենտականության կանխարգելման համար [Chatsudthipong V., Muanprasat C. 2009; Wang Z. et al., 2012; Mohd-Radzman N. et al., 2013]: Առավել դեղաբանական ակտիվություն դրսևորում է *Stevia*-ի ստեիոզիդ բաղադրիչը [Brahmachari G. et al., 2011]: Մյուս կողմից, ժամանակակից դեղաբանական փորձարկումներն ապացուցել են, որ *Lycium barbarum*-ի (Հազագ բերբերի) բազմաշաքարներն օժտված են հակաօքսիդանտային, իմունամոդուլատոր [Jin M. et al., 2013] և նյարդապաշտպան ազդեցություններով [Xing X. et al., 2016]:

Ուսումնասիրության նպատակը և խնդիրները:

Հետազոտության նպատակը ֆիտոթերապիայի արդյունավետության գնահատումն է դիետիկ ֆրոկտոգոլ հարուցված շաքարախտի պայմաններում առնետների վնասված նստանյարդի գործառնության վերականգնման, ինչպես նաև ողնուղեղի շարժիչ նեյրոնների սինապսային և ողնուղեղային ՆԱԴՖ-օքսիդազի ակտիվության վրա:

Հետազոտության խնդիրներն են.

1. Հետազոտել ֆրոկտոգոլ հարուցված շաքարախտի պայմաններում առնետների նստանյարդի ԲՀԽ-ով հրահրված ողնուղեղի մոտոնեյրոնների սպայկային ակտիվության արտաբջջային, ինչպես նաև ողնուղեղի NADPH-օքսիդազային ակտիվությունը:

2. Ուսումնասիրել առողջ և վնասված վերջույթների զգայական և շարժողական գործառույթների դինամիկան նստանյարդի միակողմանի ճմլումից հետո, ինչպես նաև վնասված նստանյարդի հեռադիր մասի ԲՀԽ-ով հրահրված ողնուղեղի համակողմյա և հակակողմյա մոտոնեյրոնների սպայկային ակտիվությունը նույն պայմաններում:

3. Գնահատել *Lycium barbarum*-ի պտուղների և ստևիոզիդի ազդեցությունը առողջ և վնասված վերջույթների զգայական և շարժողական գործառույթների դինամիկայի վրա, ինչպես նաև հետազոտել վնասված նստանյարդի հեռադիր մասի ԲՀԽ-ով հրահրված ողնուղեղի համակողմյա և հակակողմյա մոտոնեյրոնների սպայկային ակտիվությունը նույն պայմաններում:

4. Գնահատել մոտոնեյրոնների սինապսային ակտիվությունը իրական ժամանակում ստևիոզիդի համակարգային ազդեցության դինամիկայում ֆրոկտոգով հարուցված շաքարախտի պայմաններում:

5. Գնահատել ողնուղեղի NADPH-օքսիդազային ակտիվության վրա *Stevia rebaudiana*-ի տերևների և *Lycium barbarum*-ի պտուղների հակաօքսիդանտային ազդեցությունը ֆրոկտոգով հարուցված շաքարախտի պայմաններում:

Աշխատանքի գիտական նորույթը: Բացահայտվել են ողնուղեղի մոտոնեյրոնների սինապսային պլաստիկությանը, ինչպես նաև ողնուղեղի NADPH-օքսիդազային համակարգի ակտիվությանը վերաբերող բնութագրական հատկանիշներ՝ դիետիկ ֆրոկտոզի ինտենսիվ օգտագործմամբ հրահրված շաքարախտի պայմաններում: Սինապսային պլաստիկության սկզբունքային տեսակետների վերաբերյալ ստացվել են նոր տվյալներ, որոնք ցույց են տալիս ողնուղեղի մոտոնեյրոնների սինապսային ակտիվության փոփոխության հնարավորությունը ծայրամասային նյարդի ֆիզիկական վնասումից հետո դիաբետիկ դիսմետաբոլիզմի ֆոնի վրա՝ հայկական *Stevia rebaudiana*-ից առանձնացված ստևիոզիդի և *Lycium barbarum*-ի պտուղների օգտագործմամբ: Ողնուղեղի NADPH-օքսիդազի վերաբերյալ առաջին անգամ ստացված տվյալները ցույց են տալիս հայկական *Stevia rebaudiana*-ի և *Lycium barbarum*-ի հակաօքսիդանտային բարձր ակտիվությունը:

Աշխատանքի գիտագործնական նշանակությունը: Երկրորդ տիպի դիաբետիկ ժամանակ ողնուղեղում անոմալ նեյրոնային գործառույթի բացահայտումը, կապված սննդային արդյունաբերության վնասակար գործոնների (մասնավորապես ֆրոկտոզային օշարակների հումքով հյութերը), հայրենական դեղաբանական բույսերի պաշտպանական և բուժական արդյունավետության ֆունդամենտալ հիմնավորման հետ, ունի ոչ միայն գիտական, բժշկական և սոցիալական նշանակություն, այլ նաև հիմնավորում է հայկական *Stevia rebaudiana*-ի և *Lycium barbarum*-ի հեռանկարային լինելը որպես դիետիկ սննդային արտադրանք սոցիալ-տնտեսական ոլորտում՝ բնակչության կյանքի որակի բարելավման և դիաբետիկ դիսմետաբոլիզմի պայմաններում նստանյարդի վնասման ժամանակ ԿՆՀ-ում և ԾՆՀ-ում նեյրոդեգեներացիաները մեղմելու նպատակով:

Ատենախոսության կառուցվածքը: Ատենախոսական աշխատանքը շարադրված է 139 էջի վրա՝ ներառելով 18 նկար և 12 աղյուսակ: Գրական ակնարկը շարադրված է 36, արդյունքները և քննարկումը՝ 56 էջերի վրա: Գրականության ցանկը ներառում է 234 տեղեկատվական աղբյուր:

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ ԵՎ ՆՅՈՒԹԵՐԸ

Գիտափորձերն իրականացվել են արու առնետների վրա հետևյալ խմբերում.

- Կեղծ ճմլում: Ստանդարտ սնունդ ընդունող առնետների ($n=5$) վրա իրականացվել է ձախակողմյա նստանյարդի ճմլում-վնասման կեղծ վիրահատություն:

- Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում: Կենդանիները ($n=5$) խմելու ջրի հետ միասին ստացել են դիետիկ ֆրուկտոզ (50%) 6 շաբաթ շարունակ, որից հետո իրականացվել է նստանյարդի ճմլում-վնասման կեղծ վիրահատություն և շարունակել են ստանալ ֆրուկտոզ ևս 3 շաբաթ:

- Ֆրուկտոզ+Ճմլում խմբում առնետները ($n=5$) ստացել են դիետիկ ֆրուկտոզ 6 շաբաթ շարունակ, որից հետո իրականացվել է իրական ճմլում-վնասման վիրահատություն: Կենդանիները շարունակել են ստանալ ֆրուկտոզ ևս 3 շաբաթ:

- Ֆրուկտոզ+Ճմլում+Lycium Barbarum և Ֆրուկտոզ+Ճմլում+Ստեփոզիլ խմբերում առնետները ($n=5$) ստացել են դիետիկ ֆրուկտոզ 6 շաբաթ շարունակ, որից հետո իրականացվել է իրական ճմլում-վնասման վիրահատություն: Կենդանիները շարունակել են ստանալ ֆրուկտոզ ևս 3 շաբաթ՝ միաժամանակ սննդի հետ ընդունելով Lycium Barbarum-ի չոր պտուղները 350 մգ/կգ/օր չափաբաժնով և մյուս խմբում՝ ներմկանային ձևով ստանալով 2 մգ/կգ/օր չափաբաժնով ստեփոզիլի ջրային լուծույթ (0,1մլ):

- Կենսաքիմիական հետազոտություններն իրականացվել են հետևյալ խմբերում՝ Ֆրուկտոզ, Ֆրուկտոզ+Lycium Barbarum, Ֆրուկտոզ+Stevia (ֆրուկտոզի հետ միասին կենդանիները ստացել են Stevia rebaudiana-ի չոր տերևներ 6-9-շաբաթների ընթացքում, 20 մգ/կգ/օր չափաբաժնով) և Ստուգիչ (ինտակտ կենդանիները ստացել են խմելու ջուր և ստանդարտ սնունդ):

Նստանյարդի վիրահատություն: Ձախակողմյա նստանյարդի ճմլումը ազդրի վերին երրորդ մասում՝ նստանյարդի եռաճյուղավորումից 4 մմ բարձր, իրականացվել է 30 վայրկյանի ընթացքում արյունահոսությունը կասեցնող սեղմիչով առաջին ատամի դիրքով սեղմման միջոցով [Bridge P. et al., 1994]:

Ծալման ռեֆլեքսի թեստ: Ծալման ռեֆլեքսի թեստն անցկացվել է պղնձե մետաղալարերով կազմված երկբևեռ էլեկտրոդով հետին վնասված և առողջ թաթերի ներբանների արտաքին կողմը հաստատուն հոսանքով (0,1-10 Վոլտ) գրգռելու ճանապարհով [Dijkstra J., 2000]: Այս թեստի թվային ցուցանիշ ծառայել է հոսանքի ուժի շեմային այն նվազագույն արժեքը, որն առաջացրել է ծալման ռեֆլեքս: Բոլոր քանակական արժեքները ներկայացված են որպես միջինացված արժեքներ ($M \pm SD$) 5 կենդանու համար՝ համաձայն Սոյուդենտի t -չափանիշի:

Նստանյարդի ստատիկական ցուցիչ (ՆՍՏ): Նստանյարդի ստատիկական ցուցիչի տվյալները ստանալու համար առնետները տեղադրվել են ապակե հատակով պլաստիկ արկղի մեջ, և թվային տեսախցիկի օգնությամբ անցկացվել են հետին թաթերի մակերեսների նկարահանումներ: Adobe Photoshop ծրագրի «քանոն» գործիքի օգնությամբ չափվել են առնետների թաթերի պարամետրերը առողջ և վնասված ոտնաթաթերի I-V (toe-spread-TS) և II-IV մատների (intermediate toe-spread-ITS) լայնքով՝ յուրաքանչյուր կողմի համար հաշվարկելով յուրաքանչյուր պարամետրի միջին թվաբանականները: ՆՍՏ-ն հաշվարկվել է հատուկ մշակված բանաձևով՝ $SSI = (108,4 \times TSF) + (31,85 \times ITSF) - 5,49$, որտեղ TSF (I-V մատների լայնության գործոնը) = TSF վնասված-

TSառողջ/TSառողջ, իսկ ITSF (II–IV մասների լայնության գործոնը)=ITSվնասված-ITSառողջ/ITSառողջ [Bervar M., 2000]:

Արտաբջջային գրանցման էլեկտրաֆիզիոլոգիական մեթոդը և ողնուղեղի միայնակ մոտոնեյրոնների հրահրված ակտիվության վերլուծությունը: Մոտոնեյրոններից արտաբջջային սպայկային ակտիվությունը գրանցվել է ողնուղեղի գոտկային L4-L5 հատվածի գորշ նյութի առջևի եղջյուրներից՝ համակողմյա և հակակողմյա՝ վնասված նյարդի համեմատ: Մոտոնեյրոնների իմպուլսային հոսքն ընտրվել է ամպլիտուդային դիսկրիմինատորի միջոցով: Դրանց հիման վրա կառուցվել են միջին հաճախականությունների հիստոգրամներ, որոնք արտահայտում են բազմամակարդակ վիճակագրական վերլուծության տվյալները (ներառյալ միջինացված հաճախականություն $\pm SD$)՝ տարբերակված նախախթանային, հետխթանային և ԲՀԽ-ի՝ տետանիզացիայի ժամանակահատվածներում:

Ստևիոզիդի և *Lycium barbarum*-ի վերաբերյալ տեղեկություններ: Լեռնային Ղարաբաղում աճեցված *Stevia*-ի էկոլոգիապես մաքուր, բարձրորակ հումքը (կենսաբանորեն ակտիվ նյութերի բարձր պարունակությամբ) հավաքվել է օգոստոս-հոկտեմբեր ամիսներին [Babakhanyan M. et al., 2012]: *Stevia*-ի թուրմից կենսակատալիտիկ ֆերմենտային տրանսգլիկոզիլացման ճանապարհով ստևիոզիդի (90%) և ռեբաուդիոզիդ A-ի (10%) ստացման համար օգտագործվել են *Bacillus stearothermophilus*-ից ստացված բարձր արդյունավետությամբ օժտված ցիկլոդեքստրին գլյուկանոտրանսֆերազներ [Кочикян В., 2004]: *Lycium barbarum*-ի պտուղները հավաքվել են ՀՀ ԳԱԱ Դավթյանի անվան հիդրոպոնիկայի խնդիրների ինստիտուտից [Hovhannisyan L. et al., 2014] և ունեն կենսաբանորեն և ֆիզիոլոգիապես ակտիվ նյութերի բարձր բաղադրություն:

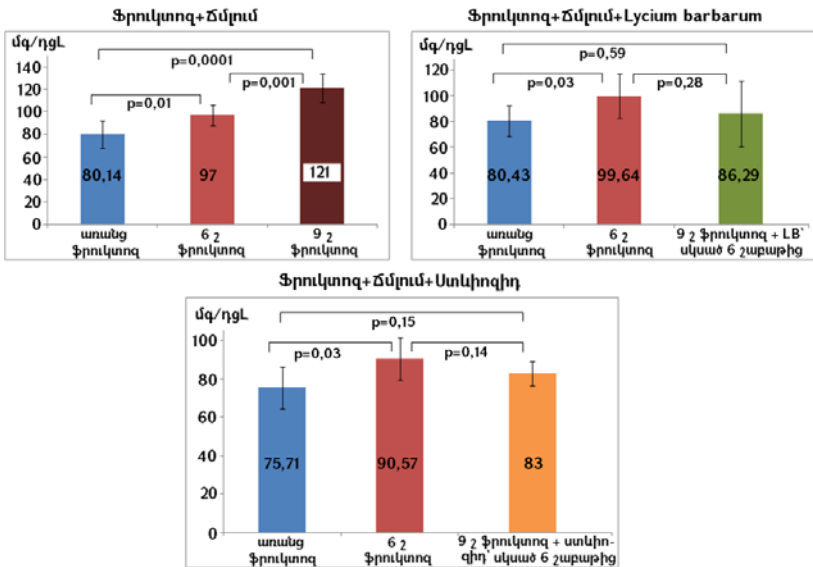
Կենսաքիմիական հետազոտություններն անցկացվել են Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի թթվաձնի ակտիվ ձևերի մետաբոլիզմի լաբորատորիայում: NADPH-կախյալ թթվաձնի ակտիվ ձևեր (O_2^-) արտադրող ակտիվությունը որոշվել է նիտրոտետրազոլային կապույտի մեթոդով 1գ հյուսվածքի հաշվարկով (միավոր/գրամ): Այդ ակտիվության միավորի համար օգտագործվել է այս ֆերմենտի այնպիսի քանակություն, որը 50%-ով խթանում է ֆորմազանի ձևավորումը նիտրոտետրազոլային կապույտը գերօքսիդային ռադիկալներով վերականգնման ժամանակ [Simonyan R. et al., 2013]:

ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ԴՐԱՆՑ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ

Ստևիոզիդի և *Lycium barbarum*-ի պտուղների ազդեցությունը արյան պլազմայի գլյուկոզի մակարդակի վրա դիետիկ ֆրուկտոզով հարուցված շաքարախտի պայմաններում

Արյան մեջ գլյուկոզի մակարդակի արդյունավետ վերահսկողությունը հիմնարար քայլ է համարվում դիաբետիկ բարդությունների կանխման և վերացման, ինչպես նաև 1-ին և 2-րդ տիպի շաքարային դիաբետներով հիվանդների կյանքի որակի բարելավման համար [Chen J. et al., 2008]: Ֆրուկտոզ+ճմլում, Ֆրուկտոզ+ճմլում+*Lycium barbarum* և Ֆրուկտոզ+ճմլում+Ստևիոզիդ խմբերում ֆրուկտոզ ընդունելուց 6 շաբաթ անց գլյուկոզի մակարդակը նախնականի համեմատ հավաստի բարձրացել է: Այս

տվյալները, համաձայն գրական ակնարկների [Toop C., Gentili Sh., 2016], վկայում են մետաբոլիկ խանգարման առկայության մասին:



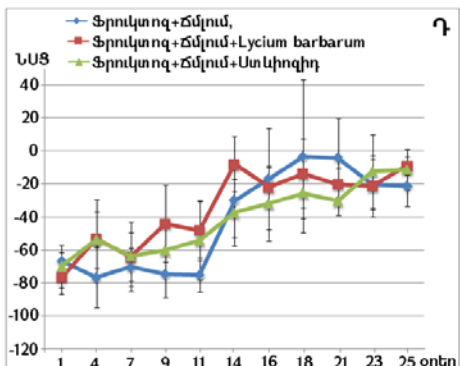
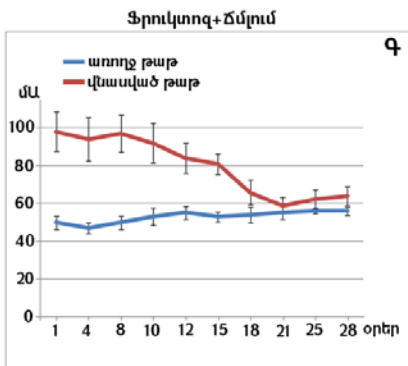
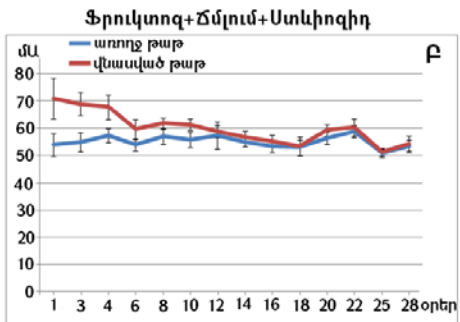
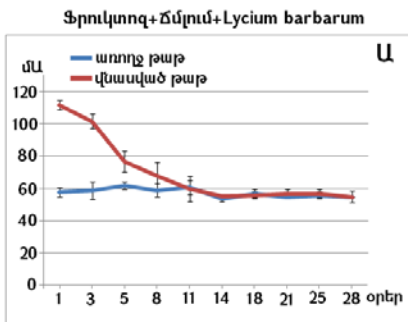
Նկար 1. Արյան պլազմայում գլյուկոզի քանակության միջինացված արժեքները ֆրուկտոզն ընդունելուց առաջ, ֆրուկտոզն ընդունելուց 6 շաբաթ անց և ֆրուկտոզն ընդունելուց 9 շաբաթ անց՝ նշված խմբերում:

Ֆրուկտոզն ընունելուց 9 շաբաթ անց գլյուկոզի մակարդակը հավաստի բարձր է նախնականից միայն Ֆրուկտոզ+Ճմլում խմբում, իսկ Ֆրուկտոզ+Ճմլում+Lycium barbarum և Ֆրուկտոզ+Ճմլում+Ստեփոգի խմբերում մոտեցել է նախնականին: Երկրորդ տիպի դիաբետով առնետների մոտ ստեփոգիդը դրսևորում է ինսուլինաթրոպ և գլյուկագոնաստատիկ ազդեցություններ [Jeppesen P. et al., 2002]: Lycium barbarum-ը ավանդական բժշկության մեջ հանդես է գալիս որպես դիաբետի բուժման հիանալի բնական հումք [Jin L. et al., 2006], և նրա արդյունավետ հակահիպերգլիկեմիկ ակտիվությունը դրսևորող բաղադրիչները համարվում են բազմաշաբաթները [Jing L. et al., 2009; Cui G. et al., 2010]:

Ստեփոգիի և Lycium barbarum-ի պտուղների ազդեցությունը առողջ և վնասված վերջույթների զգայական և շարժողական գործառնությունների փոփոխությունների դինամիկայի վրա դիետիկ ֆրուկտոզով հարուցված շաքարախտի պայմաններում նստանյարդի միակողմանի ճնշումից հետո

Ֆրուկտոզ+Ճմլում խմբում նստանյարդի վնասումից 1 օր անց ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի միջինացված արժեքները առողջ և վնասված վերջույթներում

զգալի տարբերվում են: Ճմլումից 21 օր անց ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի մեծության ցուցանիշները մոտեցել են՝ վկայելով առողջ և վնասված վերջույթներում զգայական գործառույթի զգալի հավասարեցման մասին: Սակայն 28-րդ օրը ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի մեծության ցուցանիշները վնասված վերջույթում ավելացել են (նկար 2Ա): Ֆրուկտոզ+Ճմլում+Lycium barbarum և Ֆրուկտոզ+Ճմլում+Ստևիոզիդ խմբերում նստանյարդի միակողմանի ճմլումից 5 օր անց առողջ և վնասված վերջույթներում նկատվում է ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի մեծության ցուցանիշների հավասարեցման միտում, իսկ 11-րդ օրվանից սկսած՝ զգայական գործառույթի հավասարեցում, ինչը վկայում է զգայական գործառույթի վաղաժամ վերականգնման մասին, որը պահպանվում է մինչև 28-րդ օրը (նկար 2Բ,Գ):



Նկար 2. Ա-Գ. Առողջ և վնասված հեղին վերջույթների ծալման ռեֆլեքս առաջացնող էլեկտրական խթանման միջին ցուցանիշները (մԱ)՝ նշված խմբերում: Դ. Հեղին վերջույթի ՆՍՑ-ի միջինացված ցուցանիշները համեմատվող խմբերում նստանյարդի միակողմանի ճմլումից հետո 25 օրերի դինամիկայում. հորիզոնական 0 մակարդակում ուղիղը առողջ և վնասված թաթերի միջև տարբերության բացակայությունն է:

ՆՍՑ-ի ցուցանիշները Ֆրուկտոզ+Ճմլում խմբում 18-րդ օրը համապատասխանում են մասնակի վերականգնմանը, իսկ 21-րդ օրից սկսած նկատվում է հետագա վատթարացման միտում: Ֆրուկտոզ+Ճմլում+Lycium barbarum խմբում ՆՍՑ-ի ցուցանիշների զգալի վերականգնում նկատվում է վնասումից արդեն իսկ 14 օր անց:

Ֆրուկտոզ+Ճմլում+Ստևիոզիդ խմբում, ստատիկ շարժողական գործառնության ցուցանիշները վկայում են կայուն հավասարաչափ վերականգնման դինամիկայի մասին՝ սկսած 7-րդ օրից (նկար 2Դ)։

Ստևիոզիդի և *Lycium barbarum*-ի պտուղների ազդեցությունը ողնուղեղի շարժիչ նեյրոնների կենսաէլեկտրական ցուցանիշների վրա նստանյարդի միակողմանի ճմլումից հետո դիետիկ ֆրուկտոզով հարուցված շաքարախտի պայմաններում

Կեղծ ճմլում և Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում խմբերում համեմատական վերլուծությունը թույլ է տալիս եզրակացնել.

➤ Տետանիկ պոտենցիալի (7,4 անգամ) ՏՊ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող մոտոնեյրոններում ավելի արտահայտված է Կեղծ ճմլում (նորմա) խմբում՝ համեմատած Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում խմբի (4,4 անգամ) նույն պատասխանների հետ։ Այս մոտոնեյրոնների մասնաբաժնային հարաբերակցությունը կազմում է 46% Կեղծ ճմլում խմբում և 8,8%՝ Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում խմբում։ Տետանիկ պոտենցիալի ՏՊ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող նեյրոններում նույնպես ավելի արտահայտված է Կեղծ ճմլում խմբում (5,1 անգամ)՝ համեմատած Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում խմբի (3,3 անգամ) նույն պատասխանների հետ։ Այս մոտոնեյրոնների մասնաբաժնային հարաբերակցությունը կազմում է 28,5% Կեղծ ճմլում խմբում և 10%՝ Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում խմբում։

➤ Տետանիկ դեպրեսիան ՏՊ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող մոտոնեյրոններում առավել արտահայտված է Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում խմբում (7,2 անգամ)՝ համեմատած ՏՊ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող մոտոնեյրոնների հետ (6,4 անգամ)։ Այդպիսի պատասխանները Կեղծ ճմլում խմբում արտահայտված են զգալիորեն ցածր, համապատասխանաբար 2,5 և 2,0 անգամ։ Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում խմբում ՏՊ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող մոտոնեյրոնների մասնաբաժնային հարաբերակցությունը կազմում է 41,8%, իսկ նույն պատասխաններ դրսևորող մոտոնեյրոնների մասնաբաժնային հարաբերակցությունը Կեղծ ճմլում խմբում կազմում է 8%։ ՏՊ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող մոտոնեյրոնները կազմում են համապատասխանաբար 30% և 17,5%։

Այսպիսով, ֆրուկտոզով հարուցված նյութափոխանակության խանգարումների՝ դիաբետի պայմաններում ԲՀԽ ժամանակահատվածում դրդիչ պատասխաններ դրսևորող մոտոնեյրոնների թե՛ քանակը, թե՛ պատասխանների ուժգնությունը նվազել է։ Նույն պայմաններում տետանիկ դեպրեսիա դրսևորող մոտոնեյրոնների թե՛ քանակը, թե՛ պատասխանների ուժգնությունն ավելացել է։

Ֆրուկտոզ+Ճմլում խմբում առավել արտահայտված ակտիվության բարձրացում գրանցվել է ՏՊ-ՀՏՊ (3,8 անգամ) և ՏՊ-ՀՏՊ (2,6 անգամ) պատասխաններ դրսևորող մոտոնեյրոններում։ ՏՊ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող նեյրոնների մասնաբաժինը գերակշռող է (30,25%)։ Առկա են միայն ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող նեյրոններ։ Ընդհանուր առմամբ, պատասխանների ուժգնության նվազումը փոխհատուցվել է դրդիչ պատասխան դրսևորող պոպուլյացիաների քանակի ավելացումով՝ համեմատած Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում խմբի պատասխանների հետ։ Տետանիկ դեպրեսիան ԲՀԽ-ի ժամանակ ՏՊ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող նեյրոններում արտահայտված է 1,6 անգամ, իսկ ՏՊ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող

նեյրոններում՝ 2,2 անգամ, ինչը զգալի ցածր է Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում խմբից: Քանակությամբ ևս այդ տիպի նեյրոնները նվազել են: Համաձայն միջինացված կումուլյատիվ հիստոգրամների՝ սեպալին ակտիվության մակարդակը ցածր է Ֆրուկտոզ+Ճմլում խմբում՝ համեմատած Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում խմբի, ինչը վկայում է Ֆրուկտոզ+Ճմլում խմբում ՏՊ-ՀՏՊ, ՏԴ-ՀՏԴ, ՏԴ-ՀՏՊ, ՏՊ-ՀՏԴ պատասխաններ դրսևորող շարժիչ նեյրոնների անոմալ կենսաէլեկտրական ցուցանիշների մասին:

Ֆրուկտոզ+Ճմլում խմբի հակակողմյա մոտոնեյրոններում գրանցվել է զգալի արտահայտված տետանիկ դեպրեսիա (որտեղ ՏԴ-ՀՏԴ պատասխանները գերակշռում են (38,97%) հակակողմյա մոտոնեյրոններից գրանցված այլ պատասխաններին)՝ ի տարբերություն համակողմյա մոտոնեյրոնների, ինչը վկայում է Ֆրուկտոզ+Ճմլում խմբում սպրաուտինգի ենթարկված նոր կապերում դեպրեսիայի գերակայման մասին: Ծայրամասային նյարդի վնասումները պլաստիկ փոփոխություններ են առաջացնում ողնուղեղում, որն իր մեջ ներառում է դրդող և արգելակող սինապսային կապերի գործառույթային փոփոխություններ նոր կապերի սպրաուտինգի միջոցով [Navarro X. et al., 2007]: Ծմլումից հետո առնետների նստանյարդի երկարատև բաժանումը թիրախից երկարատև փոփոխություններ է առաջացնում հակադարձ արգելակող ուղիներում, ինչը ավելացնում/բարձրացնում է ողնուղեղի մոտոնեյրոնների գործառույթային վիճակը մկանային ուժի կարգավորման նպատակով [Shu L. et al., 2011]: Առաջնային աֆերենտ նեյրոններից ստացվող սինապսային տերմինալների պակասեցումը մոտոնեյրոններում նկատվում է վնասումից ամիսներ անց՝ անկախ աքսոնի ռեգեներացիայի հաջողությունից [Alvarez F. et al. 2010]: Ուշագրավ է, որ երկար ժամանակ անց այդ մոտոնեյրոններում մոտ 50%-ով ավելանում են այն սինապսային վերջավորությունները, որոնցում նկատվում է ԳԱԿԹ-ի սինթեզը սահմանափակող էնզիմների պարունակության շատացում: Այսպիսի փոփոխությունները ողնուղեղի նյարդային շղթաներում զգալի ազդեցություն են թողնում նյարդի ռեգեներացիային հաջորդող գործառույթային վերականգնման վրա [English A. et al., 2011], ինչը, հավանաբար, դիտվում է մեր փորձերում գրանցված համակողմյա և հակակողմյա մոտոնեյրոններում:

Ֆրուկտոզ+Ճմլում+Ստևիոզիդ խմբում ԲՀԽ և հետխթանիչ ժամանակահատվածների դրդիչ և արգելակիչ պատասխաններն արտահայտված են ավելի ինտենսիվ, քան այդպիսի պատասխանները Ֆրուկտոզ+Ճմլում խմբում: Համակողմյա մոտոնեյրոնների ՏՊ պատասխանները գերակշռում են (36,49+5,47+21,96=63,92%) ՏԴ պատասխաններին (13,85+4,05+10,14=28,04%)՝ նշված պարամետրերը մոտեցնելով նորմային (Կեղծ ճմլում խմբին): Ինչպես նաև՝ նկատվել է համակողմյա մոտոնեյրոնների պատասխանների տիպերի ավելացում (ՏՊ-ՀՏՊ, ՏՊ-ՀՏԴ, ՏԴ-ՀՏԴ, ՏԴ-ՀՏՊ, ՀՏՊ, ՀՏԴ, ՏՊ, ՏԴ), ինչը, հավանաբար, ապացուցում է կարճաժամկետ սինապսային պլաստիկության մեխանիզմների ձևավորման գործում ստևիոզիդի կարգավորող դերը: Հատկանշական է, որ Ֆրուկտոզ+Ճմլում+Ստևիոզիդ խմբում ՏԴ պատասխաններն առավել արտահայտված են հակակողմյա մոտոնեյրոններում (12,3, 2,7 և 2 անգամյա հաճախականության նվազում)՝ համեմատած համակողմյա մոտոնեյրոնների (2,3, 2,4, 1,8 անգամ) այդպիսի պատասխանների հետ: Ֆրուկտոզ+Ճմլում+Ստևիոզիդ 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 սինապսային փոխանցման դրական ադապտիվ փոփոխությունների մասին:

Աղյուսակ 1.

Պատախանների տիպերի միջին հաճախականությունների արժեքները Ֆրոկտոգ+Ճմլում+Ստևիոզիդ խմբի համակողմյա մոտոնեյրոններում

Պատախանների տիպերը	Մ ՆԽ Սպայկ/վրկ	Մ ԲՀԽ Սպայկ/վրկ	Մ ՀԽ Սպայկ/վրկ
ՏՊ-ՀՏՊ	5,16	25,30 ↑ 4,9 x Ֆ+Ճ↑2,6 x	8,67 ↑ 1,7 x Ֆ+Ճ↑1,5 x
ՏՊ	2,07	24,47 ↑ 11,8 x	2,05
ՀՏՊ	1,37	2,00	12,60 ↑ 9,2 x
ՏՊ-ՀՏԴ	5,22	22,74 ↑ 4,4 x Ֆ+Ճ↑3,8 x	2,24 ↓ 2,3 x Ֆ+Ճ↓1,6 x
ՏԴ-ՀՏԴ	10,15	4,22 ↓ 2,4 x Ֆ+Ճ↓1,6 x	6,60 ↓ 1,5 x Ֆ+Ճ↓1,3 x
ՏԴ	8,67	3,83 ↓ 2,3 x	8,80
ՀՏԴ	12,93	13,18	9,04 ↓ 1,4 x
ՏԴ-ՀՏՊ	6,91	3,80 ↓ 1,8 x Ֆ+Ճ↓2,2 x	10,10 ↑ 1,5 x Ֆ+Ճ↑1,3 x
Անոեակտիվ	10,19	11,29	10,31

Ծանոթագրություն. ↑ և ↓ - հաճախականության բարձրացում և իջեցում Համեմատության նպատակով ներկայացված է Ֆրոկտոգ+Ճմլում (Ֆ+Ճ) խումբը

Ուշագրավ է այն փաստը, որ եթե Ֆրոկտոգ+Ճմլում խմբում բարձր է համակողմյա անոեակտիվ բջիջների մասնաբաժինը (7,12%)՝ ի տարբերություն հակակողմյայի (2,21%), ապա ստևիոզիդ ստացած կենդանիների մոտ պատկերը հակառակն է. համակողմյա անոեակտիվ բջիջների մասնաբաժինը նվազ է (2,36%)՝ ի տարբերություն հակակողմյա բջիջների (7,94%), ինչը փաստում է ճմլումի հետևանքով առաջացած ներողնուղեղային աքսոնային լատերալ սպարաուտինգի և ստևիոզիդի ազդեցության ներքո դրա կանխարգելման մասին:

Ֆրուկտոզ+ճմլում+Lycium barbarum խմբում ՏԴ-ՀՏԴ պատասխաններ դրսևորող համակողմյա նեյրոնների մասնաբաժինը գերակշռող է (32,84 %) և նրանցում գրանցվել է առավել արտահայտված ակտիվության նվազում (↓4,1 անգամ), ինչը մոտ է Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում խմբի քանակական և արտահայտվածության ցուցանիշներին: Առհասարակ, այս խմբի ԲՀԽ ժամանակահատվածի պատասխանները բարձր են Ֆրուկտոզ+ճմլում խմբի ցուցանիշներից, իսկ անոեակտիվ նեյրոնների մասնաբաժինը կազմում է 0,6%՝ համեմատած Ֆրուկտոզ+ճմլում խմբի 7,1%-ի հետ: Ֆրուկտոզ+ճմլում+Lycium barbarum խմբում ՏՊ պատասխաններն առավել արտահայտված, իսկ ՏԴ-ն ավելի պակաս է արտահայտված հակակողմյա մոտոնեյրոններում, իսկ բուժման բացակայության պայմաններում Ֆրուկտոզ+ճմլում խմբում և՛ համակողմյա, և՛ հակակողմյա մոտոնեյրոնների պատասխանների արտահայտվածության պատկերը հակառակն է:

Աղյուսակ 2.

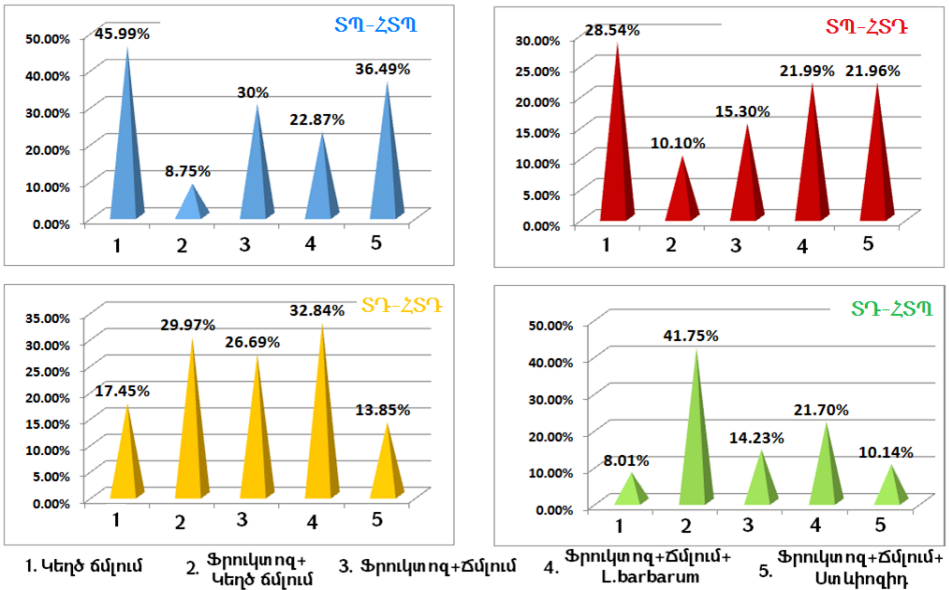
Պատասխանների տիպերի միջին հաճախականությունների արժեքները
Ֆրուկտոզ+ճմլում+L.barbarum խմբի համակողմյա մոտոնեյրոններում

Պատասխանների տիպերը	Մ ՆԽ Սպայկ/վրկ	Մ ԲՀԽ Սպայկ/վրկ	Մ ՀԽ Սպայկ/վրկ
ՏԴ-ՀՏԴ	5,98	20,29 ↑3,4 x	9,06 ↑1,5 x
ՏԴ-ՀՏԴ	5,98	17,22 ↑2,9 x	3,06 ↓1,9 x
ՏԴ-ՀՏԴ	10,04	2,44 ↓4,1 x	4,41 ↓2,3 x
ՏԴ-ՀՏԴ	6,11	2,33 ↓2,6 x	9,04 ↑1,5 x
Անոեակտիվ	3,95	4,38	3,91

Ծանոթագրություն. ↑ և ↓ - հաճախականության բարձրացում և իջեցում

Ամփոփելով բոլոր տիպի պատասխանների մասնաբաժինների վերլուծությունը բոլոր խմբերում (նկար 3)՝ նշենք, որ ՏԴ-ՀՏԴ (45,99%) և ՏԴ-ՀՏԴ (28,54%) պատասխանները գերակշռում են Կեղծ ճմլում խմբում: ՏԴ-ՀՏԴ պատասխանները գերակշռում են Ֆրուկտոզ+Կեղծ ճմլում խմբում (41,75%): Գնահատելով նյարդապաշտպան ազդեցության էլեկտրաֆիզիոլոգիական պարամետրերը՝ կարելի է նշել, որ Ֆրուկտոզ+ճմլում+Lycium barbarum խմբում բոլոր տիպի պատասխանների բաշխվածությունը համեմատաբար հավասարաչափ է (ՏԴ-ՀՏԴ՝ 22,87%, ՏԴ-ՀՏԴ՝ 21,99%, ՏԴ-ՀՏԴ՝ 32,84%, ՏԴ-ՀՏԴ՝ 21,70%), ինչը, ըստ երևույթին պայմանավորված է սինապսային պլաստիկության մեխանիզմների վրա Lycium barbarum-ի ակտիվ բաղադրամասերի (այդ թվում՝ տաուրին ամինաթթվի) մոդուլատոր/փոփոխիչ ազդեցությամբ: Ոչ սպիտակուցային ամինաթթուներ տաուրինը և Կ-ամինոկարագաթթուն, ինչպես նաև բեթահինը (տրիմեթիլգլիցին) նույնպես

պարունակվում են *Lycium barbarum*-ի պտուղներում [Cao Y. et al., 2003]: Արգելակող գլիցինային ընկալիչների համար դեռևս բացակայում է ֆարմակոլոգիական թերապիան: Գլիցինի ազոնիստային հատկությունները նմանակվում են մի շարք նմանատիպ կառուցվածք ունեցող ամինաթթուներով: Ողնուղեղային նեյրոնների համար հետևյալ ազոնիստները ներկայացված են աճման կարգով. գլիցին>չ ալանին> տաուրին>α ալանին>սերին [Offermanns S. Rosenthal W., 2008]: Համակողմյա մոտոնեյրոններում բոլոր տիպերի պատասխանների մասնաբաժինը առավել մոտեցված է բնականոնին Ֆրոկտոզ+Ճմլում+Ստևիոզիդ խմբում (նկար 3):



Նկար 3. Պատրաստների տիպերի տոկոսային բաշխումը համապատասխան խմբերում:

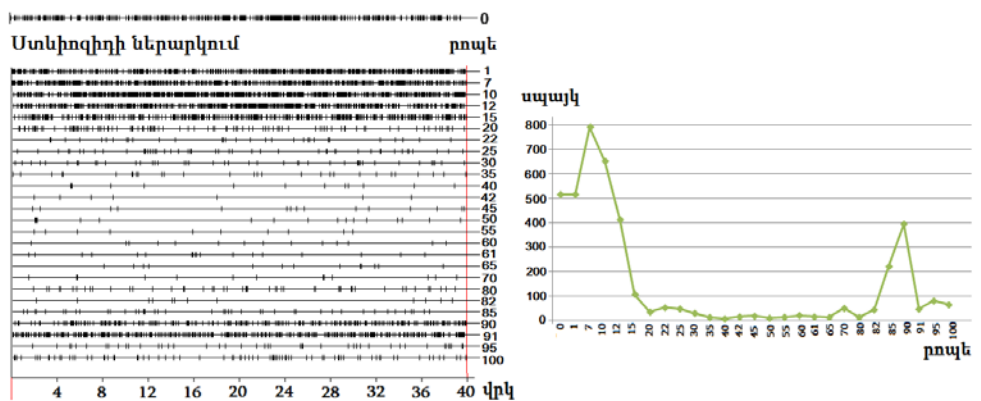
Ծայրամասային նյարդերի վնասումից հետո դիտվում է այն գեների էքսպրեսիա, որոնք կողավորում են տրանսկրիպցիոն գործոններ, բջջակմախքային պրոտեիններ, բջջի ադգեզիայի և ուղղորդող մոլեկուլներ, տրոֆիկ գործոններ և ընկալիչներ, ցիտոկիններ, նեյրոպեպտիդներ և նյարդափոխադրիչներ սինթեզող էնզիմներ, իոնային անցուղիներ և թաղանթային փոխադրիչներ [Raivich G. et al., 2007; Dziennis S. et al., 2008]: Այլ կերպ ասած՝ ներգրավված են ազդակային տրանսդուկցիայի բազմաթիվ ուղիներ: Վերջիններիս մոդուլացիան լավագույնս իրականացվում է ալլոստերիկ կարգավորման ճանապարհով: Այդ առումով շահավետ են բույսերի՝ կենսաբանորեն ակտիվ բաղադրամասերը: Համակարգային մակարդակում բույսերի ակտիվ բաղադրամասերով ալլոստերիկ մոդուլացիան ենթադրում է նեյրոպրոտեկցիա ալլոստերիկ լիգանդների երկարաժամկետ փոփոխությունների ճանապարհով [Babel H. et al., 2016]:

Այսպիսով՝ *Lycium barbarum*-ի և ստևիոզիդի պաշտպանական գործընթացը իրականանում է պատասխանների ինտենսիվության, մասնաբաժինների

վերաբաշխման և պատասխանների բազմազանության ավելացման ճանապարհով՝ նպաստելով նյարդաբջջիների առավել ինտեգրմանը ֆունկցիոնալ շղթաներում:

Ողնուղեղի միայնակ մոտոնեյրոնների ակտիվության փոփոխությունները իրական ժամանակում ստեփոզիդի միանվագ թերապևտիկ չափաբաժնի համակարգային ազդեցության պայմաններում

Միայնակ մոտոնեյրոնի փոփոխությունը (նկար 4) ներկայացված է 40 վրկ իրական ժամանակում սպայկային ակտիվության տեսքով. ակնհայտ է սպայկերի նվազում ստեփոզիդի ներարկումից արդեն իսկ 15 րոպե անց՝ համեմատած նախնական հաճախականության հետ (նշված է 0 րոպե):

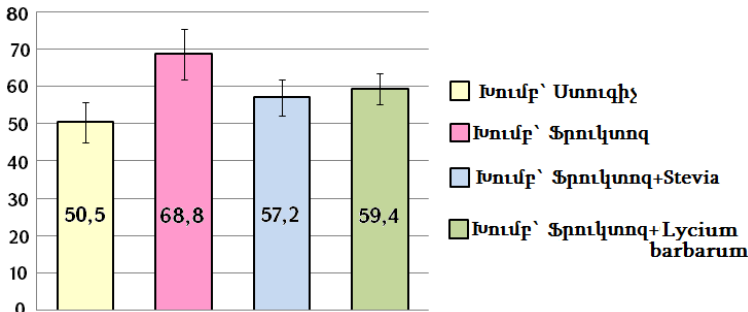


Նկար 4. Ձախից՝ ռասպերում ներկայացված է ողնուղեղի միայնակ մոտոնեյրոնի սպայկային ակտիվությունը իրական 40 վրկ ժամանակահատվածում: Աջից՝ մոտոնեյրոնի սպայկային ակտիվության փոփոխության հիստոգրամը 0-ից (նախնական մակարդակ) մինչև 100 րոպե դինամիկայում ստեփոզիդի ներմկանային ներարկումից հետո (2 մգ/կգ): Արքսիսների առանցքը ստեփոզիդի ազդեցության ժամանակն է (րոպե), իսկ օրդինատների առանցքը՝ սպայկերի քանակը:

Դիետիկ ֆրուկտոզով հարուցված օքսիդացնող սթրեսի և այդ պայմաններում Stevia rebaudiana-ի և Lycium barbarum-ի ազդեցությունները ողնուղեղի O₂⁻-գեներացնող էնզիմ NADPH-օքսիդազի ակտիվության վրա

Համեմատած Ստուգիչ խմբի ցուցանիշների հետ՝ Ֆրուկտոզ խմբում նկատվում է NADPH կախյալ O₂⁻ արտադրող ակտիվության մակարդակի զգալի մեծացում (նկար 5): Կարելի է հաստատել, որ Stevia rebaudiana-ի տերևները և Lycium barbarum-ի պտուղները կատարում են հակաօքսիդատային, թաղանթալայունացնող դեր՝ իջեցնելով NADPH-օքսիդազի մակարդակը ողնուղեղում: Ապացուցված է, որ օքսիդավերականգնման հավասարակշռության ապակարգավորումը բերում է ԴՆԹ-ի վնասման, լիպիդային պերօքսիդացման, պրոտեինների շեղումային հետտրանսիացիոն մոդիֆիկացիայի, նեյրոնների մարմնի, դենդրիդների և աքսոնների միջև պրոտեինների

և բշտերի տեղակայման փոփոխություններ [Wilson C. et al., 2015]: Ռեակտիվ թթվածնի նուրբ հավասարակշռությունը անհրաժեշտ է նեյրոնային ազդանշանի համար, և նրա ավելորդ նվազումը կամ ավելացումը առաջացնում է նյարդային բջջի մեխանիզմների պլաստիկության վատթարացում [Knapp L. et al., 2002]: Կարևոր է շեշտել, որ ստեփայի ադապտոգեն հատկությունները դիաբետի ժամանակ պայմանավորված են նրա ինսուլինային ռեգիստենտականության կարգավորումով՝ փոխկապակցված հակաօքսիդիչ և իմունամոդուլատոր ակտիվության հետ [Mohd-Radzman N. et al., 2013]: Ողնուղեղի հյուսվածքում *Lycium barbarum*-ի նյարդապաշտպան և իմունոկարգավորիչ փոխկապակցված ազդեցությունները [Zhang Y. et al., 2013], համաձայն մեր տվյալների, կորելացվում են հակաօքսիդանտային և հակագլիկեմիկ ազդեցությունների հետ: Դասական հակաօքսիդանտային թերապիան վերանայվեց, երբ ռեակտիվ թթվածնի ֆիզիոլոգիական նշանակության անտեսումը հանգեցրեց անբավարար կլինիկական արդյունքների. ավելի արդարացված և ընդունելի մոտեցում համարվեց NADPH-օքսիդազի նկատմամբ ընտրողաբար ազդող բնական արգելակիչների օգտագործումը [Maraldi T. 2013]:



Նկար 5. NADPH կախյալ O_2^- -արտադրող հաշվարկային տեսակարար ակտիվությունը (արտահայտված միավոր/գրամով) ներկայացված խմբերում:

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Նեյրոնների սինապսային փոփոխված ակտիվության և ողնուղեղի NADPH-օքսիդազային ակտիվության գիտափորձնական և տեսական փաստարկները նոր հիմք են հանդիսանում դիետիկ ֆրուկտոզի ինտենսիվ օգտագործման վնասաբեր ազդեցության կանխարգելման նպատակով հայկական *Stevia rebaudiana*-ի և *Lycium barbarum*-ի կիրառական բարձր արդյունավետության համար: Տվյալ հետազոտությունում NADPH-օքսիդազի հյուսվածքային տեղակայման, նրա ակտիվության պրոօքսիդանտային և հակաօքսիդանտային աստիճանի գնահատումը դիաբետիկ դիսմետաբոլիզմի պայմաններում կարող է օգնել ներթափանցելու այդ ֆերմենտների գործառույթային մեխանիզմների իրականացման և կարգավորման բնույթի մեջ, ինչը կարող է հիմք հանդիսանալ նպատակային դեղաբանական սննդային արտադրանքների կատարելագործման համար, ինչպես նաև հայրենական *Stevia rebaudiana*-ի և *Lycium barbarum*-ի հումքից բազմաթիրախային և բազմաֆունկցիոնալ (հակաշաքարախտային, հակաօքսիդանտային, հակաբորբոքային, նյարդապաշտպան ակտիվությամբ օժտված) ֆիտոպրեպարատների մշակման հեռանկար հանդիսանալ:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Ֆրուկտոզով հարուցված նյութափոխանակության խանգարումների պայմաններում նստանյարդի ճմլումից 21 օր անց բացահայտվել է զգայական գործառույթի վերականգնում, իսկ ստատիկ շարժողական գործառույթի մասնակի վերականգնումը դրսևորվել է նստանյարդի ճմլումից 18 օր անց՝ հետագա վատթարացման միտումով:
2. Ֆրուկտոզով հարուցված նյութափոխանակության խանգարումների պայմաններում առնետների նստանյարդի ճմլումից 30 օր անց ողնուղեղի գոտյային հատվածի և՛ համակողմյա, և՛ հակակողմյա շարժիչ նեյրոններում գրանցվել է անոմալ կենսաէլեկտրական ակտիվություն, որը բնույթագրվում է ֆոնային ակտիվության, ինչպես նաև վնասված նյարդի հեռադիր մասի բարձր հաճախականությամբ հրահրված դրդիչ/արգելակիչ պատասխանների հավասարակշռության շեղումներով և արտահայտվածության փոփոխությամբ:
3. *Lycium barbarum*-ի պտուղների օգտագործումը ֆրուկտոզով հարուցված նյութափոխանակության խանգարումների պայմաններում նստանյարդի ճմլումից հետո հանգեցնում է. ա) զգայական և շարժողական գործառույթների վաղաժամ վերականգնման՝ վնասումից արդեն իսկ 11 և 14 օր անց, բ) սինապսային պլաստիկության մոդուլյացիայի՝ համակողմյա մոտոնեյրոններում արտահայտված ցածր ֆոնային ակտիվությամբ, դրդիչ/արգելակիչ պատասխանների մեծացումով և նրանց մասնաբաժինների համեմատաբար հավասարաչափ վերաբաշխմամբ:
4. *Lycium barbarum*-ի պտուղների օգտագործումը նստանյարդի ճմլումից հետո հանգեցնում է. ա) զգայական և շարժողական գործառույթների վաղաժամ վերականգնման՝ վնասումից համապատասխանաբար 8 և 4 օր անց, բ) սինապսային պլաստիկության մոդուլյացիայի՝ արտահայտված ցածր ֆոնային ակտիվությամբ և անոնեակտիվության բացակայությամբ, դրդիչ/արգելակիչ պատասխանների մեծացմամբ և դրդիչ պատասխանների մասնաբաժինների ավելացմամբ:
5. Ֆրուկտոզով հարուցված նյութափոխանակության խանգարումների պայմաններում նստանյարդի ճմլումից հետո ստեփոգիդի ներմկանային ներարկումը հանգեցնում է վնասված վերջույթի զգայական գործառույթի վաղաժամ վերականգնման ճմլում-վնասումից արդեն իսկ 12 օր անց և շարժողական գործառույթի վերականգնման՝ 7-րդ օրից:

6. Ֆրուկտոզով հարուցված նյութափոխանակության խանգարումների պայմաններում նստանյարդի ճմլումից հետո ստեփոզիդի ներմկանային ներարկումը կանխարգելել է վնասվածքի հետևանքով ի հայտ եկած և՛ համակողմյա, և՛ հակակողմյա մոտոնեյրոնների անոմալ ակտիվությունը. բացահայտվել է համակողմյա մոտոնեյրոնների պատասխանների տիպերի ավելացում՝ գերակշռող դրդիչ ռեակցիաներով, և անոռեակտիվ նեյրոնների մասնաբաժնի նվազում: Մոտոնեյրոնների սինապսային ակտիվության գնահատումը իրական ժամանակում ստեփոզիդի համակարգային ազդեցության դինամիկայում բացահայտել է արգելակող ռեակցիաներ:
7. *Lycium barbarum*-ը և *Stevia rebaudiana*-ն ճնշում են ֆրուկտոզով հարուցված օքսիդացնող սթրեսի արդյունքում ավելացված ՆԱԴՖ-կախյալ O_2^- -արտադրող ակտիվությունը ողնուղեղի հյուսվածքում՝ թաղանթակայունացնող ազդեցության ճանապարհով:

Ատենախոսության թեմայով տպագրված աշխատանքների ցուցակ

1. В. А. Чавушян, Л. Г. Аветисян, К. В. Симонян. Показатели функционального восстановления при повреждении седалищного нерва крыс в условиях метаболических нарушений. **Медицинская наука Армении** 2015, № 2 , с. 78-87
2. Լ. Գ. Ավետիսյան: LYCIUM BARBARUM-ի ազդեցությունը ֆրուկտոզով հարստացված սնունդ ստացող առնետների վնասված նստանյարդի վերականգնման գործառնության ցուցանիշների վրա: **Հայաստանի կենսաբանական հանդես** 2015, № 3, էջ 85-90
3. Л. Г. Аветисян, К. В. Симонян, Р. А. Аветисян. Показатели активности мотонейронов спинного мозга крыс в условиях чрезмерного потребления фруктозы. Международный молодежный научный форум Ломоносов.13-17 апреля 2015 г. Москва
4. Lilit Avetisyan, Karen Simonyan, Vergine Chavushyan. Sciatic nerve injury of rats in condition of metabolic disorder. Neuronus IBRO & IRUN Neuroscience Forum. Krakow, Poland, April 17-19, 2015, p. 109
5. L.G. Avetisyan, K.V. Simonyan, V.A. Chavushyan. The effects of Lycium barbarum on indices of the functional recovery of injured sciatic nerve in fructose-fed rats. “Current Issues of Medical Science” Conference 95th anniversary of the Yerevan State Medical University, 2015 October 12-15, Yerevan, Armenia. **The New Armenian Medical Journal** 2015, Vol. 9, P. 9
6. Р.М. Симонян, В.А. Чавушян, А.С. Исоян, Г.М. Симонян, К.В. Симонян, Л.Г. Аветисян, Х.О. Нагапетян, М.А. Бабаханян, М.А. Симонян Мембраностабилизирующие эффекты Stevia rebaudiana при фруктоза-индуцированном диабете второго типа у крыс. **Медицинская Наука Армении** 2015, Т. LV, № 3, с. 51-60
7. K. V. Simonyan, L. G. Avetisyan, V. A. Chavushyan. Goji fruit (Lycium barbarum) protects sciatic nerve function against crush injury in a model o diabetic stress. **Pathophysiology** 2016, № 23, p. 169-179
8. Р. М. Симонян, Л. Г. Аветисян, Г. М. Симонян, К. В. Симонян, Р. А. Аветисян, М. А. Симонян, В. А. Чавушян. Стабилизирующий эффект плодов Goji на клеточные мембраны спинного мозга крыс при оксидативном стрессе, индуцированном фруктозой. **Медицинская наука Армении** 2016, № 3 , с. 22-29
9. L. G. Avetisyan, K. V. Simonyan, L. E. Babakhanyan, L. E. Hovhannisyan, H. M. Galstyan, V. G. Ghochikyan, R. A. Avetisyan, V. A. Chavushyan. Impact of Lycium barbarum on indices of the functional recovery of rats injured sciatic nerve. **Issues in theoretical and clinical medicine** 2016, № 6, pp 11-16
10. Լ. Գ. Ավետիսյան, Վ. Ա. Չավուշյան, Կ. Վ. Սիմոնյան, Վ. Տ. Ղոչիկյան, Լ. Է. Հովհաննիսյան, Մ. Ա. Բաբախանյան: Ստեփոգոֆի ազդեցությունը ֆրուկտոզով հարստացված սնունդ ստացող առնետների վնասված նստանյարդի գործառնության վերականգնման ցուցանիշների վրա: ՀՀ ԳԱԱ **Հայաստանի բժշկագիտություն** 2017, № 1, էջ 67-79

ОЦЕНКА НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФИТОТЕРАПИИ ПРИ
ВОССТАНОВЛЕНИИ ПОВРЕЖДЕННОГО В УСЛОВИЯХ ДИАБЕТА СЕДАЛИЩНОГО
НЕРВА

РЕЗЮМЕ

Интенсивное потребление фруктозы повышает оксидативный стресс и вызывает метаболический синдром, ассоциируемый с изменениями в функционировании центральной и периферической нервной систем. Гипергликемия, инсулиновая резистентность и гиперлипидемия – интегральные компоненты диабета и важнейшие факторы риска для развития периферических и центральных нейропатий. Метаболизм глюкозы по увеличенному сорбитольному пути может быть ассоциирован с дисфункцией Шванновской клетки, что в свою очередь повышает уязвимость периферического нерва к травматическому повреждению. Повреждение периферического нерва вызывает потерю моторной / чувствительной функции и гибель аксономизированных нейронов в денервированных сегментах спинного мозга.

Целью нашего исследования явилась оценка степени восстановления чувствительной (тест флексорного рефлекса) и моторной (статический седалищный индекс) функций, а также электрофизиологических параметров ответов мотонейронов спинного мозга на высокочастотную стимуляцию дистального отдела поврежденного седалищного нерва (СН) у крыс, получающих стевиозид из листьев *Stevia rebaudiana* и плоды *Lycium barbarum* на фоне интенсивного приема фруктозы, а также оценка активности НАДФ-оксидазы в ткани спинного мозга в условиях фруктозой-индуцированных метаболических нарушений и антиоксидантной активности листьев *Stevia rebaudiana* и плодов *Lycium barbarum*. Крысы альбиносы получали с питьевой водой диетическую фруктозу (50%) в течение 6 недель, после чего осуществляли краш-повреждение левого СН. Часть животных продолжала получать фруктозу в течении 3 постоперационных недель, а часть получала фруктоза + стевиозид и фруктоза + плоды *Lycium barbarum*. Ложную операцию краш-повреждения осуществляли у животных получающих фруктозу и стандартные питье и корм. С 1 по 28 дни после повреждения СН проводили измерения относительно флексорного рефлекса и статического седалищного индекса. Спустя 28-30 дней после ложной операции и краш-повреждения СН проводили *in vivo* экстраклеточное электрофизиологическое исследование ипси- и контрлатеральных мотонейронов люмбарного отдела спинного мозга.

В условиях метаболических нарушений, вызванных фруктозой восстановление чувствительной функции выявлено на 21-ый день после повреждения СН. Выявлено частичное восстановление статической функции на 18 день с дальнейшей тенденцией ухудшения. На фоне метаболических нарушений, вызванных фруктозой, на 28-ой день после краш-повреждения СН в мотонейронах люмбарного отдела спинного мозга выявлена аномальная биоэлектрическая активность, характеризующаяся нарушением как

фоновой активности, так и баланса и выраженности возбудительных/депрессорных ответов на высокочастотную стимуляцию дистального отдела поврежденного СН. Применение *Lycium barbarum* после повреждения СН на фоне метаболических диабета вызывает: а) ускоренное восстановление чувствительной и моторной функции на 11 и 14 дни после сдавливания нерва; б) модуляцию синаптической пластичности, проявляемую низкой фоновой активностью, повышенной выраженностью возбудительных/депрессорных ответов и сравнительно равномерным распределением их долевого соотношения. В условиях диабета в/м инъекция стевиозида после повреждения СН вызывает ускоренное восстановление чувствительной функции поврежденной конечности на 12-ый день, а статического седалищного индекса – на 7-ой день. После в/м инъекция терапевтической дозы стевиозида в реальном времени выявлено доминирующее ингибирование фоновой спайковой активности единичных мотонейронов. После повреждения СН на фоне диабета применение стевиозида в течение трех недель предотвращает аномальную активность ипси- и контралатеральных мотонейронов: выявлено увеличение многообразия типов ответов ипсилатеральных мотонейронов с доминированием возбудительных реакций, а также снижение долевого соотношения ареактивных единиц. В целом, протекция стевиозидом и плодами *Lycium barbarum* осуществляется путем повышения интенсивности ответов, перераспределения их долевого соотношения и увеличения их многообразия, что содействует повышению интеграции нейронов в функциональные нейрональные цепи. При фруктозой-индуцированном оксидативном стрессе *Lycium barbarum* и *Stevia rebaudiana* путем мембраностабилизирующих эффектов подавляют выработку НАДФ-зависимой O_2^- -продуцирующей активности в ткани спинного мозга.

AVETISYAN LILIT GAGIK

EVALUATION OF NEUROPROTECTIVE EFFICIENCY OF PHYTOTHERAPY IN RECOVERY OF INJURED SCIATIC NERVE IN CONDITION OF DIABETES

SUMMARY

Excess fructose consumption increases oxidative stress and causes metabolic syndrome associated with changes in functioning of the central and peripheral nervous systems. Hyperglycemia, insulin resistance and hyperlipidemia are integral components of diabetes and important risk factors for developing peripheral and central neuropathies. Glucose metabolism by way of the sorbitol pathway may well be associated with dysfunction of the Schwann cell, which in its turn increases the vulnerability of peripheral nerve to traumatic injury. Injuries to the peripheral nerves result in loss of motor and sensory functions and death of axotomized neurons in the denervated segments of spinal cord.

The aim of the present study was to evaluate the degree of sensory (flexor reflex test) and motor function (static sciatic index) recovery, as well as electrophysiological parameters of responses of spinal cord motoneurons at high-frequency stimulation of the

distal part of the crush-injured sciatic nerve of high fructose-diet rats under action of stevioside and Lycium barbarum, as well as assessment of NADPH oxidase activity in spinal cord tissue in condition of fructose-induced metabolic disorder and antioxidant activity of Stevia rebaudiana leaves and Lycium Barbarum fruit. Male albino rats were given with drinking water with 50% concentration of dietary fructose for 6 weeks after which a crush injury of the left sciatic nerve was carried out. Some of the animals received fructose postinjury for 3 weeks and some of the animals received fructose + dry Lycium barbarum fruit and fructose + stevioside. A sham crush injury of sciatic nerve was inflicted in rats, receiving a standard diet and dietary fructose. From 1 to 28 days of crush a flexor reflex test and static sciatic index measurement were performed. After 28-30 days of sham crush and crush an *in vivo* extracellular electrophysiological study of ipsi- and contralateral motoneurons of the lumbar part of spinal cord was carried out. In condition of metabolic disorder caused by fructose, restoration of the sensory function was detected on day 21 post crush-injury. A partial/incomplete repair of static motor function on day 18 post crush-injury was observed with further deterioration. In condition of metabolic disorder caused by fructose on day 28 post crush-injury, anomalies in bioelectric activity were detected in lumbar region motoneurons of spinal cord, characterized by disorder of background activity and balance and expression of excitatory/inhibitory responses at high frequency stimulation of distal part damaged nerves. Use of Lycium barbarum after sciatic nerve crush-injury in condition of diabet causes a) early restoration of sensory and motor functions on 11 and 14 days post injury, b) synaptic plasticity modulation, expressed by low background activity, increase in excitatory/inhibitory responses and relatively uniform distribution of their shares. I/m injection of stevioside after sciatic nerve crush-injury in condition of diabet causes a rapid recovery of the sensory function of the damaged limb on 12 day post crush-injury and a restoration of the motor function after 7 days. Predominant inhibition of the background spike activity of spinal cord motoneurons after injection of therapeutic dose of stevioside was revealed. In condition of metabolic disorder after crush-injury stevioside caused an increase in variety of responses of ipsilateral motoneurons, with predominant excitatory reactions and lack of share of nonreactive neurons in ipsilateral units. The protective process of stevioside and Lycium barbarum is achieved by increasing the intensity of responses, redistribution of shares and increasing the variety of responses, contributing to greater integration of neurons into functional chains. Lycium barbarum and Stevia rebaudiana suppress the production of NADPH-dependent O_2^- -producing activity by fructose-induced oxidative stress in spinal cord tissue through membrane-stabilizing effect.

