

ՀՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱՎԱԴԵՄԻԱ
Լ.Ա. ՕՐԲԵԼՈՒ ԱՆՎԱՆ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ԴԱՐՔԻՆՅԱՆ ԼԻԼԻԹ ՎԱՀԱՆԻ

**ՊԱՐԿԻՆՍՈՆԻ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅԱՆ ՌՈՏԵՆՈՆԱՅԻՆ ՄՈԴԵԼԻ ՎՐԱ
ՔՈՒՐՔՈՒՄԻՆԻ ՆՅԱՐԴԱՊԱՇՏՊԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ՆՐԱ
ՎԱՐՔԱՅԻՆ ԴՐՍԵՎՈՐՈՒՄՆԵՐԸ**

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

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2017

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

ДАРБИНЯН ЛИЛИТ ВАГАНОВНА

**НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫЙ ЭФФЕКТ КУРКУМИНА НА РОТЕНОНОВОЙ МОДЕЛИ
БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА И ЕГО ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ**

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., պրոֆ Վ.Հ. Սարգսյան
Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝	Կ.գ.դ., պրոֆ Ս.Վ. Գրիգորյան Կ.գ.թ. Է.Ա. Ավետիսյան
Առաջատար կազմակերպություն	Խ. Արուսյանի անվ. հայկական պետական մանկավարժական համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը կայանալու է 2017թ. սեպտեմբերի 22-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 www.physiol.sci.am կայքում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքվել է 2017թ. օգոստոսի 22-ին:

023 մասնագիտական խորհրդի Գիտական քարտուղար		Կ.գ.թ. Ն. Է. Թադևոսյան
---	---	------------------------

Тема диссертации утверждена на заседании Ученого Совета Института физиологии им. Л. А. Орбели НАН РА.

Научный руководитель:	д.б.н., профессор	В.А.Саркисян
-----------------------	-------------------	--------------

Официальные оппоненты:	д.б.н., профессор к.б.н.	С.В.Григорян Э.А.Аветисян
------------------------	-----------------------------	------------------------------

Ведущая организация:	Армянский государственный педагогический университет им. Х.Абовяна	
----------------------	--	--

Защита диссертации состоится 22-ого сентября 2017г.в 14⁰⁰ часов, на заседании Специализированного совета 023 по Физиологии, в Институте физиологии им. Л.А. Орбели НАН 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 www.physiol.sci.am.

Автореферат разослан 22 -го августа 2017г.

Ученый секретарь Спец. Совета 023		к.б.н. Н.Э. Тадевосян
-----------------------------------	---	-----------------------

Աշխատանքի ընդհանուր բնութագիրը

Թեմայի արդիականությունը: Աշխարհի ծերացող բնակչության հետ ծերունական, ներառյալ նյարդաբանական հիվանդությունների դեպքերը և տարածվածությունը ավելացել են՝ առաջացնելով լուրջ խնդիրներ առողջապահության համար: Պարկինսոնի հիվանդությունը (ՊՀ) ներկայումս ընդգրկում է մոտավորապես 6 միլիոն մեծահասակ ամբողջ աշխարհում, միջինը 55 տարեկանների մոտ: Սա երկրորդ ամենատարածված նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունն է Ալցհեյմերից հետո և ներկայումս ընդգրկում է աշխարհի 65 տարեկանից բարձր բնակչության 1.5%-ը: Պարզվել է, որ միտոքոնդրիումային թույն ռոտենոնը ավելացնում է N-մեթիլ-D-ասպարտատ (NMDA) առաջացած ազդակները առնետների միջին ուղեղի դոֆամինային նեյրոնների ռեակտիվ թթվածնի տեսակներից կախյալ մեխանիզմների միջոցով: Այսպիսով, ռոտենոնը, որը կրծողների մոտ առաջացնում է ՊՀ, կարող է մեծացնել դոֆամինային նեյրոնների էքսայթոթաքսիկության ռիսկը: Քուրքումինով դիետիկ հավելումները պաշտպանում են առնետներին սինապտիկ դիսֆունկցիայից և ուղեղի տրավմատիկ մոդելներում իմացական դիսֆունկցիայից: Քուրքումինի նյարդապաշտպանության համար ամենակարևոր կենսաբանական գործունեությունը նրա հակաօքսիդանտ գործունեությունն է: Քուրքումինը հակաօքսիդանտ հատկության շնորհիվ պաշտպանում է սև նյութի նեյրոնները: Քուրքումինը մեծացնում է ալֆա-սինուկլեինի լուծելիությունը՝ այն դարձնելով ոչ թունավոր: Քուրքումինով նյարդապաշտպանությունը պայմանավորված է նեյրոգենեզով, իսկ քուրքումինային բուժումը կարող է հետագայում ավելացնել սև նյութի դոֆամիներգիկ նեյրոնների խտությունը:

Քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը այն դարձնում է ուսումնասիրման բավականին հետաքրքիր և հեռանկարային բուսական դեղանյութ Պարկինսոնի հիվանդության մոդելներում նրա պաշտպանիչ հատկությունների բացահայտման համար:

Ուսումնասիրության նպատակն ու խնդիրները:

Ներկայացվող հետազոտության նպատակն է հանդիսացել ՊՀ կենդանական ռոտենոնային մոդելում ուսումնասիրել քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը: Հիշողության և վարքի հետ կապված նյարդային շղթաներում նրա ազդեցությունը ամբողջովին ուսումնասիրված չէ: Քուրքումինի նյարդավերականգնիչ հատկությունը կարող է մեծ հետաքրքրություն ներկայացնել դեղագիտության և նյարդաբանության բնագավառներում:

Հետազոտության նպատակի իրականացման համար սահմանվել են հետևյալ խնդիրները.

1. Ուսումնասիրել քուրքումինի ազդեցության պայմաններում էնտորինալ կեղևի բարձր հաճախականության խթանման (ԲՀԽ) ժամանակ հիպոկամպի բջիջների էլեկտրական ակտիվությունը և հյուսվածքաբանական փոփոխությունները ՊՀ ռոտենոնային կենդանական մոդելում:
2. Ուսումնասիրել քուրքումինի ազդեցության պայմաններում սև նյութի կոմպակտա հատվածի ԲՀԽ ժամանակ հիպոկամպի բջիջների էլեկտրական ակտիվությունը և հյուսվածքաբանական փոփոխությունները ՊՀ ռոտենոնային կենդանական մոդելում:
3. Գնահատել ռոտենոնով հարուցված ՊՀ առնետների մոտ քուրքումինի նյարդապաշտպան արդյունավետությունը գլանային վարքային թեստի միջոցով:

Աշխատանքի գիտական նորույթն ու գիտագործնական նշանակությունը:

Առաջին անգամ ռոտենոնային կենդանական մոդելում քուրքումինի ազդեցության պայմաններում իրականացվել է հիպոկամպի նեյրոնների արտաբջջային ակտիվության գրանցում, ինչպես նաև հիպոկամպ-սև նյութ նեյրոնային շղթայի ներգրավվածությունը Պարկինսոնի հիվանդության պաթոլոգիայում: Սև նյութի ԲՀԽ պայմաններում առաջին անգամ իրականացվել է հիպոկամպի նեյրոնների սինապտիկ ակտիվության գրանցում: Համաձայն որոշ հետազոտությունների տվյալների՝ դոֆամիներգիկ համակարգի և հիպոկամպի միջև առկա է փոխադարձ կապ սինապտիկ պլաստիկության, ադապտիվ հիշողության և մոտիվացիոն վարքագծում [Calabresi P. et al, 2013]: Հիպոկամպի ֆունկցիայի խանգարում և ալֆա-սինուկլեինի կուտակում է հայտնաբերվել ՊՀ հիվանդների հիպոկամպում [Hall H. et al 2014]: Առաջին անգամ հիստոլոգիական փորձարկումների արդյունքում հայտնաբերվել է հիպոկամպի նեյրոնների ախտաբանական փոփոխությունները ՊՀ ռոտենոնային մոդելում և քուրքումինի կարգավորիչ ազդեցությունը նեյրոնների վերապրման գործընթացում: Առաջին անգամ վարքային գլանային թեստի միջոցով ՊՀ ռոտենոնային մոդելում ցույց է տրվել քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը:

Աշխատանքի փորձարկումը և հրապարակումները:

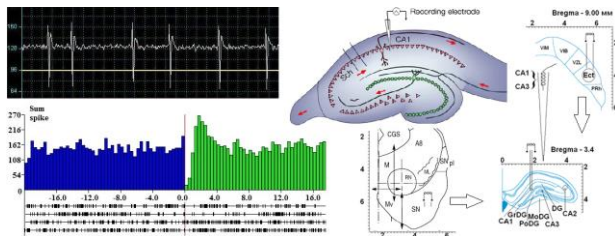
Ատենախոսության արդյունքները ներկայացվել են տարբեր միջազգային գիտաժողովներում: Հրատարակված են թեմայի հետ առնչվող 6 աշխատանք, որոնցից 5 հոդված և 1 թեզիս:

Ատենախոսության կառուցվածքը և ծավալը: Ատենախոսության ծավալը կազմում է 136 էջ: Այն բաղկացած է հետևյալ գլուխներից՝ ներածությունից, գրական ակնարկից (Գլուխ 1), հետազոտության մեթոդներից (Գլուխ 2), արդյունքներից և դրանց քննարկումից (Գլուխ 3), ամփոփումից, եզրակացություններից, օգտագործված գրականության ցանկից (ընդհանուր 258 աղբյուր), 12 աղյուսակից և 39 նկարից:

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ ԵՎ ՆՅՈՒԹԵՐԸ

2.1 Հիպոկամպի և սև նյութի նեյրոնների արտաբժջային էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրություն

Ուսումնասիրությունները իրականացվել են արու ալբինո առնետների վրա (200 ± 30 գ): Էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրություններում իրականացվել է հիպոկամպի առանձին նեյրոնների ֆոնային և հրահրված սպայկային ակտիվության արտաբժջային գրանցում իպսիլատերալ էնտորինալ կեղևի բարձր $R_{\text{ՀԽ}}$ պայմաններում: Սուր *in vivo* փորձերում կենդանիները անզգայացվել են (Ուրետան 1.2 գ/կգ), անշարժացվել են են 1% դիթիլինով (25 մգ/կգ, ն/ո) և տեղափոխվել արհեստական շնչառության փուլ: Առնետի մեկուսացված գլխուղեղի մոդել ստանալու նպատակով ողնուղեղը (կրծքային T2-T3 հատվածներ) հատվել է տեղային նովոկայինային անզգայացման պայմաններում: Խթանող, գլանաձև, երկբևեռ էլեկտրոդը ներմուծվել է իպսիլատերալ էնտորինալ կեղևի մեջ հետևյալ ստերեոտաքսիկ կոորդինատներով (Paxinos G. Watson C., 2005)՝ AP – 9 , L ± 3.5 , DV $+4.0$ մմ, իսկ գրանցող ապակյա 1 մկմ ծայրով միկրոէլեկտրոդը, որը լցված է 2 M NaCl-ի լուծույթով, բազմակի իջեցվել է հիպոկամպի մեջ AP– $3.2-3.5$; L $\pm 1.5-3.5$; DV $+2.8-4.0$ մմ կոորդինատներով: Հաջորդ փորձարկման ժամանակ խթանող, գլանաձև, երկբևեռ էլեկտրոդը ներմուծվել է սև նյութի կոմպակտա հատվածի մեջ հետևյալ ստերեոտաքսիկ կոորդինատներով (AP– 5.0 ; L ± 2.0 ; DV $+7.5-8.0$ մմ), իսկ գրանցող ապակյա 1 մկմ ծայրով միկրոէլեկտրոդը բազմակի իջեցվել է հիպոկամպի մեջ AP– $3.2-3.5$; L $\pm 1.5-3.5$; DV $+2.8-4.0$ մմ կոորդինատներով (Նկար 1):



Նկար 1. Էնտորինալ կեղևի և սև նյութի կոմպակտա հատվածի $R_{\text{ՀԽ}}$ ($100 < g$) պայմաններում հիպոկամպի նեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական գրանցում

2.2 Վարքային ուսումնասիրություն: Գլանային թեստ

Այս թեստի նպատակն է հանդիսացել որոշել շարժման կողային ուղղվածության առկայությունը և չափը, որը հանդիսանում է որպես միակողմանի նյարդաբանական վնասի ցուցանիշ: Կենդանիները տեղադրվել են օրգանական ապակուց պատրաստված գլանի մեջ (20 սմ լայնությամբ և 30 սմ բարձրությամբ)՝ բացահայտելու շարժողական ասիմետրիան (Նկար 2):

	Խումբ 1	Խումբ 4
Նախնական	  	  
1 շաբաթ	 	  
2 շաբաթ		
3 շաբաթ	 	
4 շաբաթ		 
5 շաբաթ		  
6 շաբաթ		  



Նկար 2. Գլանի պարին թաթերի հպման հաջորդականությունը և ժամանակը

Առջևի վերջույթների շարժումները գրանցելու համար հայելին անկյան տակ տեղադրվել է գլանի կողքը, անգամ եթե կենդանին կամերային հակառակ է թեքվել: Հաշվումն իրականացվել է՝ օգտագործելով վիդեո ձայնագրիչ՝ դանդաղեցնող և պարզ ստույգ կադրի հնարավորությամբ: Գլանի վերևում գտնվող տեսախցիկը միացված էր վիդեո ձայնագրիչին, ինչի շնորհիվ էկրանին գրանցվում էր առնետի շարժումները: Գրանցման ժամանակ վերջույթները վերև բարձրացնելու ժամանակ հպվում են գլանի պատերին: Գլանը մաքրվել է 5% էթանոլի լուծույթով մինչև վարքային թեստը: Երբ կենդանիները բարձրացնում էին առջևի վերջույթները ուսերի մակարդակից վեր և հպվում էին գլանի պատերին մեկ կամ երկու վերջույթներով, ապա դա համարվում էր վերջույթի բարձրացում: Առնետները փորձարկվել են միայն մեկ անգամ, որպեսզի կանխվի վարժեցումը ապարատին: Երբ առնետները տեղադրվում են գլանի մեջ, սկսում են ցուցաբերել զննողական վարքագիծ՝ ներառյալ թաթերի բարձրացումը: Բարձրացումները տարբերակվել են, երբ կենդանին բարձրացրել է առջևի վերջույթները ուսերի մակարդակից վեր և հպվել է գլանի պատերին մեկ կամ երկու վերջույթներով: Առջևի վերջույթների հեռացնելը և սեղանի մակերեսին հպվելը կատարվել է մինչև մյուս բարձրացումը (Cannon J.R. et al 2009): 3 շաբաթ ուստետնային մոդելի փորձարկումների ժամանակ արդյունքները ստուգվել են մինչ ներարկումը, առաջին, երկրորդ և երրորդ շաբաթներում: Քուրքումինով բուժված խմբում բոլոր առնետները տեղադրվել են գլանի մեջ 3 և 5 րոպե տևողությամբ նախնական, 7, 14, 21, 28, 35 և 42 օրերում: Ուսումնասիրությունները սկսվել են ներարկումից 24 ժամ անց:

2.3 Մորֆոլոգիական ուսումնասիրության մեթոդ

Նիսլի ներկման մեթոդը հանդիսանում է հիմնական հյուսվածքաբանական մեթոդներից և ժամանակակից հետազոտություններում լայնորեն կիրառվում է ինչպես նեյրոնների կառուցվածքային, այնպես էլ ֆունկցիոնալ վիճակը բացահայտելու համար: Նեյրոնների ֆունկցիոնալ վիճակի համար լայնորեն կիրառվող դասակարգումները ստեղծվել են՝ հիմք ունենալով մեթոդի ներուժը, որը թույլ է տալիս գնահատել նյարդային բջիջների նորմալ վիճակը և ախտաբանական փոփոխությունները (տիգրոլիզ, ցիտոպլազմայի վակուոլիզացիա և այլն), ինչպես նաև գլխին: Նիսլի դասական մեթոդը հիմնված է սպիրտում ֆիքսված, հիմնականում անիլինային ներկով ներկան վրա, որին հաջորդում է իր ավելցուկային մասի ալկոհոլով լվացումը: Այս դեպքում բջիջների հիմնական բաղադրիչները ավելի ուժեղ են պահպանում ներկանյութը, քան մանրաթելերի զանգվածը, որը դիֆերենցվում է ավելի արագ և որի արդյունքում ինտենսիվ ներկված բջջանյութը կտրուկ առանձնանում է անգույն ֆոնի վրա: Բջիջների ներկման պրոցեսում ներգրավված են ինչպես կորիզի կառուցվածքային տարրերը, այնպես էլ նյարդային բջիջների ցիտոպլազմայում առկա նյութերը՝ տիգրոլիզ կույտերը կամ Նիսլի նյութերը: Մեր աշխատանքում, օգտագործելով Նիսլի մեթոդը, իրականացվել է սև նյութի, ինչպես նաև դորսալ և վենտրալ հիպոկամպի նեյրոնների մորֆոլոգիական բնութագրի գնահատում ինչպես նորմայում, այնպես էլ ռոտենոնի ազդեցությունից հետո (Պարկինսոնի հիվանդության մոդել) 3 և 6 շաբաթների ընթացքում և քուրքումինով բուժման պայմաններում:

Միկրոլուսանկարների թվայնացումը կատարվել է ME-500 AMScop տեսախցիկի միջոցով:

ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ

Քուրքումինի ազդեցությունները առնետների հիպոկամպի նեյրոնային ակտիվության վրա

Հիպոկամպի առանձին նեյրոնների ակտիվության գրանցման համար ներորովայնային (ն/ո) ներարկվել է քուրքումին (միանվագ, 200 մգ/կգ) ($n=4$), իսկ հիմնական և սպայկային ակտիվության գրանցումն իրականացվել է քուրքումինի ներարկումից հետո (5 րոպե անց) որոշակի դինամիկայով (սկսած 1 - 63, 115 րոպե): Վերլուծությունը ցույց է տվել քուրքումինի արգելակող, դրդիչ ազդեցությունը և նախնական սպայկային ակտիվության վերականգնում: Քուրքումինի միանվագ ներարկման ազդեցությունը մանրամասն ցույց է տրվել սպայկային ակտիվության տեսքով իրական ժամանակահատվածում (սկսած -20 - 0 վայրկյաններում) և Էնտորինալ կեղևի ԲՀս հետո (0-20 վրկ), ինչն ակնհայտորեն նվազեցնում է նեյրոնային սպայկերի մինչ- և հետխթանային ակտիվությունը 5-60 և 71-99 րոպեների ընթացքում քուրքումինի ներարկումից հետո՝ համեմատած նախնական արժեքի հետ:

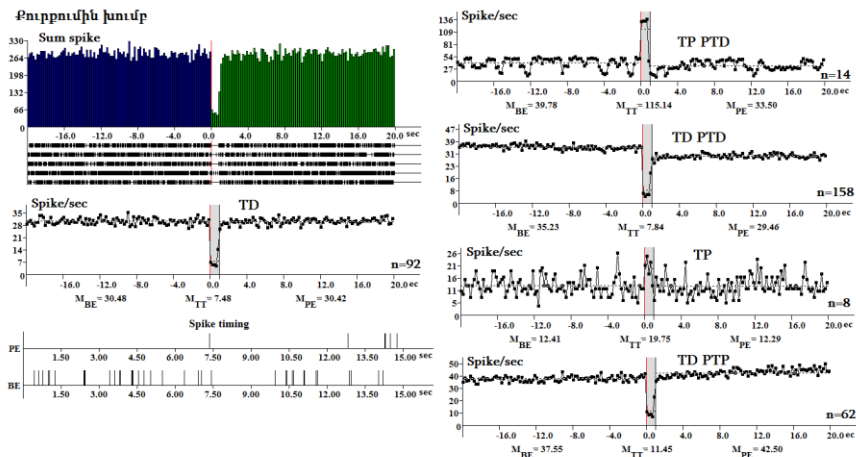
Այսպիսով, սուր էլեկտրաֆիզիոլոգիական փորձերում, քուրքումինի միանվագ ներորովայնային ներարկման ժամանակ (200 մգ/կգ) հայտնաբերվել են հիպոկամպի նեյրոնների դրդիչ և արգելակիչ ազդեցությունները: Հարկ է նշել առկա բնորոշ տատանումները (սպայկային ակտիվության տատանումները), սկզբնական և վերջնական ազդեցությունների փոփոխությունները՝ ի հակադրություն հաստատուն և վերարտադրելի ազդեցությունների (13-41 րոպե, 16-38 րոպե, քուրքումին (200 մգ/կգ, ն/ո):

ՊՀ մոդելում 3 և 6 շաբաթ անց էնտորինալ կեղևի ԲՀԽ պայմաններում հիպոկամպի նեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրությունը և քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը

Ստուգիչ խմբում (3 շաբաթ) էլեկտրաֆիզիոլոգիական վերլուծությունը ցույց տվեց, որ հիպոկամպում ԲՀԽ պայմաններում (100 Հց) տետանիկ պոտենցիալիան TP PTP պատասխաններով արտահայտվել է 4.12 անգամ (53.96/13.10 սպայկ/վրկ), TP PTD պատասխանները՝ 2.71 անգամ (28.39/10.47): Հիպոկամպի TP պատասխաններով նեյրոնների մասնաբաժինը գերակշռում էր (21.97 %): ԲՀԽ պայմաններում տետանիկ դեպրեսիան TD PTD պատասխաններով նեյրոններում արտահայտվել է 3.38 անգամ (24.03/7.11), TD PTP՝ 1.58 անգամ (20.08/12.75), TD՝ 5.2 անգամ (7.78/1.5), ոչ ռեակտիվ նեյրոնները կազմել են 5.3 %: Ռոտենոն խմբում տետանիկ պոտենցիալիան արտահայտվել է 1.7 անգամ (15.76 /9.36), TP PTD պատասխանները՝ 1.86 անգամ (18.18/9.77): Արգելակիչ (տետանիկ դեպրեսիա)՝ TD PTD և TD PTP պատասխանները արտահայտվել են համապատասխանաբար 1.69 (10.70/6.35) և 2.06 (11.71/5.68) անգամ, PTP պատասխանները՝ 1.39 անգամ, TP՝ (6.34%), TD՝ 1.72 անգամ, ոչ ռեակտիվ նեյրոնները կազմել են 5.34%: Հիպոկամպի նեյրոնների TD PTP և TP PTP պատասխանների մասնաբաժինը գերակշռող էր (20.1%): Նորմա խմբում ԲՀԽ պայմաններում հիպոկամպի նեյրոններում տետանիկ պոտենցիալիան TP PTP պատասխաններով արտահայտվել է 3.94 անգամ (32/8.11 սպայկ/վրկ), ԲՀԽ պայմաններում տետանիկ դեպրեսիան TD PTD պատասխաններով՝ 8.92 անգամ (6.53/0.74) և TD PTP պատասխանները՝ 8.38 անգամ (5.78/0.69): Նորմա խմբում TD PTD պատասխաններ դրսևորող նեյրոնների մասնաբաժինը առավելագույնն էր (42.04 %): Ընդհանուր առմամբ ԲՀԽ պայմաններում ստուգիչ և ռոտենոն խմբերում ոչ ռեակտիվ նեյրոնները կազմել են համապատասխանաբար 5.3% և 15.34%: Ոչ ռեակտիվ նեյրոնները ստուգիչ խմբում կազմել են նվազագույն չափաբաժինը: Ամենալավ արտահայտված տետանիկ պոտենցիալիան՝ TP PTP պատասխաններով առկա էր ստուգիչ խմբում՝ համեմատած այդպիսիների հետ ռոտենոն խմբում (1.7 անգամ) և նորմայում (3.94 անգամ): Տետանիկ պոտենցիալիան՝ TP PTD պատասխաններով նեյրոններում նույնպես առավել արտահայտված էր ստուգիչ խմբում (2.71 անգամ)՝ համեմատած

այդպիսիների հետ ռոտենոն խմբում (1.86 անգամ): Այդ նեյրոնների մասնաբաժնի հարաբերակցությունը ռոտենոն խմբում կազմել է 17.46%, իսկ ստուգիչ խմբում՝ 17.42%: Ռոտենոն խմբում առավել արտահայտված է տետանիկ դեպրեսիան՝ TD PTP պատասխաններով (2.06 անգամ)՝ համեմատած TD PTP պատասխաններով ստուգիչ խմբի նեյրոնների հետ (1.58 անգամ (20.08/12.75 սպայկ/վրկ): Միայն ռոտենոն խմբում մենք ունենք PTP (1.39 անգամ) տեսակի պատասխաններ: TD PTP պատասխանները նորմա խմբում զգալիորեն շատ են արտահայտված՝ 8.38 անգամ (5.73/0.69 սպայկ/վրկ): Ռոտենոն խմբում TD PTD պատասխանները նվազագույնն է (1.69 անգամ)՝ համեմատած ստուգիչ (3.38 անգամ) և նորմա խմբերի հետ (8.92 անգամ): TD նույնպես զգալիորեն նվազել էր ռոտենոն խմբում (1.72 անգամ)՝ համեմատած ստուգիչ խմբի հետ (5.2 անգամ): Համաձայն վերջին հետազոտությունների տվյալների՝ հիպոկամպի երկարատև պոտենցիացիան (LTP), որը հայտնի է որպես հիշողության բջջային մոդել, նույնպես նվազում է, և հիպոկամպի տրոպոմիդոգինային ընկալիչ կինազ B (*TrkB*) նեյրոտրոֆիկ գործոնի ազդանշանային ուղին ՊՀ մոտ նույնպես փոխվում է (Zhu G. et al 2011): Ոչ ռեակտիվ նեյրոնների մասնաբաժինը ամենաբարձրն էր (15.34 %) ռոտենոն խմբում՝ համեմատած ստուգիչ խմբի հետ (5.3 %): TD և TP PTD պատասխանները զգալիորեն քիչ էին՝ համեմատած ստուգիչ խմբի հետ: Հիմնվելով ստացված էլեկտրաֆիզիոլոգիական տվյալների վրա՝ կարելի է ենթադրել, որ ՊՀ ժամանակ արգելակիչ ֆունկցիայի խաթարումը և այս դեֆիցիտը հնարավոր է առնչվում են հիպոկամպի խաթարված արգելակիչ ֆունկցիայի հետ: 6 շաբաթ փորձարկումների ժամանակ ռոտենոն խմբում (305 նեյրոն) էլեկտրաֆիզիոլոգիական վերլուծությունները ցույց տվեցին հիպոկամպում ԲՀԽ (100 Հg) ժամանակ տետանիկ պոտենցիացիա՝ արտահայտված 2.21 անգամ ($M_{TT}=34.70/M_{BE}=15.68$ սպայկ/վրկ), TP PTD պատասխանները 1.68 անգամ (29.38/17.52 սպայկ/վրկ), PTP պատասխանները 1.2 անգամ (1.31%) և TP PTP 1.74 անգամ: Արգելակիչ ազդեցությունները (տետանիկ դեպրեսիա) էնտորինալ կեղևի ԲՀԽ ժամանակ (100 Հg) նեյրոններում TD PTD և TD PTP պատասխանների տեսքով՝ արտահայտված էին համապատասխանաբար 5.02 անգամ (30.64/6.10 սպայկ/վրկ) և 3.96 անգամ (26.53/6.70 սպայկ/վրկ), TD 5.55 անգամ, ոչ ռեակտիվները՝ 0.66 %: Հիպոկամպի նեյրոնների TD PTD (38.36%) և TD PTP (28.85%) պատասխանները գերակշռում էին: Առհասարակ, ԲՀԽ ժամանակ 1-ին խմբում ոչ ռեակտիվ նեյրոնների մասնաբաժինը ամենացածրն էր: ԲՀԽ ժամանակ ստուգիչ խմբում TP պատասխանները ցուցաբերել են ամենացածր ցուցանիշը (3.55 %): DMSO խմբում ԲՀԽ ժամանակ TD PTP պատասխանները ցույց են տվել ամենաբարձր ցուցանիշը (60.3 %): Քուրքումին խմբում (Նկար 3) հիպոկամպի նեյրոնների ԲՀԽ ժամանակ TP արտահայտվել է 1.59 անգամ ($M_{TT}=19.75/M_{BE}=12.41$ սպայկ/վրկ), ԲՀԽ ժամանակ տետանիկ դեպրեսիա TD PTD պատասխանները՝ 4.49 անգամ ($M_{BE}=35.23/M_{TT}=7.84$ սպայկ/վրկ), TD PTP պատասխանները՝ 3.28 անգամ ($M_{BE}=37.55/M_{TT}=11.45$ սպայկ/վրկ), TP PTD պատասխանները՝ 2.89 անգամ ($M_{TT}=115.14/M_{BE}=39.78$ սպայկ/վրկ) իսկ TD-ն՝ 4.08 անգամ ($M_{BE}=30.48/M_{TT}=7.48$ սպայկ/վրկ): Ընդհանուր

առմամբ, ԲՀԽ ժամանակ (M HFS) այս խմբում TP և TP PTD ցուցաբերել են ամենացածր ցուցանիշը (2.4 % և 4.2 %): TD PTD պատասխանները ցուցաբերել են ամենաբարձր ցուցանիշը (47.3 %): Մենք ցույց ենք տվել, որ 2.5 մգ/կգ ռոտենոնը (3 շաբաթ տևողությամբ, իսկ գրանցումը 6-րդ շաբաթում) զգալիորեն ավելացնում է նեյրոնային դրդունակությունը (TP՝ 2.1 անգամ)՝ ի համեմատ 3 շաբաթ ռոտենոնի (1.72 անգամ) և ստուգիչ խմբի (1.38 անգամ): TP PTP պատասխանները մնացել են հաստատուն (1.74 անգամ): PTP պատասխանները ռոտենոն խմբի մոտ ի հայտ են եկել 6-րդ շաբաթում (1.2 անգամ)՝ ի համեմատ ռոտենոնային 3 շաբաթի հետ (1.39 անգամ): Միայն ռոտենոն խմբում են հայտնաբերվել ոչ ռեակտիվ նեյրոններ (0.64 %): Զգալիորեն բարձր TP PTD պատասխաններ նկատվել են քուրքումինային խմբում (2.89 անգամ)՝ ի համեմատ ռոտենոնային խմբի (1.68 անգամ):



Նկար 3. Հիպոկամպի նեյրոնային ակտիվության վրա քուրքումինի ազդեցության գնահատումը: Փորձարարական խումբ (ռոտենոն+քուրքումին), հիպոկամպի նեյրոնների միջին հաճախականության սպայկային գրաֆիկները արտահայտում են TP, TD PTD, TD PTP, TD և TP PTD պատասխաններ, սպայկային միջին հաճախականության թվային արժեքներ (սպայկ / վրկ) իրական ժամանակահատվածում 20 վրկ մինչև ԲՀԽ (M BE), 20 վրկ ԲՀԽ հետո (M PE) և ԲՀԽ ժամանակ (M TT), n - նեյրոնների քանակը, որոնց սպայկային ակտիվության հաճախականությունը գրաֆիկի վրա միջինացված է:

Այս տվյալը ցույց է տալիս, որ քուրքումինը կանխում է ռոտենոնով հարուցված էքսայթաթոր՝ TP PTP և PTP պատասխանների արտահայտվածությունը (ռոտենոն խումբ՝ TP PTP և PTP, DMSO (դիմեթիլսուլֆօքսիդ) խումբ՝ միայն TP PTP): Քուրքումինային բուժումը պահպանում է արգելակիչ՝ TD PTD (4.49 անգամ) և TD (4.07 անգամ) պատասխանները հիպոկամպում՝ ի համեմատ ռոտենոն խմբի (5.02 և 5.5 անգամ), ստուգիչ խմբի (3.64 և 4.66 անգամ) և DMSO խմբի (3.72 և 3.59 անգամ, համապատասխանաբար): Ցույց է տրվել, որ քուրքումինը պաշտպանում է

հիպոկամպի նեյրոնները NMDA հարուցված բջջային մահից՝ հաստատելով նրա հակաէքսայթոթոքսիկ հատկությունը, և NMDAr ենթամիավորային տեսակ 2A (NR2A) մակարդակների բարձրացումը սերտորեն փոխկապակցված է նյարդապաշտպանության ժամանակային կտրվածքի և $[Ca^{2+}]_i$ նվազման հետ (Matteucci A. et al 2011):

**Սև նյութի կոմպակտա հատվածի խթանման պայմաններում
հիպոկամպի նեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրությունը
ռոտենոնի ներարկումից 3 և 6 շաբաթ անց և քուրքումինի նյարդապաշտպան
ազդեցությունը**

3 շաբաթ փորձարկումների ժամանակ ռոտենոն ստացած կենդանիների խմբում հիպոկամպի նեյրոններում գրանցվել են հետևյալ իմպուլսային ակտիվությունները՝ դրդիչ պատասխաններ (բարձր հաճախականությամբ խթանման ժամանակ և հետխթանման ժամանակահատվածում) 10.2 %, արգելակիչ պատասխաններ՝ 25.51 %, խառը տիպի պատասխաններ՝ 30.95 %, ոչ ռեակտիվ միավորներ՝ 8.16 % (Աղ. 1): Միևնույն ժամանակ միջին խթանիչ դրդիչ պատասխանները FCH ժամանակ արտահայտվել են 2.88 անգամ, արգելակիչը՝ 4.26 անգամ և խառը տիպի պատասխանները՝ 4.1 անգամ (TD PTP): Ստուգիչ խմբում համապատասխանաբար սրանք արտահայտվել են 4.02 անգամ: Նորմա խմբում գրանցվել են հետևյալ իմպուլսային ակտիվությունները՝ արգելակիչ պատասխաններ՝ TD (3.6 անգամ), TD PTD (3.19 անգամ) և խառը տիպի՝ TD PTP (2.29 անգամ): 6 շաբաթ խմբում արտաբջջային էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտությունները (209 նեյրոն) ցույց տվեցին, որ սև նյութի (SN) FCH (100 Հց) ժամանակ հիպոկամպում TP PTP պատասխանները արտահայտվել են 1.27 անգամ (13.84/10.93 սպայկ/վրկ), TP PTD պատասխանները՝ 6.45 անգամ (45.43/7.04 սպայկ/վրկ), TP PTP պատասխանները 2.38 անգամ (2.4 %): Արգելակիչ (տետանիկ դեպրեսիա) SN FCH (100 Հց) ընթացքում նեյրոնների TD PTD և TD PTP պատասխանները արտահայտված են համապատասխանաբար 4.7-ապատիկի չափով (29.18:6.21 սպայկ/վրկ) և 4.98-ապատիկի չափով (22.37/4.49 սպայկ/վրկ), TD՝ 4.02 անգամ, ոչ ռեակտիվ նեյրոնները՝ 3.83 %: Այս խմբի նեյրոնների հիմնական պատասխաններն են՝ TD PTP (36.84 %) և TD PTD (26.8 %): Ընդհանուր առմամբ, FCH պայմաններում TP PTP կազմել է ամենացածր մասնաբաժինը: Ստուգիչ խմբի մոտ FCH ժամանակ TP PTP պատասխանները կազմել են ամենացածր մասնաբաժինը (4.56 %), իսկ TD PTP պատասխանները՝ ամենաբարձր (50.76 %): DMSO խմբում TD PTP պատասխանները կազմել են ամենաբարձր մասնաբաժինը (60.3 %), իսկ TP PTP պատասխանները՝ ամենացածր (2.7 %): Քուրքումին խմբում (217 նեյրոն) SN FCH ժամանակ հիպոկամպի նեյրոնների TP

PTP պատասխանները արտահայտվել են 3.36 անգամ (41.55/12.74 սպայկ/վրկ), TD PTD պատասխանները՝ 4.04 անգամ (39.58/9.79 սպայկ/վրկ), TD PTP պատասխանները՝ 4.42 անգամ (31.60/7.86 սպայկ/վրկ) և TD՝ 4.91 անգամ (38.62/7.86 սպայկ/վրկ): Ընդհանուր առմամբ, SN ԲՀԽ ժամանակ այս խմբում TD PTP պատասխանները կազմել են ամենաբարձր մասնաբաժինը (47.46 %), իսկ TP PTP պատասխանները՝ ամենացածր (5.07 %) (Աղ. 1):

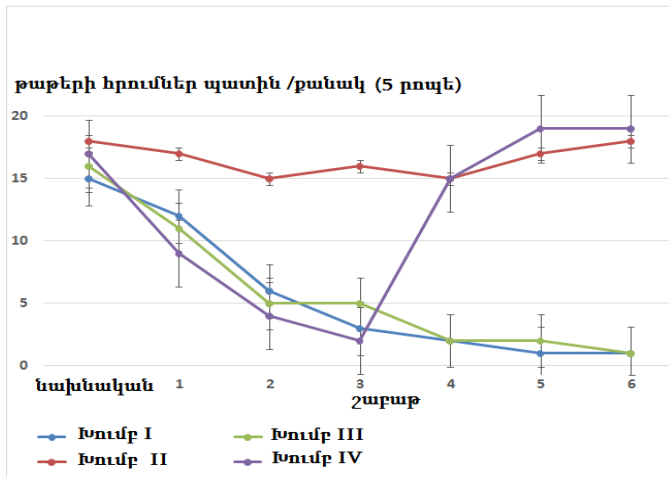
Աղյուսակ 1. Միջին հաճախականության (սպայկ/վրկ) տոկոսային բաշխումը և արժեքները՝ առաջացած միջխթանման (M BE) ժամանակահատվածի, հետխթանման (M PE) ժամանակի սպայկային ակտիվություններ և ԲՀԽ (M HFS) սպայկային ակտիվությունը քուրքումին խմբի նշված տեսակների պատասխանների համար

Պատասխանի տեսակ	Պատասխանների տեսակների տոկոսային մասնաբաժին	M BE սպայկ/վրկ	M HFS սպայկ/վրկ	M PE սպայկ/վրկ
TD 4.91 անգամ	25.8 %	38.62	7.86	38.61
TD PTD 4.04 անգամ	21.65 %	39.58	9.79	31.89
TP PTP 3.26 անգամ	5.07 %	12.74	41.55	14.59
TD PTP 4.42 անգամ	47.46 %	31.60	7.15	38.43

Քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը ռոտենոնոլ հարուցված Պարկինսոնի հիվանդության առնետների մոդելում և նրանց վարքային ուսումնասիրությունը

Կիրառվել է առջևի թաթերի օգտագործման ասիմետրիայի թեստը: Այս թեստի առավելությունները նկարագրվել է Schallert T. et al կողմից (Schallert T. et al 1999): Փորձարկվել են 4 խմբերում համապատասխան ներարկված կենդանիները: Տվյալ փորձարկման ժամանակ բոլոր թաթերի տվյալները միջինացվել են, քանի որ ռոտենոնը առաջացնում է երկկողմանի ախտանիշներ: Ներկա աշխատանքում ռոտենոնի դեղաչափը (2.5 մգ/կգ/օր) 21 օր տևողությամբ առաջացրել է վարքային

առանձնահատուկ փոփոխություններ (Նկար 4): Արևածաղկի յուղ (1մլ/կգ) ստացած առնետների մոտ պարկինսոնանման ախտանշաններ չեն գրանցվել: Թաթերով դեպի վեր սպոնտան կանգնելու միավորները հաշվվել են արևածաղկի յուղ (խումբ 2) (1մլ/կգ), DMSO (խումբ 3), քուրքումին (խումբ 4) և ռոտենոն (2.5 մգ/կգ/օր) ստացած կենդանիների համար (խումբ 1), որոնք ստուգվել են մինչ ներարկումը և 1-6 շաբաթներում (Նկար 4): Պարզվել է, որ ռոտենոն ստացած առնետները ցուցաբերում են կանգնման կայուն նվազում 3 շաբաթների ընթացքում՝ համեմատած արևածաղկի յուղ (ստուգիչ) ստացած կենդանիների հետ: Քուրքումինով բուժումից հետո վերականգնվել են թաթերը վեր բարձրացնելու և կեցվածքային խանգարումները, որոնք նկատվել էին առաջին և երրորդ խմբերում: Գլանային թեստի ցուցանիշները չորրորդ խմբում (քուրքումին, 200 մգ/կգ) գրեթե լրիվ վերականգնվել են ռոտենոնի ներարկումից հետո 4, 5, 6 շաբաթներում, որոնք մոտ էին երկրորդ խմբի նախնական ցուցանիշներին (Նկար 4):

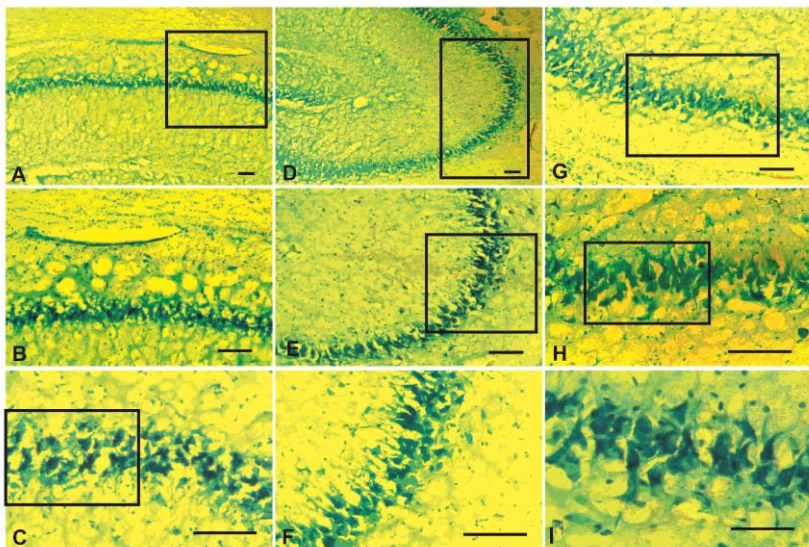


Նկար 4. Գլանային թեստ 5 բույլ

Ռոտենոնային 3 շաբաթ մոդելում և 6 շաբաթ անց քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցության պայմաններում սև նյուֆի կոմպակտա հատվածի և հիպոկամպի մորֆոլոգիական ուսումնասիրություն

Ստուգիչ խմբի առնետների ուղեղի պատրաստանյութի վրա սև նյուֆի նեյրոնները հետաքրքիր ձևով են ներկվում. նրանցում լավ են երևում Նիսլի մարմնիկը, կորիզը՝ պարզ, որի կենտրոնում գտնվում է մուգ ներկված

կորիզակը: ՊՀ ռոտենոնային մոդելում սև նյութի բջջախմբերում նկատվում են չափավոր և կտրուկ գերգունավորված բջիջներ: Հիպեր- և հիպոքրոմատոլիզային նեյրոնների առկայությունը կարելի է դիտել որպես ֆունկցիոնալ ակտիվության կառուցվածքային և վերաբաշխման հիմք: Նեյրոլոգիական հետազոտության ժամանակ նկատվել են ակտիվ գլխային ռեակցիաներ. սև նյութի որոշ հատվածներում գլխայի բջիջների պրոլիֆերացիայի հետ սկսել են զարգանալ պերիցելյուլային այտուցներ: Հիպոկամպ 6 շաբաթ ռոտենոն խմբում հիպոկամպի բջիջների պոպուլյացիաներում գերակշռում են բավարար և խիստ հիպերքրոմային բջիջները (Նկար 5): Հիպոկամպ-DMSO խմբի մորֆոլոգիական պատկերը բնութագրվում է ինչպես հիպերքրոմային, այնպես էլ հիպոքրոմային ներկված բջիջների առկայությամբ: Ռոտենոնով հրահրված ինտոքսիկացիայի և քրոքումինի ազդեցության ֆոնի վրա հիպոկամպի նեյրոնները ունեն կայունության տարբեր աստիճաններ: Բրգաձև բջիջները ներկված են հիպերքրոմ, քրոմատինը նրանցում անհավասարաչափ է բաշխված՝ հաճախ ծայրամասում: Այնուամենայնիվ, որոշ նեյրոններում երևում է բաց գունավորված կորիզը՝ տեղակայված կենտրոնում կամ ծայրամասային դիրքում: Ելուստները ճիշտ են ուղղված, բջիջների ուրվագծերը հստակ են: Այսպիսի նեյրոնները ընդունակ են վերապրելու, քանի որ ախտաբանական փոփոխությունները կրում են դարձելի բնույթ:



Նկար 5. A-I ՊՀ ռոտենոնային մոդելի քրոքումին սպացած կենդանիների հիպոկամպի նեյրոնների միկրոլուսանկարներ, D-F-հիպոկամպի բրգաձև բջիջներ
Մասշտաբ: A-H- 100 մկմ, I-50

Եզրակացություններ

1. Ռոտենոն խմբում (3 շաբաթ) էնտորինալ կեղևի և սև նյութի բարձր հաճախականության խթանման պայմաններում հիպոկամպի նեյրոններում բացահայտվել են անոմալ սինապսային ակտիվության էլեկտրաֆիզիոլոգիական ցուցանիշներ. առկա են նորմայում չգրանցված PTP և ոչ ռեակտիվ պատասխաններ, ինչպես նաև առավել արտահայտված տետանիկ դեպրեսիա՝ գերակշռող մասնաբաժին կազմող TD PTP պատասխաններով:
2. Էնտորինալ կեղև-հիպոկամպ-սև նյութ նեյրոնային շղթայում քուրքումինը կարգավորիչ ազդեցություն է ցուցաբերում նեյրոնների էլեկտրական ակտիվության վրա: Քուրքումինով բուժված (3 շաբաթ) խմբում հիպոկամպի և սև նյութի բարձր հաճախականության խթանման պայմաններում հիպոկամպի նեյրոններում բացահայտվել են նորմային բնորոշ սպայկային ակտիվության պարամետրեր ու ոչ ռեակտիվ միավորների բացակայություն, ինչպես նաև դրդիչ և արգելակիչ պատասխանների մասնաբաժին՝ բացառությամբ TD պատասխանների, որոնք զգալիորեն բարձր են՝ համեմատած նորմայի և ստուգիչ խմբերի հետ:
3. Քուրքումինի միանվագ թերապևտիկ դեղաչափը ինտակտ առնետների հիպոկամպի նեյրոններում առաջացնում է կայուն և վերարտադրվող արգելակող, կարգավորիչ ազդեցություն:
4. Բացահայտվել է, որ ռոտենոնի ներորոկայնային ներարկումը (3 շաբաթ) ամբողջ փորձարկման ընթացքում առաջացնում է վարքային խանգարումներ, որոնք վերականգնվել են քուրքումինի կարգավորիչ և պաշտպանիչ ազդեցություն շնորհիվ:
5. Ռոտենոն խմբում մորֆոհիստոքիմիական հետազոտությունների արդյունքում (3 շաբաթ) սև նյութի նեյրոններում բացահայտվել են ախտաբանական փոփոխություններ, ինչպես նաև գլիայի բջիջների պրոլիֆերացիա սև նյութի կոմպակտա շրջանում՝ ի պատասխան ռոտենոնային ինտոքսիկացիայի: Ռոտենոն խմբում (3 շաբաթ) հիպոկամպի նեյրոնների բրգաձև և ոչ բրգաձև պոպոլյացիաները և ատամնավոր գալարը համապատասխանում են բնականոնին, իսկ 6 շաբաթ անց նկատվում է նեյրոնների ախտաբանական փոփոխություններ և հիպերքրոմատոզ:
6. Բացահայտվել է քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցության մորֆոհիստոքիմիական ցուցանիշներ սև նյութի և հիպոկամպի նեյրոններում՝ պայմանավորված վերջիններիս վերապրման գործընթացով:

Ատենախոսության թեմայով տպագրված աշխատությունների ցուցակ

1. L.V. Darbinyan. Effects of curcumin on hippocampal neural activity in rats. Medical Science of Armenia, 2016; 56 (4), P. 84-92.
2. Дарбинян Л.В., Амбарцумян Л.Э., Симонян К.В., Чавушян В.А., Манукян Л.М., Бадалян С.А., Саркисян В.А. Активность нейронов гиппокампа при высокочастотной стимуляции черной субстанции, в условиях экспериментально вызванной болезни Паркинсона у крыс. Morphologia. Ukraine, 2016; 10(4), ст.29-34.
3. Darbinyan L.V., Hambardzumyan L.E., Simonyan K.V., Chavushyan V.A., Manukyan L.P., Sarkisian V.H. Rotenone impairs hippocampal neuronal activity in a rat model of Parkinson's disease. Pathophysiology, 2017; 24(1):23-30.
4. Darbinyan L.V., Hambardzumyan L.E., Simonyan K.V., Chavushyan V.A., Manukyan L.P., Sarkisian V.H. Hippocampal neuronal activity in a rat model of Parkinson's disease. St. Petersburg Scientific forum devoted to 100 anniversary of the Russian Physiological Society by I.P. Pavlov. St. Petersburg, April 17-19, 2017, P.12-13.
5. Լ.Դարբինյան, Կ.Սիմոնյան, Լ.Համբարձումյան, Լ.Մանուկյան, Վ.Չավուշյան-Պապյան, Վ.Սարգսյան: Քուրքումինի նյարդապաշտպան ազդեցությունը Ռոտենոնով հարուցված Պարկինսոնի հիվանդության առնետների մոդելում: Վարքային ուսումնասիրություն: Հայաստանի բժշկագիտություն, 2017; 57(2):73-82.
6. Darbinyan L.V., Hambardzumyan L.E., Simonyan K.V., Chavushyan V.A., Manukyan L.P., Badalyan S.A., Khalaji N., Sarkisian V.H. Protective effects of curcumin against rotenone-induced rat model of Parkinson's disease: in vivo electrophysiological and behavioral study. Metabolic Brain Disease, July 10, 2017. DOI: 10.1007/s11011-017-0060-y

**НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫЙ ЭФФЕКТ КУРКУМИНА НА РОТЕНОНОВОЙ МОДЕЛИ
БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА И ЕГО ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ**

Резюме

Ключевые слова: . Болезнь Паркинсона, Ротенон, Куркумин

Болезнь Паркинсона (БП) – медленно прогрессирующее хроническое неврологическое заболевание, вызываемое постепенным разрушением и гибелью нейронов, вырабатывающих нейромедиатор дофамин в чёрной субстанции, а также в других отделах центральной нервной системы. Ротенон является пестицидом, который вызывает поведенческие, биохимические и морфологические изменения у крыс и воспроизводит особенности болезни Паркинсона, в том числе селективную дофаминэргическую дегенерацию. У крыс внутрибрюшинная инъекция ротенона вызывала дегенерацию в гиппокампе и черной субстанции. Наши экспериментальные результаты показали, что ротенон оказывает подавляющее воздействие на синаптическую передачу в нейронах гиппокампа и черной субстанции. Ротенон ингибировал активность нейронов гиппокампа и черной субстанции и вызывал значительно повышенную возбудимость нейронов и электрофизиологические изменения в цепях энторинальная кора-гиппокамп и черная субстанция-гиппокамп, вероятно, отражающие гибель нейронов и нарушение целостности нейрональных сетей. Тест цилиндр нами использовался в качестве инструмента для оценки тонкой двигательной активности. Ежедневное внутрибрюшинное введение ротенона вызвало прогрессирующий поведенческий дефицит. Хроническое воздействие пестицида ротенона воспроизводило нейрохимические, поведенческие и аномальные особенности электрической активности при БП. Через 3 недели после введения ротенона выявлены гистопатологические изменения гиппокампа

и черной субстанции при использовании методики окрашивания Ниссля. В гиппокампе и черной субстанции наблюдались также увеличение плотности глиальных клеток. Таким образом, ротенон является критическим в совокупности клеточных и синаптических изменений (зависящих от активности синаптической пластичности), индуцированных в гиппокампе истощением дофаминэргической нейротрансмиссии.

Куркумин является полифенолом, который в основном присутствует в корне куркумы (*Curcuma longa*). Доклинические данные на моделях БП показали, что куркумин обладает нейропротекторными и антиоксидантными свойствами. Нами выявлено, что введение куркумина значительно улучшило ротенон-индуцированные поведенческие нарушения: после лечения куркумином (3 недели) в группе, подвергшейся воздействию ротенона, было обнаружено восстановление поведенческих расстройств и реакции на вертикальные стойки. Мы продемонстрировали ингибиторные модулирующие эффекты однократной инъекции куркумина на спайковую активность нейронов гиппокампа у интактных крыс. Внутривентрикулярное введение куркумина (3 недели) вызвало значительное ингибирование ротенон-индуцированной нейротоксичности, тем самым предотвращая гибель нейронов гиппокампа и черной субстанции. Нейропротективный и модуляторный эффекты куркумина проявлялись также относительно электрофизиологических параметров сетей энторинальная кора-гиппокамп-черная субстанция: вызванная на высокочастотную стимуляцию спайковая активность по выраженности и балансу возбудительных и тормозных ответов в целом близка к таковым в норме.

DARBINYAN LILIT VAHAN
NEUROPROTECTIVE EFFECT OF CURCUMIN IN A ROTENONE MODEL
OF PARKINSON'S DISEASE AND ITS BEHAVIORAL MANIFESTATIONS

Abstract

Keywords: Parkinson's disease, Rotenone, Curcumin

Parkinson's disease (PD) is a slowly progressive neurological disorder characterized by a gradual degeneration and death of neurons which produce the neurotransmitter dopamine in the substantia nigra, as well as in other parts of the central nervous system. Rotenone is a pesticide, which causes behavioral, biochemical and morphological changes in rats and reproduces features of Parkinson's disease, including selective nigrostriatal dopaminergic degeneration. Intraperitoneal injection of rotenone caused degeneration in the hippocampus and substantia nigra of rats. Our experimental results showed that rotenone exerts an inhibitory effect on synaptic transmission in hippocampal and substantia nigra pars compacta (SN) neurons. Rotenone inhibited hippocampal and SN neuronal activity and caused impairment of the neuronal integrity and significantly increased neuronal excitability and electrophysiological alterations in hippocampus-EC and hippocampus-SN neuronal pathways, probably reflecting neuronal death and disruption of the neural network integrity. The cylinder test is used as a tool for assessing fine motor activity (rearing). Daily intraperitoneal administration of rotenone produced progressive behavioral deficits. Chronic exposure to a pesticide rotenone reproduced neurochemical, behavioral and abnormal electrical activity features of PD. Administration of rotenone in rats (3 weeks) caused histopathological changes in the hippocampus and substantia nigra, revealed by Nissle method. Increased densities of glia were also observed in the hippocampus and SN. In summary, rotenone is a critical player in the host of cellular and synaptic changes (activity-dependent synaptic plasticity) induced in hippocampus by dopaminergic depletion. Curcumin is a polyphenol that is mostly presents in the root of the turmeric plant (*Curcuma*

longa). Several preclinical studies reported neuroprotective and antioxidant properties of curcumin in models of PD. We have shown that administration of curcumin significantly reversed the rotenone-induced behavioral impairments. After treatment with curcumin (3 weeks) restoration of rearing reaction and behavioral disorders were detected in the groups exposed to rotenone. We have shown the inhibitory modulatory effects of a single injection of curcumin on spike activity of hippocampal neurons of intact rats. Intraperitoneal administration of curcumin (3 weeks) significantly inhibited the rotenone-induced neurotoxicity, thereby preventing neuronal death in the hippocampus and SN. Neuroprotective and modulatory effects of curcumin were also manifested with respect to the electrophysiological parameters of the entorhinal cortex-hippocampus-substantia nigra networks: spike activity evoked by high-frequency stimulation in terms of expression and balance of excitatory and inhibitory responses is generally close to the norm.