

**ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ՀՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
Լ.Ա. ՕՐԲԵԼՈՒ ԱՆՎԱՆ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ**

Ղուլիկյան Լուսինե Ալմիրի

***Macrovipera lebetina obtusa* օձի թույնի պրոտեկտորային
ազդեցության մեխանիզմները Կրոկերի սարկոմայի և
Ալցհեյմերի հիվանդության կենդանական մոդելների վրա**

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅՈՒՆ

**Գ.00.09 – մարդու և կենդանիների ֆիզիոլոգիա մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման**

**Գիտական ղեկավար՝
կենս. գիտ. դոկտոր
Ն.Մ. Այվազյան**

ԵՐԵՎԱՆ 2017

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ.....	4
ԳԼՈՒԽ 1. ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ.....	11
1.1. Իժերի թույների բաղադրության առանձնահատկությունները.....	11
1.2. Օձերի թույների կիրառությունը պաթոլոգիաների բուժման նպատակով.....	19
1.3. Ազատ ռադիկալային պրոցեսներն և լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացումն օնկոլոգիական պաթոլոգիաների ժամանակ.....	23
1.4. ԴՆԹ-ի շարժունակության ուսումնասիրությունը դեղորայքների սկրինինգի ժամանակ.....	26
1.5. Թույների բուժիչ ազդեցությունը նեյրոդեգեներատիվ խախտումների ժամանակ.....	28
1.6. Թույնի բաղադրամասերի օգտագործումը նոր դեղամիջոցների մշակման համար	35
ԳԼՈՒԽ 2. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ ԵՎ.....	41
ՆՅՈՒԹԵՐԸ.....	41
2.1. Ալցիեյմերի հիվանդության կենդանական մոդելի ստացումը.....	41
2.2. Հիպոկամպի նեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրությունը.....	42
2.3. Հիստոքիմիական հետազոտությունների մեթոդ.....	43
2.4. Սարկոմա S-180 կենդանական մոդելի ստացումը.....	44
2.5. Ուռուցքի հիստոլոգիական ուսումնասիրումը և <i>in vivo</i> հակաուռուցքային ակտիվության գնահատումը.....	44
2.6. ԴՆԹ-ի շարժունակության որոշումը էլեկտրաֆորեզի միջոցով.....	45
2.7. Քիմյումինեսցենտային վերլուծություն.....	45
2.8. Լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման որոշում.....	46
2.9. Սուպերօքսիդի սնուսագի ակտիվության սպեկտրաֆոտոմետրիկ որոշումը ադրենալինի ինքնաօքսիդացման եղանակով.....	48
2.10. Առնետի հիպոկամպի (Na^+, K^+) - ական ԱԵՖագի ակտիվության որոշումը.....	49
2.11. Վիճակագրական վերլուծություն.....	50
ԳԼՈՒԽ 3. ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ.....	51

3.1. Առնետի ուղեղի հիպոկամպի մորֆոֆունկցիոնալ վիճակի ուսումնասիրությունն Ալցհեյմերի հիվանդության ամիլոիդային մոդելում.....	51
3.2. Կովկասյան գյուրզայի թույնի ազդեցությունն Ալցհեյմերի հիվանդության հիստոլոգիական պատկերի վրա.....	53
3.3. Առնետի ուղեղի հիպոկամպի նեյրոնների էլեկտրական ակտիվության ուսումնասիրումն Ալցհեյմերի հիվանդության ամիլոիդային մոդելում.....	58
3.4. Առնետի ուղեղի հիպոկամպի նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազի որոշումն Ալցհեյմերի հիվանդության ամիլոիդային մոդելում.....	63
3.6. <i>MLO</i> օձի թույնի և օբտուսատինի ազդեցությունը մկների S-180 ուռուցքի աճի վրա	69
3.7. <i>MLO</i> օձի թույնի և օբտուսատինի ազդեցությունը S-180 ուռուցքի հիստոլոգիական պատկերի վրա.....	71
3.8. Օբտուսատինի և <i>MLO</i> օձի թույնի կապումը S-180 սարկոմայի բջիջների գենոմային ԴՆԹ-ի հետ	72
3.9. Ազատ ռադիկալային պրոցեսների և դրանց կարգավորող մեխանիզմների աշխատանքի փոփոխությունն օբտուսատինի և թույնի մշակումից հետո.....	75
ԱՄՓՈՓՈՒՄ	81
ԵՁՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ	86
ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ	87
ՀԱՊԱՎՈՒՄՆԵՐ	105

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ

Թեմայի արդիականությունը: Օձի թույներն եղել են և շարունակում են մնալ կենդանական աշխարհի առավել ինտենսիվ հետազոտվող տոքսինները: Որպես դեղամիջոց՝ օձի թույնը լայնորեն կիրառվել է ինչպես ավանդական արևելյան, այնպես էլ՝ չինական բժշկության մեջ: Դեռևս Հին Հռոմում օձի թույնից պատրաստել են բորոտությունն և տենդն ապաքինող բազմաթիվ միջոցներ: Այն նաև կիրառվել է որպես վերքերն ապաքինող միջոց: Ժամանակակից բժշկությունում օձի թույնն օգտագործվում է որպես ցավազրկող և հակաբորբոքային միջոց ծայրամասային նյարդային համակարգի հիվանդությունների դեպքում: Այդպիսի դեղամիջոցները նախատեսված են ներարկումների (հաճախ ենթամաշկային) կամ արտաքին օգտագործման համար: Սովորաբար սրսկումներ նշանակվում են նեվրալգիաների, քրոնիկ ոչ սպեցիֆիկ մոնո-, պոլի- և պերիարտրիտների ու բազմաթիվ այլ հիվանդությունների ժամանակ: Իսկ ունևատիկ ցավերի, իշիակի ժամանակ կիրառվում է օգտագործման արտաքին եղանակը: Կորբայի թույնից անջատված հիմնական գործող բաղադրիչը՝ կոբրոտոքսինը, ունի ցավազրկող և հանգստացնող ազդեցություն, օրինակ՝ սրտի անոթների սպազմների, բրոնխիալ ասթմայի, չարորակ ուռուցքների ժամանակ (Steed P. 2010):

Բացի այդ, ներկայումս համաձայն առողջապահության համաշխարհային կազմակերպության մամուլի ծառայության տվյալների՝ տարեկան դիտվում է օձի խայթոցի 5 միլիոն դեպք, որից կեսի մոտ դիտվում է թույնով վնասում, իսկ ամենաքիչը 125 000 դեպքերը մահացու են լինում, շատ են նաև անդամահատման դեպքերը: Թունավոր օձերի խայթոցից կարող է առաջանալ կաթված, որն էլ կարող է պատճառ հանդիսանալ շնչառության կանգի, արյան մակարդման խաթարման: Այս ախտանիշներն էլ կարող են բերել առատ արյունահոսության, անդարձելի երիկամային անբավարարության, հյուսվածքների վնասման: Այս բոլոր և բազմաթիվ այլ գործոնների շնորհիվ է, որ գիտական աշխարհում մեծ հետաքրքրություն է առաջացել օձի թույնի և օրգանիզմի վրա նրա ֆիզիոլոգիական ազդեցության նկատմամբ (Kochva E. 1987, Koh D. *et al* 2006): Այս բնագավառում հետազոտությունների իրականացումը բավականին բարդ է, ինչը պայմանավորված է թույնի որոշակի

յուրահատկություններով: Սակայն հենց այս յուրահատկություններն էլ դարձնում են օձի թայնն ուսումնասիրման հետաքրքիր օբյեկտ: Առաջին հերթին բարդությունը կայանում է նրանում, որ օձի թայնն իրենից ներկայացնում է դեղաբանական ակտիվ նյութերի (հաճախ 100 և ավելի) խառնուրդ: Օրգանիզմի վրա դիտվում է ինչպես այս նյութերից յուրաքանչյուրի, այնպես էլ՝ բոլորի սիներգիկ կենսաբանական ազդեցությունը: Այսպիսով, յուրաքանչյուր բաղադրիչի ազդեցությունը բազմապատկվում է մի քանի անգամ համալիր ազդեցության դեպքում: Սա էլ խայթոցից հետո հաճախ պատճառ է հանդիսանում ցավային փստանիշների սրընթաց տարածման համար («spreading-effect»): Այս ֆենոմենը առավել բնորոշ է *Viperidae* ընտանիքին պատկանող իժերի թայնին, քանի որ այս օձերի թայնը չի պարունակում որևէ իրական տոքսին: *Viperidae* ընտանիքին պատկանող իժերի թայնի բաղադրիչների միջև գործում է հենց սիներգիզմի մեխանիզմը: Այս օձերի թայնի բաղադրիչները հաճախ հանդիպում են նաև կենդանական օրգանիզմում, սակայն թայնի կազմում նրանք պատճառ են հանդիսանում ծանր թունավորումների, բայց նաև ձեռք են բերում որոշ յուրօրինակ դեղագործական հատկություններ: Տոքսինների նույն ընտանիքում բազմաթիվ իզոմերների առկայությունը թույլ է տալիս ենթադրել էվոլյուցիայի պրոցեսում նման տաքսոնոմիկ խմբում նույն գեն - նախորդի դուպլիկացիայի ուղու ճյուղավորումների մասին, որոնք բերել են թայնի սպիտակուցների բարձր մակարդակի ֆունկցիոնալ փոփոխությունների իրար մոտ պոպուլյացիաներում (Harvey A. 1997): Այդպիսի սելեկցիայի բերող մեխանիզմները դեռևս հայտնի չեն, այնուամենայնիվ հնարավոր է, որ հիմքում ընկած է յուրաքանչյուր զոհի համար կենսաբանական ակտիվ գործոնների՝ պեպտիդների առավել գործող վարիացիաների ընտրությունը: Օրինակ՝ այդպիսի ընթացք կարող էր ունենալ ողնաշարավորների հարմարվողական իմունային պատասխանում ներգրաված գեների նեոֆունկցիոնալության ժամանակ (Vidal N. 2002): Ընդհանուր առմամբ կենդանական տոքսիններն, որոնք տարբերվում են իրենց բնույթով և ազդեցության ընտրողականությամբ, պատկանում են ալոմոններին և հանդիսանում են ներտեսակային փոխազդեցությունների քիմիական գործոններ, որոնք օգտակար կարող են լինել օրգանիզմ – պրոդուցենտի համար (Гелашвили Д. 1992): Այս ալոմոնների շնորհիվ օրգանիզմները փոխազդում են իրար հետ իրենց

էվոյուցիայի ընթացքում: Ալոմոնները նաև ընտրողաբար և սպեցիֆիկորեն ազդում են օրգանիզմի ինտեգրալ ֆիզիոլոգիական համակարգերի վրա:

Տարբեր խմբերին պատկանող կենդանիների թույնի առկայությամբ օրգանիզմի պատասխան ռեակցիայի ուսումնասիրումը հստակ ցույց է տվել, որ պատասխան ռեակցիայում առավելապես ներգրավում է իմունային համակարգը: Թունավորումից հետո օրգանիզմում փոփոխությունների բնույթը և հետագա զարգացումը կախված է տոքսինի քիմիական բաղադրությունից և չափաբաժնից: Այս երկու պատճառներն էլ որոշում են առաջացող խանգարման ձևավորման արագությունը և խորության աստիճանը: Կարևոր է նշել այն փաստն, որ կենդանական տոքսինների տոքսիկ չափաբաժիններն ուղղված են նորմալ գործող օրգանիզմում առկա կարգավորիչ փոխհարաբերությունների խաթարմանը: Ոչ տոքսիկ չափաբաժինների ազդեցության դեպքում չեն դիտվում թունավորմանը բնորոշ երկրորդային պրոցեսներ: Սա թույլ է տալիս բացահայտել կենսաբանական սթրես գործոնների իմունոտրոպ ազդեցությունը (Романова Е. 2008):

Թույների էվոյուցիայի ուղիների բացահայտումն ոչ միայն կօգնի այս կամ այն սպիտակուցի ազդեցության մեխանիզմի պարզաբանմանն, այլ նաև կնպաստի հակաթույնի արտադրման նոր մոտեցումների մշակմանը: Չնայած հակատոքսիկ շիճուկների բավականին երկար և բազմակի անգամներ օգտագործմանը, հակաթույնների օգտագործումը հաճախ չի ունենում սպասված օպտիմալ ազդեցությունը: Պատճառներից մեկն այն է, որ օգտագործվող պոլիկլոնային շիճուկը պարունակում է հակամարմիններ, որոնք օժտված չեն որևէ հակատոքսիկ ֆունկցիայով, բայց հանդիսանում են ալերգածին նյութեր, որն էլ թուլացնում է ամբողջ շիճուկի դեղագործական ազդեցությունը: Սակայն սինթետիկ մեխանիզմով գործող թույների համար հնարավոր չէ արտադրել մոնոկլոնային հակաթույն, որում հակամարմինները միայն մեկ իրական տոքսինի վրա են ազդում:

Կենդանական տոքսինների ուսումնասիրումն որպես բնական սթրես-գործոններ, համակարգում է նրանց ֆունկցիան որպես ալոմոնների: Կենդանական տոքսինները՝ որպես ալոմոններ, օրգանիզմի ինտեգրալ հարմարվողական ռեակցիայի ձևավորման ֆիզիոլոգիական մեխանիզմների շնորհիվ մասնակցում են

ալելոքիմիական փոխազդեցություններին: Իմունոլոգիական համակարգի ռեակցիան հանդիսանում է բազմաթիվ մեխանիզմների իրականացման ինտեգրալ ցուցիչ: Շրջակա միջավայրի տարբեր ինտենսիվությամբ օժտված բնական գործոնները խաթարում են այդ նուրբ միջբջջային փոխազդեցությունն, որն էլ բերում է լիմֆոցիտների առանձին պոպուլյացիաների իմունոռեակտիվության ճնշմանը: Բացի այդ պատասխան ռեակցիայում կարող են գրանցվել բազմաբնույթ փոփոխություններ՝ հումորալ ռեակցիայի խթանում, բջջային ռեակցիայի արգելակում, ինչպես նաև, հակառակը: Իմունային համակարգի առանձին բաժինների պատասխանների փոփոխականությունը հաստատված փաստ է հանդիսանում (Романова Е. 1987, 1999) և արտացոլում է իմունիտետի կոմպենսատոր հատկության ճկունությունը:

Օձերի թայնը պարունակում է կենսաբանական սուբստրատի հետ փոխազդեցության ժամանակ բարձր ընտրողականությամբ օժտված առաջնային կառուցվածքով նյութեր: Այդ է պատճառն, որ այն հիանալի կենսատեխնոլոգիական գործիք է հանդիսանում ուսումնասիրելու համար ֆիզիոլոգիական պրոցեսների կառուցվածքա - ֆունկցիոնալ կողմը (Qian B. and Pollard J. 2010):

Վերջին տարիների ուսումնասիրություններն ավելի ընդգծված են դարձրել օձերի, մասնավորապես՝ իժերի թունագեղձերի պրոտեոմային և տրանսկրիպտոմային համեմատական վերլուծությունների անցկացման անհրաժեշտությունը: Տրանսկրիպտոմային հետազոտություններն իրենցից ներկայացնում են օձերի թունագեղձերում սինթեզվող մասնակի և ամբողջական շղթայով տրանսկրիպտոմների կատալոգ: Այսպիսի տվյալները սակավաթիվ են, սակայն արդեն իսկ բավական շատ են ենթադրություններն այն մասին, որ թայնում առկա պեպտիդները մինչ հայտնի տոքսինների վերածվելը, ենթարկվում են մի ամբողջական կասկադային հետտրանսլյացիոն փոփոխությունների (Sanz L. *et al* 2008):

Օձերի թայնի այս և բազմաթիվ այլ առանձնահատկությունները դարձնում են օձի թայնն ուսումնասիրման բավականին հետաքրքիր և հեռանկարային օբյեկտ, որի իրական արժեքն ակնհայտորեն կաճի թայնի բաղադրությունում առկա կենսաբանորեն ակտիվ նյութերի նոր յուրօրինակ հատկությունների բացահայտման հետ համատեղ: Տվյալ աշխատանքը նվիրված է կովկասյան գյուրզայի թայնի հատկությունների

ուսումնասիրմանը: Լինելով հայկական ֆաունայի էնդեմիկ տեսակներ՝ այս օձի թույնը դեռևս ամբողջովին ուսումնասիրված չէ: Այս թույնի լիարժեք ուսումնասիրումը կարող է ցույց տալ, որ վերջինս կարող է մեծ հետաքրքրություն ներկայացնել նաև դեղագործության բնագավառում:

Ուսումնասիրության նպատակն և խնդիրները:

Ներկայացվող հետազոտության նպատակն է հանդիսացել բազմակողմանի ուսումնասիրել դեղաբանական ակտիվ նյութեր պարունակող կովկասյան գյուրզայի թույնի (*Macrovipera lebetina obtusa*, MLO), ինչպես նաև նրա առանձին բաղադրիչների դերը որոշ պաթոլոգիաների՝ նեյրոդեգեներատիվ (Ալցհեյմերի հիվանդություն) և օնկոլոգիական (Կրոկերի սարկոմա) բուժման գործընթացում: Գնահատել թույնի բաղադրիչների սիներգիկ փոխազդեցության աստիճանը վերջինիս բազմաթիվ ֆունկցիաների, այդ թվում՝ նյարդապաշտպան ազդեցության իրականացման ընթացքում: Առավելագույնս հետազոտել թույնի ազդման մոլեկուլային մեխանիզմներն, որոնց շնորհիվ դիտվում է դրական փոփոխություն նշված հիվանդությունների պաթոլոգիկ պատկերում:

Հետազոտության նպատակի իրականացման համար սահմանվել են հետևյալ խնդիրները.

1. Ուսումնասիրել կովկասյան գյուրզայի թույնի ազդեցությունը հիպոկամպի բջիջների մորֆոֆունկցիոնալ և էլեկտրաֆիզիոլոգիական ցուցանիշների վրա Ալցհեյմերի հիվանդության ամիլոիդային մոդելում:
2. Ուսումնասիրել կովկասյան գյուրզայի թույնի հակաօքսիդանտային ազդեցությունը նաև այլ օրգան համակարգերի վիճակի վրա Ալցհեյմերի հիվանդության ամիլոիդային մոդելում:
3. Գնահատել կովկասյան գյուրզայի թույնի և օբտուսատինի՝ S-180 սարկոմայի վրա ունեցած հակաուռուցքային ազդեցությունը:
4. Բացահայտել կովկասյան գյուրզայի թույնի և օբտուսատինի կապվելու ունակությունը S-180 ուռուցքի բջիջների գենոմային ԴՆԹ-ի հետ և ազդեցությունը վերջինիս էլեկտրաֆորետիկ շարժունակության վրա:

5. Որոշել ուռուցքակիր հյուսվածքում կովկասյան գյուրզայի թույնի և օբտուսատառիների *in vivo* ազդեցությունը լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման աստիճանի և հակաօքսիդանտային ֆերմենտային համակարգի բաղադրիչների ակտիվության վրա:

Աշխատանքի գիտական նորույթն ու գիտագործնական նշանակությունը:

Տվյալ հետազոտություններում թույնի ներմկանային և Aβ ներուղեղփորոքային ներարկման միջոցով սկիզբ է դրվում մի շարք կասկադային պրոցեսների: Հայտնի է, որ 10 րոպե օձի թույնով մշակումը բերում է խայթոցից նույնիսկ բավականին հեռու գտնվող հյուսվածքների որոշակի փոխակերպմանը, ինչով և արտահայտվում է կենդանի օրգանիզմներում թույնի արագ տարածումն, որի համար պատասխանատու են ոչ միայն թույնի բաղադրամասերն, այլ դրանց հյուսվածքների հետ փոխազդեցության երկրորդային պրոդուկտները (լիզոֆոսֆոլիպիդներ և այլն): Նմանատիպ միջնորդված ազդեցության մեխանիզմների ուսումնասիրությունն ակնհայտ հետաքրքրություն է ներկայացնում այսպես կոչված “spreading” էֆեկտի և սիներգիզմի տեսության բնագավառում հիմնարար պարզաբանումներ կատարելու համար:

Սակայն մեր ուսումնասիրություններն ունեն նաև ուղղակի կիրառական նշանակություն, քանի որ վկայում են, որ օձի թույնում առկա սպիտակուցներն ունեն դրական ազդեցություն ինչպես արագ զարգացող քաղցկեղների տարբեր տիպերի (մասնավորապես՝ սարկոմաների), այնպես էլ բազմաթիվ այլ (մասնավորապես՝ նեյրոդեգեներատիվ, օրինակ՝ Ալցհեյմերի հիվանդությունը) հիվանդությունների կասեցման գործում: Այս սպիտակուցներից շատերն այսօր դեղագործության նոր ժամանակակից ուղղության զգալի մաս կարող են դառնալ: Այսպիսով, նշված հետազոտությունն ակնհայտ գիտագործնական արժեք է ներկայացնում, այն է՝ Հայաստանի էնդեմիկ հերպետոֆաունային յուրահատուկ կենսաբանական ակտիվ նյութերի հնարավոր հակաուռուցքային և հականեյրոդեգեներատիվ հատկությունների բացահայտումը:

Պաշտպանության ներկայացվող հիմնական դրույթներն են.

1. Ե՛վ օբտուստատինը, և՛ կովկասյան գյուրզայի թույնն օժտված են հակաուռուցքային ազդեցությամբ և կարող են ճնշել Կրոկերի սարկոմայի սաճն ուռուցքակիր մկների մոտ:
2. Ե՛վ օբտուստատինը, և՛ կովկասյան գյուրզայի թույնի բաղադրամասի որոշ տարրեր ունակ են կապվելու S-180 սարկոմայի բջիջների գենոմային ԴՆԹ-ի հետ, ինչը կարող է ճնշել որոշ գենների էքսպրեսիան:
3. *In vivo* մշակման ժամանակ օբտուստատինը և կովկասյան գյուրզայի թույնը ցուցաբերում են հակաօքսիդանտային հատկություններ Կրոկերի սարկոմայի դեպքում:
4. Կովկասյան գյուրզայի թույնն օժտված է ախտադեղագործական ակտիվությամբ և կարող է ցուցաբերել նյարդապաշտպան հատկություններ Ալցհեյմերի հիվանդության ամիլոիդային մոդելում:

ԳԼՈՒԽ 1. ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ

1.1. Իժերի թույների բաղադրության առանձնահատկությունները

Հայաստանը շատ հարուստ է հերպետոֆաունայի ներկայացուցիչներով, ընդ որում՝ մեզ մոտ առկա են օձերի խիստ էնդեմիկ տեսակներ, որոնց թվին են պատկանում կովկասյան գյուրզան (*Macrovipera lebetina obtusa*) և հայկական իժը (*Montivipera raddei*): Այս օձերն իրենցից ներկայացնում են Մերձավոր Արևելքում բավականին լայն տարածում գտած եվրասիական իժերին ցեղապես մոտիկ տեսակներ: Այս օձերն Արևմտյան Ասիայում և մասնավորապես՝ Հայաստանում տարեկան մի շարք խայթոցների պատճառ են հանդիսանում և պետք է դասվեն վտանգավոր կենդանիների շարքին: Կովկասյան գյուրզայից միանգամից կարելի է ստանալ 0.64 մգ թույն, որի տոքսիկությունը (LD50) մկների համար հավասար է 18.4 ± 1.4 մկգ (Kurtovic T. *et al* 2014): Օձի խայթոցն ուղեկցվում է մի շարք տարբեր ուժգնության տեղային ազդեցություններով, իսկ ծանր դեպքերում՝ կոլապսով և կոագուլոպատիայով: Հաճախ նկատվում են հյուսվածքի տեղային բորբոքում և նեկրոզ (Sanz L. *et al* 2008):

Viperidae դասի օձերը պարունակում են մի շարք տարբեր տեսակի սպիտակուցներ, որոնք բաժանվում են երկու խմբի՝ ֆերմենտներ (սերինային պրոտեազներ, Zn^{2+} -պարունակող մետաղապրոտեազներ, PLA_2) և ֆերմենտային ակտիվություն չունեցող սպիտակուցներ (C տիպի լեկտինանման սպիտակուցներ, դեզինտեգրիններ) (Serrano *et al* 2005): *Macrovipera lebetina obtusa* օձի թույնը, բացի *Viperidae* դասի օձերի թույնին բնորոշ սպիտակուցներից, պարունակում է նաև հենց իր տեսակին հատուկ սպիտակուցային բաղադրամասեր (նատրիուրետիկ պեպտիդներ, կարճ դեզինտեգրիններ, VEGF (Vascular endothelial growth factor)-նման սպիտակուց և դեզինտեգրինանման սպիտակուց, ցիստեինոլ հարուստ սպիտակուցներ) (Serrano S. *et al* 2005) (նկար 1):

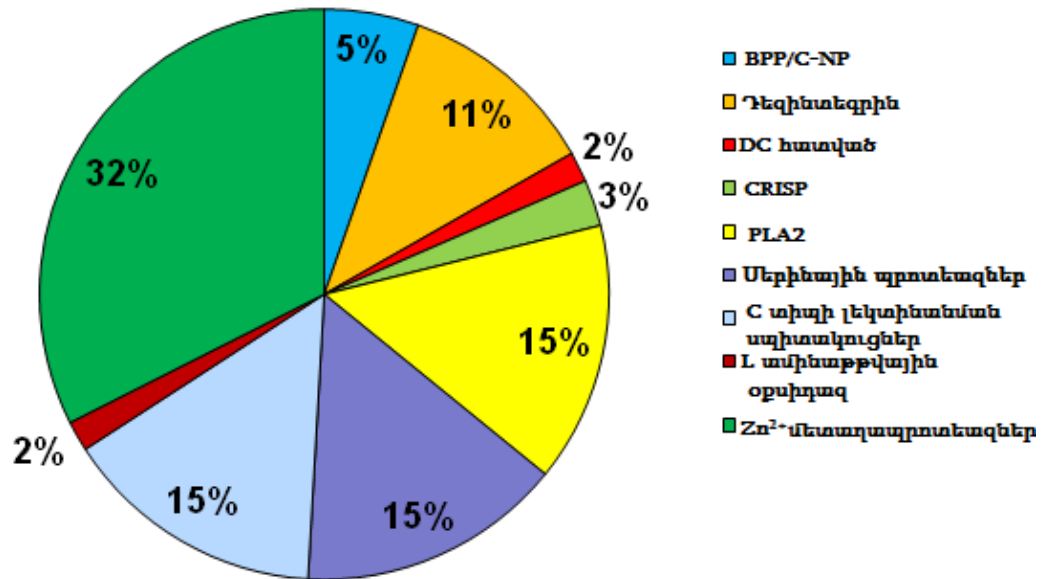
Viperidae դասի օձերի թույնի սպիտակուցների 20-40 %-ը բաժին է ընկնում մետաղապրոտեազներին: *Մեդաղապրոտեազները* (snake venom metalloproteinase,

SVMP) քայքայում են անոթային սուբէնդոթելի արտաբջջային մատրիքսի սպիտակուցներն, որի արդյունքում առաջանում են տեղային հեմորագիկ երևույթներ:

Մետաղապրոտեազները դասակարգվում են ըստ իրենց դոմենային կառուցվածքի: Ըստ իրենց դոմենային կառուցվածքի՝ SVMP-ները բաժանվում են P-I, P-II և P-III դասերի: Թույնի բոլոր մետաղապրոտեազները տալիս են նույնանման ազդանշան, ունեն նույն պրոդոմենները և նման սպիտակուցային դոմեններ: P-I դասի մետաղապրոտեազները կազմված են MP դոմենից: Այս դասի անդամները թույլ հեմորագիկ ակտիվությամբ, 200 ամինաթթվային մնացորդներից կազմված (23 կԴա) եզակի դոմենային սպիտակուցներ են: P-II դասի անդամները կազմված են MP դոմենից և դեզինտեգրինանման դոմենից (7 կԴա), որը գտնվում է կարբոքսիլային ծայրում: P-III դասի հեմորագինները մեծ ակտիվություն ունեցող տոքսիններ են՝ բաղկացած մուլտիդոմենային ֆերմենտներից՝ դեզինտեգրինային տեղամասին հաջորդող ցիստեինոլ հարուստ դոմենից և որոշ դեպքերում, լեկտինային դոմենից: Այս վերջին երկու դասերը կարող են բաժանվել ենթադասերի՝ ըստ իրենց դոմենների պրոտեոլիտիկ ակտիվության և դիմերային կառուցվածքներ ձևավորելու ունակության (Fox J. *et al* 2008): *Macrovipera lebetina obtusa* օձի թույնում հայտնաբերված բոլոր Zn^{2+} - պարունակող մետաղապրոտեազները պատկանում են մետաղապրոտեազների III խմբին:

C տիպի լեկտինանման սպիտակուցները պատկանում են օձի թույնի հեմորագիկ բաղադրիչների թվին (Mackessy S. 2010): C տիպի լեկտինանման սպիտակուցներն ըստ կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ առանձնահատկությունների՝ դասակարգվում են սպիտակուցների, որոնք պարունակում են կարբոհիդրատ կապող դոմեն (carbohydrate recognition domain, CRD), որը կապվում է շաքարի մոլեկուլների հետ և սպիտակուցների, որոնք ունեն կարբոհիդրատ չկապող C տիպի լեկտինանման դոմեն (C-type lectin domain, CTLD) և չեն կապում շաքար: Բոլոր C տիպի լեկտինանման սպիտակուցներն, որոնք հայտնաբերվել են *Macrovipera lebetina obtusa* օձի թույնում, ունեն 30 կԴա մոլեկուլային զանգված և իրենցից ներկայացնում են $\alpha\beta$ հետերոդիմերներ: Այժմ նրանք բաժանվում են CRD պարունակող սպիտակուցների և

սպիտակուցների, որոնք կապվում են թրոմբոցիտային ընկալիչների հետ (Koh D. *et al* 2006):



Նկար 1. *Macrohipera lebetina obtusa* օձի թույնի բաղադրության մեջ մտնող միացությունների տոկոսային պարունակությունը (Sanz L. *et al* 2008):

Իսայթված զոհի օրգանիզմում SVMP - ներն առաջացնում են բազմաթիվ բջջային և հյուսվածքային հիվանդություններ: SVMP-ների մեծամասնությունն առաջացնում են արյան կոագուլյացիա, կոմպլեմենտի սպիտակուցների ինակտիվացում/ակտիվացում և այլն (Gasanov S. *et al* 2014): Որոշ SVMP-ներ դրսևորում են ֆիբրինոլիտիկ ակտիվություն, գործում են որպես պրոթրոմբինի ակտիվատորներ (Kini R. 2005, Berger M. *et al* 2008), օժտված են պրոապոպտոտիկ ակտիվությամբ, ծառայում են որպես արյան սերինային պրոտեազների արգելակիչների ակտիվատորներ, ակտիվացնում են X գործոնը (պրոկոագուլյացիոն սպիտակուց) (Siigur E. *et al* 2004): Մազանոթների բազալ թաղանթի սպիտակուցների քայքայումն և արյան բաղադրիչների տեղափոխումը մազանոթներից շրջակա միջավայր ցույց են տալիս, որ SVMP-ներն ունեն նաև հեմորագիկ ակտիվություն (Escalante T. *et al* 2006, Markland F. *et al* 2013): SVMP-ների գործունեությամբ պայմանավորված պաթոֆիզիոլոգիական սպեկտրն իր մեջ ներառում է արյան անոթներում թրոմբոցիտների կուտակում, մազանոթների էնդոթելային բջիջների չափերի մեծացում և խաթարում, մինչդեռ

արյան այլ անոթների բջիջները կնճռոտվում են մինչ խաթարվելը: Արյան անոթներն, որոնք պարունակում են ինտակտ ներբջջային կապեր, կարող են կապվել վնասված էնդոթելային բջիջների հետ (Gasanov S. *et al* 2014): SVMP-ների ներտեսակային կենսաքիմիական փոփոխությունները բավականին հետաքրքրաշարժ ֆենոմեն է, որը խառնաշփոթ է ստեղծել թունաբանների մոտ:

Վերջին տարիների գիտական գրականության մեջ լայնորեն քննարկվում են իժերի դասին պատկանող օձերի թույնի՝ ցածր մոլեկուլային կշիռ ունեցող բաղադրամասերի անջատումը և դրանց հատկությունների ուսումնասիրությունը: Դրանցից են նաև, այսպես կոչված, դեզինտեգրինները (Gould R. *et al* 1990): Դրանք օձի թույնի որոշ սպիտակուցներ են, որոնք ունակ են փոխազդել ինտեգրինների հետ: Այս տերմինն առաջին անգամ օգտագործվել է 90-ական թվականներին:

Դեզինտեգրինները փոքր, ոչ ֆերմենտային, ցիստեինոլ հարուստ սպիտակուցներ են, որոնք առկա են *Viperidae*, *Crotalidae*, *Atractaspidae*, *Elapidae*, *Colubridae* օձերի ընտանիքներում (McLane M. *et al* 2004): Այս սպիտակուցներն ունեն յուրահատուկ կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ առանձնահատկություններ (Marcinkiewicz C. *et al* 2003, Calvete J. 2013): Դիսուլֆիդային կապերի մեծ քանակը կարևոր դեր ունի դեզինտեգրինների կայունության համար:

Օձի թույնից անջատված առաջին դեզինտեգրինը տրիգրամինն է, որը միաշղթա, ցիստեինոլ հարուստ պեպտիդ է: Այն անջատվել է *Trimeresurus gramineus* օձի թույնից (Huang T. *et al* 1987): Ցույց է տրված, որ էվոլյուցիայի ընթացքում դեզինտեգրիններն առաջացել են օձի թույնի մետաղապրոտեազներից (SVMPs), որոնք ֆիլոգենետիկորեն մոտ են ADAM-ներին (a disintegrin and metalloproteinase-like, դեզինտեգրին և մետաղապրոտեազ): Կախված տիպից՝ SVMP-ները կարող են առաջացնել տարբեր դեզինտեգրիններ, որոնք կառուցվածքային առումով կարող են լինել մոնոմերներ, հոմոդիմերներ, հետերոդիմերներ: Մոնոմերային դեզինտեգրիններն առաջանում են P-IIa դասի SVMP-ներից: Նրանք հիմնականում ունեն ցածր մոլեկուլային զանգված (5-8 ԿԴա) և պարունակում են RGD (arginine-glycine-aspartic acid) հաջորդականություն: Դեզինտեգրինի այս դասը լայնորեն տարածված է օձերի թույնում և կարևոր դեր է խաղում սպիտակուցների և բջջի մակերեսային

ինտեգրինների փոխազդեցության գործում: Հոմոդիմերային դեզինտեգրիններն առաջանում են P-IIId դասից, իսկ հետերոդիմերայինները՝ P-IIe SVMP-ներից: P-III SVMP-ներից հիմնականում առաջանում են դեզինտեգրինանման սպիտակուցներն (բացակայում է RGD մոտիվը), որոնք իրենցից ներկայացնում են կովալենտ կապով իրար հետ կապված դեզինտեգրինանման և ցիստեինոլ հարուստ դոմեններ: Սրանց մոլեկուլային զանգվածը 30 ԿԴա է (Fox J. *et al* 2008, Calvete J. *et al* 2005): Դեզինտեգրինանման դոմեններն առանձին չեն առանձնացվել թույնից: Նրանք միայն հայտնաբերվել են որպես կենսաբանորեն ակտիվ սպիտակուցներ, որոնք պարունակում են ցիստեինոլ հարուստ դոմեն:

Դեզինտեգրինների դասակարգումն ըստ ֆունկցիայի կախված է նրանց՝ սպեցիֆիկ ինտեգրինների հետ փոխազդեցության ունակությունից: Դեզինտեգրինները ճնշում են ինտեգրին-լիզանդ փոխազդեցությունը: Դեզինտեգրինի այս ունակությունն որոշվում է որոշակի ինտեգրին կապող մոտիվի առկայությամբ: Բացահայտվել է ֆունկցիոնալ 3 դաս՝ RGD, MLD կամ R/KTS մոտիվներ պարունակող (Calvete J. *et al* 2005): RGD-դեզինտեգրինները հանդիսանում են այս սպիտակուցների ամենամեծ և լավ ուսումնասիրված ընտանիքը: Նրանք արգելակում են $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$, $\alpha 7\beta 1$, $\alpha 8\beta 1$, $\alpha \nu \beta 1$, $\alpha \nu \beta 3$, $\alpha 11\beta 3$, $\alpha \nu \beta 5$ ինտեգրինների ֆիզիոլոգիական ֆունկցիաները: Բացահայտված RGD-դեզինտեգրինների մեծամասնությունը մոնոմերներ են, սակայն կան նաև որոշ դիմերներ, որոնց դեպքում երկրորդ ենթամիավորը կարող է նաև ուրիշ մոտիվ լինել (Calvete J. *et al* 2003, Calvete J. 2013): MLD մոտիվը հայտնաբերվել է միայն հետերոդիմերային դեզինտեգրիններում: Այս մոտիվը միջնորդավորում է դեզինտեգրինի կապը $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$, $\alpha 7\beta 1$, $\alpha 9\beta 1$, $\alpha 11\beta 3$, $\alpha 4\beta 7$ ինտեգրինների հետ: Իսկ KTS կամ RTS մոտիվի առկայությունը դեզինտեգրինի ակտիվ կենտրոնում օժանդակում է նրա կապմանը կոլագենային ընկալիչ հանդիսացող $\alpha 1\beta 1$ ինտեգրինի հետ: R/KTS-դեզինտեգրինները կարճ, 41 ամինաթթվային հաջորդականությամբ պոլիպեպտիդային շղթաներ են (Macedo J. *et al* 2015, Walsh E. and Marcinkiewicz C. 2011): Առաջին KTS-դեզինտեգրինը՝ օբտուսատսինը, հայտնաբերվել է *Macrovipera lebetina obtusa* օձի թույնում (Marcinkiewicz C. *et al* 2003): MLD- և KTS-դեզինտեգրինների կենսաբանական ակտիվությունն ուսումնասիրվել է

տարբեր համակարգերում *in vitro* և *in vivo* պայմաններում: Թերապևտիկ չափաբաժնի դեպքում նրանք տոքսիկ չեն կրծողների և թռչունների մոդելներում: Բացահայտված է այս դեզինտեգրինների մոդուլացնող ազդեցությունը բջջի ապոպտոզի, ասթմայի, նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների, քաղցկեղի անգիոգենեզի և մետաստազների ժամանակ (Walsh E. and Marcinkiewicz C. 2011): Մոտիվներում առկա ամինաթթվային հաջորդականության փոփոխությունը կարող է բերել դեզինտեգրինի կենսաբանական ակտիվության փոփոխման կամ լրիվ արգելակման:

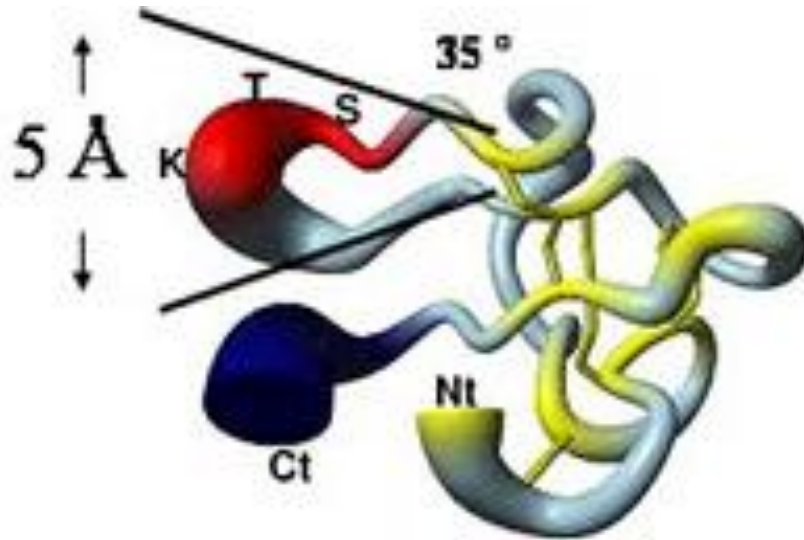
Ուշադրության է արժանի այն փաստն, որ *Macrovipera lebetina obtusa* օձի թույնում հայտնաբերված դեզինտեգրինները պատկանում են դիմերային դեզինտեգրինների խմբին: Այս օձը պարունակում է երկու առաջնային և երկու երկրորդային դիմերային դեզինտեգրիններ:

Ինչպես արդեն նշվել է, *Macrovipera lebetina obtusa* օձն արտազատում է նաև փոքր քանակությամբ կարճ դեզինտեգրիններ, որոնց դասին են պատկանում նաև օբտուսատափինը (*Macrovipera lebetina obtusa*), վիպերիստատափինը (*Vipera palestina*), ժերդոստատափինը (*Trimeresurus jerdonii*), էփիստատափինը, էրիստոստատափինը, որոնք պարունակում են KTS և RTS մոտիվներ:

Օբտուսատափինն ամենակարճ դեզինտեգրինն է, որի կազմում կա ընդամենը 41 ամինաթթվային մնացորդ, անջատվել է կովկասյան գյուրզայի թույնից (*MLO*): Այն չի ճնշում այլ ինտեգրիններ և խիստ սպեցիֆիկ է: Ինչպես ցույց են տվել ուսումնասիրությունները՝ յուրահատուկ թիրախ է հանդիսանում $\alpha 1\beta 1$ ինտեգրինն, և այն ճնշում է միայն $\alpha 1\beta 1$ ինտեգրինի կապը կոլագեն 4-ի հետ՝ ուղղակի կապվելով նրան (Paz Moreno-Murciano M. *et al* 2003): Նրանց արգելակիչ հատկությունն առաջին հերթին կախված է շարժուն օղակի ծայրին գտնվող եռպեպտիդային հաջորդականությունից՝ KTS (Lys-Thr-Ser) և իր ակտիվ կոնֆորմացիայում իրար է կապվում դիսուլֆիդային կամրջակներով:

Միջուկային պարամազնիսական ռեզոնանսի (ՄՊՌ) մեթոդով օբտուսատափինի կառուցվածքի ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ օբտուսատափինը պարունակում է 4 դիսուլֆիդային կապ, 5 դեհիդրալ անկյուն և 4 ջրածնային կապ (McLane M. *et al* 1998):

Մնացած կառուցվածքը գծային է և 12° -ից ոչ ավելի թեքումով: Օբտուսատինը չունի որևէ երկրորդային կառուցվածք (նկար 2):



Նկար 2. Օբտուսատինի ՄՊՌ կառուցվածքը: Դիսուլֆիդային կապերը, ակտիվ եռպեպտիդային հաջորդականությունը և C-ամինաթթվային ծայրը նշված են համապատասխանաբար՝ դեղին, կարմիր և կապույտ:

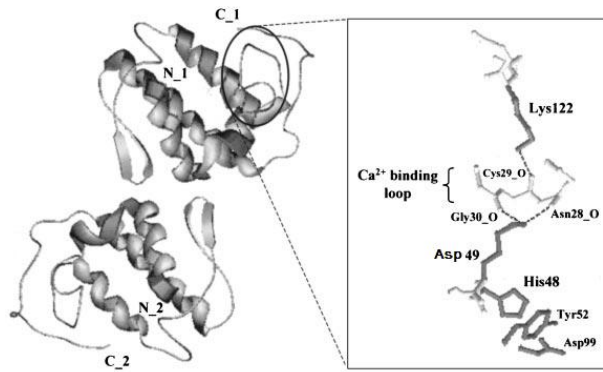
Սերինային պրոտեազները կազմված են 250 ամինաթթվային մնացորդներից և հաճախ ցուցաբերում են թրոմբինանման ակտիվություն: *M. lebetina obtusa* օձի թույնը հարուստ է սերինային պրոտեազներով: Այն չունի տեսակային սպեցիֆիկություն, առաջացնում է ֆիբրինոգենի մակարդում՝ դրանով իսկ բերելով արյան թիթեղների ագրեգացման: Շատ սերինային պրոտեազներ օժտված են նաև կինին արտազատելու ունակությամբ:

ML-7 ֆրակցիայում հայտնաբերվել են երկու պեպտիդներ, որոնք իրենց հաջորդականությամբ և զանգվածով նման են լեբեին 2 α -ին և լեբեին 2 β -ին: Այս երկու պեպտիդներն ունեն նույն հաջորդականությունը, բացառությամբ լեբեին 2 α -ի N-ծայրային գլիցինի, որը 2 β իզոֆորմում բացակայում է: Այս պեպտիդների մոնոիզոտոպ զանգվածները պարզորոշ ցույց են տալիս, որ մոլեկուլների 2 ցիստեինների միջև գոյություն ունեն ներշղթայական դիսուլֆիդային կապեր: ML-1, ML-2, ML-5, ML-6, ML-7 և ML-8 ֆրակցիաները նույնպես պարունակում են տարբեր երկարության լեբեին-կախյալ պեպտիդներ: Դրանք պատկանում են պեպտիդների նապրիոլերիկ

ընդհանրապես, ճնշում են արյան թիթեղների ագրեգացիան, մեծացնում են մեզի հոսքն և փոքրացնում արյան ճնշումն, երբ մկներին ներերակային ներարկում է կատարվում (Mackessy S. 2010):

Ներկայումս PLA₂-ը դասակարգվում է 11 խմբում՝ ըստ ամինաթթվային հաջորդականության նմանության: Առաջին/երկրորդ խմբի PLA₂-ներով իրականացվող հիդրոլիզը ներառում է His⁴⁸/Asp⁴⁹ զույգը (գտնվում է կատալիտիկ կենտրոնում), որը ակտիվացնում է ջրի պահպանված կառուցվածքային մոլեկուլը, այդպիսով՝ խթանելով սուբստրատի sn-2 դիրքում նուկլեոֆիլային հարձակումը: Կատալիզի ընթացքում կարևոր է Ca²⁺ կոֆակտորն, որը միանում է Asp⁴⁹ կարբօքսիլ թթվածնի ատոմի և հարևան Ca²⁺- կապող կարբոնատային գլխավոր շղթայի O₂-ին:

Ըստ ֆոսֆոլիպիդների հիդրոլիզի ներկայացված մոդելի՝ միաօքսիանիոնի միջին լիցքի չեզոքացումը բավարար չէ կատալիզը խթանելու համար: Առաջարկվում է, որ լրացուցիչ Ca²⁺ իոններն որպես օժանդակ էլեկտրոֆիլներ բևեռացնում են Cys²⁹-Gly³⁰ պեպտիդային կապն, որն էլ թույլ է տալիս, որպեսզի ավարտվի կատալիտիկ ցիկլը (նկար 3): PLA₂-ը ֆերմենտներ են, որոնք լայնորեն տարածված են կենդանի օրգանիզմներում, նրանց կազմավորված միավորներում, ինչպիսիք են՝ թաղանթները, վեզիկուլները կամ միցելները (ֆոսֆոլիպիդները հիդրոլիզելու ունակությունը): Այս տարածվածությունը հնարավորություն է տալիս մեծ պոտենցիալով մասնակցելու կենսաբանական ֆունկցիաներին՝ թաղանթների մոդելավորմանն, ազդանշանի փոխանցմանը, նյութափոխանակությանը, ռեպրոդուկցիային, բորբոքմանը և այլն: PLA₂-րի աճող գերընտանիքը ներկայումս ներառում է 6 տեսակ (արտազատվող, ցիտոզոլիկ, Ca²⁺-անկախ, PAF (platelet-activating factor) ացետիլ հիդրոլազ, լիպոպրոտեին-կախյալ և լիզոսոմալ PLA₂-ներ):



Նկար 3. Դիմեր PLA₂-ի եռաչափ կառուցվածքը և ակտիվ կենտրոնը:

1.2. Օձերի թույների կիրառությունը պաթոլոգիաների բուժման նպատակով

Օձի խայթոցի կլինիկական դրսևորումները կախված են երկու գործոններից՝ թույնի տոքսիկությունից և ներարկվող քանակից: Կան բազմաթիվ ախտանիշներ, որոնք բնորոշ են օձի թույնով ինտոքսիկացիային, բայց նրանցից կարևորներն են հանդիսանում թույլ արտահայտված կաթվածը, համակարգային միոլիզը, կոագուլապատիան և արյունազեղումը, երիկամային անբավարարությունը, խայթոցի տեղում վնասված հյուսվածքը: Այս ախտանիշները ցույց են տալիս, որ օձի թույնն ազդում է տարբեր օրգան համակարգերի վրա, մասնավորապես, ԿՆՀ-ի, սրտանոթային և մկանային համակարգերի վրա:

Օձի թույնի մանրակրկիտ ուսումնասիրումը կարևոր նշանակություն ունի թունաբանության, նյարդաբանության և դեղագործության համար: Թույնի բաղադրիչները, լինելով բավականին փոփոխական և ֆունկցիոնալ առումով շատ բարդ, տալիս են բազմաթիվ ուսումնասիրությունների հնարավորություն (Nirthanan S. and Gwee M. 2004, Servent D. and Fruchart-Gaillard C. 2009): Օձի թույնի բաղադրությունում բացահայտվել են տարբեր կենսաբանական ակտիվությամբ տոքսիններ, որոնցից են ֆասցիկուլինը, որը փոխազդում է ացետիլխոլինէսթերազի հետ, կալցիսեպտինը՝ կալցիումական անցուղիների հետ, մամբին թիրախային ինտեգրինային ընկալիչները, a-ադրիներգիկ տոքսինը և b-կարդիոտոքսինն, որոնք

կապվում են համապատասխանաբար a և b ադրեներգիկ ընկալիչների հետ, հեմեքստինը՝ կոագուլյացիայի գործոնների հետ, ցիտոտոքսիններն, որոնք էլ կապվում են բջջի թաղանթի հետ:

Օձի թույնի PLA₂ ֆերմենտներն ունեն բավականին լայնածավալ դեղագործական և թունաբանական ակտիվություն: Այն ի հայտ է եկել շնորհիվ արագացված էվոլյուցիայի, որի ընթացքում այդ մոլեկուլներում ամինաթթուները բազմակի անգամ փոխարինվել են լիցքավորված մասնիկներով (Gasnov S. et al 2014): PLA₂-ի դեղագործական կիրառություններն են, օրինակ՝ միոտոքսիկ, նեյրոտոքսիկ, հակամակարդիչ, հիպոտենզիվ, հեմալիտիկ, հակաբորբոքային ազդեցությունները (Gutiérrez J. et al 2004, Zuliani J. et al 2005a): Այն կարող է նաև նպաստել նեյտրոֆիլների քեմոտաքսիսին, մակրոֆագերի ակտիվացմանը (Zuliani J. et al 2005b):

Վերջերս *Bitis arietans* օձի թույնից անջատվել է անսովոր PLA₂-ը և կոչվել է բիտանարին: Այն արգելակում է *Lymnaea stagnalis* նեյրոնների ագետիլխոլինային ընկալիչների պատասխանը: Հայտնի է, որ տարբեր օձերի թույներից անջատված PLA₂-ներն ուղղակիորեն փոխազդում են նիկոտինային ագետիլխոլինային ընկալիչների հետ: Օրինակ՝ *Vipera ursinii*, *Naja kaouthia*, *Bungarus fasciatus* օձերի թույնից անջատված PLA₂-ները ճնշում են *L. stagnalis*-ի նեյրոններում ագետիլխոլինով միջնորդավորված հոսանքները: PLA₂-ի այդ մոլեկուլներն ունեն դոմեն, որը փոխազդում է նիկոտինային ագետիլխոլինային ընկալիչի հետ: Այդ ընկալիչի ճնշումն ընդգծում է այդ տիպի PLA₂-ների ոչ կատալիտիկ ազդեցությունը (Vulfius C. et al 2011): PLA₂-ի հիդրոլիզից առաջացող օլեինաթթուն և լիզոֆոսֆատիդիլ խոլինը կարևոր դեր են խաղում նեյրոտոքսիկության խթանման գործում: Թաղանթում առկա լիպիդների ասիմետրիան, սինապսում ֆոսֆոլիպիդների փոփոխություններն ինդուցվում են օձի թույնի PLA₂-ներով, որոնք օժանդակում են նեյրոտոքսիկությանը: Բջջի թաղանթներում PLA₂-ով ինդուցվող ֆոսֆոլիպիդների կառուցվածքային անցումային փոփոխությունները կարող են նպաստել այնպիսի հիմնական պեպտիդների մոդելավորմանն, որոնք ճնշում են գերակտիվ PLA₂-ներն, ինչով էլ և պայմանավորված են բազմաթիվ աուտոիմունային և նեյրոդեգեներատիվ հիվանդություններ, քրոնիկ

բորբոքային պրոցեսներ, ինչպիսիք են, օրինակ՝ ռևմատոիդ արտրիտը, ասթման (Gasanov S. *et al* 2014):

Կոլագենային ընկալիչները ֆունկցիոնալ ենթադաս են, որոնք սպեցիֆիկորեն կապվում են տարբեր տիպի կոլագենների հետ: Բջջի մակերեսին ակտիվ կոմպլեքսի ձևավորման համար անհրաժեշտ է, որ կոլագենային ընկալիչների $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 10$ կամ $\alpha 11$ ենթամիավորները կապվեն $\beta 1$ ենթամիավորի հետ: Կոլագենային ընկալիչ $\alpha 1\beta 1$ ինտեգրինը բջջային մեմբրանի վրա հանդիսանում է հետաքրքիր թիրախ, որն արգելակում է անոթների ախտաբանական աճն և ուռուցքի զարգացումը (Brown M. *et al* 2008): Ճնշելով անգիոգենեզը՝ $\alpha 1\beta 1$ ինտեգրինը նպաստում է ուռուցքի չափերի փոքրացմանը:

Օբտուսատաոինը օձի թույնում առկա դեզինտեգրին է, որը բերում է ուռուցքի չափերի փոքրացմանը, ինչպես նաև ուռուցքով խթանվող ախտաբանական անգիոգենեզի արգելակմանը: Այս դեզինտեգրինն ուղղակիորեն չի ազդում բջջի մակերեսային այն ընկալիչների վրա, որոնք փոխազդում են խթանիչների, օրինակ՝ աճի գործոնի ընկալիչների հետ: Կապվելով էնդոթելային բջիջների $\alpha 1\beta 1$ ինտեգրինների հետ՝ օբտուսատաոինը, խթանելով պրոապոպտոտիկ ազդանշաններ, արգելակում է պրոլիֆերացիան: Օբտուսատաոինի օնկոստատիկ ազդեցությունը համեմատական է իր հակաանգիոգենիկ ակտիվության հետ: Օբտուսատաոինն արգելակում է մեկանոմայի աճը շնորհիվ իր հակաանգիոգենիկ ակտիվության: Օբտուսատաոինն էնդոթելային բջիջների ապոպտոզի պոտենցիալ խթանիչ է, քանի որ ակտիվացնում է կասպազ 8-ից կախված արտաքին ուղին (Brown M. *et al* 2008):

Կատելիցիդին – BF (BF-30) կատելիցիդինանման պոլիպեպտիդ է, որը պարունակում է 30 ամինաթթվային մնացորդ: Անջատվել է *Bungarus fasciatus* օձի թույնից: Այն ունի հակաբակտերիալ ակտիվություն և կարող է պայքարել դեղամիջոցների նկատմամբ կայուն բակտերիաների դեմ, քանի որ ունակ է մեծացնել ցիտոպլազմային թաղանթի թափանցելիությունը (Wang H. *et al* 2013, Wang Y. *et al* 2008, Zhou H. *et al* 2011, Wang M. *et al* 2011, Wang Y. *et al* 2011): Արգելակում է նաև B16F10 և B16 քաղցկեղային բջիջների պրոլիֆերացիան և մեկանոմայի աճը՝ քայքայելով ցիտոպլազմային թաղանթը, կապվելով գենոմային ԴՆԹ-ի հետ, և կանխելով VEGF

գենի տրանսկրիպցիան և տրանսլյացիան: Այս փոխազդեցությունն էլ բերում է բջիջների միգրացիայի և անգիոգենեզի արգելակմանը: BF-30-ը ունի հակամեկանոմային ակտիվություն, քանի որ ճնշում է VEGF- ի գենի էքսպրեսիան: Այսպիսով, BF-30-ը ունի որոշակի թերապևտիկ պոտենցիալ մետաստազային մեկանոմայի դեպքում, ընդ որում այն ցուցաբերում է կլինիկորեն բարձր արդյունավետություն և ցածր տոքսիկություն: BF-30-ով բուժման ժամանակ չի դիտվում որևէ կողմնակի ազդեցություն, ինչպես նաև քաշի կորուստ: Սակայն BF-30-ի հակամեկանոմային ակտիվության դեպքում վնասվում է մասնակիորեն բջջաթաղանթը, որն էլ բերում է լակտատ դեհիդրոգենազի արտազատմանը: VEGF-ը հանդիսանում է անգիոգենեզի ազդանշանային կասկադի ամենակարևոր կարգավորիչներից մեկը (Ferrara N. 2002): BF-30-ն ունի ընտրողական հակաքաղցկեղային ակտիվություն, քանի որ այն չունի որևէ հեմալիտիկ և ցիտոտոքսիկ ակտիվություն նորմալ բջիջների վրա (Wang Y. *et al* 2008): BF-30-ը, կապվելով գենոմային ԴՆԹ-ի հետ և արգելակելով գենի էքսպրեսիան, բերում է քաղցկեղային բջիջների արգելակմանը: Այսպիսով, BF-30-ը կարող է լինել պոտենցիալ թեկնածու բուժելու համար չարորակ մեկանոման:

Օձի թույնի պոլիպեպտիդների հակամակարդիչ ազդեցությունը կարող է օգտակար լինել ԿՆՀ – ի համար: *Naja sputatrix* կոբրայից անջատված չեզոք հակամակարդիչ PLA₂-ը կարող է իջեցնել ինֆարկտի մակարդակը, կրճատել մահացող նյարդային բջիջների քանակը և ցուցաբերել նյարդային համակարգի պաշտպանիչ ազդեցություն ուղեղի օջախային իշեմիա ունեցող առնետների ուղեղի վրա (Armugam A. *et al* 2009, Osipov A. and Utkin Y. 2012):

Կոբրայի թույնից անջատված տարբեր նյութեր կարող են ցուցաբերել թերապևտիկ ազդեցություն տարբեր հիվանդությունների ժամանակ: Այսպես, օրինակ՝ կոբրայի թույնի ցիտոտոքսիններն, օրինակ, կարող են օգտագործվել որպես հակաքաղցկեղային միջոց, քանի որ ըստ բազմաթիվ դեղագործական ընկերությունների՝ նրանք ունակ են արդյունավետ կերպով քայքայելու որոշակի քաղցկեղային բջիջներ, ինչպիսին են, օրինակ, լեյկոզի դեպքում առաջացող բջիջները (Dubovskii P. *et al* 2013, Wu M. *et al* 2013): Տույց է տրված, որ օձի թույնի Zn²⁺ – պարունակող մետաղապրոտեազները կարող են կիրառվել երակների խորը

թրոմբոզների և նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների բուժման ժամանակ: Կոբրայի թույնից անջատված սպիտակուցը՝ կոբրայի թույնի գործոնը (cobra venom factor, CVF) բերում է կոմպլեմենտի համակարգի ֆունկցիայի կրճատմանն՝ ակտիվացնելով այլընտրանքային ուղին: CVF-ի ներորովայնային ներարկումը զգալիորեն իջեցնում է հետիշեմիկ ուղեղային ինֆարկտի մակարդակը հասուն և նեոնատալ առնետների մոտ (Figueroa E. *et al* 2005): Կոմպլեմենտի ակտիվացումը բերում է հետիշեմիկ ուղեղային վնասմանն առնետների մոտ: Կոմպլեմենտի համակարգի ֆունկցիայի կրճատումը CVF-ի առկայությամբ փոքրացնում է ուղեղի պերիտոնիալ էդեման ներուղեղային արյունահոսություն ունեցող առնետների մոտ (Xi G. *et al* 2001): Այս պրոցեսում կարևոր դեր է խաղում կոմպլեմենտի համակարգի ակտիվացումը: Կոմպլեմենտի համակարգի ակտիվացման պահպանումը կարող է արդյունավետ լինել ներուղեղային արյունահոսության բուժման համար:

Օձի թույնի սպիտակուցներն օժտված են դեղագործական այնպիսի հատկություններով, որոնց շնորհիվ կարող են օգտագործվել բազմաթիվ հիվանդությունների բուժման համար, օրինակ՝ հեմոֆիլիա, քաղցկեղ, աուտոիմունային հիվանդություններ:

1.3. Ազատ ռադիկալային պրոցեսներն և լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացումն օնկոլոգիական պաթոլոգիաների ժամանակ

Վերջին տարիներին կենդանական տոքսինների կիրառությունը բժշկության և քիմիական արդյունաբերության մեջ բավական արդյունավետ է, սակայն նման նյութերի փոխազդեցությունը կենդանի հյուսվածքների հետ շատ դեպքերում բացահայտված չէ: Հայտնի է, որ այս կենսաբանական ակտիվ նյութերն ազդում են կենսաբանական թաղանթների վիճակի և կենսաքիմիական չափանիշների վրա: Այս տեսակետից հետաքրքրություն է ներկայացնում լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման (LFO) և լիպիդային երկշերտի իոնային թափանցելիության փոփոխությունն օձերի թույների ակտիվ բաղադրամասերի հետ թաղանթների փոխազդեցության ժամանակ: Քիմյումինեսցենտային անալիզի օգնությամբ իրական ժամանակում կարելի է հետևել բնական կենսաթաղանթների ազատ ռադիկալային օքսիդացման փոփոխություններին:

Ներկայիս գիտությունն, որն ուսումնասիրում է ԼԳՕ գործընթացները կենսաբանական թաղանթներում, հիմնվում է Բախ-Էնգլերի կողմից ձևակերպված գերօքսիդային օքսիդացման տեսության վրա: ԼԳՕ-ի ժամանակ շղթայական ռեակցիաների արդյունքում առաջանում են կայուն մոլեկուլային պրոդուկտներ: Այդ պրոդուկտների առաջացումն ազատ ռադիկալների ռեկոմբինացիայի հետևանքով ուղեկցվում է էներգիայի անջատմամբ ($\Delta H \approx 294,42$ կՋ/մոլ): Այդ էներգիան բավարար է, որ պրոդուկտները հայտնվեն գրգռված վիճակում (Ayvazian N. *et al* 2002): Պրոդուկտների հետագա անցումը գրգռված վիճակից հիմնական վիճակի ուղեկցվում է լույսի քվանտի առաքմամբ՝ քիմլումինեսցենցիայով (ՔԼ): Օքսիդացման ռեակցիայի պրոդուկտներ են հանդիսանում տրիպլետային վիճակում գտնվող կետոնները: Գրգռված վիճակում այդպիսի կետոնի ի հայտ գալը բնութագրվում է գրգռման քվանտային ելքով՝ $\eta_{գրգ.}$, իսկ գրգռված վիճակից անցումը հիմնական վիճակի որոշվում է առաքման քվանտային ելքով՝ $\eta_{առաք.}$: ՔԼ-ի ինտենսիվությունը՝

$$L = \eta_{առաք.} \cdot \eta_{գրգ.} \cdot [RO_2 \cdot]^2$$

Հիմնական պրոցեսներն, որոնք առաջացնում են գերթույլ լուսարձակում, հանդիսանում են լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման ռեակցիաները:

Հայտնի է, որ չարորակ նորագոյացությունների առաջացման դիսկի գործոնների մեջ մեծ դեր են խաղում լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման պրոցեսների հավասարակշռության խախտումները: Օքսիդանտային և հակաօքսիդանտային պրոցեսների փոխկապակցված հավասարակշռության խախտման դեպքում հակաօքսիդանտային համակարգը լավ չի գործում, ինչի հետևանքով տեղի է ունենում ազատ ռադիկալների անթույլատրելի քանակությամբ կուտակում: Դա բերում է նուկլեինաթթուների վնասման, բջիջների պրոլիֆերացիայի և ապոպտոզի խախտման, ինչը մեծ դեր ունի բջիջների չարորակ վերափոխումների և ուռուցքային պրոգրեսիայի մեջ:

ԼԳՕ պրոցեսների դերը չարորակ նորագոյացությունների առաջացման մեջ հաստատված է բազմաթիվ հետազոտություններում: Ներկայումս կաթնագեղձի և գլխուղեղի ուռուցքների ազատ ռադիկալային պրոցեսների համեմատությունը գրականության մեջ ներկայացված չէ: Այդ համեմատությունը թույլ կտա տեսնել

օրգանիզմում տեղի ունեցող կենսաքիմիական գործընթացների միջև տարբերությունները տարբեր օնկոլոգիական նորագոյացությունների առկայության դեպքում,։ Կաթնագեղձի և գլխուղեղի չարորակ ուռուցքների ԼԳՕ պրոցեսների մասին գրականության մեջ հանդիպող տվյալները բավականին հակասական են։ Օրինակ՝ կաթնագեղձի քաղցկեղի դեպքում ներկայացված են ինչպես ԼԳՕ պրոցեսների ուժեղացում, այնպես էլ՝ նկատելի փոփոխությունների բացակայություն կամ, նույնիսկ դրանց նվազում։ Ինչպես նաև, ցույց է տրված, որ կաթնագեղձի քաղցկեղի դեպքում ազատ ռադիկալային օքսիդացման պրոցեսների ավելացումն ուղիղ համեմատական է հիվանդության փուլին։

Օձի թույնը հակաօքսիդանտ է հանդիսանում։ Ապոպտոզը հաճախ ուղեկցվում է լիպիդների օքսիդացմամբ (Wang F. *et al* 2009)։ Այդ իսկ պատճառով լիպիդների օքսիդացումը կարևոր չափանիշ է հանդիսանում քաղցկեղային բջիջների վրա թույնի ազդեցության ուսումնասիրման համար։ Լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացումն իրենից ներկայացնում է լիպիդների օքսիդատիվ քայքայում, որի ընթացքում էլեկտրոնների հոսք է նկատվում թաղանթային լիպիդներից։ Այս պրոցեսը շատ վտանգավոր է բջջի համար, կարող է նույնիսկ բջջի մահվան պատճառ դառնալ (Ahluwalia S. *et al* 2015)։ Թույնում առկա L – ամինաթթվային օքսիդազը կապված է ապոպտոզի ակտիվացման հետ։ Այս ֆերմենտը խթանում է ջրածնի պերօքսիդի առաջացումն, որն էլ բերում է ապոպտոզի իրականացմանը (Da Silva R. *et al* 2002)։

Օձի թույնի բաղադրիչները հիմնականում արգելակում են բջջի պրոլիֆերացիան և խթանում են բջջի մահը։ Այս պրոցեսների իրականացման հիմքում ընկած են մի շարք մեխանիզմներ՝ կալցիում իոնների ներհոսքի քանակի ավելացումը, ցիտոքրոմ C – ի արտազատման խթանումը, բջջային ցիկլը կառավարող սպիտակուցների էքսպրեսիայի ավելացումը կամ նվազումը, թրոմբինով պայմանավորված մետաստազների առաջացման կանխումը։ Այս բաղադրիչները խթանում են քաղցկեղային բջիջների ապոպտոզը, քանի որ պայմանավորում են այդ բջիջների չափը, տրքսիկությունը և ազատ ռադիկալների առաջացումը։ Օձի թույնի բաղադրիչներն արգելակում են նուկլեինաթթվի սինթեզը, քանի որ ճնշում են բջջի պրոլիֆերացիան, նվազեցնում են մատրիքսի մետաղապրոտեազների էքսպրեսիան և

ակտիվությունը: Թույնն արգելակում է նաև ինտեգրինների ակտիվությունը՝ կանխելով քաղցկեղային բջիջների միգրացիան և անգիոգենեզը (Shanbhag V. 2015):

1.4. ԴՆԹ-ի շարժունակության ուսումնասիրությունը դեղորայքների սկրինինգի ժամանակ

ԴՆԹ-ի շարժունակության ուսումնասիրության (electrophoretic mobility shift assay, EMSA) մեթոդը հանդիսանում է ամենապարզ և ընդհանուր հետազոտական ձևը ԴՆԹ-սպիտակուցային փոխհարաբերությունները *in vitro* պայմաններում ուսումնասիրելու համար: Այս մեթոդի հիմքում ընկած է ԴՆԹ-սպիտակուց կոմպլեքսի, պոլիակրիլամիդային կամ ագարոզային չքնափոխվող գելի միջով անցման արագության փոփոխությունը՝ համեմատած ԴՆԹ-ի ազատ մոլեկուլի շարժման արագության հետ: EMSA մեթոդը պրակտիկորեն միարժամանակ առաջարկվել է ամերիկացի հետազոտողների երկու խմբերի կողմից (Fried M. and Crothers D. 1981, Garner M. and Revzin A. 1981): Քանի որ ԴՆԹ-սպիտակուց կոմպլեքսի գիծը գելի վրա բավականաչափ լողված է և ետ է մնում ազատ ԴՆԹ-ի գծից, ապա վիզուալ կերպով հեշտությամբ կարելի է հայտնաբերել, թե դրանցից որն է ավելի շարժունակ: ԴՆԹ-սպիտակուց կոմպլեքսի վիզուալիզացիայի համար օգտագործում են էթիդիում բրոմիդով ներկված ԴՆԹ կամ ռադիոակտիվ իզոտոպով նշված ԴՆԹ:

EMSA մեթոդով կարող են հայտնաբերվել ոչ միայն բավականին ուժեղ (ասոցացման հաստատունը $10^6 M^{-1}$), այլ նաև, հարաբերականորեն ավելի թույլ ասոցիացիայի հաստատունով՝ $10^9 M$ ԴՆԹ-սպիտակուց կոմպլեքսները: Այս կարևոր փաստը (թույլ կոմպլեքսների կյանքի տևողությունը մի քանի ժամ տևողությամբ էլեկտրաֆորեզի ժամանակ չի գերազանցում կես վարկյանը) բացատրվել էր պոլիակրիլամիդային գելի խորշերի կայունացնող հատկությունների մասին տեսական աշխատանքներում (Rowe S. and O’Gara J. 2015):

EMSA մեթոդը կիրառելի է ոչ միայն անջատված ԴՆԹ-ի սպիտակուցային կոմպլեքսների ուսումնասիրության, այլև ԴՆԹ-կապող սպիտակուցների բարդ խառնուրդների իդենտիֆիկացիայի համար:

ԴՆԹ-ի և սպիտակուցի կապման սպեցիֆիկությունը կարելի է ստուգել մրցակցային EMSA մեթոդով՝ կապման ռեակցիային ավելացնելով ներկված ԴՆԹ-ի

ավելցուկը՝ սպիտակուց կապող հատված պարունակող կամ այդպիսին չպարունակող: Եթե ԴՆԹ-ի կապումը սպիտակուցի հետ սպեցիֆիկ է տվյալ հաջորդականության համար, ապա առաջին դեպքում ներկված ԴՆԹ-ի գծերը, որոնք համապատասխանում են ԴՆԹ-սպիտակուց կոմպլեքսին, կոնցենտրացիայի հաշվին կթուլանան կամ կանհետանան: Իսկ երկրորդ դեպքում փոփոխություններ տեղի չեն ունենա (Hellman L. and Fried M. 2007):

EMSA մեթոդի կիրառման ժամանակ ԴՆԹ-ի հետ կոմպլեքս առաջացնող կոնկրետ, ստուգիչ սպիտակուց ընդհանուր առմամբ չկա: Եթե այդ կոմպլեքսի ձևավորման մեջ կան ինչ-որ սպիտակուցի մասին ենթադրություններ, ապա դա կարելի է ստուգել էլեկտրաֆորետիկ շարժի լրացուցիչ շեղման միջոցով (supershift assay) (Kristie T. and Roizman B. 1986): Դրա համար կոմպլեքսի առաջացման ժամանակ ռեակցիոն խառնուրդի մեջ ավելացնում են սպիտակուցին համապատասխան հակամարմիններ, որոնք, կապվելով ԴՆԹ-սպիտակուց կոմպլեքսի հետ, լրացուցիչ դանդաղեցնում են շարժունակությունը գելում (Holden N. and Tacon C. 2011): Էլեկտրաֆորետիկ շարժի լրացուցիչ հերթափոխման մեթոդը կարող է նաև օգտագործվել բարդ սպիտակուցների այն բաղադրիչի բացահայտման համար, որը պատասխանատու է սպիտակուցի՝ ԴՆԹ-ի հետ կապման համար: Սակայն, երբեմն հակամարմինների ավելացումից հետո սկզբնական ԴՆԹ-սպիտակուցային կոմպլեքսը չի առաջանում: Սրանից ենթադրվում է, որ որոշակի ենթամիավորի հակամարմինը խանգարում է սպիտակուցի փոխազդեցությանը ԴՆԹ-ի հետ, իսկ այդ ենթամիավորը պատասխանատու է ԴՆԹ-սպիտակուց կոմպլեքսի առաջացման համար:

Այս մեթոդի առանձնահատկությունը կայանում է հեշտության, զգայունության և ընտրողականության մեջ: EMSA մեթոդի միջոցով հեշտությամբ բացահայտվում է կոնկրետ սպիտակուցի առկայությունն, որը կապվում է ԴՆԹ-ի որոշակի հաջորդականության հետ, նույնիսկ, եթե այն առկա է մի քանի պիկոգրամների հասնող քանակությամբ՝ հարյուրավոր սպիտակուցների խառնուրդում: Մեթոդի հիմնական թերությունը ԴՆԹ-ի և սպիտակուցների կապման պայմանների անհամապատասխանությունն է *in vivo* պայմաններին (Hellman L. and Fried M. 2007, Wang Y. et al 2012):

1.5. Թույլների բուժիչ ազդեցությունը նեյրոդեգեներատիվ

խախտումների ժամանակ

ԿՆՀ-ում առկա ընկալիչների ֆունկցիայի խաթարումը կապված է տարբեր նյարդային հիվանդությունների՝ Ալցհեյմերի (ԱՀ), Պարկինսոնի հիվանդության (ՊՀ), շիզոֆրենիայի հետ: Օրինակ՝ ճանաչողական խաթարումներն, որոնք ի հայտ են գալիս ԱՀ-ի դեպքում, պայմանավորված են խոլիներգիկ ընկալիչների դիսֆունկցիայով: Բացահայտվել է, որ այս դիսֆունկցիայի դեպքում իր ուրույն դերն ունի մուսկարինային ընկալիչների M1 ենթատիպը (Langmead C. *et al* 2008): M1-ի ընտրողական ազոնիստը կարող է վերականգնել խոլիներգիկ ընկալիչների ֆունկցիան և մեղմացնել հիվանդության ընթացքը: Այս ազդեցությունը կարող է ուժեղացվել, եթե անտագոնիստի միջոցով արգելակվեն M2 պրեսինապտիկ ընկալիչներն, ինչը կբերի ացետիլխոլինի քանակի ավելացմանը: Պարկինսոնի հիվանդության ժամանակ նույնիսկ, եթե գործնականում կիրառել են հակախոլիներգիկ դեղամիջոցներ մինչ L-DOPA-ի հայտնաբերումը, ապա M4 անտագոնիստի դերը դոֆամին – ացետիլխոլին հաշվեկշռի վերականգման մեջ պարզվել է միայն վերջերս (Langmead C. *et al* 2008):

ՊՀ-ն նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների շարքում հանդիսանում է ամենատարածված շարժողական խախտումներով բնութագրվող հիվանդությունը: Այն կապված է նաև հոգեկան վիճակի աստիճանական անկման հետ: Չնայած բազմաթիվ ուսումնասիրությունների, դեռևս անհրաժեշտ է բացահայտել նոր ավելի արդյունավետ դեղամիջոցներ: Տարբեր օձերի թույլների փոքր չափաբաժիններն օժտված են իմունախթանիչ և նյարդապաշտպան հատկություններով և կարող են օգտակար լինել պարկինսոնիզմի բուժման ժամանակ: Ցույց է տրված, որ *Naja naja oxiana* (NOX) օձի թույլի փոքր չափաբաժիններն ազդում են որպես նյարդապաշտպան գործոն: ՊՀ-ում շարժողական ախտանիշները հանդիսանում են հիմնականում սև նյութում առկա նեյրոմելանին պարունակող դոֆամիներգիկ և որոշ չափով կատեխոլամիներգիկ նեյրոնների զարգացող և ընտրողական ախտահարման արդյունք (Brooks D. 2004; Fahn S. and Sulzer D. 2004): ՊՀ-ում ճանաչողական խանգարումը պայմանավորված է դոֆամինի և ացետիլխոլինի քանակների խաթարմամբ (Calabresi P. *et al* 2006): Շարժողական ֆունկցիաների խաթարումը պայմանավորված է այդ հաշվեկշռի

խաթարմամբ՝ նվազում է դոֆամիներգիկ նեյրոնների և աճում է խոլիներգիկ նեյրոնների ակտիվությունը: Սա էլ բերում է դոֆամիներգիկ և ագետիլխոլինային ընկալիչների ակտիվացմանը:

ԱՀ-ն ուղեղի տարիքային դեգեներատիվ հիվանդություն է, որը բերում է ճանաչողական և վարքագծային խաթարումների (Bhattacharjee P. and Bhattacharyya D. 2013): ԱՀ-ի ախտաբանական բնութագրիչներից են հանդիսանում ուղեղում ամիլոիդ (A) սպիտակուցի թելիկներից ամիլոիդային սկավառակների ձևավորումը և դրանց արագ կուտակումը: Կարևոր բնութագրիչ է հանդիսանում նաև նեյրոնի թաղանթի խոլեստերոլով հարուստ հատվածներում ամիլոիդային (A) պեպտիդի ագրեգատների կուտակումը որպես ամիլոիդային արտաբջջային պահեստ (Bitan G. *et al* 2003, Friedrich R. *et al* 2010): Տույց է տրված, որ և ներբջջային, և արտաբջջային A պեպտիդը առաջանում է ամիլոիդի նախորդող սպիտակուցի ֆերմենտային ճեղքավորման շնորհիվ: Դրա շնորհիվ A պեպտիդների ընտանիքում առկա են տարբեր քանակով ամինաթթվային մնացորդներից կազմված սպիտակուցներ: Ինչպես առողջ, այնպես էլ ԱՀ-ով հիվանդ ուղեղում լայնորեն տարածված է 42 ամինաթթվային մնացորդից կազմված ամիլոիդային պեպտիդը (A42) (Sakono M. and Zako T. 2010): A մոնոմերի և թելիկների միջև միջանկյալ օղակ է հանդիսանում լուծելի օլիգոմերները՝ A-ից առաջացած փոքր դիսուլֆիդային լիգանդներն և պրոտոթելիկները: Այս օլիգոմերներն ավելի տոքսիկ են բջջի համար քան հասուն թելիկները (Huang T. *et al* 2000, De Felice F. *et al* 2001): Օլիգոմերների տոքսիկությունը բացատրվում է նրանց ամֆիֆիլությամբ, ագրեգացման աստիճանով, կովալենտ մոդիֆիկացիաներով: A պեպտիդը կարևոր դեր է խաղում նեյրոնի կենսունակության, սինապտիկ ճկունության և ուղեղում նյարդային բջիջների կապի միջոցով տեղեկատվության փոխանցման գործընթացում (Pearson H. and Peers C. 2006, Abramov E. *et al* 2009): Առողջ մարդու պլազմայում A պեպտիդի նյութափոխանակությունը կարգավորվում է ցածր խտությամբ լիպոպրոտեինային ընկալիչին կապված սպիտակուց – 1-ի լուծելի ձևով (sLRP1), որի շնորհիվ ուղեղից պլազմա է գնում 70 – 90 % A պեպտիդ: ԱՀ-ի դեպքում A-ի ազատ ֆրակցիան պլազմայում ավելանում է, քանի որ պլազմայում ցածր է sLRP1-ի մակարդակը: Քանի որ ԱՀ-ի դեպքում sLRP1-ի (soluble lipoprotein receptor-related

protein-1) կապվելու ունակությունը A-ին նվազում է և փոքրանում է A-ի արտազատման քանակը և հակառակը մեծանում է ներթափանցման քանակը հեմատոէնցեֆալիկ պատնեշով (Deane R. *et al* 2009): A պեպտիդը բերում է նյարդային ֆունկցիայի խաթարմանը՝ փոխազդելով բջջի մակերեսային ընկալիչների հետ: A պեպտիդի նեյրոտոքսիկ ազդեցության շնորհիվ առաջանում է ռեակտիվ թթվածին, խթանվում է ապոպտոզային կասկադը, փոխվում է թաղանթի դիէլեկտրական հատկություններն և իոնային թափանցելիությունը (Benilova I. *et al* 2012): Ախտաբանական A ազդեցատների սպեցիֆիկ թիրախային արգելակիչների մոդելավորումը կարող է օժանդակել թերապևտիկ միջոցառումների զարգացմանը: Այդ իսկ պատճառով, A մոնոմերից ազդեցատների ձևավորման արգելակումն, ինչպես նաև, նրանց ապակայունացումը կարող է օժանդակել հիվանդության կանխարգելմանը: Ռասելի իժի թույնը (*Russell's viper venom, RVV*) պարունակում է սպիտակուցներ, որոնք ապակայունացնում են A ազդեցատները: RVV-ի այդպիսի ակտիվ բաղադրիչ է հանդիսանում V-րդ գործոն ակտիվատորը (RVV-V): Սակայն դեռևս հստակ պարզաբանված չէ RVV-V-ի ազդեցության մեխանիզմը: Ամիլոիդային պեպտիդների, մասնավորապես A 1-42, ազդեցացված ձևերն ունեն ցիտոտոքսիկ ազդեցություն, որը բերում է նեյրոնների մահվանը (Butterfield D. *et al* 2002a, Butterfield D. *et al* 2002b): Ամիլոիդային պեպտիդները խթանում են աստրոցիտներին արտազատել ցիտոկիններ և ազոտի երկօքսիդ (Akama K. *et al* 2000), որոնք էլ նպաստում են օքսիդատիվ և բորբոքային պատասխանի աճին ԱՀ-ի ժամանակ (Mattson M. 2002, Perry G. *et al* 2002): Ամիլոիդոզին ավելի բնորոշ է լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացումը քան ամիլոիդային սկավառակների կուտակումը (Pratico D. *et al* 2001): ԱՀ-ի դեպքում ուղեղում դիտվում է թաղանթի ֆոսֆոլիպիդային կազմի փոփոխություններ, PE_{pl}-ի (ethanolamine plasmalogen) նվազում (Han S. *et al* 2001): Հիվանդության սկզբնական փուլերում ուղեղի սպիտակ նյութում ի հայտ են գալիս պլազմալոգենային ֆոսֆոլիպիդներ: Պլազմալոգենները սինթեզվում են պերօքսիսոմներում: Այնուամենայնիվ հայտնի չէ՝ արդյոք ԱՀ – ով հիվանդ ուղեղում այդ ֆոսֆոլիպիդների քանակի կրճատումը կապված է պերօքսիսոմալ հիվանդության հետ, քանի որ ուղեղում PE_{pl} – ը հարուստ է DHA – ով (docosahexaenoic acid) (Sun G. *et al* 2004):

Այսպիսով, PE_{pl} – ի պակասը կարող է բերել DHA – ի պակասին, որն էլ բերում է ուղեղի կարևոր ֆունկցիաների, օրինակ՝ ուսուցման ունակության խաթարմանը (Farooqui A. and Horrocks L. 2001): PE_{pl} – ն ունակ է պաշտպանելու խոլեստերոլով հարուստ թաղանթներն օքսիդատիվ սթրեսից (Maeba R. *et al* 2002): Բացի այդ, PE_{pl} –ի բացակայությունը կարող է բերել խոլեստերոլի տեղափոխման ուղու փոփոխությանը (Munn N. *et al* 2003):

Օձի թույնում ցիտոտոքսիների սպիտակուց կապող հատվածները կատալիտիկ ակտիվ PLA_2 -ներն են: Այս PLA_2 -ները ֆոսֆոզլիցերիդներում խթանում են 2 - ացիլ էսթեր կապի Ca^{2+} -կախյալ հիդրոլիզն, որի արդյունքում առաջանում են ճարպաթթուներ և լիզոֆոսֆոլիպիդներ: Այս PLA_2 -ները իրենց կառուցվածքով նման են կաթնասունների էնդոգեն PLA_2 -ներին, որոնք մասնակցում են բորբոքային պրոցեսներին (Burke J. and Dennis E. 2009): PLA_2 -ը պատկանում է ֆերմենտների այն ընտանիքին, որը կատալիզում է ֆոսֆոլիպիդների $sn2$ դիրքում գտնվող ճարպաթթուների ճեղքումը: PLA_2 -ի բոլոր մեծ խմբերն առկա են ԿՆՀ-ում: Քանի որ շատ նեյրոդեգեներատիվ հիվանդություններ կապված են օքսիդատիվ և բորբոքային պատասխանների աճի հետ, այդ իսկ պատճառով ուսումնասիրվել է PLA_2 -ի դերը ուղեղային իշեմիայի, նեյրոնային վնասման և Ալցհեյմերի հիվանդության ժամանակ: Այս ֆերմենտները ոչ միայն կարևոր են բջջաթաղանթի ֆոսֆոլիպիդների պահպանման համար, այլև կարգավորում են այն նյութերի արտազատումն, որոնցից սինթեզվում են էփկոզանոիդները: Կան որոշակի պայմաններ, համաձայն որոնց, սպեցիֆիկ PLA_2 -ները մասնակցում են Ալցհեյմերի հիվանդությանը: Ալցհեյմերի հիվանդության դեպքում իջնում է PLA_2 -ի ակտիվությունը գլխուղեղի կեղևի որոշ հատվածներում (Talbot K. *et al* 2000): Նեյրոդեգեներատիվ հիվանդություններում տարբեր տիպի PLA_2 -ի դերը ամբողջովին պարզաբանված չէ, քանի որ առկա է համալիր բջջային կապ և ուղեղում առկա են տարբեր բջիջներ:

Նեյրոտոքսիկ թույների հիմնական բաղադրիչ հանդիսացող նեյրոտոքսիները ճանաչում և կապվում են նիկոտինային ացետիլխոլինային ընկալիչների հետ, որոնք մեծ քանակով էքսպրեսիայի են ենթարկվում ԿՆՀ-ում: Իժերի թույնը նույնպես պարունակում է բազմաթիվ նեյրոտոքսիներ: Օձի թույնում գլխավոր տոքսիներն,

որոնք ազդում են ԿՆՀ-ի վրա, նեյրոտոքսիներն և դենդրոտոքսիներն են: Նեյրոտոքսիներով թունավորման դեպքում զարգանում է գլխուղեղի նյարդերի կաթված, որը բնորոշվում է տեսողության վատացմամբ, կլման ակտի դժվարեցմամբ, անհասկանալի խոսքով, դիմային մկանների խաթարմամբ: Իսկ դենդրոտոքսիներն արգելակում են նեյրոններում որոշ կալիումական անցուղիների ենթատիպեր: Լավ ուսումնասիրված են α -նեյրոտոքսիներն, որոնք կապվում են նիկոտինային ացետիլխոլինային ընկալիչների հետ: Նրանք ունակ են դարձելիորեն արգելակել նյարդային փոխանցումը՝ կապվելով կմախքային մկաններում և նյարդերում տեղակայված նիկոտինային ացետիլխոլինային ընկալիչների հետ: Սա կանխում է նյարդամկանային փոխանցումն և այդ իսկ պատճառով շնչահեղձուկի հետևանքով բերում է մահվան (Tsetlin V. and Hucho F. 2004): Այս մուսկարինային ընկալիչները մեծ նշանակություն ունեն նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների՝ ԱՀ-ի, պարկինսոնի հիվանդություն բուժման համար:

β -նեյրոտոքսիներն նախասինապտիկ ճանապարհով ազդում են ացետիլխոլինի արտազատության վրա: Ազդեցության այս մեխանիզմը տարբեր է տարբեր β -նեյրոտոքսիների համար: Նրանք պատասխանատու են բարձր տոքսիկության և շնչառական կաթվածի համար: Կրոտոտոքսինը պրեսինապտիկ նեյրոտոքսին է, որն օժտված է ցիտոտոքսիկ ակտիվությամբ, կիրառվում է որպես հակաքաղցկեղային գործոն (Cura J. *et al* 2002):

Տարբեր ացետիլխոլինային ընկալիչներ ներառված են կենսականորեն կարևոր պրոցեսներում և նրանց թերֆունկցիան կարող է լինել տարբեր հիվանդությունների պատճառ: Այդ իսկ պատճառով ացետիլխոլինային ընկալիչների ենթատիպերի քանակի որոշումը շատ կարևոր է: Այս նպատակով հակամարմինների և այլ բաղադրիչների հետ միասին օգտագործվում են պատշաճ կերպով նշադրված K-նեյրոտոքսինն և K-կոնտոքսինը: Էսոլիներգիկ համակարգը ներառված է ճանաչողական ֆունկցիայի իրականացման մեջ, այդ իսկ պատճառով Ալցհեյմերի հիվանդության դեպքում նվազում են տարբեր նյարդային ացետիլխոլինային ընկալիչները (Lindstrom J. 2000):

Նույնիսկ եթե ենթադրվի, որ բոլոր դասական մուսկարինային տոքսիններն առանձնացվել են *Dendroaspis* ցեղին պատկանող օձերից, կան որոշակի ուսումնասիրություններ, ըստ որոնց՝ ՄՏ-նման սպիտակուցներն, որոնք ունակ են փոխարինվելու այլ ռադիոակտիվ մուսկարինային լիգանդներով (3H-QNB and 3H-NMS), առկա են նաև այլ օձերի թայնում: Օրինակ՝ *Naja naja*, *Crotalus atrox*, and *Naja atra* օձերի թայնից անջատված մոնոմերային և դիմերային PLA₂ տոքսինները խնամակցություն են ցուցաբերում տարբեր մուսկարինային ագետիլխոլինային ընկալիչների ենթատեսակների նկատմամբ (ամենաբարձր խնամակցությունը դիտվում է M5-ի դեպքում) (Miyoshi S. and Tu A. 2000; Huang L. et al 2008): Արգելակման այս հատկությունները չեն համապատասխանում այս տոքսինների ֆերմենտային ակտիվության հետ: Որպես մուսկարինային անտագոնիստ՝ այս տոքսինների ազդեցությունը կախված չէ ջերմաստիճանից, ի տարբերություն այս տոքսինների լիպոլիտիկ ակտիվության (Da Silva D. et al 2011): Վերջերս բացահայտված չինական կորբայի PLA₂-ները բերում են ագետիլխոլինային ընկալիչների կրճատմանն, որը վկայում է PLA₂-ի մասնակի անտագոնիստական ազդեցության մասին մուսկարինային ագետիլխոլինային ընկալիչների վրա (Huang L. et al 2008): Սակայն երկու երեք մատանի փաթեթավորված տոքսիններ, որոնց ամինաթթվային հաջորդականության ավելի քան 50 %-ը իդենտիկ է մուսկարինային տոքսինների հետ, հայտնաբերվել են *Naja kaouthia* օձի թայնում, չնայած նրանք ունեն շատ ցածր խնամակցություն մուսկարինային ագետիլխոլինային ընկալիչների նկատմամբ (Kukhtina V. et al 2000): *Bungarus multicinctus* օձի թայնից անջատված տոքսիններից մեկը մասնակիորեն արգելակում է 3H – QNB-ի կապումը M2 ընկալիչի հետ: Այս տոքսինի կապումն արգելակող ունակությունը կախված է տոքսինի հաջորդականությունում լիզինի առկայությունից (Chung C. et al 2002):

Օձի թայնի 3 մատանի փաթեթավորված մուսկարինային տոքսինները միակ լիգանդներն են, որոնք դրսևորում են խնամակցության բարձր մակարդակ՝ փոխազդելով տարբեր մուսկարինային ընկալիչների հետ: Մուսկարինային նեյրոտոքսիններն անջատվել են *African mamba* - ների թայնից և արգելակում են ընտրողական մուսկարինային լիգանդների կապումը [3H-quinuclidinyl benzilate (QNB)

and 3H-N-methylscopolamine (NMS)] մուսկարինային ընկալիչներով հարուստ աղբյուրների հետ: Առաջին երկու տոքսինները՝ ՄՏ1 և ՄՏ2, անջատվել են 20 տարի առաջ *Dendroaspis angusticeps* օձի թույնից: Մյուս տոքսիններն անջատվել են ավելի ուշ նույն թույնից կամ *Dendroaspis polylepis*, *Dendroaspis viridis* օձերի թույներից (Bradley K. 2000): ՄՏ2 տոքսինն անկայուն է, քանի որ պարունակում է մասնակի անկայուն Asp 53 - Pro54 կապը: Մուսկարինային ընկալիչները ցուցաբերում են բարձր խնամակցություն հատուկ նիկոտինային ագետիլխոլինային ընկալիչների ենթատեսակների նկատմամբ (Bradley K. et al 2003; Jerusalinsky D. et al 2000):

Պարզաբանված չէ մուսկարինային տոքսինների մահացու դեղաչափը, քանի որ նրանք ունեն ցածր տոքսիկություն: *D. angusticeps* օձի թույնից անջատվել է մի ատիպիկ մուսկարինային ընկալիչ, որի հաջորդականությունը մասամբ պարզաբանված է: Այս Մ2 տոքսինն իր հաջորդականությամբ ավելի հոմոլոգ է նիկոտինային տոքսիններին, քան մուսկարինային, թեպետ ավելի ընտրողաբար փոխազդում է M2 ընկալիչների հետ:

Տարբեր նիկոտինային ագետիլխոլինային ընկալիչների ենթատեսակներով միջնորդավորված ազդանշանների ավելացումը կամ նվազումը ընկած է ԿՆՀ – ի որոշ հիվանդությունների՝ ԱՀ-ի, ՊՀ-ի, ընկճախտի, շիզոֆրենիայի, էպիլեպսիայի հիմքում (Felder C. et al 2000): *Elapidae*- ի թույնի մուսկարինային նեյրոտոքսիններն առանձնացվել են *green mamba* օձի թույնից: Չնայած մուսկարինային տոքսինները պատկանում են երեք մատանի կառուցվածքներ պարունակող տոքսինների ընտանիքին (Kini R. 2002), նրանք ունեն տարբեր ֆունկցիաներ և տարբեր ձևով են փոխազդում ագետիլխոլինային ընկալիչների ենթատեսակների հետ: Այլ մուսկարինային տոքսիններին նման սպիտակուցներն, որոնք օժտված են PLA₂-ի ակտիվությամբ, անջատվել են *Naja naja putatrix*, *Naja atra* (*Chinese cobra*) և *Crotalus atrox* օձերի թույներից (Huang L. et al 2008): Մ4 ընկալիչները միջնորդավորում են գլյուտամատի արտազատման խոլիներգիկ սուպրեսիան (Shirey J. et al 2008; Dasari S. and Gullledge A. 2011):

1.6. Թույնի բաղադրամասերի օգտագործումը նոր դեղամիջոցների մշակման համար

Նյարդաբանական հիվանդությունների բուժման համար դեղամիջոցը պիտի կարողանա թափանցել հեմատոէնցեֆալիկ ընտրողական և ամուր պատնեշը: Այդ պատնեշը հաղթահարելու համար նյութերը պետք է օժտված լինեն որոշակի պարամետրերով (De Vries H. *et al* 1997): Պեպտիդի համար այդպիսի բնորոշիչներ են հանդիսանում չափը, մոլեկուլային զանգվածը, կառուցվածքը, ամինաթթուների հաջորդականությունը և հատկություններն շղթայում (Witt K. and Davis T. 2006): Այն մոլեկուլներն, որոնք ունեն դարձելի կապեր և ավելի քան 450 Դա կշիռ, չեն կարող հաղթահարել հեմատոէնցեֆալիկ պատնեշը (Abbott N. *et al* 2010): Բորբոքային գործընթացների ժամանակ այս պատնեշն ավելի թափանցելի է դառնում որոշ հակաբիոտիկների ու ֆագոցիտների համար (Phares T. *et al* 2006): Այս տեղեկատվությունն ունի կարևոր դեղաբանական նշանակություն:

Ըստ իրենց ազդեցության մեխանիզմի՝ բոլոր թույները կարող են բաժանվել երկու խմբի: Առաջին խմբի թույներն ունեն հեմատոքսիկ ազդեցություն՝ վնասում են անոթային համակարգը: Իժերի (*Viperidae*) թույնը պատկանում է այս խմբին: Մյուս խմբում ներառված են նեյրոտոքսիկ թույներն, որոնք ազդում են նյարդային համակարգի վրա: Ասպիդների (*Elapidae*) ընտանիքի օձերին պատկանող թույնը հիմնականում պատկանում է այս խմբին: Սակայն, այս դասակարգումը այդքան էլ հստակ չէ, քանի որ նեյրոտոքսիկ թույները կարող են պարունակել հեմոտոքսիկ բաղադրիչներ և հակառակը: Կան շատ տվյալներ, ըստ որոնց օձի թույնն և նրանից անջատված առանձին նեյրոտոքսիկներն ազդում են հենց ծայրամասային նյարդային համակարգի վրա (Lewis R. and Gutmann L. 2004, Rossetto O. *et al* 2006), այլ ոչ ԿՆՀ-ի: Օձի թույնն և նրա բաղադրիչներն ավելի դժվարությամբ են ազդում ԿՆՀ-ի վրա, քանի որ նրանք հիմնականում իրենցից ներկայացնում են մեծ պոլիպեպտիդներ, որոնք դժվարությամբ կարող են հաղթահարել հեմատոէնցեֆալիկ պատնեշը: Սակայն սա ևս այդքան որոշիչ չէ, քանի որ կան դեպքեր, երբ այս պատնեշը հաղթահարվում է համեմատաբար մեծ սպիտակուցների կողմից, օրինակ իժերի թույների PLA₂-ները: Չնայած թույնի այն բաղադրիչներն, որոնք թափանցում են հեմատոէնցեֆալիկ

պատնեշով, շատ քիչ են, բայց նրանք հանդիսանում են նոր դեղամիջոցների մշակման լավագույն թեկնածուները:

Փոքր օրգանական մոլեկուլներ, պեպտիդներ, շապերոններ, ֆերմենտներ, հակամարմիններ պարունակող ցածր մոլեկուլային զանգվածով դեղամիջոցներն ուշադրության կենտրոնում են գտնվում ԱՀ-ի բուժման ժամանակ (Feng Y. *et al* 2009, Koren J. *et al* 2009): Քանի որ պեպտիդներն օժտված են մոլեկուլային թիրախին կապվելու բարձր պոտենցիալով և ընտրողականությամբ, այդ իսկ պատճառով՝ բավականին մեծ կիրառություն ունեն դեղամիջոցների մշակման գործում (Westermann J. and Craik D. 2008, Drag M. and Salvesen G. 2010): Նոր դեղամիջոցների մեծամասնությունը մոդելավորվել են երկրորդային մետաբոլիտներից, բնական նյութերից կամ էլ այնպիսի միացություններից, որոնք ևս ունեն բնական ծագում (Li J. and Vederas J. 2009): Օձի թույնը հարուստ է սպեցիֆիկ կենսաբանական ֆունկցիաներով օժտված սպիտակուցներով, պեպտիդներով և այլ մոլեկուլներով: Այդ մոլեկուլների կառուցվածքի և ֆունկցիաների բացահայտումը կօժանդակի թերապևտիկ նշանակությամբ նոր դեղամիջոցների բացահայտմանը: Անգիոտենզինը փոխակերպող ֆերմենտի արգելակիչներն՝ էքսենաթիդը և քլորոտոքսինը, հանդիսանում են տարբեր թույների սպիտակուցներից մշակված դեղամիջոցների օրինակներ (Shaw C. 2009): Կապտոպրիլը՝ թույնից առաջացած օռալ առաջին դեղամիջոցը անգիոտենզին – փոխակերպող ֆերմենտի (angiotensin converting enzyme, ACE) արգելակիչ է (Koh D. *et al* 2006):

Ռասսելի իժի *Daboia russelli russellii* ենթատեսակի թույնը հարուստ է PLA₂-ի իզոֆորմերով, կոագուլացնող գործոն-V-ով, X-ակտիվացնող պրոտեազով, հիալուրոնիդազներով, նուկլեազներով, պրոտեազի արգելակիչներով, հեմորագիկ տոքսիններով և որոշ այլ բաղադրիչներով: Վերջին տարիներին կատարված թույնի հետազոտություններն ոչ միայն ուղղված են նրա տոքսիկության չեզոքացման վրա, այլ նաև թույնում դեղագործական ակտիվ բաղադրիչների բացահայտման վրա: Թույնի որոշ բաղադրիչներ կարող են լինել ինչպես թերապևտիկ գործոններ, այնպես էլ՝ ախտորոշիչ թեստ-կոմպլեկտների բաղկացուցիչ մաս (Bhattacharjee P. and Bhattacharyya D. 2013):

Որոշ օձերի թույնի տոքսիններ կարող են հանդիսանալ պոտենցիալ դեղամիջոցներ բազմաթիվ հիվանդությունների բուժման ժամանակ: PLA₂ մոդուլացնող մոլեկուլային մեխանիզմների ուսումնասիրումը կարող է օգտակար լինել տարբեր աուտոիմունային հիվանդությունների և բորբոքային գործընթացների հետևանքով առաջացող PLA₂ –ի գերակտիվությունը ճնշող դեղամիջոցների ստեղծման համար:

Օձի թույնի մետաղապրոտեազները հանդիսանում են *Crotalid* և *Viperid* օձի թույների հիմնական բաղադրիչներից մեկը (Markland F. and Swenson S. 2013): Այս ֆերմենտները թույնի լետալ տոքսիկության հիմնական օժանդակիչներն են: SVMP հանդիսանում են խոստումնալից թեկնածու - դեղամիջոցներ բուժելու համար այնպիսի հիվանդություններ, որոնք պայմանավորված են, օրինակ՝ արյան անոթների թրոմբոզ, ուղեղի դարձելի փոփոխություններով, որոնք ի հայտ են գալիս նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների ժամանակ: Շնորհիվ բարձր փոփոխականության պրոտեոլիտիկ ակտիվության ժամանակ, ինչպես նաև սպիտակուցային ագրեգատները ճեղքելու ունակության՝ որոշ SVMP – ներ կարող են օգտագործվել այնպիսի սպիտակուցային ագրեգատների ճեղքման համար, ինչպիսին են α սինուկլեինը և β ամիլոիդը: Վերջիններս արտաբջջային սպիտակուցային ագրեգատներ են, որոնք հանդիսանում են նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների՝ ԱՀ-ի և Պարկինսոնի հիվանդության դրոդիչներ:

Միայն ֆիլոգենետիկ խմբերը լավ չեն համապատասխանում օձի թույնի նեյրոտոքսինների (svNTX, snake venom neurotoxin) ֆունկցիոնալ խմբերին: Այդ պատճառով svNTX-ները դասակարգվում են դեղագործական ֆունկցիաների և ֆիլոգենետիկ ուսումնասիրության միջոցով: Հետսինապտիկ svNTX-ները բաժանվում են երկու մեծ խմբի ըստ փոխազդեցության նիկոտինային ացետիլխոլինային ընկալիչի (nAChR, nicotinic acetylcholine receptor) կամ L տիպի կալցիումիական անցուղիների: Այս նեյրոտոքսինների մոլեկուլային թիրախներն են հանդիսանում nAChR տարբեր ենթամիավորներ և ընտանիքներ: nAChR-ի հետ փոխազդող հետսինապտիկ svNTX-ները բաժանվում են հինգ ենթախմբերի՝ կարճ, երկար, թույլ, կապալա և svNTX-ների անհայտ խումբ: Կապալա svNTX-ների տարբերվող ֆունկցիոնալ հատկությունն այն է, որ այն փոխազդում է $\alpha 3$ նեյրոնալ nAChR-ի հետ: Կապալա svNTX-ներ հայտնաբերվել

են օձերի միայն *Bungarus* ցեղի տեսակների մոտ: Այս svNTX-ները չեն փոխազդում մկանային nAChR-ի հետ (Siew J. *et al* 2004): Բոժոժավոր օձի թույնում կա բազմաթիվ բաղադրիչներ չբացահայտված հատկություններով, որոնց բացահայտումը կարող է մեծ ներուժ լինել դեղագործական ընկերություններին ստեղծելու նոր թերապևտիկ միջոցներ՝ բուժելու համար բազմաթիվ հիվանդություններ:

Ցույց է տրված, որ օձի թույնի բաղադրիչներն ունեն բազմակի ազդեցություն ԿՆՀ – ի վրա և հանդիսանում են լավագույն միջոց իրենց կենսաբանական թիրախներն ուսումնասիրելու համար, ինչպես նաև հիմք են հանդիսանում համապատասխան դեղամիջոցները մոդելավորելու համար: Որպես կանոն օձի թույնի տոքսիններն օգտագործվում են ռադիոակտիվ ածանցյալների ձևով: Սա հնարավորություն է տալիս որոշել այդ տոքսինների ինչպես կապման պարամետրերն, այնպես էլ՝ կապման տեղամասերի սպեցիֆիկությունն և ընտրողականությունը: Ստացված տեղեկատվությունը հնարավորություն է տալիս օձերի թույնի տոքսիններից մոդելավորելու և սինթեզելու բարձր սպեցիֆիկությամբ և ընտրողականությամբ օժտված նոր դեղամիջոցներ որոշակի նյարդային ընկալիչների նկատմամբ:

Չնայած բոլոր քննարկված միացությունների կիրառումն որպես դեղամիջոցներ կամ որպես հիմք նոր դեղերի մշակման համար մի փոքր սահմանափակ է, բայց և այնպես նրանք ունեն բարձր պոտենցիալ այդ նպատակով օգտագործվելու համար: Տոքսինի կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ առանձնահատկություններն և ԿՆՀ – ում նրա թիրախն իմանալը կարող է օգտակար լինել անհրաժեշտ հատկություններով օժտված փոքր մոլեկուլային անալոգներ մոդելավորելու համար:

N. atra - ի թույնից ստացված նաջանալգեզինն առնետների՝ նեյրոպատիկ ցավային մոդելի դեպքում ցուցաբերում է հականոցիցեպտիվ ազդեցություն, որը բավականին հոմոլոգ է սովորական կարդիոտոքսիններին: Նկարագրված ազդեցությունը նման է նեյրոտոքսինների ազդեցությանը: Այն մասնակիորեն արգելակվում է նալքսոնի կամ աթրոպինի ներարկման դեպքում: Սա ցույց է տալիս, որ նաջանալգեզինն ունի հականոցիցեպտիվ ազդեցություն ԿՆՀ-ի և ծայրամասային նյարդային համակարգի վրա (Osipov A. and Utkin Y. 2012):

Դեզինտեգրինների կառուցվածքի բացահայտումը հնարավորություն է տվել ստեղծել երկու դեղամիջոց՝ էպտիֆիբատիդ և թիրոֆիբան: Էպտիֆիբատիդը (ինտեգրելին) KGD (Lys-Gly-Asp) պարունակող սպիտակուց է, իսկ տիրոֆիբանը (ագրաստատ), որն էփիստատինից է մոդելավորվել, սինթետիկ բաղադրիչ է, որը նմանակում է RGD – ին (Hantgan R. *et al* 2004): Երկու դեղամիջոցներն էլ օգտագործվում են սուր կորոնային իշեմիկ համախտանիշի բուժման համար (Pang J. *et al* 2002, Gilchrist I. 2003):

Ցավազրկող դեղամիջոցի բաղադրիչ հանդիսացող քելուոքոն պարունակում է կոբրոտոքսին, թրամադոլ, հիդրոքլորիդ, իբուպրոֆեն: Այս բաղադրիչն օգտագործվում է քրոնիկ քաղցկեղով պայմանավորված ցավերը բուժելու համար (Xu J. *et al* 2006): Ցավի վրա ազդող այլ պոլիպեպտիդ է հանդիսանում օհանինը: Այս սպիտակուցն անջատվել է *Ophiophagus hannah* կոբրայի թույնից և պարունակում է 107 ամինաթթվային մնացորդ (Pung Y. *et al* 2005): Մինչև 10 մգ/կգ կոնցենտրացիան օհանինը տոքսիկ չէ, երբ ներորովայնային ճանապարհով ներարկվում է մկներին: Մկների մոտ օհանինն առաջացնում է էական և չափաբաժնից կախված տեղաշարժում: Ցավի շեմային գոտում չափաբաժնից կախված ի հայտ է գալիս գերալերգիկ ազդեցություն: Այն, որ այս սպիտակուցը կարող է բերել պատասխան ռեակցիայի առաջացմանը նույնիսկ շատ ցածր կոնցենտրացիաների դեպքում՝ ներուղեփոխանակման ներարկման դեպքում, համեմատած ներորովայնային ներարկմանը, ցույց է տալիս, որ օհանինը ազդում է ԿՆՀ-ի վրա:

Բոժոժավոր օձերի ենթաընտանիքի թույնի՝ հակահիպերթենզային ակտիվությամբ օժտված պիռոզլուտամիլ պրոլինով հարուստ օլիգոպեպտիդները նկարագրելու համար արգելակել են անգիոտենզին 1 փոխակերպող ֆերմենտը: *Bothrops jararaca* օձի թույնից անջատված որոշ պեպտիդների ներարկումը բերում է զարկերակային ճնշման և սրտխփոցների թվի զգալի նվազմանը սպոնտան հիպերթենզիկ առնետների մոտ: Սա ցույց է տալիս, որ այդ պեպտիդները կարող են ազդել ԿՆՀ – ի վրա: Իր ենթադրվող նյարդային ազդեցության հետ մեկտեղ այս պեպտիդը չափաբաժնից կախված բերում է ներբջջային կալցիումի կոնցենտրացիայի բարձրացման: Պեպտիդը խթանում է գլյուտամատի և ԳԱԿԹ-ի արտազատումը: Այս

նյութերն էլ կարող են պատասխանատու լինել հակահիրտենսային ակտիվության, ինչպես նաև՝ սրտխփոցի վրա նրա ազդեցության համար (Lameu C. *et al* 2010): Այսպիսով, բոլոր վերը նշված սպիտակուցները կարող են հիմք ծառայել նոր դեղամիջոցների մշակման համար:

ԳԼՈՒԽ 2. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ ԵՎ ՆՅՈՒԹԵՐԸ

Փորձարարական կենդանիներ

Հասուն էգ սպիտակ առնետները (կշիռը 250 ± 20 գ) և արու սպիտակ մկները (կշիռը 25 ± 2 գ) ընտրվել են ՀՀ ԳԱԱ Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի կենդանանոցից: Նրանք պահվել են լույսի (07.00-ից 19.00) և ջերմաստիճանի հաստատուն պայմաններում ($25 \pm 2^\circ\text{C}$): Նրանց տրվել է լաբորատոր սնունդ և ծորակի ջուր՝ ըստ անհրաժեշտության: Կենդանիները լավ խնամվել են, որպեսզի նրանք ենթարկվեն նվազագույն սթրեսի: Բոլոր գործողությունները կատարվել են ըստ Երևանի Պետական Բժշկական Համալսարանի (ԵՊԲՀ) (Երևան, Հայաստան) էթիկայի կոմիտեի լաբորատոր կենդանիների խնամքի սկզբունքների և համաձայն Եվրոպական համայնքների Խորհրդի 24 նոյեմբերի 1986 թ. որոշման (86/609 / ԵՏՀ):

2.1. Ալցիեյմերի հիվանդության կենդանական մոդելի ստացումը

Ալցիեյմերի հիվանդության կենդանական մոդելի ստացումը նկարագրված է Մաուրիսի աշխատանքում (Maurice T. *et al* 1996): $A\beta_{25-35}$ ամիլոիդի ագրեգացիան իրականացվել է հետևյալ կերպ՝ 1 մգ պեպտիդը լուծվել է 1 մլ երկու անգամ թորված ջրում, ստացված լուծույթը պահվել է ջերմակարգավորվող միջավայրում 4 օր 37°C պայմաններում: Ամիլոիդային թելիկների ձևավորումն ուսումնասիրվել է լուսային մանրադիտակի միջոցով: Կենդանիներին ներուղեղփորոքային եղանակով ներարկվել է ագրեգացված $A\beta_{25-35}$ ամիլոիդը՝ 3 մկլ յուրաքանչյուր փորոքում (1 մկլ/ր արագությամբ): Օգտագործվել են 10 մկլ Հեմիլթոն միկրոներարկիչներ 26G ասեղներով (Maurice T. *et al* 1996; Maurice T. *et al* 1998):

Ուսումնասիրության համար օգտագործվել է կենդանիների 5 խումբ (յուրաքանչյուր խմբում 7 կենդանի՝

1. Առնետներ, որոնց չի ներարկվել $A\beta_{25-35}$ ամիլոիդ (Sigma-Aldrich) և *MLO* թույն (ինտակտ առնետներ):

2. Առնետներ, որոնց ներարկվել է $A\beta_{25-35}$ ամիլոիդ ներուղեղփորոքային ճանապարհով, ինչպես նաև ներարկվել է ստերիլ թորած ջուր (յուրաքանչյուրին 0,5 մլ) ներմկանային եղանակով (ԱՀ առնետներ):
 3. Առնետներ, որոնց գլխուղեղի լատերալ փորոք ներարկվել է $A\beta_{25-35}$ ամիլոիդ ներուղեղփորոքային ճանապարհով, ինչպես նաև ներմկանային եղանակով ներարկվել է *MLO* թույն (LD50 չափաբաժնի 5 %-անոց լուծույթ 0,5 մլ)՝ յուրաքանչյուր կենդանուն 7 անգամ (յուրաքանչյուրին 0,5 մլ)՝ 1 օր ընդմիջումով: Նախկինում նաև ցույց է տրվել մկան համար անհրաժեշտ *MLO* թույնի LD50-ի քանակը ներերակային ճանապարհով (18.471.4 մկգ) (Kurtovic T. *et al* 2014):
 4. Առնետներ, որոնց ներուղեղփորոքային ճանապարհով ներարկվել է թորած ջուր, ինչպես նաև ներմկանային եղանակով ներարկվել է *MLO* թույն (LD50 չափաբաժնի 5 %-անոց լուծույթ 0,5 մլ)՝ յուրաքանչյուր կենդանուն 7 անգամ՝ 1 օր ընդմիջումով:
 5. Առնետներ, որոնց ներուղեղփորոքային ճանապարհով ներարկվել է թորած ջուր (ստուգիչ), ինչպես նաև ներմկանային եղանակով ներարկվել է ստերիլ թորած ջուր յուրաքանչյուր կենդանուն 7 անգամ (յուրաքանչյուրին 0,5 մլ)՝ 1 օր ընդմիջումով:
- Բոլոր փորձերն իրականացվել են $A\beta_{25-35}$ ամիլոիդի ներարկումից 16 շաբաթ անց:

2.2. Հիպոկամպի նեյրոնների էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրությունը

Կենդանիները անզգայացվել են ուրետանով (1.2 գ/կգ), անշարժացվել են 1 %-անոց դիթիլինով (25 մգ/կգ, ն/փ) և տեղափոխվել են արհեստական շնչառության փուլ: Ողնուղեղը (կրծքային T2-T3 հատվածներ) հատվել է տեղային նովոկայինային անզգայացման պայմաններում: Դրդող էլեկտրոդը ներմուծվել է իպսիլատերալ էնտորինալ կեղևի մեջ հետևյալ ստերեոտաքսիկ կոորդինատներով՝ AP- 9, L \pm 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:

2.3. Հիստոքիմիական հետազոտությունների մեթոդ

Հիստոքիմիական ուսումնասիրության համար հիպոկամպը ֆիքսվել է 2 – 3 օր ֆոսֆատային բուֆերով (pH 7.4)՝ պատրաստված 5 %-անոց չեզոք ֆորմալինի լուծույթում: Ֆիքսացիան իրականացվել է 4°C-ում 48 ժամ: Սառեցված հիպոկամպի ֆրոնտալ կտրվածքները 50 – 60 մկմ էին: Նրանք լվացվել են թորած ջրով և ինկուբացվել նյարդային բջիջների ընտրողական որոշման համար անհրաժեշտ խառնուրդով (20 մլ 0.38 % - անոց կապարի ացետատի լուծույթ և 5 մլ 1 Մ ացետատի բուֆեր (pH 5.6), 5 մլ 2 % - անոց b- գլիցերոֆոսֆատ - Na լուծույթ): Ինկուբացիան իրականացվել է 1 – 3 ժամ 37°C թերմոստատում, որից հետո նմուշները լվացվել են թորած ջրով, բաժանվել են, ստեղծվել են նմուշներ նատրիումի սուլֆատի լուծույթում և նմուշները պատրաստ են եղել բազմակի անգամ լվանալուց հետո:

Հիստոքիմիական անալիզն իրականացվել է ըստ Մելիքսեթյանի կողմից մշակված մոտեցման (Yenkoyan K. *et al* 2011), համաձայն որի որոշվում է Ca^{2+} - կախյալ թթու ֆոսֆատազի ակտիվությունը: Այս մեթոդը Չիլինգարյանի մեթոդի (Chilingaryan A. *et al* 2012), փոփոխված տարբերակն է: Չիլինգարյանի մեթոդի հիմքում ընկած է կալցիումի իոնների՝ անօրգանական ֆոսֆատն իրենց կապելու ունակությունը: Կալցիումի ֆոսֆատը վերածվում է սև և մուգ շագանակագույն կապարի սուլֆիդի: Մեթոդական այսպիսի մոտեցման հիմքում ընկած է ներբջջային ֆոսֆոր պարունակող սուբստրատների որոշումը: Վերջիններս կարևոր դեր են խաղում նյութափոխանակության այնպիսի գործընթացներում, որոնք նպաստում են կենսական համակարգերի պահպանմանն և ինքնավերարտադրմանը: Մեթոդը, բացի իր հիստոքիմիական կարևորությունից, ունի նաև որոշակի մորֆոլոգիական նշանակություն: Մշակման հետին ֆոնի փոխանցվող լույսն օգտագործելիս նյարդային կառուցվածքները հստակ են երևում և անընդհատ վերարտադրվում են, որը մեթոդի հավաստիության կարևոր չափանիշ է հանդիսանում: Վերոնշյալ տեղեկատվությունը հիմք է հանդիսանում կիրառել մեթոդն օրթոֆոսֆատի որոշման համար այս հետազոտությունում՝ ուղեղի բջջային կառուցվածքների (նեյրոններ, նյարդային թելիկներ, գլխայի բջիջներ, կորիզ) մորֆոֆունկցիոնալ վիճակը ուսումնասիրելու համար: Նույն կենդանիների դեպքում նմանատիպ փորձնական պայմաններում

հիստոքիմիական ուսումնասիրություններն իրականացվում են էլեկտրոֆիզիոլոգիական հետազոտություններից հետո:

2.4. Սարկոմա S-180 կենդանական մոդելի ստացումը

Սարկոմայի բջիջները ներարկվել են ներմաշկային եղանակով մկների աջ թևի տակ: Երբ ուռուցքի մեծությունը հասել է 100-300 մմ³, առանձնյակները բաժանվել են 3 խմբի: Առաջինն իրենից ներկայացնում է ուռուցքի ստուգիչ խումբն, որին ներարկվել է PBS: Երկրորդ խումբը *MLO* օձի թույնի բաղադրիչով՝ օբտուսատատինով մշակվող խումբն է, իսկ երրորդը՝ *MLO* օձի թույնով մշակվողն է: Յուրաքանչյուր խմբում ներառվել է 5 մուկ:

Երկրորդ մշակվող խմբին ներարկվել է 1 մգ/կգ չափաբաժնով օբտուսատատին, որը լուծվել է PBS-ի մեջ, և 5 օրվա ընթացքում (50 մկգ) ներարկվել մկներին, իսկ երրորդ խմբին՝ թույլ դոզայով՝ 10 մկգ/մուկ չափաբաժնով *MLO* թույն (Marcinkiewicz C. *et al* 2003): Վերջին ներարկումից 24 ժամ անց բոլոր մկները կշռվել են և սպանվել գլխատման միջոցով:

2.5. Ուռուցքի հիստոլոգիական ուսումնասիրումը և *in vivo* հակաուռուցքային ակտիվության գնահատումը

S-180 ուռուցքն առանձնացվել է մկների մարմնից (թևատակից), կշռվել, այնուհետև ֆիքսվել է չեզոք ֆորմալինի 10 %-անոց լուծույթում, որից հետո ներդրվել պարաֆինի մեջ և սառեցվել: Շերտերի հատումը կատարվել է կոհոմիկրոտոմի միջոցով: Սեկցիաները ներկվել են հեմատոքսիլինով և էոզինով: Ուսումնասիրություններն անց են կացվել էպիֆլուորեսցենտային տրինոկուլյար մանրադիտակի միջոցով (EPI-Fluorescence Trinocular Microscope + 5MP Camera, Model FM320-5M, Amscope, USA):

Հակաուռուցքային ակտիվությունը գնահատվել է հետևյալ բանաձևի միջոցով.

$$T_A = [(A-B)/A]*100\%$$

որտեղ՝

T_A – հակաուռուցքային ակտիվությունն է,

A-ն ստուգիչ խմբում ուռուցքի միջին քաշն է,

B-ն՝ ուռուցքի միջին քաշն է փորձարկվող խմբում:

2.6. ԴՆԹ-ի շարժունակության որոշումը էլեկտրաֆորեզի միջոցով

ԴՆԹ-ի շարժունակության որոշման անալիզն անց է կացվել գենոմային ԴՆԹ-ի հետ օբտուսատառինի և MLO օձի թույնի կապվելու ընդունակությունը գնահատելու համար (Wang Y. *et al* 2012): Նախ և առաջ, գենոմային ԴՆԹ-ն առանձնացվել է S-180 սարկոմայի բջիջներից (precellys tissue DNA kit, PeQlab, Germany): Այնուհետև սպեկտրաֆոտոմետրիկ եղանակով որոշվել է ԴՆԹ-ի կոնցենտրացիան (Eppendorf BioPhotometer plus, Germany): Հավասար քանակությամբ ԴՆԹ-ն և օբտուսատառինը/MLO օձի թույնը 30 րոպեների ընթացքում իրար խառնելուց հետո, ստացված ԴՆԹ – օբտուսատառին/MLO օձի թույն խառնուրդն էլեկտրաֆորեզիկ եղանակով անց է կացվել 1 %-անոց ազարոզային գելի միջով (PerfectBlue™ Horizontal Mini Gel System, PeQlab, Germany): ԴՆԹ-ի անցումը դիտարկվել է ուլտրամանուշակագույն լույսի տակ (illuminator E-BOX VX2-VILBER LOURMAT, PeQlab, Germany):

2.7. Քիմյումինեսցենտային վերլուծություն

Ներկայումս կենսաբանական թաղանթներում և լիպիդ պարունակող այլ կառույցներում ազատ ռադիկալային մեխանիզմով ընթացող գործընթացների, այդ թվում՝ նաև ԼԳՕ-ի ուսումնասիրման լավագույն ֆիզիկական մեթոդներից է քիմյումինեսցենտային վերլուծության եղանակը: Քիմյումինեսցենտումն իրենից ներկայացնում է լույսի ճառագայթում՝ ի հաշիվ քիմիական կապերի էներգիայի: Այն բաղկացած է երկու փուլից՝ քիմիական և ֆիզիկական: Առաջին փուլում քիմիական ռեակցիայի որևէ վերջնանյութում առաջանում է էլեկտրոնային գրգռված վիճակ, իսկ երկրորդում՝ այդ գրգռված վիճակի էներգիան վերափոխվում է ֆիզիկականի՝ լույսի քվանտի ձևով: Լույսի առաքման ինտենսիվությունը հանդիսանում է ինտեգրալ ցուցանիշ և կարող է տեղեկություն տալ օրգանիզմում ընթացող նյութափոխանակության գործընթացների, այդ թվում, նաև ախտաբանական վիճակի մասին:

Քիմյումինեսցենտումը բնութագրվում է լույսի առաքման ինտենսիվությամբ (I), որն էլ ուղիղ համեմատական է քիմյումինեսցենտման ռեակցիայի արագությանը, քվանտային ելքին և կախված է սպեկտրալ կազմից.

$$I = V\eta_1\eta_2$$

որտեղ՝

I – քիմյումինեսցենտման ինտենսիվությունն է

V – քիմիական ռեակցիայի արագությունը

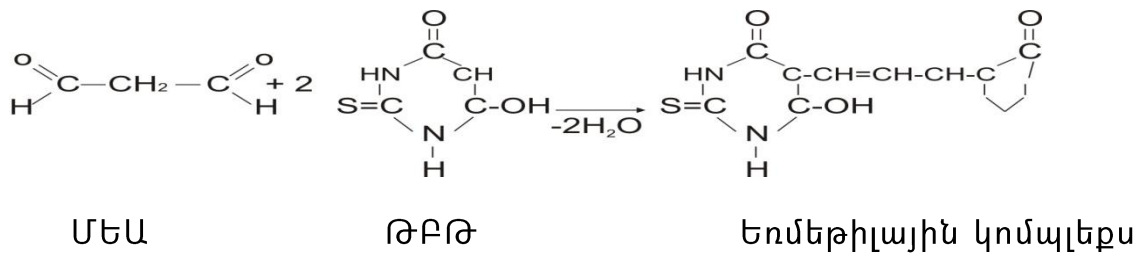
η_1 և η_2 – ռեակցիայի արդյունքում առաջացած նյութերի գրգռման և լյումինեսցենտման քվանտային ելքերը:

Քիմյումինեսցենտման համար կարևոր չափանիշ է հանդիսանում նրա սպեկտրալ տիրույթը: Չափելով քիմյումինեսցենտման սպեկտրալ կազմը կարելի է գնահատել ազատ ռադիկալային էկզոթերմիկ գործընթացի էներգետիկ բնութագիրը և գաղափար կազմել փոխազդող ռադիկալների քիմիական բնույթի, խզվող քիմիական կապերի մասին:

Քիմյումինեսցենտման առաջացման համար կարևորագույն դեր կարող են խաղալ թթվածնի ակտիվ ձևերն, որոնց քանակությունն որոշվել է քիմյումինեսցենտային անալիզի միջոցով: Հյուսվածքային հոմոգենատների գերթույլ լուսարձակման ինտենսիվությունը չափվել է քվանտոմետրիկ սարքում, որն իրենից ներկայացնում է գերարագ ֆոտոնային հաշվիչ, 380-630 նմ սպեկտրալ զգայունությամբ: Քիմյումինեսցենտային անալիզի այս սարքը չափազանց զգայուն է և ունակ է գրանցել նույնիսկ 10-15 Վտ ճառագայթվող էներգիա (BERTHOLD Technologies, Germany):

2.8. Լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման որոշում

Լիպիդային գերօքսիդները կայուն չեն և առանձնանում են կապերի բարդ սերիայով: Առավել հայտնի է մալոնային երկալդեհիդը (ՄԵԱ): ՄԵԱ-ի մակարդակը որոշվում է սպեկտրաֆոտոմետրիկ չափումներով: Լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման (ԼԳՕ) ինտենսիվությունն որոշվել է թիոբարբիտուրային թթվի (ԹԲԹ) հետ փոխազդող արգասիքների կուտակմամբ (Չաքարյան Ա. և այլոք 2003): Մեթոդի հիմքում ընկած է ՄԵԱ-ի և ԹԲԹ-ի միջև ընթացող ռեակցիան, որը բարձր ջերմաստիճանի (100°C) և pH-ի թթվային արժեքների դեպքում ընթանում է գունավորված եռմեթիլային կոմպլեքսի առաջացմամբ, որը պարունակում է 1 մոլեկուլ ՄԵԱ, 2 մոլեկուլ ԹԲԹ՝



Առաջացած կոմպլեքսը կլանում է 532 նմ ալիքի երկարությունում: Ինկուբացման միջավայրը պարունակում է 1 մլ հյուսվածքի հոմոգենատի վերնստվածք, որին սպիտակուցի նստեցման համար ավելացվել է 2 մլ 30 %-անոց եռքլորքացախաթթու (ԵԲԲ) և ցենտրիֆուգվել 4000 պտ/ր արագությամբ 15 րոպե: Ապա 1 մլ վերնստվածքին ավելացվել է 0,4 մլ 5 Մ HCl և 2 մլ 0,75 %-անոց ԹԲԹ-ի լուծույթ: Նմուշները 10 րոպե տեղավորվել են եռացող ջրային բաղնիքում, իսկ հանելուց հետո սառեցվել են մինչև սենյակային ջերմաստիճանը: Առաջացած վարդագույն երանգով եռմեթիլային կոմպլեքսի օպտիկական խտությունը չափվել է 532 նմ ալիքի երկարությունում 1 մլ բուֆեր պարունակող ստուգիչի դիմաց: Չափումները կատարվել են CT-2600 սպեկտրաֆոտոմետրի վրա (CT-ChromTech, Taiwan):

Առաջացած ՄԵԱ-ի քանակը որոշվել է օգտագործելով $\epsilon = 1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ սմ}^{-1}$ էքստրինկցիայի գործակիցը հետևյալ բանաձևով՝

$$C = D / \epsilon \cdot l$$

որտեղ՝

C – ՄԵԱ-ի կոնցենտրացիան է, Մ

ε – էքստրինկցիայի մոլյար գործակիցը

D – օպտիկական խտությունը

l – լուսային ճառագայթի օպտիկական ուղին, l=1սմ

Ստացված փորձարարական տվյալները ենթարկվել են վիճակագրական մշակման ըստ Ստյուդենտ – Ֆիշերի t- չափանիշի (Զաքարյան Ա. և այլոք 2003):

2.9. Սուպերօքսիդդիսմուտազի ակտիվության սպեկտրաֆոտոմետրիկ որոշումը ադրենալինի ինքնաօքսիդացման եղանակով

Սուպերօքսիդդիսմուտազի (ՍՕԴ) ակտիվությունն որոշվել է օգտագործելով մեթոդը, որի հիմքում ընկած է ֆերմենտի՝ ադրենալինի ինքնաօքսիդացման ռեակցիայի արգելակման ունակությունը, $pH = 10.2$: Թթվածնի անիոն ռադիկալի առկայությամբ ադրենալինը օքսիդանում է՝ առաջացնելով ադրենոքրոմ: ՍՕԴ – ն իրականացնում է թթվածնի անիոն ռադիկալի դիսմուտացում և արգելակում ադրենոքրոմի առաջացումը: $pH > 8.5$ պայմաններում տեղի է ունենում ադրենալինի ինքնաօքսիդացում և ադրենալինն ինքն է առաջացնում թթվածնի անիոն ռադիկալ, որն էլ խթանում է ադրենոքրոմի առաջացումը: Այս դեպքում անհրաժեշտ չէ թթվածնի անիոն ռադիկալի այլ աղբյուր, ուստի ՍՕԴ-ի ակտիվությունը կարելի է չափել՝ ելնելով ֆերմենտի առկայությամբ պայմանավորված ադրենալինի ինքնաօքսիդացման ռեակցիայի արգելակումից (Ջաքարյան Ա. և այլոք 2003): Չափումները կատարվել են 480 նմ ալիքի երկարությունում CT-2600 սպեկտրաֆոտոմետրի վրա (CT-ChromTech, Taiwan):

ՍՕԴ – ի առկայությամբ ադրենալինի ինքնաօքսիդացման ռեակցիայի իրական սկզբնական արագությունը (E_3) որոշվում է հետևյալ տարբերությամբ՝

$$E_3 = E_1 - E_2 \text{ օպտիկական միավոր/րոպե}$$

որտեղ՝

E_1 - ռեակցիայի սկզբնական արագությունն է ($E_1 \sim 0.025$ օպտ. միավոր/րոպե),

E_2 - նմուշում ադրենալինի ինքնաօքսիդացման սկզբնական արագությունն է

Ադրենալինի ինքնաօքսիդացման ռեակցիայի արգելակման տոկոսը ($T\%$) որոշվում է հետևյալ բանաձևով՝

$$T\% = \frac{E_1 - E_3}{E_1} \times 100\%$$

Ռեակցիայի արգելակման տոկոսի ($T\%$) և ՍՕԴ-ի ակտիվության (A) միջև կախվածությունը արտահայտվում է հետևյալ բանաձևով՝

$$\frac{100\%}{T\%} = 1 + \frac{1}{A},$$

որտեղից՝

$$A = \frac{T\%}{100 - T\%}$$

Այսպիսով՝ ՍՕԴ – ի ակտիվությունն 1 մլ նմուշի դեպքում որոշվում է հետևյալ բանաձևի միջոցով՝

$$A = \frac{T\%}{100 - T\%} \times \frac{2N}{C}$$

որտեղ՝

N – նոսրացման աստիճանն է

C – սպիտակուցի կոնցենտրացիան

Սպիտակուցի կոնցենտրացիան որոշվում է Լոուրիի մեթոդի միջոցով (Lowry O. *et al* 1951):

2.10. Առնետի հիպոկամպի (Na⁺,K⁺) - ական ԱԵՖազի ակտիվության որոշումը

Առնետների առանձնացված ու թարմ սառեցված հիպոկամպը (30 մգ կշռով) հոմոգենիզացվել է ռոտորա-ստատորային հոմոգենիզատորով՝ 1 մլ սառը կախույթով (pH 7.2), որը պարունակում է 85 մՄ NaCl, 20 մՄ KCl, 4 մՄ MgCl₂, 0.2 մՄ EGTA (Carl Roth), 30 մՄ հիստիդին (Carl Roth): Այնուհետև սապոնինն (Carl Roth) ավելացվել է նմուշներին՝ 20 մկգ/մլ վերջնական կոնցենտրացիայի հաշվարկով: Այս նմուշներն ինկուբացվել են 15 րոպե 37°C-ում: Յուրաքանչյուր նմուշից վերցվել է 20 մկլ, որից 10 մկլ-ին ավելացվել է միայն 60 մկլ ռեակցիոն խառնուրդ, որը պարունակում է 140 մՄ NaCl, 20 մՄ KCl, 3 մՄ MgCl₂, 30 մՄ հիստիդին, 3 մՄ ԱԵՖ (Carl Roth), իսկ մյուս 10 մկլ-ին ռեակցիոն խառնուրդից բացի ավելացվել է նաև Na⁺,K⁺-ԱԵՖազի ընտրողական արգելակիչ հանդիսացող 60 մկլ 2 մՄ օւաբաին (Sigma - Aldrich), որից հետո ստացված խառնուրդներն ինկուբացվել են 30 րոպե 37°C-ում: Ռեակցիան կանգնեցվել է 120 մկլ 10 %-անոց սառեցված եռքլորքացախաթթվով (վերջնական կոնցենտրացիա):

Ռեակցիան կանգնեցնելուց հետո յուրաքանչյուր նմուշին ավելացվել է 500 մկլ ֆոսֆոռեագենտ և ինկուբացվել մութ պայմաններում 10ր, որից հետո որոշվել է նմուշների օպտիկական խտությունը 660 նմ-ում (Dickey C. *et al* 2005): Հաշվարկվել է Na^+, K^+ -ԱԵՖագի ակտիվությունն ըստ օւաբահինի առկայության և բացակայության պայմաններում ստացված տվյալների տարբերության: Ազատ անօրգանական ֆոսֆորի քանակի որոշումն իրականացվել է համաձայն Ֆիսկեի և Սուբարոի ստանդարտ մեթոդի (Fiske C. and Subbarow Y. 1925): Հաշվարկներում օգտագործվող սպիտակուցի կոնցենտրացիան որոշվել է Լոուրիի մեթոդի միջոցով (Lowry O. *et al* 1951): Յուրաքանչյուր ֆերմենտի ակտիվությունը արտահայտվել է մկմոլ $P_{\text{անօրգ}}$ /մկգ սպիտակուց/ժամ չափողականությամբ:

2.11. Վիճակագրական վերլուծություն

Քիմյումինեսցենտային անալիզի, ԼԳՕ ինտենսիվության և ՍՕԴ-ի ակտիվության տվյալների քանակական վերլուծությունը կատարվել է ըստ Ստյուդենտի t- չափանիշի: Խմբերի միջև տարբերությունը հավաստի համարվել է $P < 0.05$ -ի դեպքում (Sokol R. and Rohlf F. 1981): Հաշվարկները կատարվել են MS Excel ծրագրի միջոցով: Բոլոր արդյունքները ներկայացվել են որպես միջին արժեք \pm միջին ստանդարտ սխալով ($M \pm SEM$) (Лакин Г. 1980):

Նատրիում/կալիումական ԱԵՖագի ակտիվության և սպիտակուցի քանակի միջին արժեքների միջև առկա տարբերությունների հավաստիությունը գնահատվել է ANOVA թեստի միջոցով: Տարբեր փորձնական խմբերի համեմատումը ստուգիչ խմբի հետ իրականացվել է Բոնֆերոնիի թեստի միջոցով:

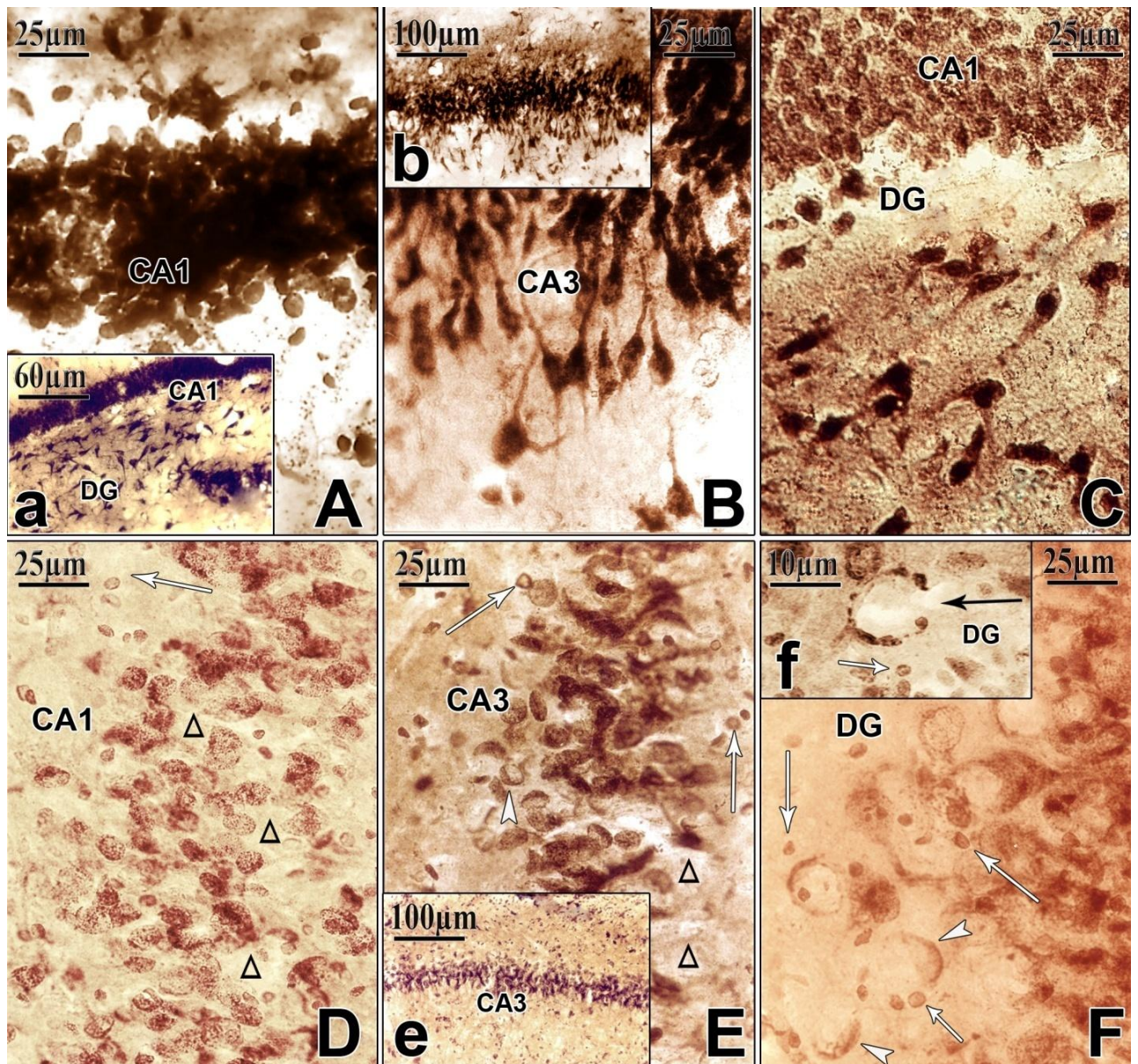
Էլեկտրաֆորեզի արդյունքները մշակվել են "Image J" ծրագրային փաթեթի միջոցով:

ԳԼՈՒԽ 3. ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ

3.1. Առնետի ուղեղի հիպոկամպի մորֆոֆունկցիոնալ վիճակի ուսումնասիրությունն Ալցհեյմերի հիվանդության ամիլոիդային մոդելում

Մեր հետազոտությունում ցույց է տրված առնետի ուղեղի հիշողության հետ կապված բջջային կառույցների մորֆոֆունկցիոնալ վիճակը $A\beta_{25-35}$ ամիլոիդի բիլատերալ ներուղեղփորոքային ներարկումից հետո: Ինչպես երևում է նկար 4-ում, հիպոկամպի CA1 և CA3 դաշտերում և ատամնավոր գալարում ինտակտ առնետների նեյրոնները տեղակայված են շարքով, ունեն շատ բարձր խտություն և ներկման բարձր ու հավասարաչափ ինտենսիվություն: Նրանք բազմանկյունաձև, եռանկյունաձև և օվալաձև են և բնորոշվում են թթու ֆոսֆատազի բարձր ակտիվությամբ: Հստակորեն տարբերակվում են բազալ դենդրիտները (նկար 4 A-C):

Հայտնի է, որ ԱՀ-ի մոդելում սկզբում վնասվում են նյարդային բջիջներն իրենց շրջապատող գլիալ էլեմենտներով (Mann D. 1996): Առնետների հիպոկամպի կտրվածքներում առկա են նկատելի թիթեղաձև մասնիկներ՝ ամիլոիդային վահանիկներ, ձևափոխվել են սպիտակ և սև նյութերը: Մեծ նեյրոնները ներգրավվել են ատամնավոր գալարում, որը ցրված ձևով է տեղակայված և բնորոշվում է թթու ֆոսֆատազի ցածր ակտիվությամբ (նկար 4F): Հիպոկամպի CA1 և CA3 դաշտերում ևս նվազել է ֆոսֆատազային ակտիվությունը (նկար 4 D, E): Նույն տեղերում նկատվում է բջջային կառույցների սպունգանման նոսրացում: Մորֆոլոգիական պատկերը հիշեցնում է նյարդային բջիջների մեծ այտուց, որն իրենից ներկայացնում է բջջային պաթոլոգիայի բավականին տարածված տեսակ: Նեյրոններում նկատվում են կառուցվածքային փոփոխություններ՝ նեյրոֆիբրիլային մարմնիկների կորուստ: Մի կողմում բջիջներն ունեն բաց գունավորում, իսկ հաջորդ կողմում նրանք բավականին ուժգին ներկված են: Այս բջիջները նման են սուրճի հատիկների (նկար 4 D, E): Հիպոկամպի CA1 դաշտում և ատամնավոր գալարում նկատվում են դեգեներատիվ փոփոխություններ (Wen T. *et al* 1998): Ամբողջությամբ բացակայում են ծայրային ճյուղավորման ռեակցիաները:



Նկար 4. Ինտակտ (A-C) և բիլատերալ ներուղեղիորոքային ճանապարհով $A\beta_{25-35}$ ամփոփ ներարկված առնետների (D-F) հիպոկամպի կորվածքները: Նեյրոնները հիպոկամպի CA1 (A, a, D), CA3 դաշտերում (B, b, E) և արամնավոր գալարում (DG) (C, F, f): (E, F – կենտրոնական քրոմատին, սև ցուցասլաք – ծերունական սկավառակ; սպիտակ ցուցասլաք – գլխի կորիզ; եռանկյունաձև հատված – լցված նեյրոնային հատվածներով, ցուցասլաքի գլխիկ – բրգաձև նեյրոնների ճեղքված կորիզներ, կենտրոնական քրոմատին):

Նեյրոնի դեգեներատիվ գործընթացներն ուղեկցվում են հիպոկամպի CA1, CA3 դաշտերում նեյրոնի ցիտոպլազմայում սպունգանման ավելույալին վիճակի առաջացմամբ (նկար 4 D, E), իսկ հիպոկամպի CA1 դաշտը և ատամնավոր գալարը բնորոշվում են "դատարկ" նեյրոններով (Schipper H. *et al* 1990): Ատամնավոր գալարի և հիպոկամպի CA3, CA1 դաշտերում առկա են միջբջջային տարածություններ (նկար 4D -F): Նեյրոնների մարմիններն, որոնց մեծամասնությունը ենթարկվել են քրոմատոլիզի, կլորանում են և ուռչում հիպոկամպի CA3 դաշտում, իսկ նեյրոնների կորիզները գրավում են կենտրոնական դիրք (նկար 4 E): Ատամնավոր գալարի մեծ բրգային բջիջների էկտոպիկական անհամաչափորեն փքված կորիզները շրջապատված են նստվածքի մուգ շերտով, առկա է ծերունական սկավառակ (նկար 4 F-f):

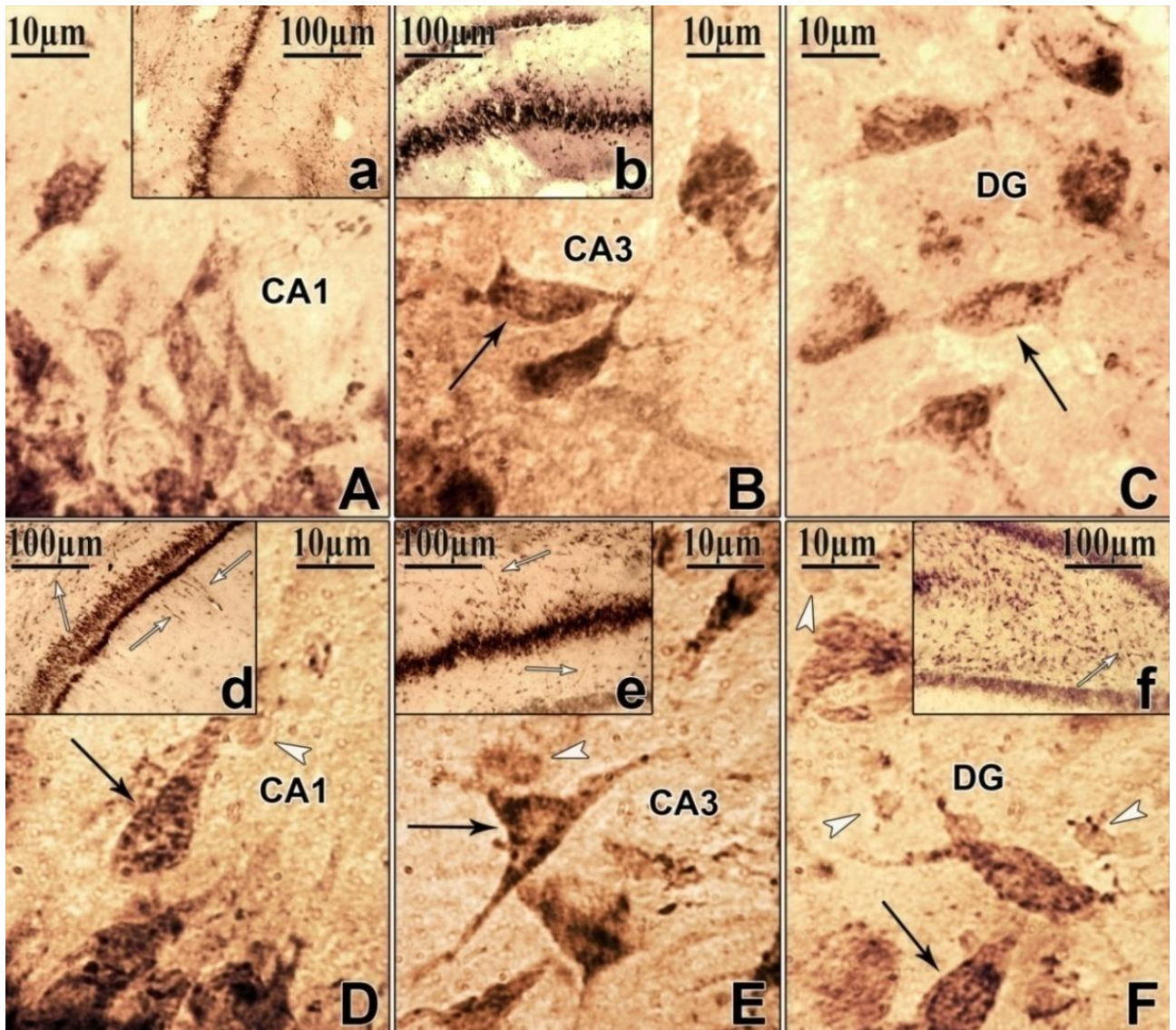
3.2. Կովկասյան գյուրգայի թույնի ազդեցությունն Ալցհեյմերի հիվանդության հիստոլոգիական պատկերի վրա

Մեր արդյունքները ցույց են տալիս՝ *MLO* թույնով մշակումից հետո վերականգնվում են նորմալ ֆունկցիոնալ վիճակին նպաստող ներբջջային կապերը, որը խոսում է թույնի որոշակի նյարդապաշտպան հատկության մասին: *MLO* թույնը վերականգնում է բջիջների չափն ու ձևը, որն էլ ակնհայտորեն բերում է նեյրոնի պլազմատիկ թաղանթի վերականգնմանը: Առկա է ուժեղ կապ մազանոթների և բջիջների միջև, բարձր թթու ֆոսֆատազային ակտիվությամբ նեյրոնները սովորաբար կապվում են միկրոանոթների հետ, մուգ ներկված պերիցիտները տեսանելի են դառնում դրսի պատում: Անոթների աճով է պայմանավորված նաև բջիջների պրոլիֆերացիան և տարբերակումը: Հայտնի է, որ անոթների աճն որոշում է պրոլիֆերացիայի և տարբերակման ինտենսիվությունը (Banin V. 2002) և համարվում է, որ պերիցիտներն առաջանում են արյան ստրոմալ բջիջներից (Bianco P. *et al* 2001): Հնարավոր է, որ նրանց առկայությունը կարող է դիտարկվել որպես ադապտիվ պատասխան, որը դանդաղեցնում է ավելի պրոգրեսիվ նյարդաֆիբրիլային կծիկը (Tolnay M. and Clavaguera F. 2004): Նյարդային բջիջները վերականգնում են իրենց ձևը (նկար 5 E):

MLO – ով մշակվող ԱՀ – ի մոդելի արդյունքների ուսումնասիրումը (նկար 5 A-C) ցույց է տալիս, որ դիտվում են դրական փոփոխություններ նեյրոնների կառուցվածքում, հիպոկամպի դաշտերում նկատվում է նեյրոնների խտության աճ, ակտիվանում է նյութափոխանակությունն, որի շնորհիվ էլ բջիջը կենսունակ է մնում: Նկատվում են նոր նյարդային բջիջներ հիպոկամպի CA1 դաշտի դատարկ հատվածներում (նկար 5 A-C): Բոլոր դաշտերում բջիջները վերականգնել են իրենց նախկին չափն ու ձևը, կորիզը բջջում գրավել է կենտրոնական դիրք, ցիտոպլազման լցված է նստվածքի հատիկներով, պերիկարիոնը շրջապատվել է տարբեր տիպի հատիկավորմամբ, որը բնորոշ է վերականգնվող նեյրոնների առաջին գրգռմանը: Կա որոշակի տարբերություն նեյրոնների ներկման ինտենսիվության մեջ: Արյան անոթների շուրջ ի հայտ են գալիս որոշակի դենդրիտային և սոմատիկ հավելվածներ, անգիոգենեզը վերականգնվում է (նկար 5 a,b):

MLO թույնը առողջ՝ ներուղեղփորոքային ճանապարհով թորած ջուր ներարկված կենդանիների հիպոկամպի CA1, CA3 դաշտերում և ատամնավոր գալարի նեյրոնների կառուցվածքային պաթոլոգիկ փոփոխությունների չի բերել: Հստակ, ինչպես նորմալում, նկատելի են նեյրոնի մարմինը, պերիցիտները, չկան բազալ դենդրիտների կառուցվածքային ճյուղավորման փոփոխություններ: Հստակորեն կարելի է ասել, որ թույնը չի ցուցաբերել պաթոլոգիկ ազդեցություններ, ուստի կարելի է այն կիրառել ԱՀ-ի մոդելում՝ հաշվի առնելով նաև մեր կողմից ցույց տրված թույնի հակաօքսիդանտ հատկությունները (նկար 5 D-F):

Բոլոր դաշտերում հիպոկամպի նեյրոնները կորցնում են իրենց բնորոշ ձևը, ուրվագծերը դառնում են անհամաչափ և անորոշ, ԱՀ – ով հիվանդ առնետների մոտ դիտվում է կենտրոնական քրոմատոլիզ: Որոշ նեյրոններում կորիզի ֆոսֆատային ակտիվությունը փոքրանում է, որն էլ բերում է կորիզի նյութափոխանակության ակտիվացման նվազմանը: Որոշ նեյրոններ էլ դեռ չեն կորցրել ակտիվությունը, մուգ ներկված են և դեռ պահպանել են կենսունակությունը (նկար 6 A-C):



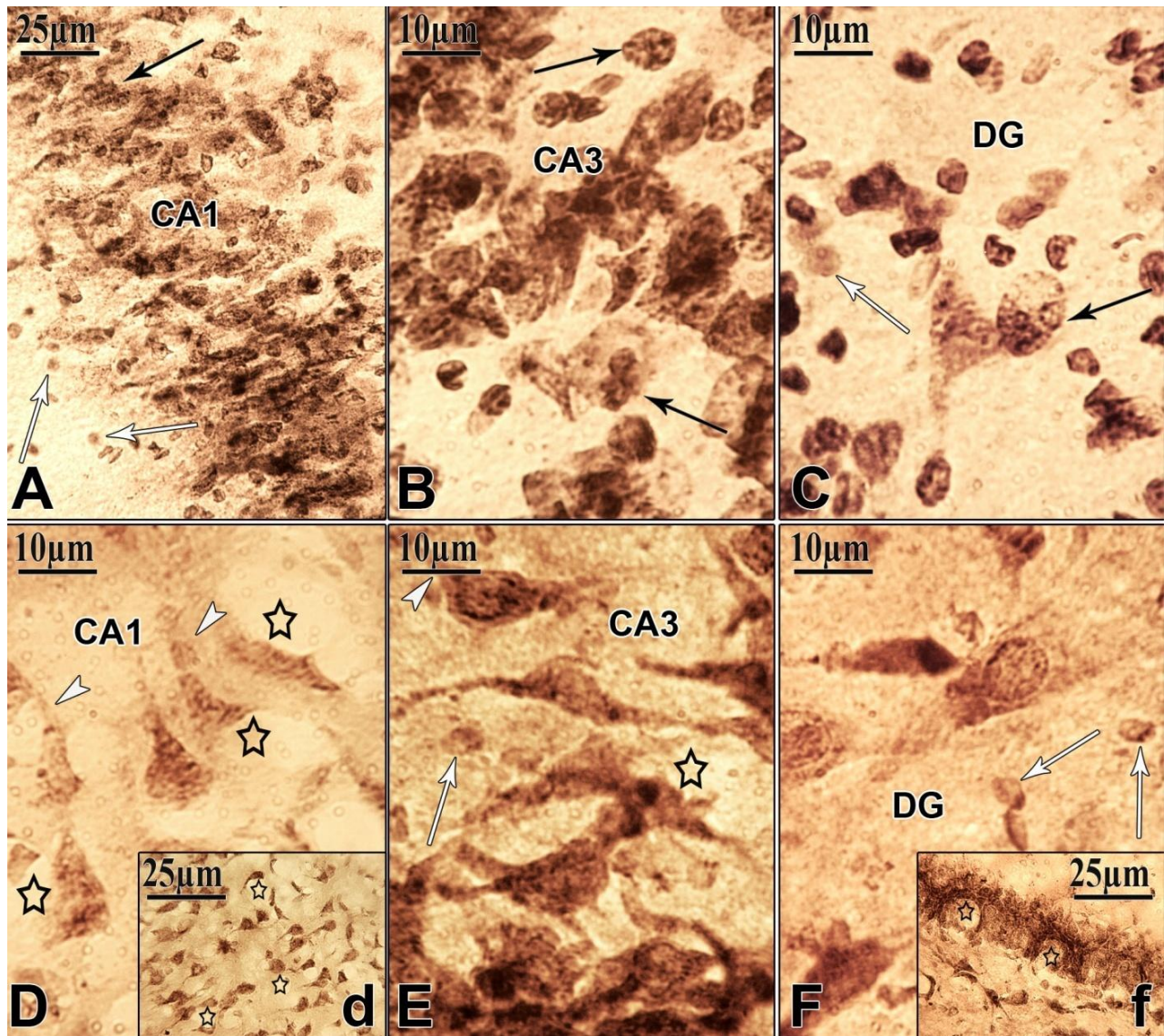
Նկար 5. Բիլապերալ ներուղեղփորոքային ճանապարհով $A\beta_{25-35}$ ամիլոիդ ներարկված և MLO թույնով մշակվող առնետների (A-C) և ներուղեղփորոքային ճանապարհով թորած ջուր ու ներմկանային MLO թույն ներարկված առնետների հիպոկամպի կտրվածքները (D-F): Նեյրոնները հիպոկամպի CA1 (A, a, D, d), CA3 դաշտերում (B, b, E, e) և ստամոքսաձոր գալարում (DG) (C, F, f): Նեյրոնի նորմալ մորֆոլոգիայի վերականգնում (A-C), բացակայում են բջջային պատասխանները (a, b, d, f), վերականգնվում են սպիկալ և կողմնային դենդրիտները (A-C), գերսնուցված բջիջները (D-F) օժտված են թթու ֆոսֆատազի բարձր ակտիվությամբ (սև ցուցասլաք - կենտրոնական դիրքում գտնվող կորիզ, սպիտակ ցուցասլաք - արյան անոթներ պերիցիտներով, ցուցասլաքի գլխիկ - սարելիդային գլխայի կորիզ, որը բավականին մութ հեռավորության վրա է գտնվում նեյրոնների և արյան անոթների հետ: Ակնհայտ տեսանելի է նրա կապը արյան անոթների պատերի հետ):

Հիպոկամպի CA1 և CA3 դաշտերում առկա դատարկ տարածությունը լցվում է տձև նեյրոններով (նկար 6 A, B): Նեյրոնների գերակշիռ մասը չունեն նորմալ մորֆոլոգիա, խաթարվել է տեսանելի սահմանը մարմնի և ելուստների, ինչպես նաև կորիզի և ցիտոպլազմայի միջև (նկար 6 A, B): Էական փոփոխություններ են նկատվում նաև ատամնավոր գալարի բրգաձև բջիջներում: Թեև հայտնաբերվում են նորմալ մորֆոլոգիայով նեյրոններ (նկար 6 C), սակայն ի հայտ են գալիս նաև տձև մուգ ներկված ձևավորումներ, որոնք մորֆոլոգիապես հիշեցնում են պաթոլոգիկ տաու սպիտակուցին (նկար 6 B, C):

ԱՀ- ի մյուս ընդհանուր բնորոշիչն ընդարձակ աստրոգլիոզն է: Հայտնի է, որ աստրոցիտները փոխվում են ԱՀ-ի ժամանակ, օրինակ՝ ենթարկվում են հիպերտրոֆիայի (Kamphuis W. *et al* 2014): Մեր ուսումնասիրությունը համապատասխանում է վերջերս առնետի մոդելի վրա իրականացվող ԱՀ – ի հետ կապված բացահայտումներին (Birnbbaum J. *et al* 2015):

Ներուղեղփորոքային եղանակով թորած ջուր ներարկված խմբում չեն դիտվում մորֆոլոգիական փոփոխություններ: Ինչպես և սպասվում էր, հիպոկամպի CA1, CA3 դաշտերի և ատամնավոր գալարի բջիջները նման են ինտակտ առնետների նույն բջիջներին, առկա է ծայրամասային ելուստների ռեակցիա և դենդրիտները լավ տեսանելի են, ինչպես նորմալում: Նեյրոնների ցիտոպլազմայում ի հայտ են գալիս բարձր ֆերմենտային ակտիվությամբ օժտված Հոմորի – դրական գրանուլներ, որոնք էլ բերում են բջիջների ավելի ինտենսիվ ներկմանը (նկար 6 D, E): Կորիզը գրավում է կենտրոնական դիրք և փոխազդում է սատելիտային գլխայի և արյան անոթների հետ (նկար 6 D F, d, f): Հիպոկամպի CA1, CA3 դաշտերում և ատամնավոր գալարում բջիջները ունեն նույն կառուցվածքն, ինչպիսին է ինտակտ առնետների դեպքում:

A β ₂₅₋₃₅ – ի դեպքում թույնի ազդեցության պայմաններում գրգռման ազդեցությունը վերականգնվում է՝ հասնելով նորմալ մակարդակի, որն էլ վկայում է թույնի ակնհայտ պաշտպանիչ ազդեցության մասին, անկախ հիվանդության ծանրությունից ԱՀ – ով հիվանդ տարբեր առնետների մոտ:



Նկար 6. Բիլապերալ ներուղեղփորոքային ճանապարհով $A\beta_{25-35}$ ամփոփող ներարկված առնետների (A-C) և ներուղեղփորոքային ճանապարհով թորած ջուր ու ներմկանային ջուր ներարկված առնետների հիպոկամպի կտրվածքները (D, d, E, e, F, f): Նեյրոնները հիպոկամպի CA1 (A, D, d), CA3 դաշտերում (B, E) և ստամոքավոր գալարում (DG) (C, F, f): Հիպոկամպի նեյրոնների էկտոպիկական կորիզը, կենտրոնական քրոմատոլիզ (A-C), F - DG-ի գրանուլային շերտում նեյրոնների խտության նվազում (սև ցուցասլաք – կենտրոնական քրոմատոլիզ, սպիտակ ցուցասլաք – գլխայի կորիզը, աստղանիշ – այրուց, ցուցասլաքի գլխիկ – բարակ ապիկալ դենդրիտներ):

3.3. Առնետի ուղեղի հիպոկամպի նեյրոնների էլեկտրական ակտիվության ուսումնասիրումն Ալցհեյմերի հիվանդության ամիլոիդային մոդելում

ԱՀ – ի վաղ փուլերում ի հայտ են գալիս ճանաչողական խաթարումներ, որոնք կապված են խոլիներգիկ և գլյուտամատերգիկ ընկալիչների, ինչպես նաև, ցիտոզոլային ֆոսֆոլիպազ A_2 –ի և արախիդոնաթթվի ակտիվության հետ (Gattaz W. *et al* 2014): Քանի որ ֆոսֆոլիպազ A_2 –ը մասնակցում է նյարդային հոմեոստազին և հիշողության ձևավորմանը, ապա նրա ակտիվության մեծացումը կարող է կարևոր թերապևտիկ նշանակություն ունենալ ԱՀ–ի բուժման համար (Talib L. *et al* 2015; Schaeffer E. *et al* 2009): Իմունահիստոքիմիական ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ դիտվում է ֆոսֆոլիպազ A_2 –ի բարձր էքսպրեսիա հիպոկամպում, ուղեղիկում և կեղևում, իսկ տեսաթմբում և ենթատեսաթմբում՝ ցածր էքսպրեսիա, ինչը համապատասխանում է նաև նախկինում իրականացված իմունահիստոքիմիական ուսումնասիրություններին (Shirai Y. and Ito M. 2004):

Հայտնի է, որ ԱՀ – ի ժամանակ հիպոկամպի գլյուտամատերգիկ և միջանկյալ ուղեղի ացետիլխոլիներգիկ նեյրոնների դեգրադացիա կարող է տեղի ունենալ, երբ պահպանվում են ԳԱԿԹ–երգիկ նեյրոններն, ենթադրելով, որ արգելակումը հանդիսանում է նեյրոնների պաշտպանական մեխանիզմ (Nation D. *et al* 2013): ԱՀ–ի ախտաբանական ցուցանիշներն են հանդիսանում սինապտիկ դեգեներացիան, ամիլոիդային սկավառակների և նյարդային թելիկների կուտակումը (Birnbbaum J. *et al* 2015): $A\beta$ –ի օլիգոմերիկ և պրոտոֆիբրիլյար ձևերն էապես ազդում են նյարդային և գլխալ ֆունկցիաների վրա, որը ենթադրում է, որ նրանք հանդիսանում են երկարատև պոտենցիացիայի (ԵՏՊ) նշանակալի արգելակիչներ: ԵՏՊ – ն հանդիսանում է սինապտիկ պլաստիկության ձևերից մեկն, որը փոխում է ազդանշանային ուղիները (Clarke J. *et al* 2015): Սինապտիկ ճկունության, հիմնականում ԵՏՊ–ի խաթարումը ԱՀ – ի ժամանակ հանդիսանում է հիվանդության վաղ կենսաքիմիական փոփոխություն (Mattson M. and Chan S. 2003):

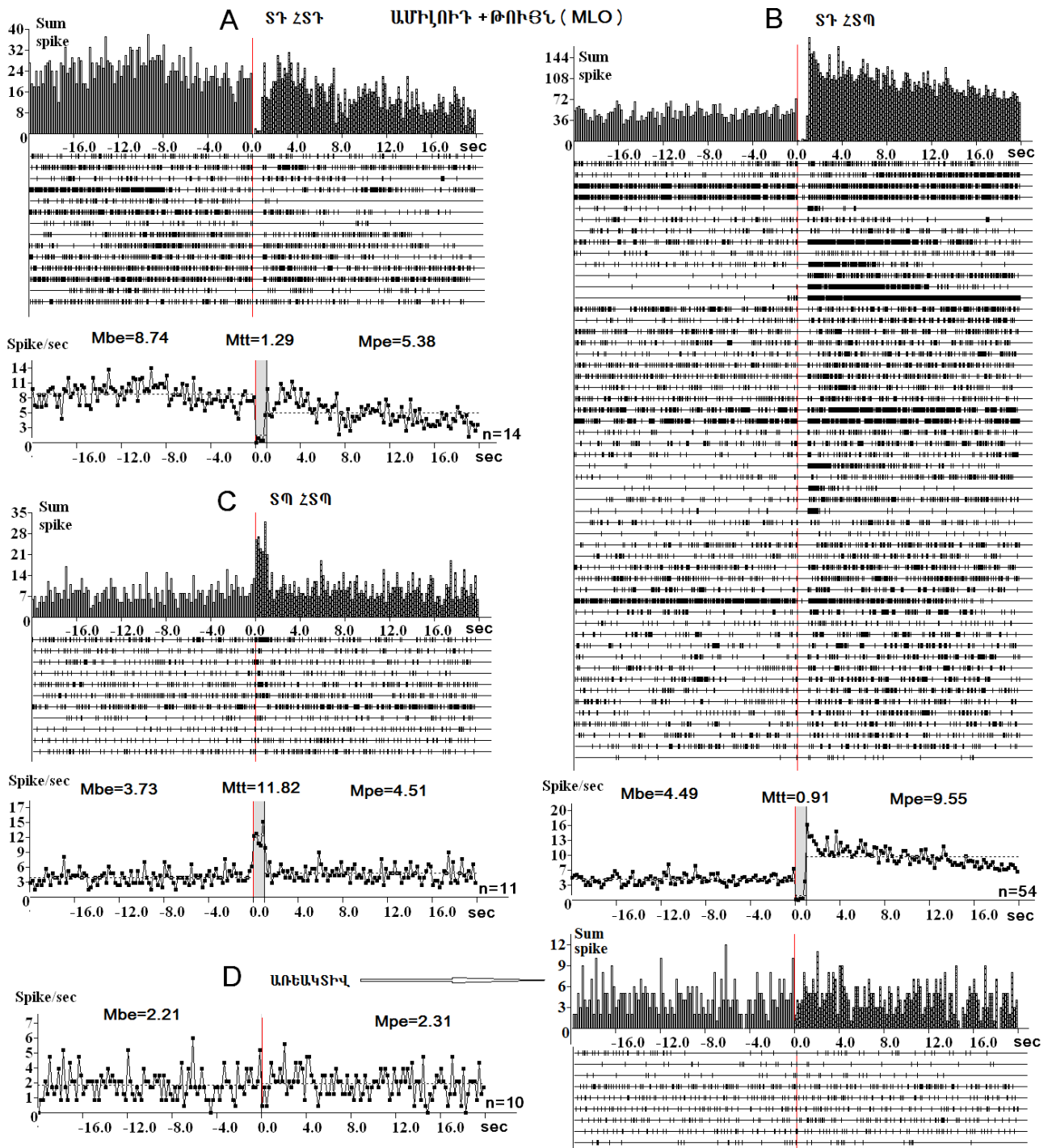
Մեր փորձարարական շարքում ամիլոիդ + թույն (*MLO*) ներարկվող խմբում հիպոկամպի նեյրոններում սպայկային ակտիվությունը գրանցվել է պատասխանների

բաղադրիչների հետևյալ հավասարակշռությամբ՝ ՏՊ-ՀՏՊ (12.35%), ՏԴ-ՀՏԴ (15.73%), ՏԴ-ՀՏՊ (61%), առեակտիվ (11.24%):

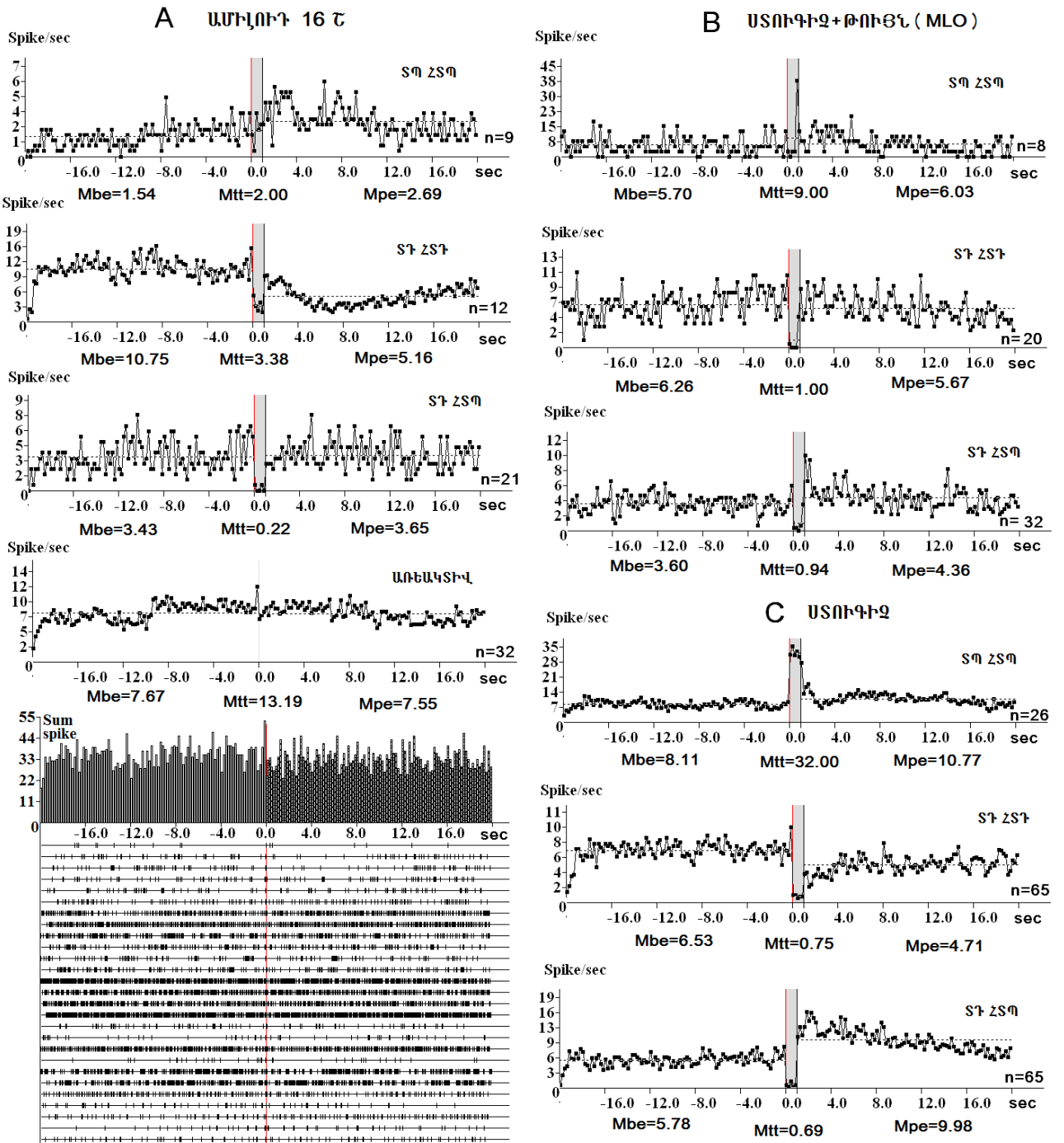
16 շաբաթական ամիլոիդ ներարկված խմբում էնտորինալ կեղևի բարձր հաճախականությամբ խթանման պայմաններում հիպոկամպի որոշ նեյրոններում գրանցվում է պատասխանների տիպերի հետևյալ մասնաբաժինները՝ ամիլոիդ ՏՊ-ՀՏՊ (12.16 %), ՏԴ-ՀՏԴ (16.2 %), ՏԴ-ՀՏՊ (28.4 %) և առեակտիվ (43.24 %), ստուգիչ+թույն (ՏՊ-ՀՏՊ - 13.33%, ՏԴ-ՀՏԴ - 33.33%, ՏԴ-ՀՏՊ - 53.3%) և ստուգիչ (ՏՊ-ՀՏՊ - 16.7%, ՏԴ-ՀՏԴ - 41.7%, ՏԴ-ՀՏՊ - 41.7%):

Ե՛վ ամիլոիդ, և՛ ամիլոիդ + թույն ներարկված խմբերում ի հայտ են գալիս առեակտիվ միավորներ (ամիլոիդ - 43.24 %, ամիլոիդ + թույն - 11.24%): Մինչդեռ AB_{25-35} ինդուցված ԱՀ-ի դեպքում գրանցված տվյալները ՏՊ-ՀՏՊ (12.16%) գրեթե չեն տարբերվում ամիլոիդ + թույն (12.35%) ներարկված խմբի տվյալներից: Սակայն, համեմատած ամիլոիդ ներարկված խմբի ՏԴ-ՀՏՊ (28.4%), թույնը նշանակալիորեն մեծացնում է ՏԴ-ՀՏՊ պատասխաններ դրսևորող նեյրոնների քանակը (61%) ամիլոիդ + թույն ներարկված խմբում:

Ըստ նախա- և հետսինապտիկ մասնիկների հետ տարբեր փոխազդեցությունների տվյալների՝ սինապսը պոտենցիալ թիրախ է հանդիսանում β ամիլոիդի համար (Birnbbaum J. *et al* 2015): Հայտնի է, որ ԱՀ-ի ժամանակ կարող է տեղի ունենալ հիպոկամպի գլյուտամերգիկ և միջին ուղեղի ացետիլխոլիներգիկ նեյրոնների դեգրադացիա: Մինչդեռ, եթե պահպանվում են ԳԱԿԹ-երգիկ նեյրոններն, ենթադրվում է, որ արգելակումը հանդիսանում է պաշտպանական մեխանիզմ նեյրոնների համար (Kesner P. *et al* 2015):



Նկար 7. Դիագրամում ներկայացված է միջին սպայկային հաճախությունը՝ հաճախության միջին արժեքներով (սպայկ/վրկ) S7-ՀS7, S7-ՀS7, S7-ՀS7 տիպի նեյրոնային պարասիսանների դեպքում իրական ժամանակում, 20 վրկ մինչ բարձր հաճախականությամբ խթանումը (M_{BE}), 20 վրկ բարձր հաճախականությամբ խթանումից հետո (M_{PE})՝ ներառելով էնտորինալ կեղևի բարձր հաճախականությամբ խթանումը (M_{TT}), n – նեյրոնների այն քանակն է, որն օգտագործվել է դիագրամում սպայկային ակտիվության միջինացված հաճախությունը հաշվելու համար: Այս սպայկերը գրանցվում են էնտորինալ կեղևի բարձր հաճախականությամբ խթանման պարասիսանի դեպքում և ներկայացված են ռաստերի տեսքով:



Նկար 8. Նախա- և հետսինապտիկ հիպոդրամներ կառուցված հիպոկամպի նեյրոնների նշված տիպի պարասիսանների սպայկային ակտիվության վերաբերյալ: Միջին սպայկային հաճախության դիագրամները ներկայացված են նյարդային պարասիսանի հաճախության միջինացված արժեքներով (սպայկ/վրկ) իրական ժամանակում, 20 վրկ մինչ բարձր հաճախականությամբ խթանումը (M_{BE}), 20 վրկ բարձր հաճախականությամբ խթանումից հետո (M_{PE})՝ ներառելով բարձր հաճախականությամբ խթանումը 1 վրկ-ի ընթացքում (M_{TT}), n – նեյրոնների այն քանակն է, որն օգտագործվել է դիագրամում սպայկային ակտիվության միջինացված հաճախությունը հաշվելու համար:

Գրանցված պատասխանների արտահայտվածությունները համեմատելիս տեսնում ենք, որ S \mathcal{N} -ՀS \mathcal{N} պատասխաններ դրսևորող նեյրոններում S \mathcal{N} –ն արտահայտված է 1.3 անգամ (2/1.54) ամիլոիդ խմբում, 3.17 անգամ (11.82/3.73) ամիլոիդ + թույն խմբում, 3.95 անգամ (32/8.11) ստուգիչ խմբում: S \mathcal{N} -ՀS \mathcal{N} պատասխաններ դրսևորող նեյրոններում S \mathcal{N} – ն արտահայտված է 3.18 անգամ ամիլոիդ խմբում, 6.78 անգամ ամիլոիդ + թույն խմբում, 8.7 անգամ ստուգիչ խմբում: S \mathcal{N} -ՀS \mathcal{N} պատասխաններ դրսևորող նեյրոններում S \mathcal{N} - ն արտահայտված է 15.6 անգամ ամիլոիդ խմբում, 4.93 անգամ ամիլոիդ + թույն խմբում, 8.4 անգամ ստուգիչ խմբում: Իսկ ՀS \mathcal{N} պատասխաններն արտահայտված են 2.12 անգամ ամիլոիդ + թույն խմբում և 1.73 անգամ ստուգիչ խմբում, ամիլոիդ խմբում չեն արտահայտված ($M_{BE} = 3.43$, $M_{pe} = 3.65$): Վերը նկարագրվածը մատնանշում է ամիլոիդ + թույն խմբի նեյրոնների պատասխանների մակարդակի մոտեցումը ստուգիչ խմբին (նկար 7, 8):

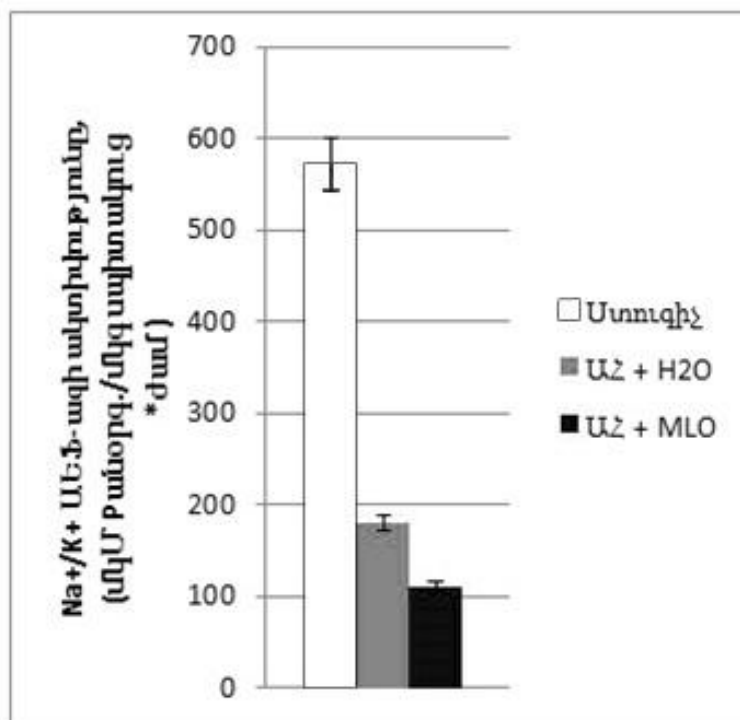
PLA₂ ենթատեսակները ներգրավված են զանազան կենսաբանական ֆունկցիաներում և նրա ակտիվության նվազումը բացահայտված է ԱՀ հիվանդների մոտ: Նրանցից ներթափանցիկ կալցիում անկախ PLA₂-ը (intracellular calcium independent PLA₂՝ iPLA₂) և ցիտոզոլային կալցիում կախյալ PLA₂-ը (cytosolic calcium dependent PLA₂՝ cPLA₂) ներգրավված են նեյրոնի դեգեներացիայի և մահվան մեջ: Բջջային և կենդանական մոդելներում iPLA₂-ի ակտիվության ճնշումը հանգեցնում է երկարատև պոտենցիացիայի և նեյրիտների աճի նվազմանը հիպոկամպի բջիջներում (Gattaz W. *et al* 2014): Ուստի հավանաբար մեր մոդելում ևս տեսականորեն ակնկալվում է iPLA₂ մակարդակի իջեցում և, որպես հետևանք, հիպոկամպի աֆերենտ և էֆերենտ կապերը ապահովող նեյրիտների նվազում, ինչն էլ իր հերթին հանգեցնում է կեղև-հիպոկամպ շղթաներում կապերի թուլացմանը/չեզոքացմանը և առեակտիվ նեյրոնների գերակայությանը (այդպիսիները մեր փորձերում կազմել են 43,24%): Մյուս կողմից, cPLA₂-ի ակտիվության բարձրացումը կոռելացվում է առախիդոնաթթվի ակտիվության հետ (Gattaz W. *et al* 2014) և օժի թույնի փոքր չափաբաժինների ազդեցության ներքո հնարավոր է ակտիվացած cPLA₂-ի նյարդապաշտպան ազդեցության հետևանք լինեն մեր փորձերում գրանցված սինապտիկ ակտիվության մակարդակները՝ մեծամասամբ գրեթե համապատասխանող բնականոնին:

3.4. Առնետի ուղեղի հիպոկամպի նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազի որոշումն Ալցհեյմերի հիվանդության ամիլոիդային մոդելում

Չնայած դեռևս ամբողջովին պարզաբանված չէ ԱԿ-ի ժամանակ նեյրոնների վնասման պատճառը, բայց ենթադրվում է, որ նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազը կարող է լինել պոտենցիալ բավականին հզոր նյարդապաշտպան գործոն ԱԿ-ի դեմ պայքարելու գործում (Zhang L. *et al* 2013): Այդ իսկ պատճառով ուսումնասիրվել է նաև *MLO* օձի թույնի ազդեցությունն Ալցհեյմերով հիվանդ առնետների հիպոկամպի նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազի ակտիվության վրա: Ցույց է տրված, ըստ գրական տվյալների, որ ԱԿ-ի պաթոլոգիայի դեպքում նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազի ակտիվությունը խիստ ճնշված է: Ենթադրվում է, որ նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազի ակտիվության նվազումը ԱԿ-ի ժամանակ ուղեղային հյուսվածքում չի կարելի լիովին վերագրել նեյրոնների երկրորդային կորստին, քանի որ դա կարող է հանդիսանալ ամիլոիդի ուղղակի ազդեցություն այս ֆերմենտի աշխատանքի վրա: Նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազի աշխատանքի նվազումն ակնհայտորեն ցույց է տալիս ախտաբանական գործընթացի առկայությունը հիպոկամպում, որը հնարավոր է ունի որոշակի կոմպենսատոր նշանակություն, քանի որ վկայում է ախտահարված նյարդային բջիջների իոնային փոխանակության խախտման մասին, որն և ճնշում է պոմպի աշխատանքը (նկար 9): Չնայած մորֆոլոգիական հյուսվածքային ուսումնասիրություններում մեր կողմից արձանագրված դրական փոփոխությունների, թույնի ներարկման ժամանակ տվյալ դեպքում թույնի ազդեցությամբ հիպոկամպում նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազի ակտիվության ավելացում չի նկատվում, նույնիսկ հակառակը՝ ֆերմենտի ակտիվությունն էլ ավելի է նվազում: Դա առավել ևս հետաքրքիր է, քանի որ ստուգիչ (առողջ) կենդանիների մոտ կովկասյան գյուրզայի թույնի փոքր չափաբաժինների ներարկումը հիպոկամպում բերում է նատրիում/կալիումական պոմպի աշխատանքի թեև աննշան, բայց նկատելի խթանմանը, որը գրանցվում է ինչպես ներարկումներից անմիջապես հետո, այնպես էլ՝ շատ ամիսներ անց (տվյալները ներկայացված չեն):

Իոնային հոմեոստազի և օսմոտիկ բալանսի խախտումը, ըստ երևույթին, խստորեն կապված է դենդրիտների նորմալ էլեկտրոտոնիկ հատկությունների հետ, և

մեր նշված դեպքում (ամիլոիդի ներարկման ժամանակ) արգելակվում է միջնեյրոնային ազդակների իրականացումն, որը կապված է նեյրոնների դիստրոֆիայի հետ: Այդ ազդեցությունն, ըստ երևույթին, տեղի է ունենում շատ արագ և շատ դժվարությամբ է ենթակա վերականգմանը հայտնի դեղորայքների միջոցով (Dickey C. *et al* 2005): Կարելի է ենթադրել, որ թերապևտիկ գործոններն, որոնք կկարողանան ակտիվացնել քայքայված նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազի աշխատանքը ԱՀ-ի ժամանակ, կկարողանան նաև բարելավել պաթոլոգիկ ախտանիշներն և արգելակել հիվանդության զարգացումը:



Նկար 9. Նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազի ակտիվության տարբերությունն առողջ (ստուգիչ), բիլատերալ ներուղեղփորոքային ճանապարհով $A\beta_{25-35}$ ամիլոիդ, ներմկանային ջուր ներարկված առնետների (ԱՀ + H₂O) և ներուղեղփորոքային ճանապարհով $A\beta_{25-35}$ ամիլոիդ, ներմկանային MLO ներարկված առնետների (ԱՀ + MLO) հիպոկամպում ($M \pm SEM$, $p < 0.05$):

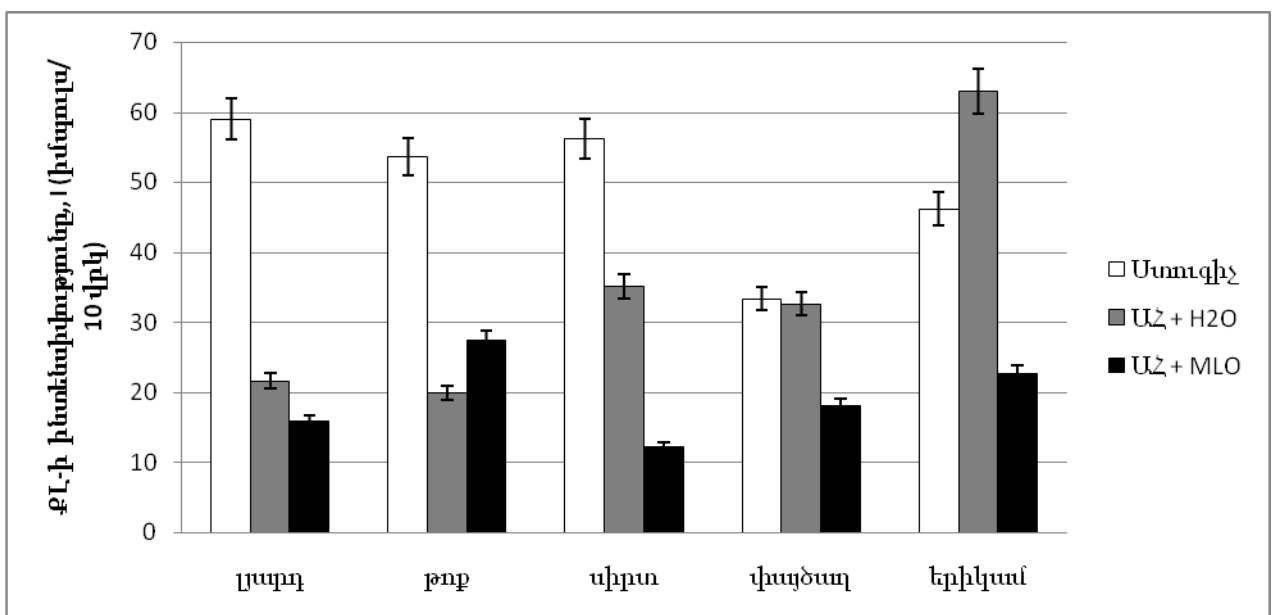
Ուղեղի նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազի ակտիվությամբ պայմանավորված էլեկտրաքիմիական գրադիենտն ընկած է նեյրոնի հանգստի և գործողության պոտենցիալի, ինչպես նաև նյարդամիջնորդանյութի արտազատման և կլանման հիմքում: Նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազի ակտիվության իջեցումը բարձրացնում է նյարդային դրդելիությունը: Այս տեսանկյունից նատրիում/կալիումական ԱԵՖ-ազի

աշխատանքի արգելակումը ամիլոիդային մոդելում կարող է հետևանք լինել թաղանթների դեգրադացիայի (Funck V. *et al* 2015), իսկ ամիլոիդոթույն խմբում՝ ադապտոգեն գործոն հանդիսանալ մեր կողմից գրանցված դրդիչ և արգելակիչ պատասխանների համար:

3.5. Ալցհեյմերի հիվանդության ամիլոիդային մոդելում տարբեր հյուսվածքներում առկա օքսիդատիվ պրոցեսների ուսումնասիրությունը

Փորձերի հաջորդ շարքում ուսումնասիրվել է հիպոկամպից բացի նաև այլ հյուսվածքների ախտաբանական փոփոխություններն ինչպես Ալցհեյմերի մոդելում, այնպես էլ *MLO* օձի թույնով *in vivo* մշակումից հետո:

Այդ նպատակով հետազոտվել է որոշ օրգանների ազատ ռադիկալային գործընթացների ինտենսիվությունը (նկար 10):

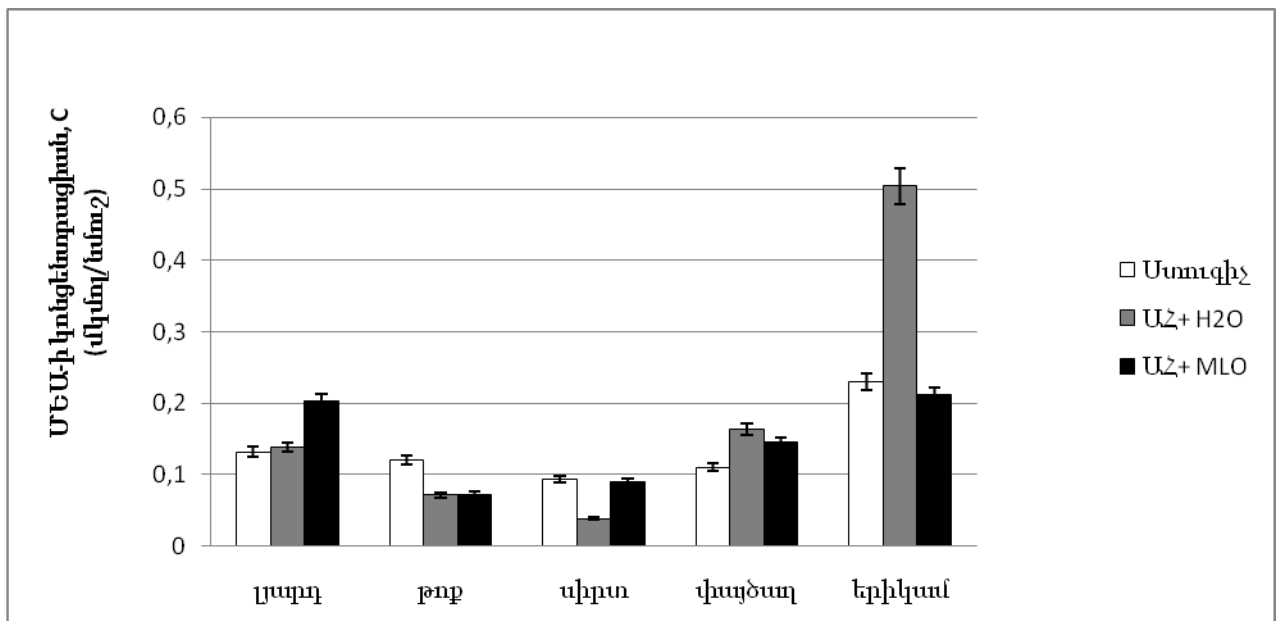


Նկար 10. Սպոնտան քիմյումինեսցենցիայի ինտենսիվության մակարդակը՝ առողջ (ստուգիչ), բիլատերալ ներուղեղփորոքային ճանապարհով $A\beta_{25-35}$ ամիլոիդ, ներմկանային ջուր ներարկված առնետների ($A\beta + H_2O$) և ներուղեղփորոքային ճանապարհով $A\beta_{25-35}$ ամիլոիդ, ներմկանային MLO ներարկված առնետների ($A\beta + MLO$) օրգանների հոմոգենատներում ($M \pm SEM$, $p < 0.05$):

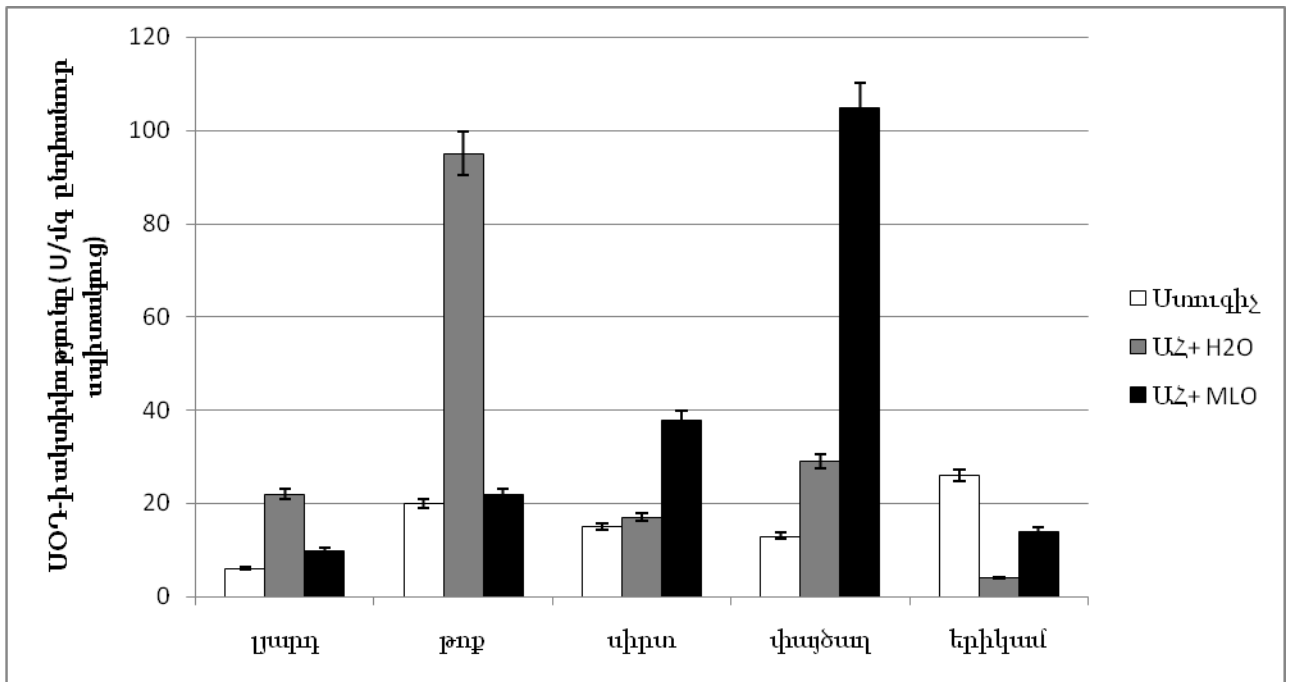
Ակնհայտորեն երևում է, որ Աβ-ով հիվանդ առնետների մոտ ուսումնասիրվող օրգանները մեծամասամբ ունեն շատ ավելի ցածր գերթույլ լուսարձակում, որը

բնորոշում է ազատ ռադիկալային գործընթացների ինտենսիվությունը: Բացառություն է ներկայացնում երիկամային հյուսվածքն, որի քիմյումինեսցենցիայի ինտենսիվությունը ԱՀ-ի ժամանակ զգալի ավելացած է, նաև ստուգիչի համեմատ հավաստի տարբերություն չի նկատվում փայծաղի դեպքում:

Պետք է նշել, որ MLO օձի թայնով մշակումը չի բերում ազատ ռադիկալային պրոցեսների նորմալ ինտենսիվության վերականգմանը, այլ՝ ընդհակառակը, գրեթե բոլոր հյուսվածքներում դրանք ավելի ճնշված են:



Նկար 11. Մալոնային երկալդեհիդի քանակության տարբերությունը առողջ (ստուգիչ), բիլատերալ ներուղեղփորոքային ճանապարհով Aβ₂₅₋₃₅ ամիլոիդ, ներմկանային ջուր ներարկված առնետների (ԱՀ + H₂O) և ներուղեղփորոքային ճանապարհով Aβ₂₅₋₃₅ ամիլոիդ, ներմկանային MLO ներարկված առնետների (ԱՀ + MLO) օրգանների հոմոգենատներում (M±SEM, p< 0.05):



Նկար 12. Սուպերօքսիդիսմուտագ ֆերմենտի ակտիվության տարբերությունը առողջ (ստուգիչ), բիլատերալ ներուղեղփորոքային ճանապարհով AB_{25-35} ամիլոիդ, ներմկանային ջուր ներարկված առնետների ($U< + H_2O$) և ներուղեղփորոքային ճանապարհով AB_{25-35} ամիլոիդ, ներմկանային MLO ներարկված առնետների ($U< + MLO$) օրգանների հոմոգենատներում ($M \pm SEM, p < 0.05$):

Պատկերը մի փոքր այլ է մալունային երկալդեհիդի քանակության որոշման դեպքում (նկար 11): Ալցիեյմերով հիվանդ առնետների մոտ համեմատած առողջ առանձնյակների թոքում և սրտում նկատվում է ՄԵԱ-ի կոնցենտրացիայի նվազում, լյարդում տարբերություն գրեթե չի դիտվում, իսկ փայծաղում և երիկամում հակառակը՝ նկատվում է ՄԵԱ-ի կոնցենտրացիայի ավելացում, ընդ որում էական տարբերություն է գրանցվում երիկամում: MLO օձի թույնով մշակումից հետո սրտում, փայծաղում և երիկամում լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման մակարդակը վերականգնվում է մինչև ստուգիչի արժեքները, իսկ լյարդում և թոքում փոխվում է, սակայն, ոչ այդքան շատ: Քանի որ նկարագրված ազատ ռադիկալային լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման գործընթացները հյուսվածքներում կապված են հակաօքսիդանտային ֆերմենտային համակարգի աշխատանքի հետ, ապա մենք տրամաբանական գտանք հետազոտել նաև սուպերօքսիդիսմուտագ ֆերմենտի ակտիվությունը (նկար 12), քանի որ այն հանդիսանում է հակաօքսիդանտային համակարգի առաջին պատնեշը:

Ցույց է տրված, որ ԱՀ-ով հիվանդ առնետների լյարդում, թոքում և փայծաղում համեմատած ստուգիչի, դիտվում է ՍՕԴ-ի ակտիվության բարձրացում, ընդ որում էական տարբերություն է գրանցվում թոքում, իսկ սրտում առկա բարձրացումն աննշան է և հավաստի չէ: Երիկամում, ընդհակառակը, համեմատած ստուգիչի, դիտվում է ՍՕԴ-ի ակտիվության նշանակալի նվազում: *MLO* օձի թույնով մշակումից հետո լյարդում և թոքում ՍՕԴ-ի ակտիվությունը գրեթե վերականգնվում է մինչև ստուգիչի արժեքները, սրտում և փայծաղում դիտվում է ՍՕԴ-ի ակտիվության ավելի բարձր մակարդակ համեմատած ԱՀ-ով հիվանդ և ստուգիչ առանձնյակների, ընդ որում էական աճ է դիտվում փայծաղի դեպքում: Ի տարբերություն այս օրգանների, երիկամում առկա տարբերությունը *MLO* օձի թույնով մշակումից հետո այդքան էլ էական չէ:

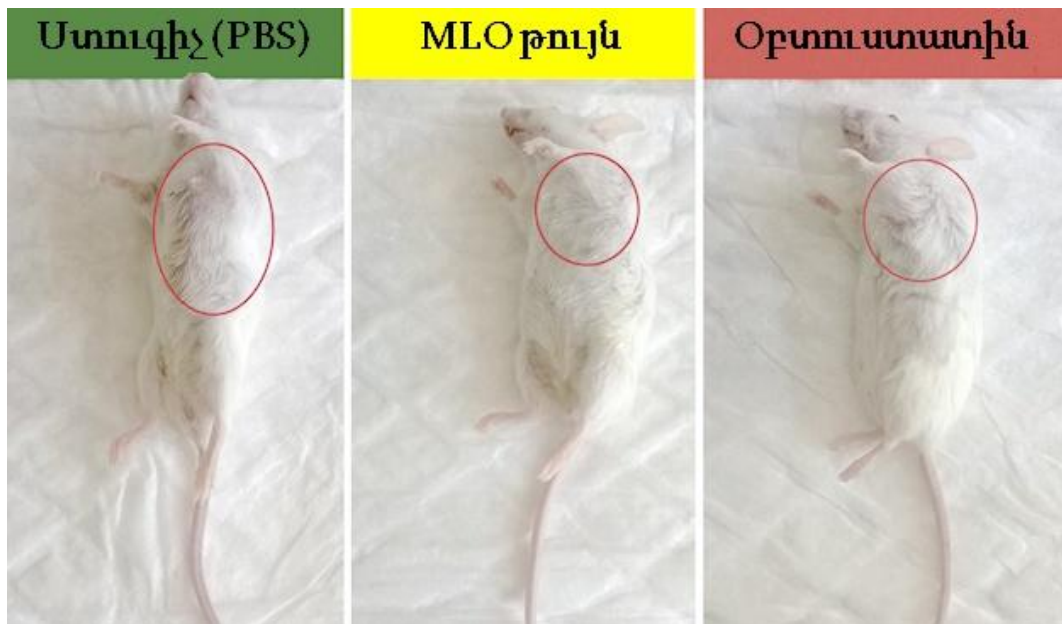
Հետաքրքիր է նշել այն փաստն, որ ՍՕԴ-ի ակտիվության տվյալներն իրենցից ներկայացնում են քիմյումինեսցենտային անալիզի օգնությամբ ստացված ազատ ռադիկալային գործընթացների ինտենսիվության հակադարձ պատկերը: Դա ակնկալվող արդյունք է, քանի որ հայտնի է, որ ազատ ռադիկալային գործընթացներն և հակաօքսիդանտային համակարգի աշխատանքի ինտենսիվությունն իրարից խիստ կախված են և նորմայում դինամիկ բալանս են ներկայացնում՝

$$L\dot{9}O \Leftrightarrow <O\dot{U}$$

ՄԵԱ-ի կոնցենտրացիայի տարբերությունն այս օրինաչափությունից պայմանավորված է մեթոդական յուրահատկություններով, որի ժամանակ հաշվի չեն առնվում չհագեցած կրկնակի կապից առաջացած ազատ ռադիկալները (խոսքը գնում է հիմնականում լիպիդների ճարպաթթվային մնացորդների մասին), իսկ քիմյումինեսցենտային անալիզն ավելի լիարժեք է արտացոլում օրգանիզմում տեղի ունեցող բոլոր ազատ ռադիկալային գործընթացները:

3.6. *MLO* օձի թույնի և օբտուսատառինի ազդեցությունը մկների S-180 ուռուցքի աճի վրա

Փորձերի առաջին փուլում մոդելավորվել է մկան մոտ S-180 ուռուցքի առաջացումը: Ուռուցքային բջիջները ներդրվել են մկների մաշկի տակ: Ուռուցքակիր մկները բաժանվել են 3 խմբի՝ ստուգիչ (PBS ներարկված), օբտուսատառին (50 մկգ/մուկ) և *MLO* օձի թույն (10 մկգ/մուկ) ներարկված խմբեր:



Նկար 13. MLO օձի թույնը զգալիորեն ազդում է ուռուցքի չափերի կրճատման վրա համեմատաբար ստուգիչի և օբտուսատառինով մշակված մկների հետ: Կարմիրով ցույց է տրված ուռուցքի տեղադրությունը:

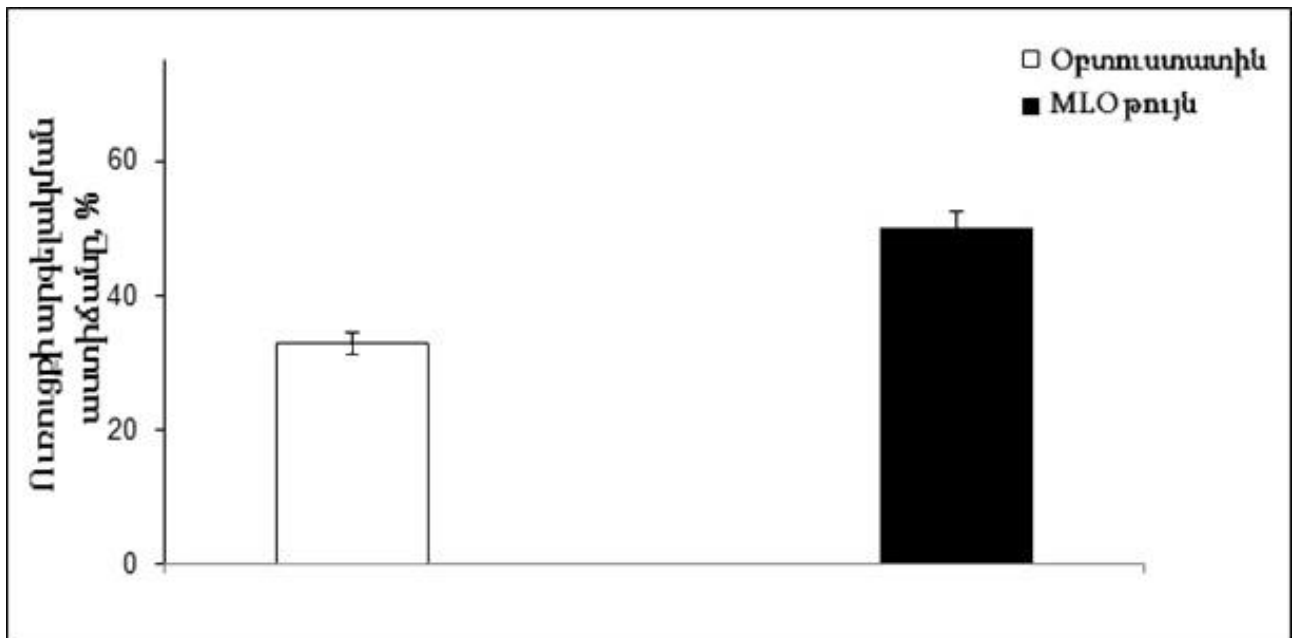
Ինչպես ցույց է տրված նկար 13-ում, *MLO* օձի թույնի ազդեցությունը S-180 սարկոմայի վրա ամենահզորն է, համեմատաբար ստուգիչի և օբտուսատառինի հետ:

Բացի այդ, S-180 սարկոմակիր մկների մարմնի քաշի զգալի փոփոխություն տեղի չի ունեցել, ինչը վկայում է այն մասին, որ մշակումը նկատելի կողմնակի ազդեցություններ չի ունեցել: Բոլոր 3 խմբերը պարունակում են 5-ական մուկ, որոնք ամեն օր կշռվել են: Եվ օձի թույն, և՛ օբտուսատառին ներարկված մկների քաշը համընկնում է ստուգիչի հետ (աղյուսակ 1):

Աղյուսակ 1. Մկների քաշի փոփոխությունը ներարկման օրերի ընթացքում: Տվյալները միջինացված են ($p < 0,05$):

Օրեր	Խմբեր	1	2	3	4	5	6
Մարմնի քաշը (գ)	Ստուգիչ (PBS)	23.3±0.6	22.9±0.6	22.5±0.6	22.3±0.5	22.3±0.4	22.7±0.3
	MLO օձի թույն	25±0.5	24.1±0.8	23.3±1.3	23.5±1.6	23.7±1.9	25.4±2.3
	Օբտուստատին	25.3±0.6	24.2±0.6	23.2±0.7	22.5±0.8	22.3±1.1	22.6±1.1

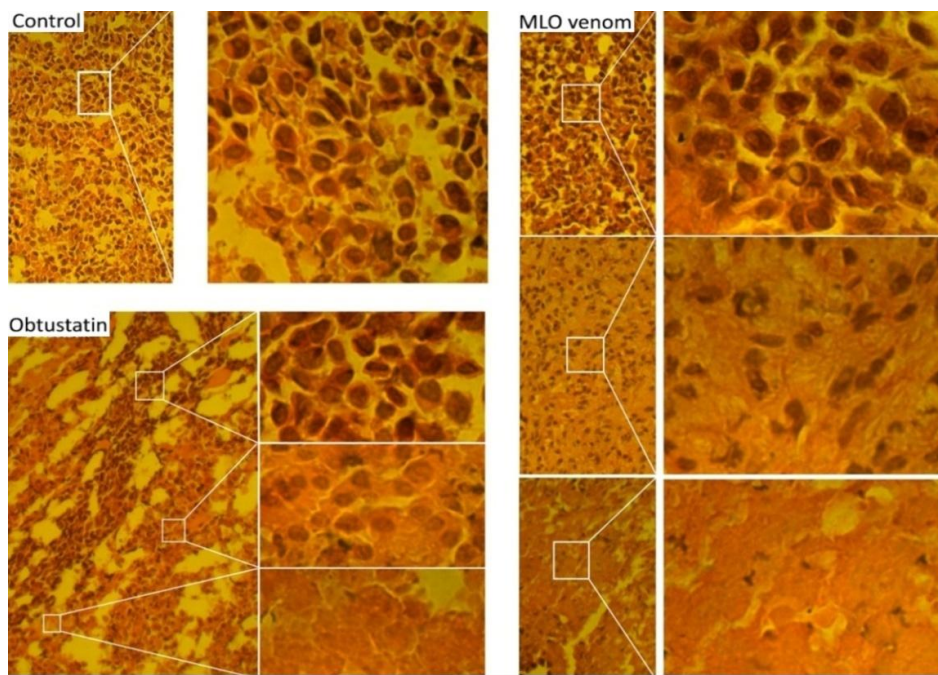
In vivo պայմաններում, արդյունքները ցույց են տվել, որ MLO օձի թույնը և օբտուստատինը զգալիորեն ճնշում են S-180 սարկոմայի աճը համեմատած ստուգիչի հետ, համապատասխանաբար 50 % և 33 % (նկար 14):



Նկար 14. S-180 սարկոմայի աճի ճնշումը MLO օձի թույնի և օբտուստատինի կողմից ($p < 0.05$):

3.7. MLO օձի թույնի և օբտուստատինի ազդեցությունը S-180 ուռուցքի հիստոլոգիական պատկերի վրա

MLO օձի թույնի (10 մկգ/մուկ) և օբտուստատինի (50 մկգ/մուկ)՝ S-180 սարկոմայի վրա ունեցած հակաուռուցքային ակտիվության հետազա գնահատման համար ուռուցքը հեռացվել է բոլոր մկներից՝ հեմատաքսիլինով և էոզինով ներկման համար: Մշակված նմուշների ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ MLO օձի թույն և օբտուստատին ներարկված մկների մոտ ուռուցքը զգալիորեն ավելի ճնշված է և փոքր, քան ստուգիչ մկների մոտ: Կարևոր է նշել, որ ստուգիչ ուռուցքային նմուշներում բջիջներն ավելի կոմպակտ դասավորություն ունեն, իսկ MLO օձի թույն և օբտուստատին ներարկվածների մոտ՝ նկատելիորեն անկանոն: Ստուգիչի համեմատությամբ, մյուս երկու խմբերում նկատվում է նաև օջախային նեկրոզներ, նեկրոբիոզ, որն ավելի ցայտուն է արտահայտվում MLO օձի թույն ներարկված խմբի մոտ:



Նկար 15. S-180 սարկոմայի ախտաբանական փոփոխությունները՝ MLO օձի թույն և օբտուստատին ներարկելուց հետո: Թույն ներարկված ուռուցքային հյուսվածքը պարունակում է նեկրոզների և նեկրոբիոզների նոր լայն շրջան: Ստուգիչում ուռուցքային հյուսվածքն ավելի կոմպակտ և հստակ տեսք ունի: Մանրադիտակային պատկերները ներկայացված են համապատասխանաբար x 160, 640 խոշորացմամբ:

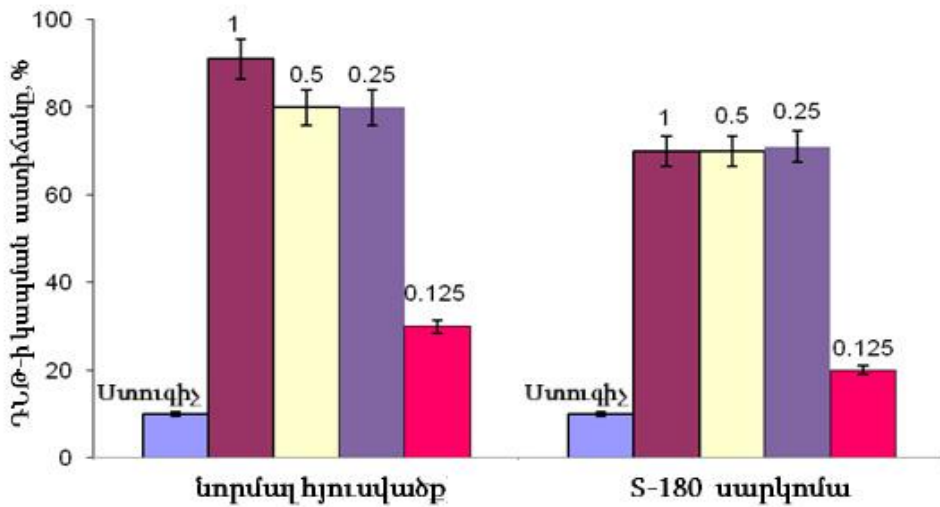
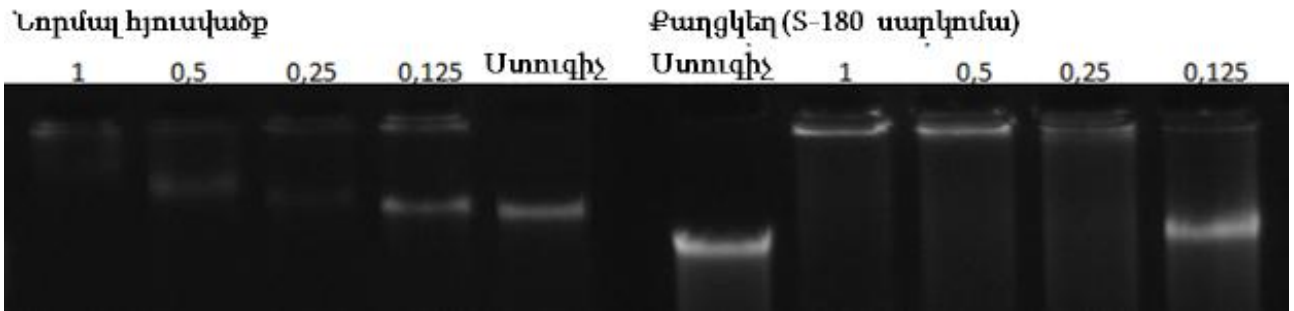
Այն հատվածներում, որտեղ դեռ կան ուռուցքային բջիջներ, նկատվում է կորիզների պոլիմորֆիզմ: *MLO* օձի թույն ներարկված ուռուցքի ակտիվ մասը զգալիորեն ավելի ճնշված է օբտուսատառին ներարկված և ստուգիչ խմբերի հետ համեմատած (նկար 15):

3.8. Օբտուսատառինի և *MLO* օձի թույնի կապումը S-180 սարկոմայի բջիջների գենոմային ԴՆԹ-ի հետ

Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել (նկար 16, վերև), որ օբտուսատառինը և *MLO* օձի թույնի որոշ այլ բաղադրիչներ ունակ են կապվելու S-180 ուռուցքի բջիջների գենոմային ԴՆԹ-ի հետ և ազդել նրա էլեկտրաֆորետիկ շարժունակության վրա (կատարվել են մի շարք ուսումնասիրություններ օբտուսատառինով և *MLO* օձի թույնով՝ տարբեր կոնցենտրացիաներով, SYBR կանաչ ազարոզային գելով շարժունակության որոշման համար): Հետաքրքիր է այն, որ *MLO* օձի թույնի կապումը նորմալ, առողջ հյուսվածքից առանձնացված ԴՆԹ-ի հետ մեծապես կախված է թույնի կոնցենտրացիայից, համեմատած S-180 սարկոմայի բջիջներից առանձնացված ԴՆԹ-ի (նկար 16): Երկրորդ դեպքում *MLO* օձի թույնի 3 կոնցենտրացիաներն (1 մգ/մլ, 0.5 մգ/մլ, 0.25 մգ/մլ) ունեն նման ազդեցություն (ԴՆԹ-ի կապումը մոտ 70 % է): Սա նշանակում է, որ օձի թույնի կապումը S-180 սարկոմայի բջիջների գենոմային ԴՆԹ-ի հետ ավելի ուժեղ է, քան առողջ հյուսվածքից առանձնացված ԴՆԹ-ի հետ:

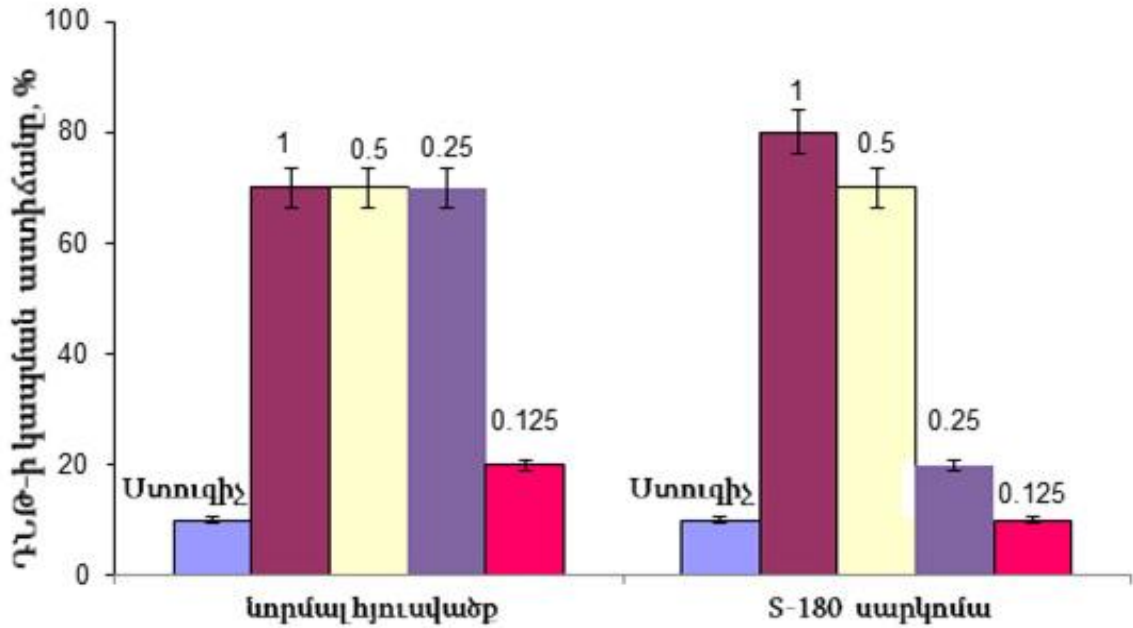
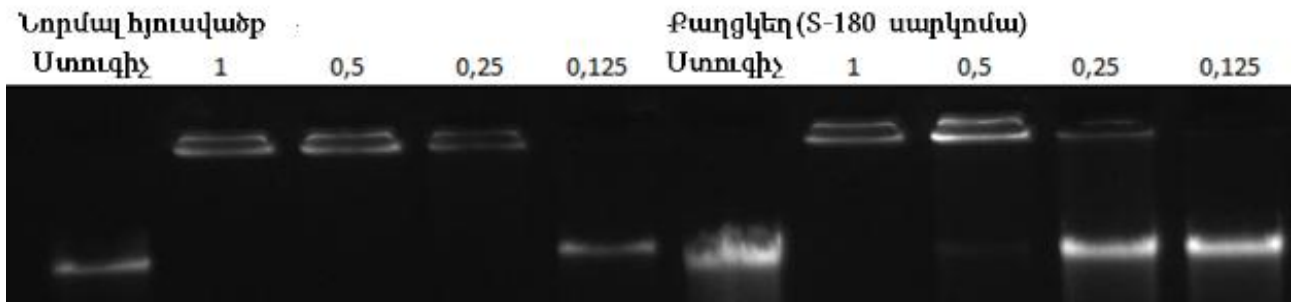
Օբտուսատառինի դեպքում (համապատասխան կոնցենտրացիաներով), նորմալ հյուսվածքից առանձնացված ԴՆԹ-ի հետ փոխազդեցությունը բավականին հետաքրքիր էր, քանի որ օբտուսատառինի 3 տարբեր կոնցենտրացիաներ (1 մգ/մլ, 0.5 մգ/մլ, 0.25 մգ/մլ) ունեն նույն ազդեցությունն, իսկ ԴՆԹ կապման ցուցանիշը մոտ 70 % է: Ավելի փոքր կոնցենտրացիայի դեպքում (0.125 մգ/մլ) օբտուսատառինի կապումը ԴՆԹ-ի հետ գրեթե չի նկատվում՝ մոտ 20 % (նկար 17, ներքև): Օբտուսատառինի կապումը S-180 սարկոմայի բջիջներից առանձնացված ԴՆԹ-ի հետ ավելի թույլ է, համեմատած *MLO* օձի թույնի: ԴՆԹ-ի հետ կապումը 0.25 մգ/մլ և 0.125 մգ/մլ կոնցենտրացիաների դեպքում 20 % և 10 % են համապատասխանաբար:

MLO թույն (մգ/մլ)



Նկար 16. MLO օձի թույնի ազդեցությանը S-180 սարկոմայի քիչքանակի գենոմային ԴՆԹ-ի էլեկտրաֆորետիկ շարժունակության անալիզ: Գենոմային ԴՆԹ-ն անջատվել է S-180 սարկոմայի քիչքանակից, որոնք մշակվել են MLO օձի թույնով (0 մգ/մլ, 1 մգ/մլ, 0.5 մգ/մլ, 0.25 մգ/մլ և 0.125 մգ/մլ) 30 րոպե և ենթարկվել էլեկտրաֆորետի 1 ժամ: Ստացված արդյունքները վկայում են այն մասին, որ MLO օձի թույնն ունակ է կապվելու S-180 սարկոմայի քիչքանակի գենոմային ԴՆԹ-ի հետ: Էլեկտրաֆորետի արդյունքները նկարվել և անալիզի են ենթարկվել <<J>> ծրագրային ապահովման միջոցով ($M \pm SEM$, $p < 0.05$):

Օբյուստատին (մգ/մլ)



Նկար 17. Օբյուստատինի ազդեցությամբ S-180 սարկոմայի բջիջների գենոմային ԴՆԹ-ի էլեկտրաֆորետիկ շարժունակության անալիզ: Գենոմային ԴՆԹ-ն անջատվել է S-180 սարկոմայի բջիջներից, որոնք մշակվել են օբյուստատինով (0 մգ/մլ, 1 մգ/մլ, 0.5 մգ/մլ, 0.25 մգ/մլ և 0.125 մգ/մլ) 30 րոպե և ենթարկվել էլեկտրաֆորեզի 1 ժամ: Սրացված արդյունքները վկայում են այն մասին, որ, ինչպես արդեն հայտնի էր, օբյուստատինը նույնպես ունակ է կապվելու S-180 սարկոմայի բջիջների գենոմային ԴՆԹ-ի հետ: Էլեկտրաֆորեզի արդյունքները նկարվել և անալիզի են ենթարկվել <<J>> ծրագրային ապահովման միջոցով ($M \pm SEM$, $p < 0.05$):

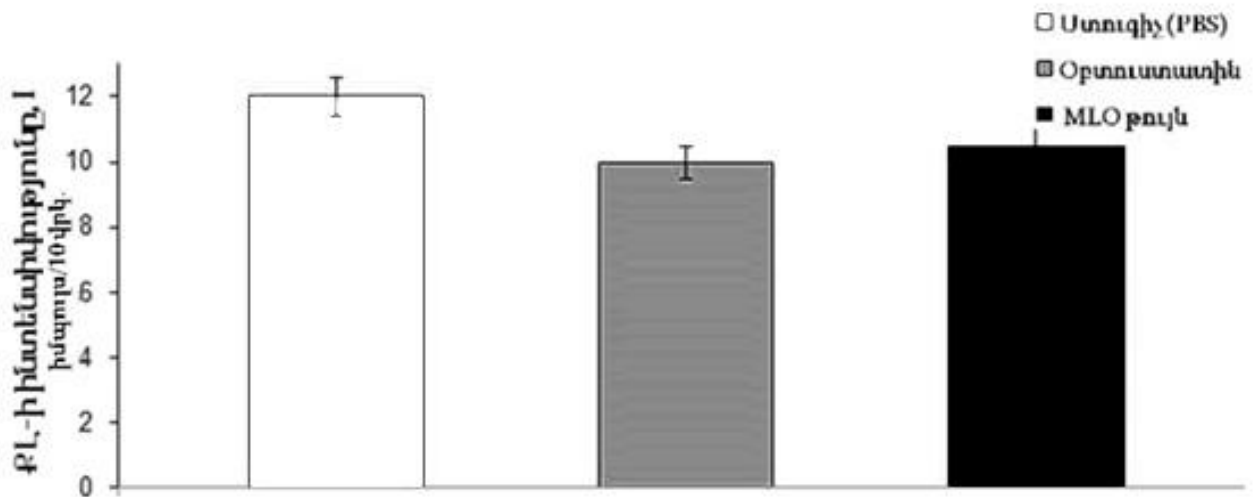
Այս արդյունքները ցույց են տալիս, որ օբտուսատիսինը և *MLO* օձի թույնն ունակ են կապվել S-180 սարկոմայի բջիջներից առանձնացված գենոմային ԴՆԹ-ի հետ և խոչընդոտել ԴՆԹ-ի էլեկտրաֆորետիկ անցմանը գելով:

Վերը նշված արդյունքներից կարելի է ենթադրել, որ *MLO* օձի թույնի որոշ այլ բաղադրամասեր ևս կապվում են S-180 սարկոմայի գենոմային ԴՆԹ-ի հետ, ինչի շնորհիվ արգելակվում է գեների էքսպրեսիան և դրանով խոչընդոտվում է ուռուցքի հետագա զարգացումը:

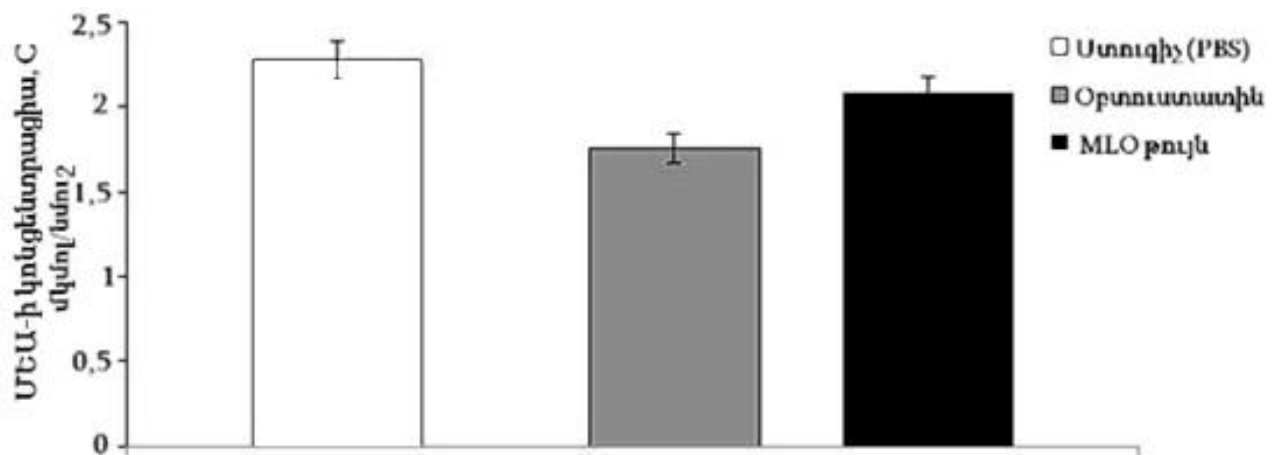
3.9. Ազատ ռադիկալային պրոցեսների և դրանց կարգավորող մեխանիզմների աշխատանքի փոփոխությունն օբտուսատիսինի և թույնի մշակումից հետո

Լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման պրոցեսների կարևորությունն ու առկայությունը տարբեր ուռուցքային հիվանդություններում արդեն հայտնի է: Պրոօքսիդանտների և հակաօքսիդանտների քանակությունների դիսբալանսը բերում է օքսիդատիվ սթրեսի, որն ապացուցված է, որ բերում է քաղցկեղի առաջացման (Battisti V. *et al* 2008; Chang D. *et al* 2008; Wauquier F. *et al* 2009): *In vivo* պայմաններում ուռուցքային կուլտուրայի տարբեր խմբերում չափվել է լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման աստիճանն, ինչը հանդիսանում է ինդիկատոր օքսիդատիվ սթրեսի համար:

Մեր ստացած արդյունքները ցույց են տվել, որ *in vivo* պայմաններում օբտուսատիսինով և *MLO* օձի թույնով մշակված նմուշներում քիմյումինեսցենցիայի ինտենսիվությունը նվազում է ստուգիչի հետ համեմատած (նկար 18): Քիմյումինեսցենտային անալիզից և ԹԲԹ թեստից ստացված արդյունքներն ակնհայտորեն ցույց են տալիս օբտուսատիսինի և *MLO* օձի թույնի հակաօքսիդանտային հատկությունը: Հետաքրքիր է, որ առողջ հյուսվածքում քիմյումինեսցենցիայի ինտենսիվությունը բարձր է (նկար 18), իսկ մալոնային երկալդեհիդի քանակությունը՝ քիչ (նկար 19) համեմատած ստուգիչ ուռուցքային կուլտուրայի հետ (տվյալները ներկայացված չեն):



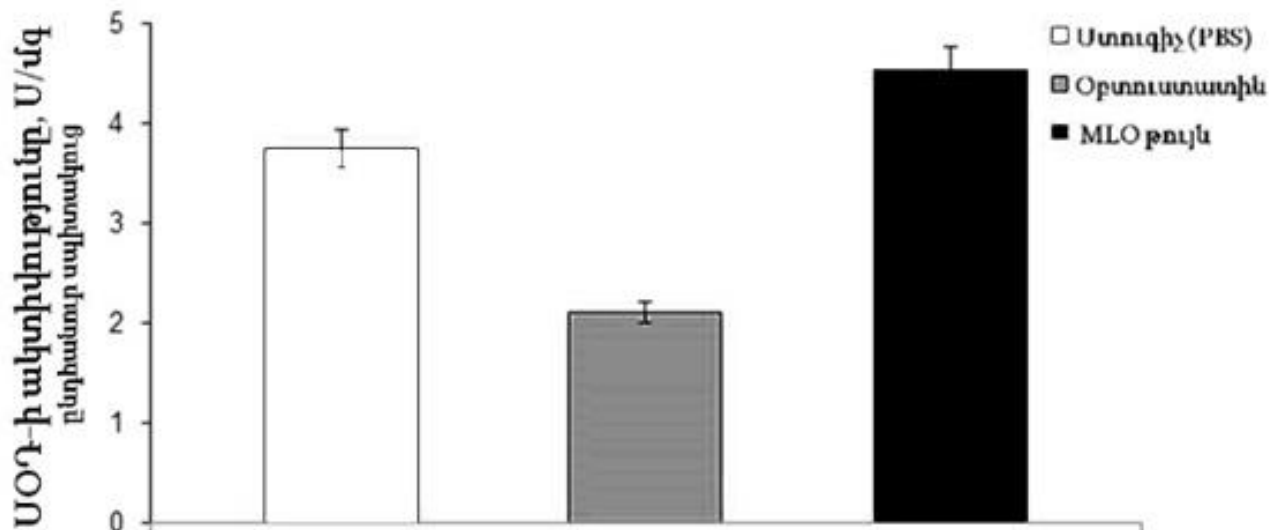
Նկար 18. Սպոնտան քիմյումինեցեոցիայի ինտենսիվության մակարդակը՝ *in vivo* պայմաններում օբոլուստատինով և MLO օձի թույնով մշակված S-180 սարկոմայի հյուսվածքում ($M \pm SEM$, $p < 0.05$):



Նկար 19. Մալոնային երկալդեհիդի քանակության տարբերությունը *in vivo* պայմաններում օբոլուստատինով և MLO օձի թույնով մշակված S-180 սարկոմայի հյուսվածքում: Մալոնային երկալդեհիդի քանակությունը զգալիորեն նվազել է օբոլուստատինով և MLO օձի թույնով մշակված մկների մոտ, համեմատած ստուգիչի հետ (ներարկվել է PBS) ($M \pm SEM$, $p < 0.05$):

Ինտակտ օրգանիզմի լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացման գործընթացների ուսումնասիրությունը տրամաբանորեն բերում է հակաօքսիդանտային ֆերմենտային համակարգի բաղադրիչների ակտիվության հետազոտման անհրաժեշտությանը: Այս

համակարգի աշխատանքը կայանում է նորմալ գործող օրգանիզմում գերօքսիդային օքսիդացման գործընթացների վնասող ազդեցության հավասարակշռման մեջ: Ահա թե ինչու, մեր հետազոտությունների հաջորդ փուլը նվիրված էր առնետների հյուսվածքներում սուպերօքսիդի սնուսագ (ՍՕԴ) ֆերմենտի ակտիվության որոշմանն ուռուցքակիր հյուսվածքում թույնի ներարկումից հետո:



Նկար 20. Սուպերօքսիդի սնուսագ ֆերմենտի ակտիվության փոփոխությունը *in vivo* պայմաններում օբտուսատինով և MLO օձի թույնով մշակված S-180 սարկոմայի հյուսվածքում: ՍՕԴ-ի ակտիվությունը զգալիորեն նվազել է օբտուսատինով և աճել է MLO օձի թույնով մշակված մկների մոտ, համեմատած ստուգիչի հետ (ներարկվել է PBS) ($M \pm SEM$, $p < 0.05$):

Ըստ ադրենալինի ինքնաօքսիդացման արգելակման բնույթի (լույսի ներկայությամբ, բարձր pH-ի դեպքում), օբտուսատինի ազդեցությունից հետո հյուսվածքներում ֆերմենտի ակտիվությունը զգալիորեն նվազում է (մոտ երկու անգամ) և նկատելի աճ է ապրում ընդհանուր թույնի մշակումից հետո ՍՕԴ-ի ակտիվության մակարդակի հետ՝ համեմատած չմշակված ուռուցքակիր հյուսվածքի (նկար 20):

Այլ ուսումնասիրություններում ցույց է տրված MLO օձի թույնի ազդեցությունը մաքուր թաղանթների վրա *in vivo* և *in vitro* պայմաններում (Ayvazyan N. *et al* 2012): Հարթ, միալամել հսկա վեզիկուլների վրա (ստացված առնետի ուղեղի լիպիդներից)

MLO օձի թույնի ավելացումը բերում է դրանց թաղանթի կնճռոտման և վեզիկուլների չափերի փոքրացման: Այս ազդեցությունները կարող են հանգեցնել լիպիդների դասավորվածության տեղային խախտումների և լիպիդային երկշերտի հոսելիության խանգարման (Ayvazyan N. and Ghazaryan N. 2012; Ghazaryan N. *et al* 2013, Ghazaryan N. *et al* 2015): Մենք որոշեցինք քայլ անել առաջ ու ավելի զարգացնել այս հետաքրքիր տվյալները և հետազոտեցինք օբտուսատաիինի և *MLO* օձի թույնի հակաուռուցքային ազդեցությունը: Նշեմ, որ օբտուսատաիինի հակամեկանոմային հատկություններն արդեն հայտնի էին (Brown M. *et al* 2008):

Սարկոմաներն որակված են որպես շարակցական հյուսվածքների չարորակ ուռուցքներ (Dean B. and Whitwell D. 2009): Ինչպես երևում է հյուսվածքներում օքսիդանտային պրոցեսների ուսումնասիրման տարբեր հետազոտություններից, ընդհանուր հակաօքսիդանտային հատկությունները փոխվում են: Առանձին հյուսվածքներ ձեռք են բերում սեփական հակաօքսիդանտային բաղադրություն՝ օքսիդիչների ազդեցության հիման վրա (Muller P. *et al* 1996): Ուռուցքներն, որոնք առաջանում են ոսկրային և փափուկ հյուսվածքներում, ունեն ընդհանուր առանձնահատկություններ (ոչ միայն ընդհանուր մեզենքիմալ ծագում, այլ նաև ունեն նման անատոմիական շրջապատող միջավայր): Փափուկ հյուսվածքների ուռուցքներն արտաքինապես պարփակված են, կամ կարող են հայտնաբերվել, եթե ծածկված չեն անատոմիական ծածկույթով: *MLO* օձի թույնի մեկ կոմպոնենտի՝ օբտուսատաիինի համար արդեն ապացուցված է մեկանոմաների վրա ունեցած արգելակիչ ազդեցությունը (Brown M. *et al* 2008): Այնուամենայնիվ, չգտված *MLO* օձի թույնի հակաուռուցքային հատկություններն ուսումնասիրված չէին:

Մեր հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ *MLO* օձի թույնը և օբտուսատաիինը 10 մկգ/մուկ և 50 մկգ/մուկ չափաբաժիններով ներարկման դեպքում ունենում են համապատասխանաբար 50% և 33% հակաուռուցքային ազդեցություն: Այդ արդյունքները հաստատվեցին էոզինով և հեմատոքսիլինով ուռուցքային հյուսվածքների ներկելուց հետո, երբ երևան եկան ուռուցքային բջիջների նեկրոզներ և նեկրոբիոզներ: Բացի այդ, ուսումնասիրվող մկների մոտ քաջի նվազում չի նկատվել, ինչը նշանակում է, որ և՛ օձի թույնը, և՛ օբտուսատաիինը կարող են հանդիսանալ

պոտենցիալ հակաուռուցքային պրեպարատներ, որոնք ունեն կլինիկորեն բարձր արդյունավետություն և ցածր տոքսիկություն: Բացի այդ, այս նյութերի թիրախ են հանդիսանում ուռուցքային բջիջների լրացուցիչ անհոնային կոմպոնենտները, մասնավորապես՝ ուռուցքային բջիջների գենոմային ԴՆԹ-ն: ԴՆԹ-ի էլեկտրաֆորետիկ շարժունակության անալիզի արդյունքները ցույց տվեցին, որ օբտուսատինը և *MLO* օժի թույնը կապվում են S-180 սարկոմայի բջիջների գենոմային ԴՆԹ-ի հետ՝ դրանով իսկ խոչընդոտելով ԴՆԹ-ի շարժը գելի միջով: Դա նշանակում է, որ կապվելով ԴՆԹ-ի հետ, կարող են ճնշել որոշ գենների էքսպրեսիան:

Ազատ ռադիկալները հիմնականում գրոհում են պոլիչիազեցած ճարպաթթուներն, ինչը բերում է լիպոպերօքսիդների առաջացման, որոնք կարևոր դեր են խաղում բջիջների բաժանման կարգավորման մեջ (Battisti V. *et al* 2008): Արդյունքում, լիպիդների պերօքսիդացումից առաջանում է մալոնային երկալդեհիդ (ՄԵԱ), որը ուռուցքային պրոմոտոր է և քաղցկեղածին գործոնների հետ միասին կարող է հակազդել հակաօքսիդանտային ֆերմենտներին (Niedernhofer L. *et al* 2003): Մեր հետազոտության մեջ քիմյումինեսցենցիայի ինտենսիվությունը և ՄԵԱ երկու ներարկված խմբերում, համեմատվում են ստուգիչի արդյունքների հետ: Ստուգիչ օբյեկտները նույնպես ենթարկված են օքսիդատիվ սթրեսի (Nathan F. *et al* 2011):

Մեր հետազոտությունը բավականին յուրօրինակ է նրանով, որ, չնայած օբտուսատինի հակաուռուցքային հատկությունները հայտնի էին, սակայն *MLO* օժի թույնի վերաբերյալ գիտելիքները շատ սուղ էին: Ընդհանուր թույնն ունի ավելի ուժեղ հակաուռուցքային ազդեցություն, չնայած այն բանին, որ պարունակում է շատ քիչ քանակությամբ օբտուսատին: Սա նոր հեռանկարային ուղղություն է մեր հետազոտությունների համար և մեր արդյունքները պետք է հաստատվեն հետագա փորձերի միջոցով: Մենք փորձում ենք վերլուծել VEGF արտահայտությունը, որը ենթադրվում է, որ հանդիսանում է հատուկ, առավել կարևոր առանցքային կարգավորիչ՝ ազդակային հաղորդման անգիոգենետիկ կասկադում (Carmeliet P. and Jain R. 2011; Lijnen H. 2008): Բացի այդ, մենք կուսումնասիրենք ստուգիչ և մշակված խմբերում հակաօքսիդանտային պաշտպանությունը: *MLO* օժի թույնը սպիտակուցների հավաքածու է, որը մենք նախատեսում ենք հետագայում ուսումնասիրել ըստ առանձին

բաղադրիչների, և հնարավոր է, որ հայտնաբերվեն ավելի ուժեղ և անվնաս բաղադրիչներ, որոնք հնարավոր կլինի օգտագործել որպես հակաուռուցքային դեղամիջոց: Իսկ մեր փորձերի այս փուլում ստացված արդյունքները վկայում են այն մասին, որ *MLO* օձի թույնն ու օբտուսատինը կարող են հանդիսանալ պոտենցիալ դեղամիջոցներ՝ կենդանի օրգանիզմում ցածր տոքսիկությամբ մելանոմայի բուժման համար:

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Չնայած իր տարածքի փոքր չափերին՝ Հայաստանն ունի հարուստ և էնդեմիկ հերպետոֆաունա: Այդ իսկ պատճառով այն մեծ հետաքրքրություն է ներկայացնում այդ ոլորտի մասնագետների համար:

Կովկասյան գյուրզան (*Macrovipera lebetina obtusa*) տարածված է Դաղեստանում, Անդրկովկասում, Թուրքիայում, Իրանում, Իրաքում, Սիրիայում, միջինասիական գյուրզան (*Macrovipera lebetina turanica*)՝ Ղազախստանի հարավում, Թուրքմենիայում, Ուզբեկստանում, Արևմտյան Տաջիկստանում, Աֆղանստանում, Պակիստանում, հյուսիս-արևմտյան Հնդկաստանում, իսկ *Macrovipera lebetina transmediterranea*՝ հյուսիս-արևմտյան Աֆրիկայում, Միջերկրական ծովի կղզիներում:

Այդ օձերի խայթոցի պատճառով առաջացող թունավորումների կլինիկական պատկերը բավականին ծանր է: Թունավորումը կարող է նույնիսկ մահվան պատճառ լինել: Այդ իսկ պատճառով թույնի հետազոտումը և հակաթույնի մշակումը Հայաստանում արդիական խնդիր է հանդիսանում:

Կովկասյան գյուրզայի ենթատեսակի թույնը պարունակում է 38 սպիտակուց, որոնք պատկանում են ֆերմենտային և ոչ ֆերմենտային դասերին՝ Zn^{2+} պարունակող մետաղապրոտեազներ P-I և P-III տիպերի, որոնք PLA_2 – ի և սերինային պրոտեազների հետ միասին կազմում են թույնի պարունակության մոտ 60 %-ը: Սակայն, ի տարբերություն 2 այլ ենթատեսակների թույնի, որոնց պարունակությունում ճնշող մեծամասնություն են կազմում P-III մետաղապրոտեազները (70 %), կովկասյան ենթատեսակի թույնը նաև շատ հարուստ է ցածրամոլեկուլային կենսաբանորեն ակտիվ նյութերով, որոնցից են առաջին հերթին, դեզինտեգրինները (դիմերիկ և կարճ), ինչպես նաև, C տիպի լեկտինանման սպիտակուցները և բրադիկինին խթանող պեպտիդները: Նշված նյութերն ոչ միայն օժտված են բարձր ռեակցիոն ունակությամբ որպես առանձին տարրեր, այլ նաև հաճախ են հանդես գալիս որպես միմյանց ազդեցությունն ուժեղացնող կոկտեյլ: Այդպիսի սիներգիկ փոխազդեցությունը շատ ավելի ուժեղ ազդեցություն է ունենում լոկալ հյուսվածքի, իսկ հետագայում նաև ընդհանուր օրգանիզմի վրա, քան նույնիսկ անջատված առանձին ենթանյութերն ավելի մեծ կոնցենտրացիայով: Առանձնահատուկ հետաքրքրություն են ներկայացնում

դեզհինտեգրիներն, որոնց ազդեցությունը բջջային ադիեզիայի վրա բավականին ուժեղ է և բերում է տարբեր բջջային ընկալիչների արգելափակմանը: Պետք է ասել, որ նշված մետաղապրոտեազներից շատերն ևս պարունակում են դեզհինտեգրինային դոմեն, որն, ըստ վերջին տարիների վարկածի, օրգանիզմ ներարկվելուց հետո կարող է անջատվել և ազդել արդեն ինչպես առանձին դեզհինտեգրին (Fox J. and Serrano S. 2009, Camacho E. *et al* 2016): Դժվար չէ կռահել, որ այդ սխեմայի դեպքում դեզհինտեգրինային ազդեցությունն արյան մեջ կտրուկ կարող է աճել մոտ 3 – 4 անգամ: Ահա, թե ինչու նախկինում ընդունված տեսությունը հյուսվածքների թաղանթների ֆոսֆոլիպազային քայքայման վերաբերյալ ժամանակակից տեսանկյունից հանդիսանում է հնաոճ և այլևս միանշանակ չի ընդունվում, ինչպես նախկինում: Կովկասյան ենթատեսակի թույնի բարդ կազմը 2 այլ ենթատեսակների համեմատ դարձնում է այն յուրահատուկ հետաքրքրության առարկա հետազոտողների համար՝ թունավորումները և դրանց ախտաբանական պատկերը կողմնակի ազդեցությունների դրսևորումներով ուսումնասիրելիս:

Չնայած ակնհայտ թունավոր ազդեցությանն, ինչպես շատ թույներ, այնպես էլ կովկասյան գյուրզայի թույնը կարող է լինել պոտենցիալ դեղագործական միջոց՝ հիվանդություններ բուժելու համար: Այս օձի թույնի նույնիսկ փոքր չափաբաժնի բազմակի ներարկումը կարող է բերել Ալցհեյմերով հիվանդ առնետների մոտ առողջ ֆունկցիոնալ վիճակին նպաստող միջբջջային կապերի, բջիջների չափի ու ձևի վերականգմանը, նյութափոխանակության ակտիվացմանն, որի շնորհիվ էլ բջիջը կենդանի է մնում: β_{1-40} և β_{1-42} ամիլոիդային սպիտակուցներից կազմված ամիլոիդային սկավառակների կուտակումը և ինտրանեյրոնալ նեյրոֆիբրիլային կծիկների ձևավորումը հանդիսանում են Ալցհեյմերի հիվանդության ամենաբնորոշ նեյրոպաթոլոգիկ հատկությունները: Նրանց արտահայտման մակարդակը փոխկապակցված է ճանաչողական ֆունկցիայի պրոգրեսիվ կորստի և հիշողության խանգարման հետ (Selkoe D. 1991): β ամիլոիդային սպիտակուցների միջոցով խթանվող նեյրոտոքսիկության մեխանիզմում կարող է ներառվել նաև այդ սպիտակուցների ինքնաագրեգացման ունակությունը և թաղանթում Ca^{2+} - թափանցելի անցուղիների ձևավորումը: Ca^{2+} - թափանցելի անցուղիների ձևավորման արդյունքում

նկատվում է Ca^{2+} -ի չափազանց մեծ քանակով ներհոսք և նեյրոտոքսիկ կասկադների խթանում (Arispe N. *et al* 1993): Ցույց է տրված, որ մկան ուղեղի մեջ β_{25-35} սպիտակուցի ազդեցությամբ ձևի ներարկումը խթանում է հիպոկամպում և կեղևում նեյրոդեգեներացիան և Կոնգո – կարմիր ներկված ամիլոիդանման կուտակումները: β_{25-35} սպիտակուցի ներարկումը բերում է նաև ինքնաբուխ հաջորդման գործընթացի խաթարմանը, աշխատանքային հիշողությանը նման պահվածքի դրսևորմանը, ջրային լաբիրինթում տեղը սովորելու վարժությունների ժամանակ պասիվ խուսափման ծանր թուլամտության (Maurice T. *et al* 1996): β_{25-35} սպիտակուցով խթանված ամենզիան կարող է կրկնվել ացետիլխոլինէսթերազի արգելակիչ տակրինի կամ խոլիներգիկ ազոնիստ նիկոտինի առկայությամբ: Սա վկայում է այն մասին, որ հիշողության հետ կապված խաթարումներում որոշակի դեր ունի խոլիներգիկ համակարգի կարգավորման մեխանիզմի խանգարումները:

N- մեթիլ- D-ասպարտատ (NMDA) ընկալիչների ակտիվացումը կարևոր է ուսուցման գործընթացում: NMDA ընկալիչի դեղաբանական անտագոնիզմը արգելակում է հիպոկամպի CA1 դաշտի բրգաձև նեյրոններում երկարատև պոտենցացիայի խթանումը՝ սինապտիկ պլաստիկության մի ձևը, որը կարող է ներառվել հիշողության կոդավորման մեջ, ինչպես նաև խաթարում է որոշ վարժություններ սովորելու ունակությունը կրծողների մոտ (Morris R. *et al* 1986): Ցույց է տրված, որ գլիցինը մոդուլացնող ազոնիստները նպաստում են երկարատև պոտենցացիայի խթանմանը (Johnson J. and Asher P. 1987):

Օձի թույնի ֆոսֆոլիպազ A_2 -ը հայտնի է իր ախտադեղագործական ակտիվությամբ: Այն պաշտպանում է բջիջը՝ հիպոկամպի կտրվածքում առկա գլյուտամատով ինդուցվող մահից (Armugam A. *et al* 2009):

Զարգանում է հիպոթեզ, ըստ որի՝ ցիտոզոլային ֆոսֆոլիպազ A_2 -ը ֆիզիոլոգիական և պաթոլոգիական պայմաններում մասնակցում է նեվրիտների գերաճի կարգավորմանն և նեյրոնների գրգռման ֆունկցիային: Մշակված առաջնային կորտիկալ նեյրոններում NMDA-ով իոնոտրոպիկ գլյուտամատային ընկալիչների խթանումն ակտիվացնում է ցիտոզոլային ֆոսֆոլիպազ A_2 -ը և արախիդոնային թթվի արտազատումը: Ցիտոզոլային ֆոսֆոլիպազ A_2 -ի ակտիվացումը և արախիդոնային

թթվի արտազատումը ևս բերում են հիշողության վերականգմանը (Hermann P. *et al* 2014): Սինապտիկ ճկունությունում ֆոսֆոլիպազ A_2 -ը մասնակցում է նաև հիպոկամպի AMPA ընկալիչի կարգավորմանը (Menard C. *et al* 2005): Թույնը կարող է լինել պոտենցիալ դեղագործական միջոց այնպիսի հիվանդությունների բուժման համար, որոնք բնորոշվում են հիշողության վնասմամբ, չնայած այն դեռ կարիք ունի հետազոտման՝ հիպոկամպի և հիշողության վրա նրա ազդեցությունը, ինչպես նաև $A\beta$ -ինդուցվող ցիտոտոքսիկությունից մարդու նյարդային բջիջները պաշտպանելու ունակությունը բացահայտելու համար:

Կովկասյան գյուրզայի թույնով թունավորված հիվանդների հետազոտումը, ինչպես նաև այդ օձի թույնի բաղադրության կենսաքիմիական ուսումնասիրումը թույլ են տալիս ենթադրություններ անել նոր, դեռևս չուսումնասիրված կենսաբանորեն ակտիվ բաղադրիչների առկայության վերաբերյալ: Կովկասյան գյուրզայի թույնի բաղադրիչներից դեզինտեգրինների հատկություններն իրենցից բավականին մեծ հետաքրքրություն են ներկայացնում, քանի որ ոչ միայն մասնակցում են թունավորման պրոցեսին, այլև ունեն իրենց թերապևտիկ ազդեցությունն ինչպես նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների, այնպես էլ քաղցկեղի՝ բավականին արագ տարածվող ձևերի դեպքում: Այս դեզինտեգրինները հանդիսանում են մետաստազների աճի բավականին ուժեղ արգելակիչներ (Schmidmaier R. and Baumann P. 2008): *MLO* օձի թույնը և օբտուստատինը ոչ միայն զգալիորեն ճնշում են ուռուցքի աճը, այլև կապվելով նրա գենոմային ԴՆԹ-ի հետ, նվազեցնում են գեների էքսպրեսիայի մակարդակը և արգելակում ուռուցքի հետագա զարգացումը: Նախկինում մի շարք գրական ակնարկներում օբտուստատինին վերագրվում էր ուժեղ ապոպտոտիկ ազդեցություն (Walsh E. and Marcinkiewicz C. 2011, Hammouda M. *et al* 2016): Սակայն վերջին 1 – 2 տարիների ուսումնասիրությունները չեն հաստատում այդ վարկածը, իսկ տվյալ հետազոտությունների արդյունքներից ելնելով, հակված ենք ընդհանուր թույնի հակաուռուցքային ուժեղ ազդեցությունը վերագրել նրա նեկրոտիկ բնույթին, իսկ օբտուստատինի ազդեցությունն ավելի որոշակիորեն ընդունել որպես անգիոգենետիկ դեմ: Դրանով է բացատրվում ուռուցքների մետաստազների աճի արգելակումը, մինչդեռ ընդհանուր թույնը մասամբ քայքայում է նաև ուռուցքը:

Բացի վերը նշված բաղադրամասերից գյուրզայի թույնը պարունակում է ևս 35 շատ հետաքրքիր և դեռևս չհետազոտված կենսաբանորեն ակտիվ սպիտակուցներ, որոնց մեկ առ մեկ ուսումնասիրումը չափազանց հետաքրքիր, բայց և լայնածավալ խնդիր է հանդիսանում: Այս խնդիրն էլ ավելի է բարդանում, եթե հաշվի առնվի տվյալ բաղադրիչների՝ միմյանց ակտվությունը ուժեղացնելու ունակությունը և դեղագործական ազդեցությունը՝ միաժամանակյա ազդման դեպքում: Ահա, թե ինչու են խիստ կարևորվում ոչ միայն առանձին բաղադրիչների հետազոտություններն, այլև թույնի ընդհանուր ազդման մեխանիզմների բացահայտումը:

Ընդհանրացնելով ստացված արդյունքները՝ կարող ենք ասել, որ *MLO* թույնի քիչ չափաբաժնի բազմակի ներարկումները բերում են հիպոկամպի նեյրոնների մետաբոլիկ ակտիվության մեծացմանը: Բացի այդ, կովկասյան գյուրզայի թույնը և նրանում առկա դեզինտեգրինը՝ օբտուսատինը, կարող են հանդիսանալ պոտենցիալ հակաուռուցքային դեղամիջոցներ, որոնք չունեն կողմնակի ազդեցություններ և օժտված են կլինիկորեն բարձր արդյունավետությամբ ու ցածր տոքսիկությամբ: Օձի խայթոցը, որը կարող է սպանել, կարող է նաև քաղցկեղի և Ալցհեյմերի հիվանդության բուժման պարզաբանման բանալի լինել:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Բացահայտված է, որ և՛ օբտուսատափնը, և՛ կովկասյան գյուրզայի թայնը ունեն ակնհայտ հակաուռուցքային ազդեցություն և ճնշում են S-180 սարկոմայի աճն ուռուցքակիր մկների մոտ (33% և 50% համապատասխանաբար՝ ըստ մորֆոմետրիկ վերլուծության):
2. Ցույց է տրված, որ փորձարկվող թայնի բաղադրամասերը բերում են ուռուցքային բջիջների նեկրոզային օջախների առաջացման՝ խափանելով հյուսվածքի չարորակ վերափոխումը:
3. Ցույց է տրված, որ և՛ օբտուսատափնը, և՛ MLO օձի թայնի բաղադրամասի որոշ այլ տարրեր ունակ են կապվելու S-180 սարկոմայի բջիջների գենոմային ԴՆԹ-ի հետ:
4. Բացահայտված է, որ *in vivo* մշակման ժամանակ օբտուսատափնը և MLO օձի թայնը ցուցաբերում են հակաօքսիդանտային հատկություններ՝ նվազեցնելով սպոնտան քիմյումինեսցենցիայի ինտենսիվության մակարդակը, ինչը ուղեկցվում է սուպերօքսիդի սնուսազ ֆերմենտի ակտիվության նվազմամբ՝ օբտուսատափնի դեպքում, և աճով՝ թայնով մշակման դեպքում:
5. Կովկասյան գյուրզայի թայնը Ալցհեյմերի հիվանդության կենդանական մոդելում դրական է ազդում հիպոկամպի նեյրոնների կառուցվածքային հատկությունների վրա: Հիպոկամպի CA1 և CA3 դաշտերում պահպանվում է նեյրոնների խտությունն, որն էլ վկայում է բջիջների կենսունակ մնալու մասին:
6. Առնետների գլխուղեղի կեղև-հիպոկամպ շղթայի բջջային ակտիվության մակարդակների և տեսակների արտահայտված շեղումներն ամիլոիդային մոդելում կանխարգելվում են կովկասյան գյուրզայի թայնի ցածր չափաբաժիններով (LD50-ի 5 %-անոց լուծույթ):

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ

1. Հաքարյան Ա. Ե., Ներկարարյան Ա. Վ., Պողոսյան Գ. Հ., Ալվազյան Ն. Մ. Ազատ ռադիկալային գործընթացների և թաղանթային կառույցների կենսաֆիզիկա, (2003), 215 էջ:
2. Гелашвили Д. Б., Иммунотоксикология элементоорганических соединений// Гелашвили Д. Б., Романова Е. Б., // Металлоорганическая химия, (1992 թ.), Т. 5., թիվ 6, с. 1223-1229.
3. Лакин Г. Ф., Биометрия, М. Высшая школа, (1980), с. 293.
4. Романова Е. Б. Иммунофармакологический анализ действия биологически активных веществ (зоотоксинов) на кинетику первичного иммунного ответа, Романова Е. Б., Механизмы действия зоотоксинов: Межвуз. Сб. – Горкий:, ГГУ, (1987), с. 90-94.
5. Романова Е. Б. Иммунофизиологические механизмы поддержания гомеостаза организма в условиях воздействия стрессорных факторов среды обитания, Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук, Нижний Новгород, (2008), с. 49.
6. Романова Е. Б. Разработка методов оценки иммуногенной и биологической активности змеиных ядов. Романова Е. Б., Новиков В. В., Вестник Нижегородского гос. Ун.-та, (1999), с. 79-83.
7. Abbott N. J., Patabendige A. A., Dolman D. E., Yusof S. R., Begley D. J. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol. Dis.* (2010), 37: p. 13–25.
8. Abramov E., Dolev I., Fogel H., Ciccotosto G. D., Ruff E., Slutsky I. Amyloid- β as a positive endogenous regulator of release probability at hippocampal synapses. *Nat. Neurosci.* (2009), 12: p. 1567–1576.
9. Ahluwalia S., Sawant M., Shah N., Chowdhary A. Experimental Evaluation of Antitumor Effect of Russell's Viper Venom on Breast Cancer Cell Line - MDA-MB-231. *Ijppr.Human* (2015), Vol. 3 (3): p. 254-263.
10. Akama K. T., Van Eldik L. J. Beta-amyloid stimulation of inducible nitric oxide synthase in astrocytes is interleukin-1 β - and tumor necrosis factor- α (TNF α)-

- dependent, and involves a TNF alpha receptor-associated factor and NF kappa B-inducing kinase-dependent signaling mechanism. *J. Biol. Chem.* (2000), 275: p. 7918–7924.
11. Arispe N., Rojas E., Pollard B. Alzheimer disease amyloid 13 protein forms calcium channels in bilayer membranes: blockade by tromethamine and aluminium, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (1993), 90: p. 567-571.
 12. Armugam A., Cher C. D., Lim K., Koh D. C., Howells D. W., Jeyaseelan K. A secretory phospholipase A2-mediated neuroprotection and anti-apoptosis. *BMC Neurosci.* (2009), 10: p. 120.
 13. Ayvazian N. M., Zakharian A. E., Karageuzyan K. G. Intensity of lipid's free-radical oxidation processes and superoxiddismutase's activity in nervouse tissue of vertebrates. *Neurochemistry* (2002), 4: p. 278-284.
 14. Ayvazyan N.M. and Ghazaryan N.A. Lipid bilayer condition abnormalities following *Macrovipera lebetina obtusa* snake envenomation. *Toxicon* (2012), 60: p. 607–613.
 15. Ayvazyan N.M., Zaqarian N.A. Ghazaryan N.A. Molecular events associated with *Macrovipera lebetina obtusa* and *Montivipera raddei* venom intoxication and condition of biomembranes. *BBA-Biomembranes*, (2012), 1818: p. 1359-1364.
 16. Banin V.V. Neoplasm of vessels: cellular and molecular mechanisms of regulation. *Morfologia (S-ntPeterssburg)*. Materials of VI Congress of Int Ass of Morphologists, Kolos readings (2002), p.18.
 17. Battisti V., Maders L.D.K., Bagatini M.D., Santos K.F., Spanevello R.M., Maldonado P.A., Brulé A.O., Araújo M., Schetinger M.R.C., Morsch V.M. Measurement of oxidative stress and antioxidant status in acute lymphoblastic leukaemia patients. *J Clin Biochem* (2008), 41: p. 511.
 18. Benilova I., Karran E., De Strooper B. The toxic A β oligomer and Alzheimer's disease: an emperor in need of clothes. *Nat. Neurosci.* (2012), 15: p. 349–357.
 19. Berger M., Pinto A. F., Guimaraes J. A. Purification and functional characterization of bothrojaractivase, a prothrombin-activating metalloproteinase isolated from *Bothrops jararaca* snake venom. *Toxicon* (2008), 51: p. 488-501.

20. Bhattacharjee P., Bhattacharyya D. Factor V activator from *Daboia russelli russelli* venom destabilizes β -amyloid aggregate, the hallmark of Alzheimer disease. *The Journal of Biological Chemistry* (2013), 288(42): p. 30559–30570.
21. Bianco P., Reginacci M., Gronthos S., Robey P.G. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells* (2001), 19: p. 180-192.
22. Birnbaum J.H., Bali J., Rajendran L., Nitsch R.M., Tackenberg C. Calcium flux-independent NMDA receptor activity is required for A β oligomer-induced synaptic loss. *Cell Death Dis.* (2015) 6: p. 1791.
23. Bitan G., Kirkitadze M. D., Lomakin A., Vollers S. S., Benedek G. B., Teplow D. B. Amyloid β -protein (A β) assembly: A β 40 and A β 42 oligomerize through distinct pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (2003), 100: p. 330–335.
24. Bradley K. N., Rowan E. G., Harvey A. L. Effects of muscarinic toxins MT2 and MT7, from green mamba venom, on m1, m3 and m5 muscarinic receptors expressed in Chinese Hamster Ovary cells. *Toxicon* (2003), 41: p. 207–215.
25. Brooks D. Neuroimaging in Parkinson's Disease. *NeuroRx* (2004), 1: p. 243-254.
26. Brown M. C., Staniszewska I., Valle L., Tuszynski G. P., Marcinkiewicz C. Angiostatic activity of obtustatin as α 1 β 1 integrin inhibitor in experimental melanoma growth. *Int J Cancer.* (2008), 123(9): p. 2195–2203.
27. Burke J. E., Dennis E. A. Phospholipase A2 biochemistry. *Cardiovasc Drugs Ther* (2009), 23: p. 49-59.
28. Butterfield D. A., Castegna A., Lauderback C. M., Drake J. Evidence that amyloid beta-peptide-induced lipid peroxidation and its sequelae in Alzheimer's disease brain contribute to neuronal death. *Neurobiol. Aging.* (2002), 23: p. 655–664.
29. Butterfield D. A., Griffin S., Munch G., Pasinetti G. M. Amyloid beta-peptide and amyloid pathology are central to the oxidative stress and inflammatory cascades under which Alzheimer's disease brain exists. *J. Alzheimers Dis.* (2002), 4: p. 193–201.
30. Calabresi P., Picconi B., Parnetti L., Di Filippo M. A convergent model for cognitive dysfunctions in Parkinson's disease: the critical dopamine acetylcholine synaptic balance. *Lancet Neurol.* (2006), 5: p. 974-983.

31. Calvete J. J. The continuing saga of snake venom disintegrins. *Toxicon* (2013), 62: p. 40-49.
32. Calvete J.J., Marcinkiewicz C., Monleon D., Esteve V., Celda B., Juarez P., Sanz L. Snake venom disintegrins: evolution of structure and function. *Toxicon* (2005), 45: p. 1063-1074.
33. Calvete J.J., Moreno-Murciano M.P., Theakston R.D.G., Kisiel D.G., Marcinkiewicz C. Snake venom disintegrins: novel dimeric disintegrins and structural diversification by disulphide bond engineering. *Biochem. J.* (2003), 372: p. 725-734.
34. Camacho E., Sanz L., Escalante T., Pérez A., Villalta F., Lomonte B., Neves-Ferreira A. C., Feoli A., Calvete J. J., Gutiérrez J., Rucavado A. Novel catalytically-inactive PII metalloproteinases from a viperid snake venom with substitutions in the canonical zinc-binding motif. *Toxins* (2016), 8: p. 292- 309.
35. Carmeliet P., Jain R. K. Principles and mechanisms of vessel normalization for cancer and other angiogenic diseases. *Nat Rev. Drug Discov.* (2011), 10, p. 417–427.
36. Chang D., Wang F., Zhao Y., Pan H. Evaluation of oxidative stress in colorectal cancer patients. *J Biomed Env Scien* (2008), 21: p. 286-89.
37. Chilingaryan A., Chilingaryan A. M., Martin G.G. (2012) The three-dimensional detection of microvasculatory bed in the brain of white rat *Rattus norvegicus* by a Ca²⁺-ATPase method. *Brain research.* 1070: p. 131-138.
38. Chung C., Wu B. N., Yang C. C., Chang L. S. Muscarinic toxin-like proteins from Taiwan banded krait (*Bungarus multicinctus*) venom: purification, characterization and gene organization. *Biol. Chem.* (2002), 383: p. 1397–1406.
39. Clarke J.R., Lyra E Silva N.M., Figueiredo C.P., Frozza R.L., Ledo J.H., Beckman D., Katashima C.K., Razolli D., Carvalho B.M., Frazão R., Silveira M.A., Ribeiro F.C., Bomfim T.R., Neves F.S., Klein W.L., Medeiros R., LaFerla F.M., Carvalheira J.B., Saad M.J., Munoz D.P., Velloso L.A., Ferreira S.T., De Felice F.G. Alzheimer-associated A β oligomers impact the central nervous system to induce peripheral metabolic deregulation. *EMBO Mol Med.* (2015), 7(2): p. 190-210.

40. Crina T., Alina N., Gyongyi O., Maria O., Marincat R., Atyim P., Annamaria P. Scientific documentation on bioactive compounds from viper venom. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Protecția Mediului* Vol. XXIII, (2014), p. 881 – 886.
41. Cura J. E., Blanzaco D. P., Brisson C., Cura M. A., Cabrol R., Larrateguy L., Mendez C., Sechi J. C., Silveira J. S., Theiller E., de Roodt A. R., Vidal J. C. Phase I and pharmacokinetics study of crotoxin (cytotoxic PLA₂), NSC- 624244) in patients with advanced cancer. *Clin. Cancer Res.* (2002), 8: p. 1033–1041.
42. Da Silva D. C., Araújo De Medeiros W. A., Batista Daniel Carvalho Pimenta I., Lebrun I., Abdalla F., Sandoval M. Characterization of a new muscarinic toxin from the venom of the Brazilian coral snake *Micrurus lemniscatus* in rat hippocampus. *Life Sciences* (2011), 89: p. 931–938.
43. Da Silva R., da Silva M. G., Vilela L. C., Fecchio D. Antitumor effect of *Bothrops jararaca* venom. *Mediators of Inflammation* (2002), 11: p. 99–104.
44. Dasari S., Gullledge A. T. M1 and M4 receptors modulate hippocampal pyramidal neurons. *J Neurophysiol* (2011), 105: p. 779–792.
45. De Felice F. G., Houzel J. C., Garcia-Abreu J., Louzada P. R., Afonso R. C., Meirelles M. N., Lent R., Neto V. M., Ferreira S. T. Inhibition of Alzheimer's disease β -amyloid aggregation, neurotoxicity and *in vivo* deposition by nitrophenols: implications for Alzheimer's therapy. *FASEB J.* (2001), 15: p. 1297–1299.
46. De Vries H. E., Kuiper J., de Boer A. G., Van Berkel T. J., Breimer D. D. The blood-brain barrier in neuroinflammatory diseases. *Pharmacol. Rev.* (1997), 49: p. 143–155.
47. Dean B.J.F., Whitwell D. Epidemiology of bone and soft-tissue sarcomas. *Ortho Trauma* (2009), 23: p. 223-230.
48. Deane R., Bell R. D., Sagare A., Zlokovic B. V. Clearance of amyloid- β peptide across the blood-brain barrier: implication for therapies in Alzheimer's disease. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* (2009), 8: p. 16–30.
49. Dickey C. A., Gordon M. N., Wilcock D. M., Herber D. L., Freeman M. J., Morgan D. Dysregulation of Na⁺/K⁺ ATPase by amyloid in APP+PS1 transgenic mice. *BMC Neuroscience* (2005), 6 (7): p. 1-11.

50. Drag M., Salvesen G. S. Emerging principles in protease-based drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* (2010), 9: p. 690–701.
51. Dubovskii P. V., Konshina A. G., Efremov R. G. Cobra cardiotoxins: membrane interactions and pharmacological potential. *Curr Med Chem* (2013), 21: p. 270-287.
52. Escalante T., Shannon J., Moura-da-Silva A. M., Gutiérrez J. M., Fox J. W. Novel insights into capillary vessel basement membrane damage by snake venom hemorrhagic metalloproteinases: a biochemical and immunohistochemical study. *Arch Biochem Biophys* (2006), 455: p. 144-153.
53. Fahn S., Sulzer D. Neurodegeneration and Neuroprotection in Parkinson Disease. *NeuroRx* (2004), 1: p. 139-154.
54. Farooqui A. A., Horrocks L. A. Plasmalogens, phospholipase A2, and docosahexaenoic acid turnover in brain tissue. *J. Mol. Neurosci.* (2001), 16: p. 263–272.
55. Felder C. C., Bymaster F. P., Ward J., De-Lapp N. Therapeutic opportunities for muscarinic receptors in the central nervous system. *J Med Chem* (2000), 43: p. 4333–4353.
56. Feng Y., Wang X. P., Yang S. G., Wang Y. J., Zhang X., Du X. T., Sun X. X., Zhao M., Huang L., Liu R. T. Resveratrol inhibits β -amyloid oligomeric cytotoxicity but does not prevent oligomer formation. *Neurotoxicology* (2009), 30: p. 986–995..
57. Ferrara N. VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors. *Nat. Rev. Cancer* (2002), 2: p. 795–803.
58. Figueroa E., Gordon L. T., Feldhoff P. W., Lassiter H. A. The administration of cobra venom factor reduces post-ischemic cerebral injury in adult and neonatal rats. *Neurosci. Lett.* (2005), 380(1-2): p. 48-53.
59. Fiske C. H., Subbarow, Y J. *Biol. Chem.* (1925), lxxvi, p. 375.
60. Fox J.W., Serrano S.M.T. Insights into and speculations about snake venom metalloproteinase (SVMP) synthesis, folding and disulfide bond formation and their contribution to venom complexity. *FEBS J.* (2008), 275: p. 3016-3030.

61. Fox J. W., Serrano S. M. Snake venom metalloproteinases. In Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles Mackessy, S.P., Ed.; CRP Press: Boca Ratón, FL, USA, (2009), p. 95–113.
62. Fried M. G., Crothers D. M. Equilibria and Kinetics of Lac Repressor-Operator Interactions by Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *Nucl Acids Res* (1981), 9: p. 6505–6525.
63. Friedrich R. P., Tepper K., Rönicke R., Soom M., Westermann M., Reymann K., Kaether C., Fändrich M. Mechanism of amyloid plaque formation suggests an intracellular basis of A β pathogenicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (2010), 107: p. 1942–1947.
64. Funck V. R., Ribeiro L. R., Pereira L. M., de Oliveira C. V., Grigoletto J., Della-Pace I. D., Figuera M. R., Royes L. F., Furian A. F., Larrick J W., Oliveira M. S. Contrasting effects of Na⁺, K⁺-ATPase activation on seizure activity in acute versus chronic models. *Neuroscience* (2015), p. 171-179.
65. Garner M. M., Revzin A. A gel electrophoresis method for quantifying the binding of proteins to specific DNA regions: application to components of the Escherichia coli lactose operon regulatory system. *Nucleic Acids Res.* (1981), 9(13): p. 3047–3060.
66. Gasanov S. E., Dagda R. K., Rae E. D. Snake Venom Cytotoxins, Phospholipase A₂s, and Zn²⁺-dependent Metalloproteinases: Mechanisms of Action and Pharmacological Relevance. *J Clinic Toxicol* (2014), 4 (1): p. 1-14.
67. Gattaz W. F., Talib L. L., Schaeffer E.L., Diniz B.S., Forlenza O.V. Low platelet iPLA₂ activity predicts conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease: a 4-year follow-up study. *J Neural Transm.* (2014), 121(2): p. 193-200.
68. Ghazaryan N. A. , Ghulikyan L., Kishmiryan A., Andreeva T.V. ,UtkinYu.N., TsetlinV.I., Lomonte B.,Ayvazyan N.M. Phospholipases A₂ from *Viperidae* snakes: Differences in membranotropic activity between enzymatically active toxin and its inactive isoforms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* (2015), 1848(2): p. 463-468.

69. Ghazaryan N.A., Ghulikyan L.A., Ayvazyan N.M. Morphological Changes of Proteolipid Giant Unilamellar Vesicles Affected by *Macrovipera lebetina obtusa* Venom Visualized with Fluorescence Microscope. *J Membr Biol.* (2013), 246: p. 627-632.
70. Gilchrist I. C. Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in percutaneous coronary intervention: focus on the pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship of eptifibatide. *Clin. Pharmacokinet.* (2003), 42: p. 703–720.
71. Gould R. J., Polokoff M. A., Friedman P. A., Huang T. F., Holt J. C., Cook J. J., Niewiarowski S. Disintegrins: a family of integrin inhibitory proteins from viper venoms. *Proc Soc Exp Biol Med.* (1990), 195 (2): p. 168-171.
72. Gutiérrez J. M., Lomonte B. Phospholipase A2 myotoxins from Bothrops snake venoms. *Curr Org Chem.* (2004), p. 1677–1690.
73. Hammouda M. B., Montenegro M. F., Sánchez-Del-Campo L., Zakraoui O., Aloui Z., Riahi-Chebbi I., Karoui H., Rodríguez-López J. N., Essafi-Benkhadir K. Lebein, a snake venom disintegrin, induces apoptosis in human melanoma cells. *Toxins (Basel).* (2016), 8(7): p. 206-219.
74. Han S., Holtzman D. M., McKeel D. W. Plasmalogen deficiency in early Alzheimer's disease subjects and in animal models: molecular characterization using electrospray ionization mass spectrometry. *J. Neurochem.* (2001), 77: p. 1168–1180.
75. Hantgan R. R., Stahle M. C., Connor J. H., Lyles D. S., Horita D. A., Rocco M., Nagaswami C., Weisel J. W. McLane M. A. The disintegrin echistatin stabilizes integrin alphaIIb beta3's open conformation and promotes its oligomerization. *J. Mol. Biol.* (2004), 342: p. 1625–1636.
76. Harvey L. Recent studies on dendrotoxins and potassium ion channels. *Gen. Pharmacol.* (1997), 28: p. 7-12.
77. Hellman L. M., Fried M. G. Electrophoretic mobility shift assay (EMSA) for detecting protein- nucleic acid interactions. *Natural Protocols* (2007), 2(8): p. 1849–1861.
78. Hermann P.M., Watson S.N., Wildering W.C. Phospholipase A2 - nexus of aging, oxidative stress, neuronal excitability, and functional decline of the aging nervous system?

Insights from a snail model system of neuronal aging and age-associated memory impairment. *Front Genet.* (2014), 5: p. 419.

79. Holden N. S., Tacon C. E. Principles and problems of the electrophoretic mobility shift assay. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods.* (2011), 63(1): p. 7-14.

80. Huang L., Zheng J., Xu Y., Song H., Yu C. A snake venom phospholipase A2 with high affinity for muscarinic acetylcholine receptors acts on guinea pig ileum. *Toxicon* (2008), 51: p. 1008–1016.

81. Huang T. H., Yang D. S., Plaskos N. P., Go S., Yip C. M., Fraser P. E., Chakrabartty A. Structural studies of soluble oligomers of the Alzheimer β -amyloid peptide. *J. Mol. Biol.* (2000), 297: p. 73–87.

82. Huang T., Holt J., Lukasiewicz H., Niewiarowski S. Trigramin. A low molecular weight peptide inhibiting fibrinogen interaction with platelet receptors expressed on glycoprotein IIb-IIIa complex. *J. Biol. Chem.* (1987), 262: p. 16157-16163.

83. Jerusalinsky D., Kornisiuk E., Alfaro P., Quillfeldt J., Ferreira A., Rial V. E. Muscarinic toxins: novel pharmacological tools for muscarinic cholinergic system. *Toxicon* (2000), 38: p. 747–761.

84. Johnson J.W. and Asher P. Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons, *Nature* (1987), 325: p. 529- 531.

85. Kamphuis W., Middeldorp J. Kooijman L. et al. “Glial fibrillary acidic protein isoform expression in plaque related astrogliosis in Alzheimer's disease,” *Neurobiology of Aging*, (2014), vol. 35, no. 3: p. 492–510.

86. Kesner P., Gobert D., Ruthazer E.S. Formula for Unsilencing Plasticity: Spike with GABA. *Neuron.* (2015), 2; 87(5): p. 915-917.

87. Kini R. M. Molecular moulds with multiple missions: functional sites in three-finger toxins. *Clin Exp Pharmacol Physiol* (2002), 29: p. 815–822.

88. Kini R. M. The intriguing world of prothrombin activators from snake venom. *Toxicon* (2005), 45: p. 1133-1145.

89. Kochava E. The origin of snakes and evolution of the venom apparatus. *Toxicon* (1987), 25: p. 65-106.

90. Koh D., Armugam A., Jeyaseelan K. Snake venom components and their applications in biomedicine. *Cellular and Molecular Life Sciences* (2006), 63: p. 3030–3041.
91. Koren J., Jinwal U. K., Lee D. C., Jones J. R., Shults C. L., Johnson A. G., Anderson L. J., Dickey C. A. Chaperone signaling complexes in Alzheimer's disease. *J. Cell. Mol. Med.* (2009), 13: p. 619–630.
92. Kristie T. M., Roizman B. Alpha 4, the major regulatory protein of herpes simplex virus type 1, is stably and specifically associated with promoter-regulatory domains of alpha genes and of selected other viral genes. *Proc Natl Acad Sci USA* (1986), 83: p. 3218–3222.
93. Kukhtina V. V., Weise C., Muranova T. A., Starkov V. G., Franke P., Hucho F., Wnendt S., Gillen C., Tsetlin V. I., Utkin Y. N. Muscarinic toxin-like proteins from cobra venom. *Eur. J. Biochem.* (2000), 267: p. 6784–6789.
94. Kurtovic T., Balija M. L., Ayvazyan N. M., Halassy B. Paraspecificity of *Vipera ammodytes*-specific antivenom towards *Montivipera raddei* and *Macrovipera lebetina obtusa* venoms. *TOXICON* (2014) v. 78: p. 103–112.
95. Lameu C., Hayashi M. A., Guerreiro J. R., Oliveira E. F., Lebrun I., Pontieri V., Morais K. L., Camargo A. C., Ulrich H. The central nervous system as target for antihypertensive actions of a proline-rich peptide from *Bothrops jararaca* venom. *Cytometry A* (2010), 77(3): p. 220-230.
96. Langmead C. J., Watson J., Reavill C. Muscarinic acetylcholine receptors as CNS drug targets. *Pharmacol. Ther.* (2008), 117: p. 232–243.
97. Lewis R. L., Gutmann L. Snake venoms and the neuromuscular junction. *Semin. Neurol.* (2004), 24(2): p. 175-179.
98. Li J. W., Vederas J. C. Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier. *Science* (2009), 325: p. 161–165.
99. Lijnen H. R. (2008) Angiogenesis and obesity. *Cardiovasc. Res.* 78, p. 286–293.
100. Lindstrom J. *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer-Verlag, Berlin, (2000), Vol. 44 (Clementi, F., Fornassi D. and Gotti, C., Eds.): p. 101 – 162.
101. Lowry O. H., Resenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* (1951), 193 (1): p. 265-275.

102. Macedo J., Fox J. W., Castro M. Disintegrins from Snake Venoms and their Applications in Cancer Research and Therapy. *Current Protein and Peptide Science* (2015), 16: p. 532-548.
103. Mackessy S. P. Handbook of venoms and toxins of reptiles. CRS Press, Taylor & Francis Group (2010).
104. Maeba R., Sawada Y., Shimasaki H., Takahashi I., Ueta N. Ethanolamine plasmalogens protect cholesterol-rich liposomal membranes from oxidation caused by free radicals. *Chem. Phys. Lipids.* (2002), 120: p. 145–151.
105. Mann D.M. Pyramidal nerve cell loss in Alzheimer's disease. *Neurodegeneration.* (1996), 5(4): p. 423-427.
106. Marcinkiewicz C., Weinreb P. H., Calvete J. J., Kisiel D. G., Mousa S. A., Tuszynski G. P, Lobb R R. Obtustatin: a potent selective inhibitor of alpha1 beta1 integrin in vitro and angiogenesis in vivo. *Cancer Res.* (2003), 9: p. 2020-2023.
107. Markland F. S., Swenson S. Snake venom metalloproteinases. *Toxicon* (2013), 62: p. 3-18.
108. Markland F. S. Jr., Swenson S. Snake venom metalloproteinases. *Toxicon* (2013), 62: p. 3-18.
109. Mattson M. P. Oxidative stress, perturbed calcium homeostasis, and immune dysfunction in Alzheimer's disease. *J. Neurovirol.* (2002), 8: p. 539–550.
110. Mattson M.P., Chan S.L. Neuronal and glial calcium signaling in Alzheimer's disease. *Cell Calcium.* (2003), 34: p. 385-397.
111. Maurice T., Lockhar B., Su T. Privat A. Reversion of β_{25-35} -amyloid peptide-induced amnesia by NMDA receptor-associated glycine site agonists. *Brain Res.* (1996), 731 (1-2): p. 249–253.
112. Maurice T., Lockhart B.P. Privat, A. Amnesia induced in mice by centrally administered 13-amyloid peptides involves cholinergic dysfunction, *Brain Res.* (1996), 706: p. 181-193.

113. Maurice T., Privat A. Sigma1 (sigma 1) receptor agonists and neurosteroids attenuate beta25–35-amyloid peptide-induced amnesia in mice through a common mechanism. *Neuroscience* (1998), 83: p. 413-428.
114. McLane M. A., Marcinkiewicz C., Vijay-Kumar S., Wierzbicka-Patynowski I., Niewiarowski S. Viper venom disintegrins and related molecules. *Proc Soc Exp Biol Med.* (1998), 219 (2): p. 109-119.
115. McLane M.A., Sanchez E.E., Wong A., Paquette-Straub C., Perez J.C. Disintegrins. *Curr. Drug Targets. Cardiovasc. Haematol. Disord.* (2004), 4: p. 327-355.
116. Menard C., Valastro B., Martel M.A., Chartier E., Marineau A., Baudry M., et al. AMPA receptor phosphorylation is selectively regulated by constitutive phospholipase A(2) and 5-lipoxygenase activities. *Hippocampus.* (2005), 15: p. 370-380.
117. Morris R.G.M., Anderson E., Lynch G.M. Baudry M. Selective impairment of learning and blockage of long-term potentiation by a N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5, *Nature* (1986), 319: p. 774-776.
118. Muller P., Wallin H., Knudsen L.E. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chemico-Biol Interac* (1996), 102: p. 17-36.
119. Munn N. J., Arnio E., Liu D., Zoeller R. A., Liscum L. Deficiency in ethanolamine plasmalogen leads to altered cholesterol transport. *J. Lipid Res.* (2003), 44: p. 182–192.
120. Nathan F.M., Singh V. A., Dhanoa A., Palanisamy U.D. Oxidative stress and antioxidant status in primary bone and soft tissue sarcoma. *BMC Cancer* (2011), 11: p. 382.
121. Nation D.A., Wierenga C.E., Clark L.R., Dev S.I., Stricker N.H., Jak A.J., Salmon D.P., Delano-Wood L., Bangen K.J., Rissman R.A., Liu T.T., Bondi M.W. Cortical and subcortical cerebrovascular resistance index in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* (2013), 36(4): p. 689-698.
122. Niedernhofer L.J., Daniels J.S., Rouzer C.A. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *J Biol Chem* (2003), 278: p. 31426-31433.
123. Nirthanan S., Gwee M. C. Three-finger alpha-neurotoxins and the nicotinic acetylcholine receptor, forty years on. *J. Pharmacol. Sci.* (2004), 94: p. 1–17.

124. Osipov A., Utkin Y. Effects of Snake Venom Polypeptides on Central Nervous System Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (2012), 12: p. 315-328.
125. Pang J. T., Fort S., Della Siega A., Cohen E. A. Emergency coronary artery bypasses surgery in the era of glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonist use. *J. Card. Surg.* (2002), 17: p. 425–431.
126. Paz Moreno-Murciano M., Monleon D., Marcinkiewicz C., Calvete J.J., Celda B. NMR solution structure of the non-RGD disintegrin obtustatin. *J Mol Biol.* (2003), 329 (1): p. 135-145.
127. Pearson H. A., Peers C. Physiological roles for amyloid β peptides. *J. Physiol.* (2006), 575: p. 5–10.
128. Perry G., Cash A. D., Smith M. A. Alzheimer's disease and oxidative stress. *J. Biomed. Biotechnol.* (2002), 2: p. 120–123.
129. Phares T. W., Kean R. B., Mikheeva T., Hooper D. C. Regional differences in blood-brain barrier permeability changes and inflammation in the apathogenic clearance of virus from the central nervous system. *J. Immunol.* (2006), 176: p. 7666–7675.
130. Pratico D., Uryu K., Leight S., Trojanowski J. Q., Lee V. M. Y. Increased lipid peroxidation precedes amyloid plaque formation in an animal model of Alzheimer amyloidosis. *J. Neurosci.* (2001), 21: p. 4183–4187.
131. Pung Y. F., Wong P. T., Kumar P.P., Hodgson W.C., Kini R. M. Ohanin, a novel protein from king cobra venom, induces hypolocomotion and hyperalgesia in mice. *J. Biol. Chem.* (2005), 280(13): p. 13137-13147.
132. Qian B., Pollard J. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cel* (2010), 141: p. 39-51.
133. Rossetto O., Morbiato L., Caccin P., Rigoni M., Montecucco C. Presynaptic enzymatic neurotoxins. *J. Neurochem.* (2006), 97(6): p. 1534-1545.
134. Rowe S. E., O'Gara J. P. Electrophoretic mobility shift assays The Genetic Manipulation of Staphylococci. *Methods in Molecular Biology* (2015), Volume 1373: p. 155-167.

135. Sakono M., Zako T. Amyloid oligomers: formation and toxicity of A β oligomers. *FEBS J.* (2010), 277: p. 1348–1358.
136. Sanz L., Ayzvayan N., Calvete J. Snake venomomics of the Armenian mountain vipers *Macrovipera lebetina obtusa* and *Vipera raddei*. *Journal of Proteomics*, (2008), 71 (2):p. 198-209.
137. Schaeffer E.L., Forlenza O.V., Gattaz W.F. Phospholipase A(2) activation as a therapeutic approach for cognitive enhancement in early-stage Alzheimer disease. *Psychopharmacology*. Berlin, (2009), 202: p. 37-51.
138. Schipper H.M., Scarborough D.E., Lechan R.M., Reichlin S. Gomori-positive astrocytes in primary culture: effects of in vitro age and cysteamine exposure. *Brain Res Dev Brain Res.* (1990), 54 (1): p. 71-79.
139. Schmidmaier R., Baumann P. Anti- Adhesion evolves to a promising therapeutic concept in oncology. *Curr Med Chem* (2008), 15: p. 978-990.
140. Selkoe D.J. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron* (1991), 6: p. 487-498.
141. Serrano S. M. T., Shannon J. D., Wang D., Camargo A.C., Fox J. W. (2005) A multifaceted analysis of viperid snake venoms by two-dimensional gel electrophoresis: an approach to understanding venom proteomics. *Proteomics*, 5: 501-510.
142. Servent D., Fruchart-Gaillard C. (2009) Muscarinic toxins tools for the study of the pharmacological and functional properties of muscarinic receptors *Journal of Neurochemistry* 109: 1193–1202.
143. Shanbhag V. Applications of snake venoms in treatment of cancer. *Asian Pac J Trop Biomed* (2015), 5(4): p. 275-276.
144. Shaw C. Advancing drug discovery with reptile and amphibian venom peptides: venom-based medicines. *Biochem. Soc.* (2009), 31: p. 34–37.
145. Shirai Y., Ito M. Specific differential expression of phospholipase A2 subtypes in rat cerebellum. *Journal of Neurocytology* (2004), 33: p. 297-307.

146. Shirey J. K., Xiang Z., Orton D., Brady A. E., Johnson K. A., Williams R. An allosteric potentiator of M4 mAChR modulates hippocampal synaptic transmission. *Nat Chem Biol* (2008), 4: p. 42–50.
147. Siew J., Khan A. M., Tan P., Koh J., Seah S., Koo Ch., Chai S., Armugam A., Brusic V., Jeyaseelan K. Systematic analysis of snake neurotoxins' functional classification using a data warehousing approach. *Bioinformatics* (2004), 20(18): p. 3466–3480.
148. Siigur E., Aaspõllu A., Trummal K., Tõnismägi K., Tammiste I. Factor X activator from *Vipera lebetina* venom is synthesized from different genes. *Biochim Biophys Acta* (2004), 1702: p. 41-51.
149. Slomianka L., Drenth T., Cavegn N., Menges D., Lazic S. E., Phalanndwa M., Chimimba C. T., Amrein I. The hippocampus of the eastern rock sengi: cytoarchitecture, markers of neuronal function, principal cell numbers, and adult neurogenesis. *Front Neuroanat.* (2013), 7: p. 34.
150. Sokol R., Rohlf F. *Biometry*, 2nd ed., New York, W.H. Freeman: (1981), p. 859.
151. Steeg P. S. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nat Med* (2006), 12: p. 895-904.
152. Sun G. Y., Xu J., Jensen M.D., Simonyi A. Phospholipase A2 in the central nervous system: implications for neurodegenerative diseases. *J. Lipid Res.* (2004), 45: p. 205– 213.
153. Talbot K., Young R. A., Jolly-Tornetta C., Lee V. M-Y., Trojanowski J. Q., Wolf B. A. A frontal variant of Alzheimer's disease exhibits decreased calcium-independent phospholipase A2 activity in the prefrontal cortex. *Neurochem. Int.* (2000), 37: p. 17–31.
154. Talib L.L., Hototian S.R., Joaquim H.P., Forlenza O.V., Gattaz W.F. Increased iPLA₂ activity and levels of phosphorylated GSK3B in platelets are associated with donepezil treatment in Alzheimer's disease patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* (2015), 265(8): p. 701-706.
155. Tolnay M., Clavaguera F. Argrophilic grain disease a late-onset dementia with distinctive features among tauopathies. *Neuropathology* (2004), 24: p. 269-283.
156. Tsetlin V. I., Hucho F. Snake and snail toxins acting on nicotinic acetylcholine receptors: fundamental aspects and medical applications. *FEBS Lett.* (2004), 557: p. 9–13.

157. Vidal N. Colubroid systematic: evidence for an early appearance of the venom apparatus followed by extensive evolutionary tinkering. *J Toxicol Toxin Rev* (2002), 21: 21-41.
158. Vulfius C. A., Gorbacheva E. V., Starkov V. G., Kasheverov I. E., Andreeva T. V. Phospholipase A2 isolated from snake venoms block acetylcholineelicited currents in identified *Lymnaea stagnalis* neurons. *Biochem Suppl Ser A: Membrane Cll Biol. Moscow*, (2011), p. 203–206.
159. Walsh E.M., Marcinkiewicz C. Non-RGD-containing snake venom disintegrins, functional and structural relations. *Toxicon* (2011), 58: p. 355-362.
160. Wang F., Gao F., Lan M. Oxidative stress contributes to silica nanoparticle-induced cytotoxicity in human embryonic kidney cells, *Toxicology in Vitro* (2009), 23: p. 808–815.
161. Wang H., Ke M., Tian Y., Wang J., Li B., Wang Y., Dou J., Zhou C. BF-30 selectively inhibits melanoma cell proliferation via cytoplasmic membrane permeabilization and DNA-binding in vitro and in B16F10-bearing mice. *European Journal of Pharmacology* (2013), 5; 707(1-3): p. 1-10.
162. Wang M., Wang H., Tang Y., Kang D., Gao Y., Ke M., Dou J., Xi T., Zhou C., Effective inhibition of a *Strongylocentrotus nudus* eggs polysaccharide against hepatocellular carcinoma is mediated via immunoregulation in vivo. *Immunol. Lett.* (2011), 141: p. 74–82.
163. Wang Y. Q., Su J., Wu F., Lu P., Yuan L. F., Yuan W. E., Sheng J., Jin T. Biscarbamate cross-linked polyethylenimine derivative with low molecular weight, low cytotoxicity, and high efficiency for gene delivery. *Int J Nanomedicine* (2012), 7: p. 693-704.
164. Wang Y., Zhang Z., Chen L., Guang H., Li Z., Yang H., Li J., You D., Yu H., Lai R. Cathelicidin-BF, a snake cathelicidin-derived antimicrobial peptide, could be an excellent therapeutic agent for Acne Vulgaris. *PLoS One* (2011), 6: e22120.
165. Wang Y., Hong J., Liu X., Yang H., Liu R., Wu J., Wang A., Lin D., Lai R. Snake Cathelicidin from *Bungarus fasciatus* is a potent peptide antibiotics. *PLoS One* (2008), 3 (9): e3217.

166. Wauquier F., Leotoing L., Coxam V., Guicheux J., Wittrant Y. Oxidative stress in bone remodelling and disease. *Trends Mol Med* (2009), 15: p. 468-477.
167. Wen T. C., Tanaka J., Peng H., Desaki J., Matsuda S., Maeda N., Fujita H., Sato K., Sakanaka M. Interleukin 3 prevents delayed neuronal death in the hippocampal CA1 field. *J Exp Med* (1998), 188(4): p. 635-649.
168. Westermann J. C., Craik D. J. NMR in peptide drug development. *Methods Mol. Biol.* (2008), 494: p. 87-113.
169. Witt K. A., Davis T. P. CNS drug delivery: opioid peptides and the blood-brain barrier. *AAPS J.* (2006), 8: E76-88.
170. Wu M., Ming W., Tang Y., Zhou S., Kong T., et al. The anticancer effect of cytotoxin 1 from *Naja atra* Cantor venom is mediated by a lysosomal cell death pathway involving lysosomal membrane permeabilization and cathepsin B release. *Am J Chin Med* (2013), 41: p. 643-663.
171. Xi G., Hua Y., Keep R. F., Younger J. G., Hoff J. T. Systemic complement depletion diminishes perihematomal brain edema in rats. *Stroke* (2001), 32(1): p. 162-167.
172. Xu J. M., Song S. T., Feng F. Y., Huang F. L., Yang Y., Xie G. R., Xu L. G., Zhang C. Z., Bruno M., Paradiso A. Cobrotoxin containing analgesic compound to treat chronic moderate to severe cancer pain: results from a randomized, double-blind, cross-over study and from an open-label study. *Oncol. Rep.* (2006), 16(5): p. 1077-1084.
173. Yenkovyan K., Safaryan K., Chavushyan V., Meliksetyan I., Navasardyan G., Sarkissian J., Galoyan A., Aghajanov M. Neuroprotective action of proline-rich polypeptide-1 in β -amyloid induced neurodegeneration in rats. *Brain Res Bull.* (2011), 86(3-4): p. 262-271.
174. Zhang L. N., Sun Y. J., Pan S., Li J. X., Qu Y. E., Li Y., Wang Y. L., Gao Z. B. $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, a potent neuroprotective modulator against Alzheimer disease. *Fundam Clin Pharmacol.* (2013), 27(1): p. 96-103.
175. Zhou H., Dou J., Wang J., Chen L., Wang H., Zhou W., Li Y., Zhou C. The antibacterial activity of BF-30 in vitro and in infected burned rats is through interference with cytoplasmic membrane integrity. *Peptides* (2011), 32: p. 1131-1138.

176. Zuliani J. P., Fernandes C. M., Zamuner S. R., Gutiérrez J. M., Teixeira C. F. Inflammatory events induced by Lys-49 and Asp-49 phospholipases A₂ isolated from *Bothrops asper* snake venom: role of catalytic activity. *Toxicon* (2005), 45: p. 335–346.
177. Zuliani J. P., Gutiérrez J. M., Casais e Silva L. L., Coccuzzo Sampaio S., Lomonte B. Activation of cellular functions in macrophages by venom secretory Asp-49 and Lys-49 phospholipases A₂. *Toxicon* (2005) 46: p. 523–532.

ՀԱՊԱՎՈՒՄՆԵՐ

MLO - *Macrovipera lebetina obtusa* (կովկասյան գյուրգա)

VEGF - Vascular endothelial growth factor

PBS - Phosphate-buffered saline

PLA₂ - Phospholipase A₂ (ֆոսֆոլիպազ A₂)

ԱՀ- Ալցիեյմերի հիվանդություն

ԵԼԹ - երկշերտ լիպիդային թաղանթ

ԼԳՕ - լիպիդների գերօքսիդային օքսիդացում

ՀՕԱ - հակաօքսիդանտային ակտիվություն

ԹԲԹ – թիոբարբիտուրային թթու

ԵՔՔ – եռլորքացախաթթու

ՄԵԱ – մալոնային երկալդեհիդ

ՍՕԴ - սուպերօքսիդիսմուտազ

ՏԴ - տետանիկ դեպրեսիա

ՏՊ - տետանիկ պոտենցացիա

ՀՏԴ - հետտետանիկ դեպրեսիա

ՀՏՊ - հետտետանիկ պոտենցացիա