ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԶԱՔԱՐՅԱՆ ԶԱՐԱ ԱՐՄԵՆԻ

ԱԶԱՏ ՌԱԴԻԿԱԼԱՅԻՆ ԳՈՐԾԸՆԹԱՑՆԵՐԸ ԵՎ ՀԱԿԱՕՔՍԻԴԱՆՏՆԵՐԻ ԴԵՐՆ ԱԽՏԱԲԱՆԱԿԱՆ ՎԻՃԱԿՆԵՐՈՒՄ

Գ.00.02 կենսաֆիզիկա մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության
ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ 2013

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РА
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ЗАКАРЯН ЗАРА АРМЕНОВНА

СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И РОЛЬ АНТИОКСИДАНТОВ В ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
03.00.02 - Биофизика

ЕРЕВАН – 2013

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում:

Գիտական ղեկավար՝ ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ, կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր Ա. Հ. Թռչունյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կենս. գիտ.դոկտոր Ն.Հ. Բարխուդարյան
կենս. գիտ թեկնածու Ն.Մ.Այվազյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ ՀՀ ԱՆ ճառագայթային բժշկության և այրվածքների գիտական կենտրոն

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2013թ. սեպտեմբերի 17-ին, ժամը 14:00-ին, Երևանի պետական համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈՀ-ի կենսաֆիզիկայի 051 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0025, Երևան, Ալեք Մանուկյան փ. 1, ԵՊՀ, կենսաբանության ֆակուլտետ):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի պետական համալսարանի գրադարանում:
Ատենախոսության սեղմագիրն առաքված է 2013 թ. հուլիսի 15 -ին:

051 մասնագիտական խորհրդի գիտ. քարտուղար,
կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր՝ Լ. Հ. Նավասարդյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете

Научный руководитель: член-корреспондент НАН РА,
докт. биол. наук,
профессор А.А. Трчунян

Официальные оппоненты докт. биол. наук Н.А. Бархударян
канд. биол. наук. Н.М.Айвазян

Ведущая организация: Научный центр радиационной медицины и ожогов Мин. здрава РА
Защита диссертации состоится 17 сентября 2013 г., в $14^{\underline{00}}$ часов на заседании Специализированного совета 051 Биофизика при Ереванском государственном университете (0025, Ереван, ул .А.Манукяна, 1, ЕГУ, биологический факультет).
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного университета.
Автореферат разослан 15 июля 2013 г.

Ученый секретарь Специализированного совета 051,
доктор биологических наук, профессор Л.А.Навасардян

ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Հիմնահարցի արդիականությունը. Ազատ ռադիկալային (ԱՌ) պրոցեսները կարևոր դեր են խաղում օրգանիզմի կենսագործունեության համար, փոխկապված են նյութափոխանակային փոփոխությունների հետ և արտացոլում են օրգանիզմի հակաօքսիդանտային համակարգի վիճակը: Հակաօքսիդանտների կարգավորիչ դերի պարզաբանումն այդ տեսանկյունից հանդիսանում է ներկայիս բժշկակենսաբանական գիտությունների և կենսաֆիզիկայի կարևորագույն խնդիրներից մեկը (Закарян А.Е. и др 2002, Chanhane, Khow, 2003,Владимиров Ю.В. и др 2011): Ախտաբանական պրոցեսներում ակտիվանում է լիպիդների և լիպիդ պարունակող կառույցների գերօքսիդային օքսիդացումը (ԼԳՕ), որն ուղեկցվում է ԱՌ պրոցեսների և օրգանիզմի հակաօքսիդանտային համակարգի (ՀՕՀ) միջև գոյություն ունեցող հավասարակշռության խախտումով (Серкиз Я.И, и др. 1984, Chang et al. 1996, Lennard, 1999, Мучнев Т.В. и др. 2012): Սակայն հարցի քննարկվող տեսանկյունից դեռևս համալիր հետազոտությունների կարիք կա:

Ներկայումս նմանատիպ հետազոտություններում լայնորեն կիրառվում են այնպիսի եղանակներ, ինչպիսիք են քիմլյումինեսցենտային վերլուծության (Серкиз Я.И, и др, 1984, Закарян А.Е, и др., 2006, Владимиров Ю.А.,Лохматов А.Б., 2012), ԼԳՕ պրոցեսներում առաջացած մալոնային երկալդեհիդի (ՄԵԱ) և ուրիշ վերջնական նյութերի քանակական որոշման (Стальная И.Д., Гарушвили Т.Г., 1977, Schmidt et al., 1996), երկշերտ լիպիդային թաղանթների (ԵԼԹ), ինչպես նաև օրգանիզմի ՀՕՀ-ին պատկանող ֆերմենտների ակտիվության որոշման մեթոդները (Mueller et al., 1963): Նման մեթոդական մոտեցման հիմնավորումը կայանում է նրանում, որ ԱՌ մեխանիզմով ընթացող ԼԳՕ-ի պրոցեսներում մի կողմից առաջանում են գերթույլ լույսի քվանտներ, մյուս կողմից՝ դիենային կոնյուգատներ, լիպիդային հիդրոգերօքսիդներ, ալդեհիդներ, կետոններ, որոնք կարող են ուսումնասիրվել նշված մեթոդներով:

Հետազոտության նպատակը և խնդիրները. Ներկայացված ատենախոսության նպատակն է ուսումնասիրել ԱՌ մեխանիզմով ընթացող ԼԳՕ պրոցեսները օրգանիզմի բնականոն (նորմա) և տարբեր ախտաբանական վիճակներում, ինչպես նաև երկշերտ լիպիդային թաղանթների (ԵԼԹ) էլեկտրական չափորոշիչների

(էլեկտրական դիմադրություն, խզման պոտենցիալ, գոյատևման ժամանակ), ձևափոխումը և դրանց դիտարկել որպես օրգանիզմում դրսևորված արձագանքային օղակներ:

Աշխատանքի նպատակին համապատասխան՝ հետազոտության հիմնական խնդիրը ձևակերպվել է հետևյալ կերպ.

1. Ուսումնասիրել ԱՌ պրոցեսների ակտիվության կապը կենսահամակարգերի նյութափոխանակային փոփոխությունների հետ նորմայում և ախտաբանական վիճակներում:
2. Բացահայտել ԱՌ պրոցեսների բնույթը և հնարավոր մեխանիզմները ախտաբանական վիճակներում, ինչպես նաև ՔԼ անալիզի վերլուծության տեղեկատվական նշանակությունը:
3. Ուսումնասիրել հակաօքսիդանտային (ՀՕ) հատկությամբ օժտված որոշ պատրաստուկների ազդեցությունը ԱՌ մեխանիզմով ընթացող պրոցեսների վրա:
4. Հետազոտել արհեստական ԵԼԹ-ի ձևափոխումը մեր կողմից հետազոտվող կենսանմուշների միջոցով՝ ըստ դրանց էլեկտրական չափորոշիչների փոփոխության:

Աշխատանքի գիտական նորույթը: Տարբեր մեթոդական մոտեցումներով կատարված հետազոտությունների արդյունքում ցույց է տրվել, որ օրգանիզմի ախտաբանական վիճակներում և նորմայում ԱՌ մեխանիզմով ընթացող ԼԳՕ պրոցեսները տարբերվում են իրենց ինտենսիվությամբ: Տարբեր եղանակներով ուսումնասիրված արյան շիճուկի ՔԼ-ի լուսարձակման ինտենսիվությաունը ունի ավելի բարձր մակարդակ օրգանիզմի ախտաբանական վիճակների զարգացման դեպքում առողջ մարդկանց նույն ցուցանիշի նկատմամբ: ԼԳՕ-ի ուսումնասիրման արդյունքում բացահայտվել է, որ ԼԳՕ-ի վերջնանյութերը (ՄԵԱ,ԴԿ), օրգանիզմի ախտաբանական իրավիճակում քանակապես մեծանում են, սակայն նվազում են ՍՕԴ-ի ակտիվությունը և α-տոկոֆերոլի քանակը: Բացահայտվել է, որ ԵԼԹ-ների մի շարք էլեկտրական չափորոշիչներ նույնպես ենթարկվում են որոշակի փոփոխությունների առողջ և հիվանդ մարդկանց արյան շիճուկով մոդիֆիկացման դեպքում, ինչը կարելի է դիտարկել որպես օրգանիզմում դրսևորված միանման արձագանքին օղակներ: Արձանագրվել է, որ գոյություն ունի կորելացում տարբեր

մեթոդներով ստացված փորձնական տվյալների միջև, ինչը անկասկած մեծացնում է ստացված արդյունքների հավաստիությունը և տեղեկատվական նշանակությունը:

Աշխատանքի կիրառական նշանակությունը. Կատարված դիտարկումները և ստացված արդյունքները թույլ են տալիս առաջարկել աշխատանքում օգտագործված մեթոդների և ստացված արդյունքների կիրառումը բժշկակենսաբանական և կլինիկական հետազոտություններում: ՔԼ-ի ավտոմատ գրանցման և տվյալների մաթեմատիկական մշակման ծրագրային ապահովման եղանակը, ԼԳՕ-ի վերջնանյութերի գնահատումը և արհեստական ԵԼԹ-ների մեթոդը կարելի է առաջարկել որպես տարբեր ախտաբանական վիճակների գերարագ (էքսպրես) և արդյունավետ հետազոտման, ինչպես նաև կենսաբանորեն ակտիվ նյութերի ազդեցությունների բնույթի, դրանց ազդեցության մեխանիզների, արագ թեստավորման և մշտադիտարկման (մոնիտորինգի) եղանակներ:

Պաշտպանության են ներկայացվում ատենախոսության հետևյալ հիմնական դրույթները.

* Արյան շիճուկի ՔԼ-ի (ՍՔԼ, ՖՔԼ, էՔԼ) լուսարձակման ինտենսիվությունը և քվանտային ելքն ունեն ավելի բարձր մակարդակ ախտաբանական վիճակների դեպքում, քան առողջ մարդկանց՝ միևնույն ցուցանիշների նկատմամբ:

* ԼԳՕ-ի վերջնանյութերի (ՄԵԱ,ԴԿ) քանակները մարդու օրգանիզմի ախտաբանական իրավիճակում մեծանում են, սակայն ընկնում են ՍՕԴ-ի ակտիվությունը և α- տոկոֆերոլի քանակը:

* ԵԼԹ-ների էլեկտրական չափանիշները (էլեկտրական դիմադրություն, խզման պոտենցիալ, գոյատևման ժամանակ) ենթարկվում են որոշակի փոփոխությունների առողջ և հիվանդ մարդկանց արյան շիճուկով մոդիֆիկացման դեպքում, ինչը կարելի է դիտարկել որպես օրգանիզմում դրսևորված ընդհանուր արձագանքային փոփոխություններ:

* Տարբեր մեթոդներով ստացված փորձնական տվյալների միջև առկա կորրելացումը մեծացնում է ստացված փորձարարական արդյունքների հավաստիությունը և տեղեկատվական նշանակությունը:

Աշխատանքի քննարկումը. Աշխատանքի արդյունքները և հիմնական դրույթները զեկուցվել են հետևյալ գիտաժողովներում՝ Հայաստանի ինտերն-թերապևտների

ասոցիացիայի նիստում (Երևան, 2000), Կենսահակաօքսիդանտներին նվիրված 6-րդ միջազգային գիտաժողովում (Մոսկվա, 2002), Ռուսաստանի բժշկատեխնիկական գիտությունների ակադեմիայի 10-ամյակին նվիրված միջազգային գիտաժողովին (Երևան, 2003):

Հրապարակումները. Ատենախոսության թեմայով հրատարակվել են 9 գիտական աշխատանքներ, որոնցից 8 հոդված և 1 թեզիս:

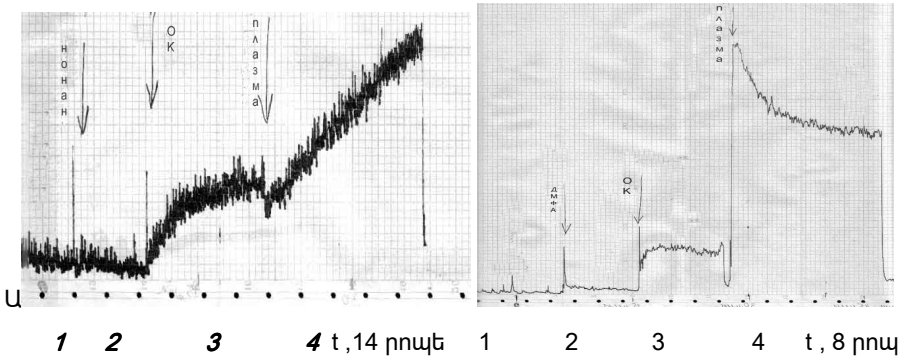
Ատենախոսության ծավալը և կառուցվածքը. Ատենախոսությունը շարադրված է համակարգչային 105 էջերում, պարունակում է 36 նկարներ և 8 աղյուսակներ: Այն բաղկացած է ներածությունից, գրականության ակնարկից, փորձարարական նյութեր և մեթոդների նկարագրումից, ստացված արդյունքներից և դրանց քննարկումից, եզրակացություններից և օգտագործված գրականության ցանկից, որն ընդգրկում է 157 գրական աղբյուր:

Հետազոտությունների նյութեր և մեթոդներ. Աշխատանքում կիրառվել են այնպիսի ժամանակակից եղանակներ, ինչպիսիք են ՔԼ վերլուծության, ԼԳՕ պրոցեսներում մալոնային երկալդեհիդի (ՄԵԱ) և դիենային կոնյուգատների (ԴԿ) քանակական որոշման, ԵԼԹ-ի լարման ֆիքսման, ինչպես նաև օրգանիզմի ՀՕՀ-ին պատկանող որոշ ֆերմենտների ակտիվության որոշման մեթոդները, որոնց մանրամասն նկաագրությունը բերված է ատենախոսությունում:

Կատարված փորձերում օգտագործվել են. հեպտան, իզոպրոպիլ սպիրտ, էթիլ սպիրտ, եռքլորքացախաթթու, թիոբարբիտուրաթթու, տրիս-HCl, KCl, դիմեթիլ ֆորմամիդ, օլեինաթթու, լեցիտին, նոնան, էԴՏԱ, կալիումի յոդիդ, ջրածնի գերօքսիդ, Na_2HPO_4, KH_2PO_4, նիտրոկապույտ տետրազոլ, մեթիոնին, և այլն (հիմնականում ռուսաստանյան և այլ արտերկրյա արտադրության): Օգտագործվել են նաև հակաբորբոքային պատրաստուկներ (ռոցեֆին, իբուպրոֆեն, դիկլոֆենակ, և պիրօկսիկամ): ԵԼԹ-ի ձևավորման համար ընդհանուր ֆոսֆոլիպիդային ֆրակցիան անջատվել է ըստ Մյուլլերի մեթոդի (Mueller et al., 1963):

Որպես փորձնական նմուշներ օգտագործվել են առողջ և հիվանդ մարդկանց արյան շիճուկները, ինչպես նաև հետվիրահատական հիվանդների ներորովայնային հեղուկներ:

<u>Մոդելային համակարգերի ՔԼ-ի համեմատական հետազոտումը.</u> Աշխատանքի նախնական փուլում մշակվել և ուսումնասիրվել է նոր մոդելային համակարգերի հնարավոր կիրառելիությունը արյան շիճուկի ՔԼ-ի խթանման համար: ԱՌ-ային պրոցեսի խթանման նպատակով օգտագործվել են նոնանի կամ դիմեթիլֆորմամիդի (ԴՄՖԱ) խառնուրդն օլեինաթթվի (ՕԹ.) հետ՝ նոնան-ՕԹ կամ ԴՄՖԱ-ՕԹ (2:02մլ): Ցույց է տրված, որ տվյալ մոդելային համակարգերը խթանում են ՔԼ-ի լուսարձակման բավարար կայունությամբ (նկ.1).

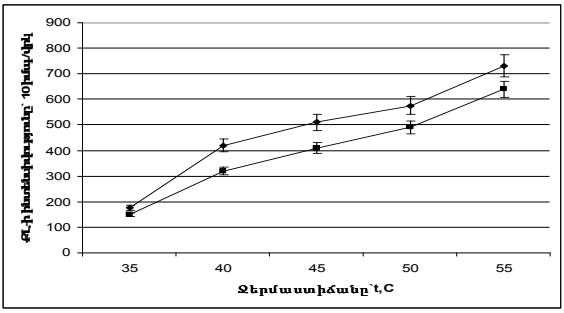


Նկ.1. Նոնան-ՕԹ (Ա) և ԴՄՖԱ-ՕԹ (Բ) մոդելային համակարգերի ՔԼ-ն առողջ մարդու արյան շիճուկի առկայությամբ.1-քվքնտոմետրիկ Սարքի ֆոնը; 2-Նոնան; 3-Նոնան-ՕԹ համակարգի ՔԼ-ն և 4-արյան շիճուկի առկայությամբ:

Չնայած նոնանի և ԴՄՖԱ-ի սեփական ՔԼ-ն գրեթե բացակայում է, բայց ՕԹ–ի առկայությամբ նկատվում է նոնան-ՕԹ համակարգի ՔԼ-ի ինտենսիվության զգալի աճ, որը շուտով կայունանում է: Կայունացման փուլում 0.2 մ. արյան պլազմայի ներմուծումն երկու մոդելային համակարգերի դեպքում էլ ուղեկցվում է ՔԼ-ի կտրուկ աճով: Ընդ որում նոնան-ՕԹ մոդելային համակարգի ՔԼ-ի կինետիկան արյան շիճուկի առկայությամբ աճում է (նկ.1, Ա), իսկ ԴՄՖԱ-ՕԹ դեպքում ընդհակառակը՝ կտրուկ բռնկումից հետո սկսում է նվազել (նկ.1, Բ): Դա հավանաբար բացատրվում է նրանով, որ նոնանը լինելով հիդրոֆոբ լուծիչ դանդաղ է փոխազդում արյան շիճուկի հիդրոֆիլայինին միջավայրում լիպիդային բաղադրամասերի հետ, որի պատճառով ՔԼ-ն կարող է տևել շատ երկար՝ նույնիսկ

տասնյակ ժամեր: Հակառակ դրան՝ ԴՄՖԱ լինելով գերլուծիչ միակերպ և արագ է փոխազդում թե լիպիդների և թե ջրալույծ արյան շիճուկի մյուս բաղադրամասերի հետ, ինչի պատճառով էլ նկատվում է արագ բռնկում հետագա մարման փուլով: Այս դեպքում որպես ՔԼ-ի լրացուցիչ էմիթերներ հանդես են գալիս նաև շիճուկի սպիտակուցները:

Ուսումնասիրվել է տվյալ լուսարձակման ջերմաստիճանային կախվածությունը առողջ և հիվանդ մարդկանց արյան շիճուկի դեպքերում (նկ. 2).



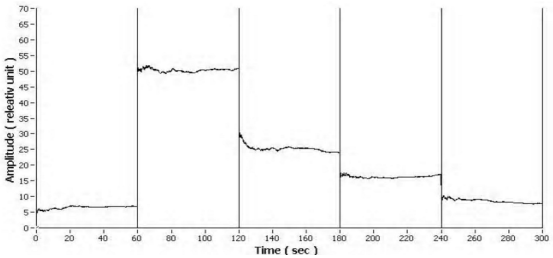
Նկ. 2.. Նոնան-ՕԹ մոդելում ՊԲ հիվանդ (վերին կորը) *և առողջ* (ներքևի կորը) *մարդկանց արյան շիճուկի ՍՔԼ-ի կախխվածությունը ջերմաստիճանից:*

Ինչպես երևում է, ուսումնասիրված մոդելային համակարգերում առողջ և պարբերական հիվանդությամբ (ՊՀ) մարդկանց արյան շիճուկի ՔԼ-ի ինտենսիվության կախվածությունը ջերմաստիճանից ունի միևնույն օրինաչափությունը: Դա վկայում է այն մասին, որ լույսի քվանտի առաջացման համար պատասխանատու են միևնույն տիպի էմիտերներ և որ ջերմաստիճանային փոփոխության ընթացքում ՔԼ-ի աճը պայմանավորված է առավելապես ազատ ռադիկալների քանակական, և ոչ թե որակական փոփոխություններով: Դատելով ըստ Q_{10} արժեքների (1.35-1.7), 40^0 C ջերմաստիճանների դեպքում կարելի է նշել, որ ուսումնասիրվող պրոցեսները ֆիզիկաքիմիական բնույթի են, իսկ մեխանիզմը ազատ ռադիկալային է:

Քանի որ ՔԼ-ի բնորոշման համար կարևոր չափորոշիչ է առաքվող լույսի սպեկտրալ կազմը, ուստի կապույտ, դեղին և կարմիր ապակյա լուսազտիչների միջոցով որոշվել է մոդելային համակարգերի լուսարձակման սպեկտրալ կազմը և

որոշվել նոնան-ՕԹ+շիճուկ միջավայրի ՔԼ-ի մոտավոր սպեկտրալ տիրույթը,որը ընկած տեսանելի մասի կապույտ տեղամասում, ինչը նկատելի ուժեղ է կարմիր տեղամասի համեմատ (նկ. 3).

ԴՄՖԱ-ՕԹ+շիճուկ մոդելային համակարգի ՔԼ-ի սպեկտրալ կազմի ուսումնասիրման ընթացքում գրանցվել են գրեթե նույնանման արդյունքներ, ինչը նշանակում է, որ հետազոտվող նմուշների լուսարձակումը պայմանավորված է միատեսակ էմիթերներով՝ նույնատիպ լիպիդային ԱՌ-ներով, որոնք օժտված են համարժեք էներգիայով:

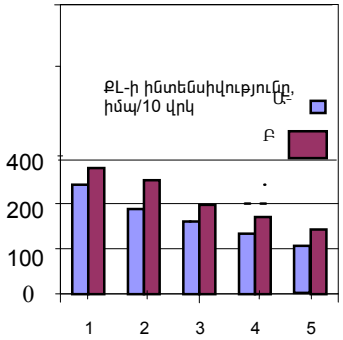


sigma	mean
0,4562	6,51
0,4925	50,29
1,022	25,32
0,3648	16,28
0,6056	8,556

Նկ. 3. Նոնան-ՕԹ+շիճուկ միջավայրի ՔԼ-ի լուսարձակման սպեկտրալ կազմը 1.- ֆոնը, 2- նոնան-ՕԹ+շիճուկ միջավայրի ՔԼ-ն *առանց լուսազտիչի և 3-5 նույնը կապույտ, դեղին և կարմիր լուսազտիչների առկայությամբ:*

Նշված մոդելային համակարգերն օգտագործվել են տարբեր հիվանդությունների ընթացքում արյան շիճուկների հետազոտման նպատակով:

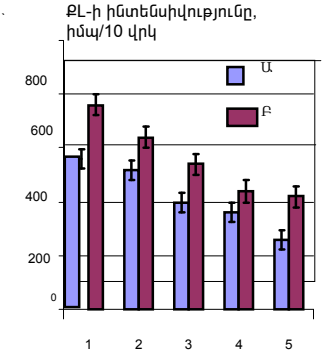
Ինչպես երևում է (նկ. 4), երկու մոդելային համակարգերի կիրառման ժամանակ էլ արյան շիճուկի ՔԼ-ի ինտենսիվությունը տարբեր հիվանդութունների ժամանակ միևնույնը չէ և միշտ բարձր է պայմանական առողջ մարդկանց արյան շիճուկի ՔԼ-ից: Իսկ α–տոկոֆերոլի առկայությունը ճնշում է ԱՌ պրոցեսի, հետևաբար նաև լուսարձակման ինտենսիվութունը:Նշենք,որ նկարագրված օրինաչափությունները մեր կողմից հաստատված են նաև ԼԳՕ-ի որոշմամբ ըստ ՄԵԱ և ԴԿ թեստերի:



Փորձերի տարբերակները՝

Ա- α–տոկոֆերոլի առկայությամբ և Բ- առանց

Ա



Փորձերի տարբերակները՝

Ա- α–տոկոֆերոլի առկայությամբ և Բ- առանց α–տոկոֆերոլի

Բ

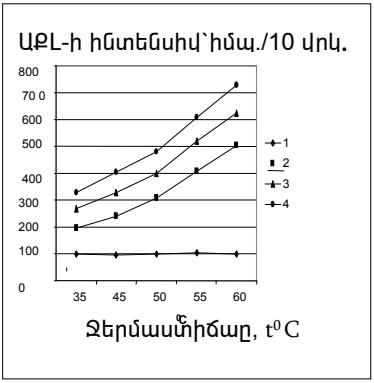
Նկ. 4.. Արյան շիճուկի ՔԼ-ն Նոնան-ՕԹ (Ա) և ԴՄՖԱ-ՕԹ (Բ) մոդելային համակարգում տարբեր հիվանդությունների ժամանակ և α–տոկոֆերոլի ազդեցությունը ՔԼ-ի վրա. 1. չարորակ ուռոցքով հիվանդ արյան շիճուկ, 2. բարորակ ուռուցքով հիվանդի արյան շիճուկ, 3 .պանկրեատիտով հիվանդի արյան շիճուկ սրված վիճակում, 4. ՊՀ-ի արյան շիճուկ, 5. պայմանական առողջ մարդու արյան շիճուկ:

Դա նշանակում է, որ առաջարկված մոդելային համակարգերը կարող են ադեկվատորեն արտացոլել կենսահամակարգերի ՔԼ-ի պրոցեսը, հանդիսանալ ՔԼ-ի համար որպես ուժեղացուցիչներ, որն իր հերթին հնարավորություն է տալիս օգտագործել առավել քիչ քանակի կենսաբանական նմուշը, ինչը կարևոր է կլինիկական հետազոտություններում:

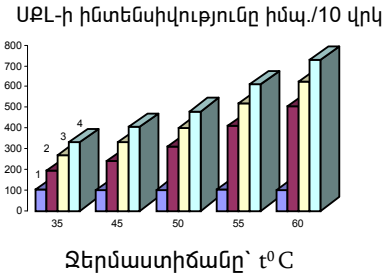
<u>Արյան շիճուկի ազատ ռադիկալային գերօքսիդացման ուսումնասիրությունը ախտաբանական պրոցեսների ժամանակ.</u> Օրգանիզմի ախտաբանական վիճակի գնահատման համար լայնորեն կիրառվում են ԱՌ-ների և հակաօքսիդանտների ուսումնասիրման այնպիսի մեթոդներ, ինչպիսիք են ՔԼ վերլուծության և ՄԵԱ մեթոդները (Владимиров Ю.А, 1999, Закарян А.Е. и др. 2006): Ցույց է տրված արյան շիճուկի կամ այլ կենսամիջավայրերի ՔԼ-ի ինտենսիվության և ՄԵԱ քանակի փոփոխության կախվածությունը օրգանիզմի տարբեր բնույթի ախտաբանական իրավիճակից: Մեծ նշանակություն ունեն նոր լրացուցիչ չափորոշիչների և կենսաֆիզիկական մոտեցումների մշակումը և ներդրումը: ՔԼ վերլուծության

տարբեր մեթոդների զարգացումը հնարավոր դարձրեց համադրել ՍՔԼ-ի, ՖՔԼ-ի, էՔԼ-ի հետազոտական, ինչպես նաև ՄԵԱ և ԴԿ որոշման տվյալները ԱՌ-ային պրոցեսների բնույթի և մեխանիզմների պարզաբանման գործում:

Այդ առումով մեր կողմից ուսումնասիրվել են ՊՀ արյան շիճուկում ԱՌ-ային մեխանիզմով ընթացող պրոցեսները ՔԼ վերլուծության տարբեր մեթոդներով, ինչպես նաև ԼԳՕ-ի վերջնանյութերի որոշման միջոցով: Հիվանդներն (թվով 27) եղել են տարբեր տարիքի, հիմնականում՝ տղամարդիկ, և արյունը վերցվել է հիվանդության զարգացման տարբեր փուլերում: Նախապես ուսումնասիրվել է առողջ և ՊՀ արյան շիճուկի ՍՔԼ-ի ինտենսիվության կախվածությունը նմուշի ջերմաստիճանից: Ստացված տվյալների համաձան (որոնց սխալների միջին արժեքը չի անցնում 10-12 %-ը) նմուշի ջերմաստիճանի բարձրացմանը զուգընթաց աճում է ՍՔԼ-ի ինտենսիվությունը Վանտ-Հոֆֆի գործակցի 1.6 միջին արժեքով, ինչը վկայում է տվալ դեպքում ՍՔԼ-ի ոչ ֆերմենտային բնույթի մասին (նկ. 6).



Ա



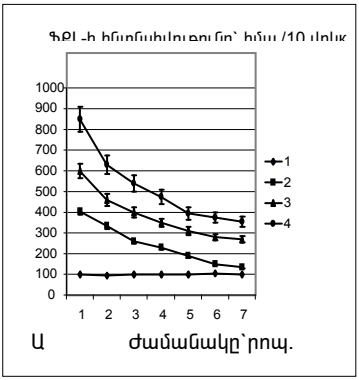
Բ

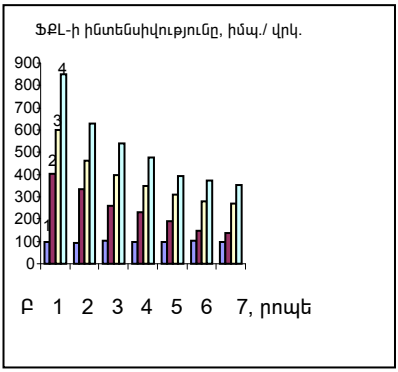
Նկ.6. Արյան շիճուկի ՍՔԼ-ի կախվածությունը ջերմաստիճանից. Ա- դրա կինետիկան և Բ- ՍՔԼ-ի ինտենսիվությունը ըստ լուսագումարի. 1. քվանտոմետրիկ սարքի ֆոնը, 2-ստուգիչ շիճուկ, 3-ՊՀ արյան շիճուկ հիվքանդության հանգստի փուլում և 4-ՊՀ հիվանդների արյան հիվանդության սրման (նոպայի) փուլում:

Ինչպես երևում է, արյան շիճուկի ՍՔԼ-ի ինտենսիվությունը ստուգիչի համեմատ նկատելիորեն աճում է ՊՀ հիվանդության դեպքում, հատկապես հիվանդության սրման փուլում: Ջերմաստիճանի միատեսակ ազդեցությունը նմուշների վրա վկայում է այն մասին, որ հիվանդության ընթացքում տեղի են

ունենում հիմնականում ԼԳՕ ռեակցիաների ակտիվացում և ԱՌ միջանկյալ նյութերի քանակական փոփոխություններ, ինչը ուղղեկցվում է ՍՔԼ-ի ինտենսիվության մեծացմամբ: Հավանաբար ջերմաստիճանի բարձրացմանը զուգընթաց տեղի են ունենում փուլային անցումներ արյան լիպոպրոտեիդներում և լիպիդների անցումը ավելի հեղուկ վիճակի, ինչը նպաստավոր է դառնում դրանց ավելի արագ օքսիդացմանը:

ՊՀ ժամանակ արյան շիճուկում ԱՌ-ային գերօքսիդացման վերը նշված օրինաչափությունները բացահայտվեցին նաև ՖՔԼ-ի ուսումնասիրման ժամանակ (նկ.7): Ինչպես ՍՔԼ-ի ուսումնասիրման ժամանակ, այնպես էլ այս դեպքում՝ ՊՀ արյան շիճուկի ՖՔԼ-ի ինտենսիվությունը զգալիորեն բարձր է սառողջ մարդկանց նունատիպ նմուշի նկատմամբ: ՖՔԼ-ի էքսպոնենցիալ նվազումը, տվյալ դեպքում 7 րոպ. ընթացքում, ցույց է տալիս լիպոպրեիդային սպիտակուցների մասնակցությունը ՔԼ-ին որպես լույսի քվանտի առաքման երկրորդային էմիտերներ:





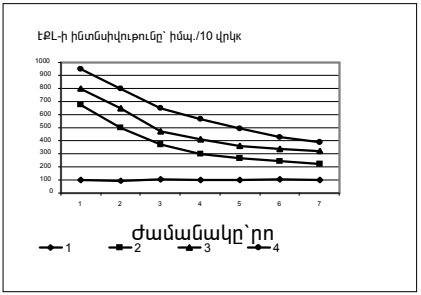
Նկ.7. Արյան շիճուկի ՖՔԼ-ի կինետիկան առողջ և ՊՀ մարդկանց մոտ.
Ա-ՖՔԼ-ի աճի կինետիկան և Բ- ՖՔԼ-ն ըստ լուսագումարի. 1. Քվանտոմետրիկ սարքի ֆոնը, 2-ստուգիչ շիճուկ, 3- ՊՀ հիվանդների արյան շիճուկը հիվանդության հանգստի փուլում և 4- ՊՀ հիվանդների արյան շիճուկը հիվանդության նոպայի փուլում:

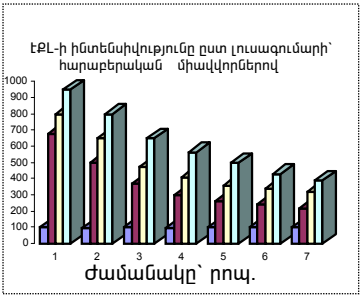
Արյան շիճուկի համալիր ուսումնասիրման համար կիրառվել է նաև էՔԼ մեթոդը: Արյան շիճուկի բաղադրամասերը փոխազդելով էլեկտրականությամբ ինդուկցված ԱՌ-ների հետ մակածվում է էՔԼ: Այն սկսվում է բռնկումով, որից հետո

ԷՔԼ-ի ինտենսիվությունն էքսպոնենցիալ ձևով նվազում է և առաջիկա 7 րոպեների ընթացքում հասնում է նվազագույն, գրեթե ստացիոնար արժեքի, որը կարող է պահպանվել ավելի քան 24 ժամվա ընթացքում՝ պայմանավորված ԱՌ-ային շղթայական պրոցեսներով: Հաշվարկներն ըստ լուսագումարի (նկ. 7, Բ) ցույց են տալիս, որ այն համապատասխանում է ԷՔԼ-ի կինետիկական փոփոխություններին, ինչը վկայում է ստացված տվյալների հավաստիության մասին (նկ. 8).

Համադրելով ՔԼ վերլուծության տարբեր մեթոդներով (ՍՔԼ, ՖՔԼ և ԷՔԼ) ստացված տվյալները, որոնք ի դեպ լրացնում են միմյանց, կարելի է այն արտահայտել ստորև բերված շարքով՝

ՔԼ արյան շիճուկ,ստուգիչ < ՔԼ արյան շիճուկ, նոպայից դուրս < ՔԼ արյան շիճուկ,նոպայում:





Ա Բ

Նկ.8. Արյան շիճուկի ԷՔԼ-ի կինետիկան և լուսագումարը առողջ և ՊՀ մարդկանց մոտ (դիագրամների անվանումները նույնն են ինչը նկ.7)
Ա-ԷՔԼ-ի աճի կինետիկան և Բ- ԷՔԼ-ն ըստ լուսագումարի 1. Քվանտոմետրիկ սարքը ֆոնը, 2-ստուգիչ շիճուկ, 3-ՊՀ արյան հիվանդության հանգստի փուլում և 4- ՊՀ արյան շիճուկ հիվանդության նոպայի փուլում:

Այսպիսով կարելի է պնդել, որ ՔԼ վերլուծության տվյալները արյան շիճուկի ուսումնասիրման վերաբերյալ արտացոլում են ՊՀ ընթացքում մարդու օրգանիզմում ընթացող որոշակի պրոցեսներ, որոնք ունեն ԱՌ-ային բնույթ՝ պայմանավորված օրգանիզմում հակաօքսիդանտների առավելագույն ծախսով և օքսիդատիվ պրոցեսների ակտիվացմամբ, ինչով և բացատրվում է այդ հիվանդության բուժման ժամանակ հակաօքսիդանտների լայնորեն կիրառումը:

Աղյուսակ 1.
Արան շիճուկի ԼԳՕ-ի ցուցանիշները նորմայում և ՊԲ հիվանդության ժամանակ (N-Փորձարկված մարդկանց թիվը)

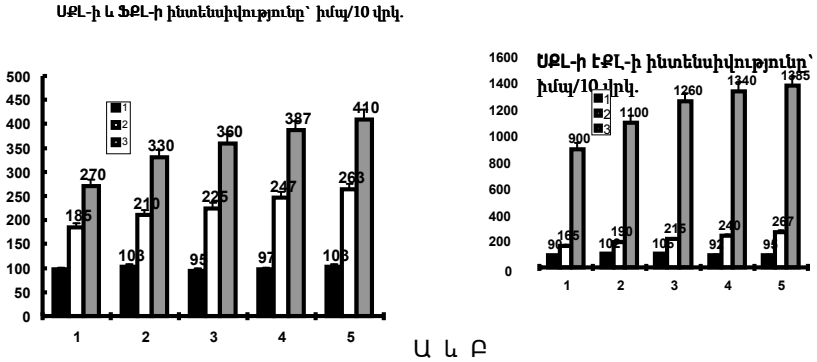
Նմուշները / ԼԳՕ-ի ձուցանիշները	Առողջ մարդկանց արյան շիճուկ (N = 17)	Նոպայից դուրս հիվանդների արյան շիճուկ (N = 13)	Նոպայում ՊԲ հիվանդների արյան շիճուկ (N = 14)
ՄԵԱ, մկ.Մ/մլ.	6.7± 0.7	7.6 ± 0.8	7.9 ± 0.85
ՄԵԱ,մկ.Մ/մգ սպիտակուց	0.13 ± 0.03	0.14 ± 0.07	0.15 ± 0.07
ԴԿ, մկ.Մ/մլ.	9.1 0±.9	9.7 ± 0.9	12.0 ±1.2
Սպիտակուց,մգ/մլ.	68.0 ± 6.2	91.0 ± 10.3	97.0 ± 8.2

ԼԳՕ ընթացքում ՄԵԱ-ի և ԴԿ-ի քանակական փոփոխությունները ՊՀ ժամանակ ամփոփված են աղյուսյակ 1-ում: Դրանցից հետևում է, որ արյան շիճուկում ՄԵԱ և ԴԿ-ի քաակությունները ՊԲ հիվանդների դեպքում զգալիորեն մեծ է ստուգիչի համեմատ: Նշված փոխություններն առավել զգալի են հատկապես հիվանդության սրման ժամանակ՝ նոպայի փուլում. Աղյուսակում բերված ԼԳՕ-ի ցուցանիշները կարելի է արտահայտել ստորև բերված շարքերով

ՄԵԱ արյան շիճուկ,ստուգիչ < ՄԵԱարյան շիճուկ,նոպայից դուրս < ՄԵԱարյան շիճուկ,նոպայում

ԴԿ արյան շիճուկ,ստուգիչ < ԴԿ արյան շիճուկ,նոպայից դուրս < ԴԿ արյան շիճուկ,նոպայում:

Ուսումնասիրվել է նաև տարբեր տարիքի մարդկանց արյան շիճուկի ՍՔԼ, ՖՔԼ և ԷՔԼ-ն այնպիսի հիվանդությունների ժամանակ, ինչպիսիք են՝ քրոնիկական պանկրեատիտը (թվով12), պանկրեատիտի սրացված վիճակը (11), չարորակ ուռուցքների առկայությամբ (9), բարորակ ուռուցքների դեպքեր (12), և գործնականորեն առողջ դոնորներ (13) (նկ. 9).



Նկ.9. Մարդու արյան շիճուկի նմուշների ՍՔԼ-ի, ՖՔԼ-ի(Ա) և ՍՔԼ-ի,էՔԼ-ի (Բ) ցուցանիշները նորմայում և ախտաբանական իրավիճակներում.Առանձին սյունակներում ըստ հերթականությամբ՝ քվանտոմետրիկ սարքի ֆոնը (I), ՍՔԼ (2) և ՖՔԼ (3). Առանձին խմբերում՝ 1. դոնարային արյան շիճուկ, 2.քրոնիկական պանկրեոտիտով հիվանդությանշիճուկ, 3.պանկրեատիտի սրացված իրավիճակում արյան շիճուկ, 4.բարորակ ուռոցքով հիվանդի արյան շիճուկ և 5. չարորակ ուռոցքով հիվանդի արյան շիճուկ:

Ցույց տրվեց, որ ֆիզիոլոգիական պայմաններին մոտ ջերմաստիճանում (39^{0}C) առողջ մարդկանց արյան շիճուկի ՍՔԼ-ի, ՖՔԼ-ի և էՔԼ-ի քվանտային ելքը ցածր է համեմատած հիվանդների շիճուկի նույն ցուցանիշների հետ:

ՔԼ անալիզի տվյալների հաստատման նպատակով ուսումնասիրվել են նաև արյան շիճուկի ԼԳՕ-ի վերջնանյութերի և հակաօքսիդանտների որոշ ցուցանիշներ (աղ. 2).

Աղյուսակ 2.

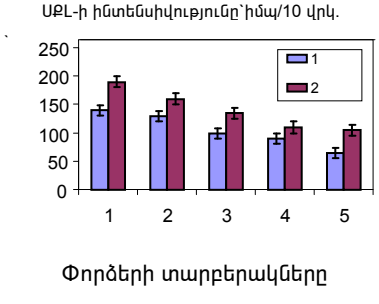
Արան շիճուկի ԼԳՕ-ի ցուցանիշները նորմայում և որոշ ախտաբանական իրավիճակներում (N-Փորձարկված մարդկանց թիվը)

Նմուշները / ԼԳՕ-ի ցուցանիշները	Առողջ մարդկանց արան շիճուկ՝ ստուգիչ N = 15	Քրոնիկ պանկրեոտիտով հիվանդի արյան շիճուկ N = 14	Սրացված պանկրեատիտով հիվանդի արյան շիճուկ N = 12	Չարորակ ռոցքով հիվանդի արյան շիճուկ N = 13
ՄԵԱ,մկՄ/մլ	6.4 ± 0,7	6.9 ± 0,8	7.6 ± 0,4	7.9 ± 0,4
ՄԵԱ,մկՄ/մգ սպիտակուց	0.12 ± 0,02	0.13 ± 0,08	0.13 ± 0,07	0.14 ± 0,04
ԴԿ,մկՄ/մլ	8.9 ± 0,9	9.6 ± 0,9	11.0 ± 1,1	11.4 ± 2,4
α-տոկոֆերոլ	0.15 ± 0,03	0.13 ± 0,08	0.12 ± 0,01	0.12 ± 0,01
ՍՕԴակտ.պայմ.մ.	9.9 ± 1,2	9.1 ± 1,5	8.7 ± 2,4	8.4 ± 1,8
ՍՕԴակտ.պայմ.միավոր/սպիտակուց	0.19 ± 0,03	0.18 ± 0,04	0.17 ± 0,06	0.6 ± 0,08
Սպիտակուց,մգ/մլ	65.0 ± 5,6	87.0 ± 11,3	91.0 ± 4.2	94.0 ± 7,4

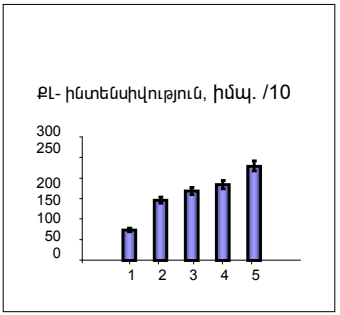
Ինչպես երևում է ախտաբանական իրավիճակներում նկատվում է ԼԳՕ-ի վերջնանյութերի՝ ՄԵԱ-ի և ԴԿ-ի քանակական աճ, նվազում է α-տոկոֆերոլի քանակը, ընկնում է ՍՕԴ-ի ակտիվությունը և աճում է սպիտակուցի քանակը: Այս տվյալները համահունչ են ՔԼ վերլուծության եղանակով ստացված արդյունքներին և լրացնում են միմյանց և ընդգծում են դրանց հավաստիությունը:

Քանի որ բազմաթիվ հիվանդությունների բուժման դեպքերում կիրառվում են հատկապես հակաբորբոքային պրեպարատներ, ուստի այդ տեսանկյունից ուսումնասիրվելէ նաև նման պրեպարատներից մի քանիսի (ռոցեֆին, իբուպրոֆեն, դիկլոֆենակ և պիրօկսիկամ) ազդեցությունը արյան սիճուկի ՍՔԼ-ի վրա 37°C և 42°C պայմաններում (նկ. 10 Ա): Ինչպես երևում է փորձարկվող պրեպարատները ցուցաբերում են տարբեր աստիճանի ՀՕ-ային հատկություն, ինչն անդրադառնում է ՔԼ-ի ինտենսիվության փոփոխության վրա:

Այդ ազդեցությունը չունի ջերմաստիճանային կախվածություն, ինչը վկայում է առկա ազդեցության ընդհանոր մեխանիզմի մասին: Պրոօքսիդանտային բնույթի նյութերի ազդեցությունը՝ իչպիսիք են փոփոխական վալենտականություն ունեցող մետաղների իոնները (Cu^{2+} Fe^{2+} և Fe^{3+}) 10^{-3} Մ վերջնական կոնցենտրացիայով խթանում են ՔԼ-ն (նկ.10, Բ):



Ա

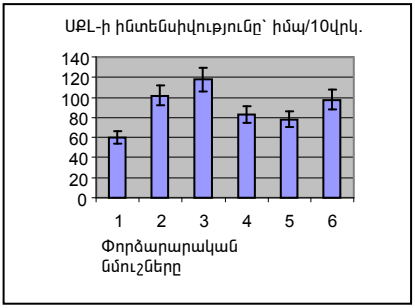


Բ

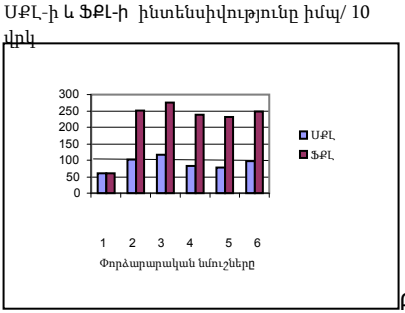
Նկ.10. Ա- Որոշ հակաբորբոքային պրեպարատների ազդեցությունը արյան շիճուկի ՍՔԼ-ի վրա՝ ձախից՝ 37°C և աջից՝ 42°C) ջերմաստիճանային պայմաններում.
1-Առողջ մարդկանց արյան շիճուկի ՍՔԼ-ն (1), ռոցեֆին (2), իբուպրոֆենի (3), պիրոկսիկամի (4) և դիկլոֆենակի (5), 0.01 % Լուծույթների ազդեցությունից հետո:
Բ- Որոշ փոփոխական վալենտականություն ունեցող մետաղ իոնների ազդեցությունը (որպես պրոօքսիդանտներ) արյան շիճուկի ՍՔԼ-ի վրա.
1- Քվանտոմետրիկ սարքի ֆոնը, 2- Ստուգիչ արյան շիճուկ, 3- Cu^{2+}, 4- Fe^{2+} և 5- F^{3+} 10^{-3} Մ կոնցենտրացիայով իոնների առկայության դեպքում;

<u>Ներորովայնային հեղուկի հետազոտումը.</u> Ատենախոսության այս հատվածում ուսումնասիրվել է հետվիրահատական միջորովայնային հեղուկի և արյան շիճուկի ազատ ռադիկալային կարգավիճակը: Որպես փորձարարական նմուշ վերցվել են առողջ և հիվանդ մարդկանց արյան շիճոկը և ներորովայնային տարբեր հեղուկներ (ներորովանային հեղուկը, ստամոքսի պարունակությունը և էնտերոտոքսինը)՝ վերցված անմիջապես վիրահատությունից հետո: Երևում է, որ արյան շիճուկի ՍՔԼ-ի ինտենսիվության միջինացված արժեքները նկատելիորեն ցածր են (գրեթե 25%), վիրահատված հիվանդների արյան շիճուկի ՍՔԼ-ի համեմատ: Ցուց է տրված, որ ՍՔԼ-ի կախվածությունը ջերմաստիճանից բոլոր դեպքերում միևնույն և Q_{10} միջինացված արժեքներ նկած են 1.3-1.7 սահմաններում, ինչը նույնպես

վկայում է ՍՔԼ-ի ֆիզիկաքիմիական բնույթի մասին: Վերլուծելով, կարելի է եզրահանգել, որ ներորովայնային հեղուկներում տարբեր ախտաբանական պրոցեսների ժամանակ նույնպես նկատվում է ԱՌ ռեակցիաների խթանում՝ պայմանավորված ԼԳՕ-ի ռեակցիաների արագացմամբ և առաջացած զանազան տոքսիկ պրոօքսիդանտային բնույթի նյութերի ներթափանցմամբ կենսահեղուկների մեջ (նկ.11, Ա և Բ).



Ա



Բ

Նկ.11. Մարդու աղիների վրա կատարված վիրահատությունից հետո վերցված կենսանմուշների սպոնտան ՍՔԼ-ի ցուցանիշները (Ա) և ՍՔԼ-ՖՔԼ տվյալների համադրումը (Բ).1-քվանտոմետրիկ սարքի ֆոնը, 2-դոնորային արյան շիճուկ (ստուգիչ), 3-հիվանդ մարդկանց արյան շիճուկ (միջինացված տվյալներ), 4-ներորովայնային հեղուկ, 5-ստամոքսի պարունակություն և 6- էնտերոտոքսին

Որպես ԼԳՕ-ի հետ ՍՔԼ-ի և ՖՔԼ-ի կապի ապացույց կարելի է բերել այն զուգահեռականը, որը գոություն ունի ՔԼ-ի լուսարձակման և լիպիդների գերօքսիդացման ռեակցիաների արդյունքում վերջնական նյութերից մեկի՝ ՄԵԱ-ի քանակական փոփոխության միջև: Այս տիպի աշխատանքների նշանակությունը խիստ մեծ կլիներ կլինիկական հետազոտություններում, եթե հնարավոր լիներ ստացված տվյալները դիֆերենցել ըստ կոնկրետ հիվանդության դեպքերի, ինչը, ըստ մեզ, միայն տեխնիկայի և ժամանակի խնդիր է: Այսպիսով միանշանակ պարզ է, որ օրգանիզմի ԱՌ-ային կարգավիճակը ունի լուրջ տեղեկատվական նշանակություն, ինչը կարելի է ուսումնասիրել աշխատանքում առաջարկված մեթոդներով:

<u>ԵԼԹ-ների մոդիֆիկացման հնարավորությունը կենսահեղուկների միջոցով.</u> ԵԼԹ-ի որոշ էլեկտրական չափանիշներ բնորոշվում են այդ կառույցները ձևավորող

լիպիդների ֆիզիկաքիմիական հատկություններով, դրանց ՃԹ-ային բաղադրությամբ և ԵԼԹ ողողող միջավայրում առկա այլ քիմիական նյութերի առկայությամբ: Միանշանակ ցույց է տրված այդ չափանիշների կախվածությունը նաև լիպիդների ԱՌ-ային օքսիդացման աստիճանից, ինչը և վերջին հաշվով արտացոլվում է ԼԳՕ-ի և ՔԼ-ի պրոցեսների վրա: Օգտագործելով արհեստական ԵԼԹ-ների մի շարք ֆիզիկաքիմիական հատկությունները և մեթոդական հնարավորությունները կարելի է ուսումնասիրել և թեստավորել տարբեր բժշկակենսաբանական նմուշների և ակտիվ նյութերի որոշակի հատկությունները: ԵԼԹ-ների էլեկտրական հատկությունների վրա կենսահեղուկների ունեցած ազդեցությունը՝ վերջիններիս բնութագրման և պարզաբանման տեսակետից, կատարվել է ըստ Մյուլլերի մեթոդի (Mueller et al., 1962): Ֆոսֆոլիպիդներից ԵԼԹ ձևավորվել է երկու տարբերակներով՝ սովորական ԵԼԹ և ԵԼԹ մոդիֆիկացնող դասական անցքուղիներ առաջացնող նիստատինի առկայությամբ (աղ. 3).

Աղյուսակ 3.

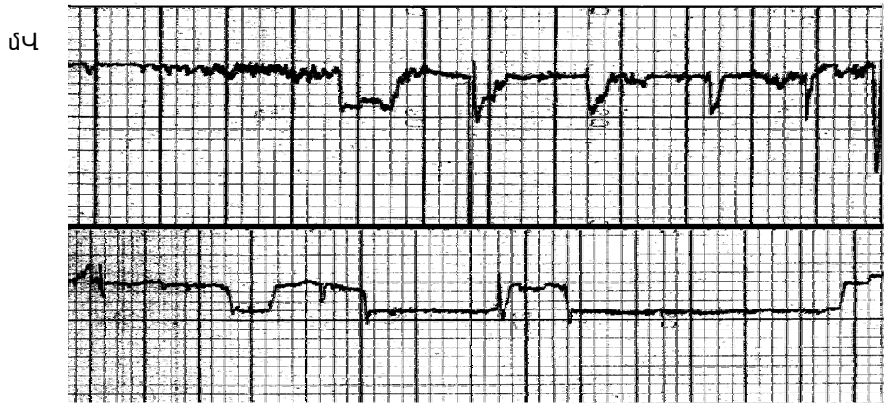
Կենսահեղուկների ազդեցությունը ԵԼԹ էլեկտրական չափորոշիչների վրա

Ցուցանիշ-ները / Կենսա-նմուշները	R_m՝ Օհմ ^{2} (առանց նիստատինի)	Խզման պոտենց.՝՝մՎ (առանց նիստատինի)	R_m՝ Օհմ ^{2} (նիստատինի առկայությամբ)	Խզման պոտենց.՝՝մՎ (նիստատինի առկայությամբ)
Արան շիճուկ՝ ստուգիչ	$5,2 \pm 1,5.10^{10}$	329 ± 31	$5,2 \pm 1,1.10^{10}$	310 ± 28
ՊՀ հիվանդի արյան շիճուկ	$5,3 \pm 1,7.10^{10}$	366 ± 35	$2,5 \pm 1,4.10^{7}$	345 ± 33
Ներվորովայ-նային հեղուկ	$4,4 \pm 2,6.10^{10}$	355 ± 37	$5,6 \pm 2,2.10^{6}$	340 ± 34
Ստամոքսի հեղուկ	$3 \pm 1.9.10^{10}$	238 ± 31	$5 \pm 1,9.10^{8}$	220 ± 23
Էնտերոտոքսին	$4 \pm .1,8.10^{11}$	244 ± 27	$8,4 \pm 3,6.10^{9}$	230 ± 23

Բերված արդյունքներից երևում է աղյուսակից, գրեթե բոլոր փորձարկվող նմուշները ազդում են թե ԵԼԹ-ի դիմադրության և խզման պոտենցիալի վրա՝ հիմնականում ցուցանիշների նվազման ուղղությամբ:

Դա կարող է պայմանավորված լինել մի կողմից նմուշի լիպիդային կազմի փոփոխությամբ (ինչը կարող է հիմնավորվել ՔԼ վերլուծության տվյալներով) և մյուս կողմից նմուշներում առկա նոր քիմիական բաղադրամասերի առաջացմամբ՝ դրանց գումարային լիցքերի վերափոխումով: Մեր կարծիքով հետաքրքրություն են ներկայացնում աղյուսակում բերված այն տվյալները, որոնք վերաբերվում են նիստատինով մոդիֆիկացված ԵԼԹ-ի հետ կատարված փորձերին,երբ ԵԼԹ-ի վրա կային ևավրված անցուղինեւ:

Ստորև բերված է նիստատինի առկայությամբ ՊՀ արյան շիճուկով մոդիֆիկացված ԵԼԹ-ի հատկությունների գրանցման գծապատկերը (նկ.12).



Նկ.12. ԵԼԹ-ի մոդիֆիկացումը ՊՀ հիվանդի արյան շիճուկով (վերևում) և առողջ մարդու արյան շիճուկ (ներքևում)

Այս դեպքում ԵԼԹ-ները կարծես թե դառնում են ավելի «զգայուն», հեշտությամբ փոխազդվող: Դրան նպաստում են նիստատինից առաջացած անցքուղիները, որոնք բացի իոնների փոխադրումը հեշտացնելուց հավանաբար ձեվափոխում են նաև ԵԼԹ-ի ֆիզիկական վիճակը՝ «փխրեցնելով» դրանց: Ինչպես երևում է, վերին և ներքևի կորերի միջև նկատելի է որոշակի տարբերություն:

Ասպիսով ՔԼ-ի վերլուծության ցուցանիշները, ԼԳՕ-ի վերջնական նյութերի և ԵԼԹ-ների տվյալները կենսահեղուկների ուսումնասիրման վերաբերյալ արտացոլում են օրգանիզմի ախտաբանական վիճակը: Այդ փոխությունները զգալի են հատկապես հիվանդությունների սրման ժամանակ: Հակաբորբոքային պրեպարատները(ռոցեֆին, իբուպրոֆեն, դիկլոֆենակ և պիրոկսիկամ) ճնշում են ազատ ռադիկալային ռեակցիաները, իսկ պրոօքսիդանտային բնույթի նյութեր՝ (Cu^{2+} Fe^{2+} և F^{3+}) խթանվում են այդ պրոցեսները:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1 Մշակվել և ուսումնասիրվել է նոր մոդելային համակարգերի հնարավոր կիրառելիությունը արյան շիճուկի քիմլյումինեսցենցման խթանման նպատակով, որի համար օգտագործվել է նոնանի կամ դիմեթիլֆորմամիդի (ԴՄՖԱ) խառնուրդը օլեինաթթվի հետ: ՔԼ վերլուծության հետազոտությունները կատարվել են համակարգչային ծրագրավորման միջոցով՝ հիմնված NATIONAL INSTRUMENTS ֆիրմայի կողմից մշակված LabVIEW միջավայրի վրա:

2. Առողջ և ՊՀ հիվանդների արյան շիճուկի և մեր կողմից կիրառվող մոդելային համակարգերի ՔԼ-ի լուսաճառագայթումն ընկած է էլեկտրամագնիսական սպեկտրի տեսանելի տիրույթում (400-700 նմ)՝ 40-80 կկալ/մոլ էներգիայի ելքով: Հիվանդների արյան շիճուկի ՍՔԼ-ի, ՖՔԼ-ի, էՔԼ-ի լուսարձակման ինտենսիվությունը և ԼԳՕ-ի ցուցանիշները (ՄԵԱ և ԴԿ) անհամեմատ բարձր են ստուգիչի համեմատ:

3. Արան շիճուկի ՔԼ-ի և ԼԳՕ-ի ցուցանիշների աճը որոշ ախտաբանական իրավիճակներում նորմայի նկատմամբ պայմանավորված է օրգանիզմում ԱՌ մեխանիզմով ընթացող ԼԳՕ-ի ռեակցիաների ակտիվացմամբ և հակաօքսիդանտների ծախսի մեծացմամբ:

4. Հետվիրահատության ժամանակ որոշ ներվորովայնային հեղուկներում (ներվորվանային հեղուկ, ստամոքսի պարունակություն և էնտերոտօքսին) նունպես նկատվում է ՍՔԼ-ի լուսարձակում, ինչը տարբեր է առանձին վերցրած նմուշների նկատմամբ: Այս դեպքում նույպես նկատվում է արյան շիճուկի ՔԼ-ի ինտենսիվության աճ:

5 Որոշ հակաբորբոքային պրեպարատներ (ռոցեֆին, իբուպրոֆեն, պիրոկսիկամ և դիկլոֆենակ) ինչպես նաև α- տոկոֆերոլը ճնշում են ՔԼ-ի ինտենսիվություն, իսկ պրոօքսիդանտները (Cu^{2+}, Fe^{2+} և Fe^{3+}) խթանում են ԱՌ պրոցեսներ,ինչը ուղեկցվում է ՔԼ-ի լուսարձակման աճով:

6. Փորձարկվող նմուշներն ազդում են ԵԼԹ դիդիմադրության և խզման պոտենցիալի վրա այդ ցուցանիշների նվազման ուղղությամբ: Նիստատինով մոդիֆիկացված ԵԼԹ-ների փոխազդեցությունը կենսանմուշների հետ հեշտացված է՝ ԵԼԹ-ներն ավելի հեշտությամբ են փոխազդվում նիստատինի կողմից առաջացած անցքուղիների հաշվին:

7. Փորձարկված մոդելային համակարգերը ադեկվատորեն արտացոլում են կենսահամակարգերի ՔԼ-ի պրոցեսը, հանդիսանում են որպես ուժեղացուցիչներ, ինչը իր հերթին հնարավորություն է տալիս գիտափորձերին օգտագործել առավել քիչ քանակի հետազոտվող կենսաբանական նմուշներ:

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅԱՆ ԹԵՄԱՅՈՎ ՀՐԱՏԱՐԱԿՎԵԼ ԵՆ ՀԵՏԵՎՅԱԼ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐԸ

1. Закарян А.Е., Саркисян Н.А., Геворкян А.А., Закарян З.А. Действое противоопухолевых препаратов на ПОЛ и активность пероксидазы и СОД. Актуальные вопросы теоретической и клинической медицины 2002, вып. 4, с.106-109
2. Закарян А.Е., Тунян М.Ю., Погосян Г.А., Закарян З.А., Лалаян К.В. Спонтанная хемилюминесценция слюны здоровых людей. Вестник хирургии Армении, 2003, № 2, с. 151-155.
3. Закарян А.Е., Саркисян Н.А., Закарян З.А. Действие ряда противоопухолевых препаратов на электрические параметры бислойных липидных мембран. Мед. наука Армении, 2003, 43, N1, с. 35-38.
4. Uzankichyan A., Asatryan A., Zakaryan A., Poghosyan G., Zakaryan Z. Superoxidation syndrome in patients with postoperative peritonitis complicated with enteric insufficiency. J. Exp. Clin. Medicine 2009, 9, 66-71.
5. Узункичян А.А, Мириджанян М.М. Асатрян А.Р.,Закарян А.Е, Погосян Г.А., Закарян З.А. Особенности перекисного окисления липидов у больных с послеоперационным перетонитом, осложненным синдромом энтериальной недостаточности. Мед. вестник Эребуни 2009, 4(40), 43-46.
6. Узункичян А.А, Мириджанян М.М. Асатрян А.Р.,Закарян А.Е, Погосян Г.А., Закарян З.А. Липидная пероксидация при синдром энтеральной недостаточности у больных с послеоперационным перитонитом. Научно-мед. ж. 2009, 4, 29-36.

7. Закарян З.А. Изучение хемилюминесценциисыворотки крови больных ·ческой болезнью. Ученые записки ЕГУ,Химия и биология, 2012, 2, 46-49.
8. Закарян А.Е., Закарян З.А., Трчунян А.А. Различные методы хемилюменесцентного анализа в оценке уровня свободнорадикального перекисного окисления липопротеинов сыворотки крови человека при развитиипатологиеских процессов организме. Докл. НАН Армении 2012, 112, 79-86.
9. Закарян З.А., Закарян А.Е., Трчунян А.А. Хемилюменесценция и свободнорадикальное перекисное окисление липидов сыворотки крови больных периодической болезнью. Биолог. ж. Армении 2012, 64, 60-65.

Закарян Зара

РЕЗЮМЕ

Ключевые слова: хемилюминесценция, антиоксиданты, бислойные мембраны, малоновый диальдегид, свободный радикал, фотоэлектронный умножитель.

Процессы свободнорадикального окисления липидов играют большую роль в нормальной жизнедеятельности организма. Под влиянием различных физических и химических факторов происходит нарушение равновесия между свободнорадикальными окислительными процессами и системой антиоксидантной защиты организма. В ходе таких исследований можно получить качественную и количественную информацию о характере и механизмах взаимодействия различных препаратов с биологическими структурами и провести их экспресс-тестирование по антиоксидантным и прооксидантным показателям, что очень актуально при применении этих препаратов в клинике.

Представленные в работе экспериментальные данные получены с применением различных методов. Применялись разные методы хемилюминесцентного анализа (модельные системы анализа ХЛ, ЭХЛ, СХЛ), метод фиксации напряжения, методы определения продуктов ПОЛ и другие физикохимические исследования. Для исследования ХЛ использовалась разработанная в нашей лаборатории компьютерная программа автоматической регистрации параметров хемилюминесценции (ХЛ) с одновременной статистической обработкой данных, основанная на среде LabVIEW (NATIONAL INSTRUMENTS, США).

Было разработано и исследовано возможное применение новых модельных систем в стимулировании хемилюминесценции сыворотки крови. Для этого использовали смесь нонана или диметилформамида с олеиновой кислотой. Эти модельные системы отражают

ХЛ биосистем. Было показано, что СХЛ сыворотки крови (здоровых и больных БП) и применяемых модельных систем находится в видимой области электромагнитного спектра (400-700 нм) с выходом энергии 40-80 ккал/моль. Рост показателей ХЛ и ПОЛ сыворотки крови при ряде патологий обусловлен усилением интенсижность реакций ПОЛ и ростом потребления антиоксидантов. В постоперационный период во внутриполостных жидкостях также наблюдается СХЛ. В после опериационном периоде во внутрибрюшинных жидкостях (внутрибрюшинная жидкость, содержимое желудка и энтеротоксин) также наблюдается снижение СХЛ.

При исследовании сыворотки крови показатели анализа ХЛ отражают физиологическое состояние организма, т.е. показатели ХЛ анализа сыворотки крови в целом могут отображать патологическое состояния организма. Эти изменения ощутимы при обострении ряда заболеваний. Некоторые противовоспалительные препараты (рофецин, ибупрофен, диклофенак и пироксикам) подавляют свободнорадикальные реакции, а соединения прооксидантного характера (Cu^{2+}, Fe^{2+} и Fe^{3+}) стимулируют эти процессы. Используемые образцы влияют на сопротивление и потенциал разрыва БЛМ. Модификация БЛМ нистатином облегчает их взаимодействие с биообразцами, т. к. БЛМ становятся более чувствительными благодаря каналам, образуемым нистатином.

Полученные экспериментальные результаты позволяют рассматривать эти данные и эффекты как ключевое звено для изучения и глубокого понимания механизмов воздействия различных фармакологических препаратов на организм.

Zakaryan Zara

SUMMARY

Keywords: chemiluminescence (CL), antioxidants, bi-layer membrane, malon-dialdehyde, free radical, photomultiplier.

The processes of free radical oxidation of lipids play crucial role in normal vital activity of organism. Under the influence of various physical and chemical factors the balance between free radical oxidation processes and systems of antioxidant defense on organism is disrupted. Based on such investigations qualitative and quantitative information can be obtained concerning the character and mechanism of interactions for various drugs with biological

structures and conduct express testing on antioxidant and pro-oxidant parameters that are very important when the drugs are applied in clinic.

Presented experimental data was obtained using different methods and approaches. Various methods of CL analysis were applied. The data was obtained using computer program for automated registration of CL parameters developed in the same laboratory that simultaneously conducts statistical analysis of the data. The program is constructed in LabVIEW (NATIONAL INSTRUMENTS, USA) environment.

In this research new model systems and potential applications were developed and investigated in order to boost blood serum CL using nonane or dimethylformamide (DMFA) mixture with oleinic acid. Those experimental model systems adequately express CL processes of biological systems. They can be used as guiding methods, allowing decreasing the number of biological tests.

We discovered that healthy and periodic disease patients blood serum and the applied model system spontaneous CL irradiation are in the visible range of spectra (400-700 nm) with 40-80 kcal/mol energy outcome. The increase of CL and lipid peroxidation parameters in some pathological cases in comparison with normal conditions are due to activation of POL reactions and increase in antioxidant usage that happen with free radicals mechanism. During post operational period in some intestinal liquids (stomach liquid and enterotoxin) are also noticeable spontaneous CL.

The CL analysis parameters of blood serum correspond to pathological conditions of organism. The alternations are significantly noticeable when diseases are in their picks. Some anti-inflammatory drugs (rocefine, ibuprofen, diclofenac and prioxicam) suppress free radical reactions. While the pro-oxidants manner substances (Cu^{2+} Fe^{2+} ¨ F^{3+}) enhance those processes, as CL resonant circles. The tested samples affect bi-layer resistance and rupture potential in adverse manner. The interaction of bio-samples and nistatine modified bi-layer is simplified. Apparently, the bi-layer becomes more “sensitive” due to nistatine formed channels.

Obtained experimental results allow considering these observations and effects as key stones for research and more in detail understanding of mechanisms of effects of various pharmacological drugs and substances on organism.