

ԵՐԵՎԱՆԻ Մ. ՀԵՐԱՑՈՒ ԱՆՎԱՆ ՊԵՏԱԿԱՆ ԲԺՇԿԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԱՖՐԻԿՅԱՆ ՇՈՒՇԱՆԻԿ ԳԵՎՈՐԳԻ

ՆՈՈՊԵՊՏԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՂԵՂԱՑԻՆ ԱՐՅԱՆ ՇՐՋԱՆԱՌՈՒԹՅԱՆ ԵՎ
ԻՇԵՄԻԿ ԽԱՆԳԱՐՈՒՄՆԵՐԻ ՀԵՏԵՎԱՆՔՈՎ ԶԱՐԳԱՑՈՂ ՎԱՐՔԱՅԻՆ
ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎՐԱ

ԺԵ.00.01 – «Դեղագիտություն» մասնագիտությամբ
դեղագործական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

Ս Ե Ղ Մ Ա Գ Ի Ր

Երևան 2015

ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М. ГЕРАЦИ

АФРИКЯН ШУШАНИК ГЕВОРКОВНА

ВЛИЯНИЕ НООПЕПТА НА ЦЕРЕБРАЛЬНУЮ ГЕМОДИНАМИКУ И
НЕЙРОПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ИШЕМИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ
МОЗГА

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук
по специальности 15.00.01 «Фармацевтика»

Ереван 2015

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի Մ. Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանում:

Գիտական ղեկավար՝	դեղագործական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Մ.Գ. Բալասանյան
Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝	բժշկական գիտությունների դոկտոր պրոֆեսոր Է.Ս. Սեկոյան կենսաբանական գիտությունների դոկտոր պրոֆեսոր Հ.Ա. Հասրաթյան
Առաջատար կազմակերպություն՝	ՀՀ ԱՆ Դեղերի և բժշկական տեխնոլոգիաների փորձագիտական կենտրոն

Ատենախոսության պաշտպանությունը կայանալու է 2015թ. նոյեմբերի 12-ին, ժամը 15⁰⁰ Երևանի Մ. Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈՂ-ի 026 «Տեսական բժշկություն» մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, 0025, ք. Երևան, Կոռյունի փող. 2):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ԵՊԲՀ-ի գրադարանում:

Սեղմագիրն առաքված է 2015թ. հոկտեմբերի 12-ին:

Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար՝	կենսաբանական գիտությունների դոկտոր պրոֆեսոր, Ա.Ս. Տեր-Մարկոսյան
--	--

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном медицинском университете им. М. Гераци.

Научный руководитель:	доктор фармацевтических наук, профессор М.Г. Баласанян
-----------------------	---

Официальные оппоненты:	доктор медицинских наук, профессор Э.С. Секоян доктор биологических наук, профессор А.А. Асратян
------------------------	---

Ведущая организация:	Научный центр экспертизы лекарств и медицинских технологий МЗ РА
----------------------	---

Защита диссертации состоится 12 ноября 2015 г. в 15⁰⁰, на заседании специализированного совета 026 «Теоретическая медицина» ВАК РА при Ереванском государственном медицинском университете им. М. Гераци. (РА, 0025, г. Ереван, ул. Корюна 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ЕГМУ

Автореферат разослан 12 октября 2015г.

Ученый секретарь специализированного совета	доктор биологических наук профессор, А.С. Тер-Маркосян
--	---

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Разработка средств профилактики и фармакологической коррекции нарушений мозгового кровообращения и развиваемых при этом патологических последствий, является важной задачей современной медицины в связи со значительной распространенностью церебрального инсульта, высоким процентом смертности и инвалидизации населения при этом заболевании (Мельникова Е.В., 2007; Sacco R. L. et al, 2013; WHO Global Infobase 2015). Эпидемиологические исследования последних лет показали, что среди всех видов инсультов доминируют ишемические поражения мозга, доля которых, по данным различных международных мультицентровых исследований достигает 87% (Alan S.Go et al., 2013).

Изучение тонких механизмов, лежащих в основе развития ишемических нарушений с участием кальций-глутаматной нейротоксичности, глутаматных транспортных белков и рецепторов (Fisher M. and Schaebitz W., 2000; Onwuekwe I.O., 2012; Lai T.W. et al, 2014), ГАМК-глутаматного дисбаланса, ферментов, ответственных за генерацию супероксид радикала и других реактивных форм кислорода (Seth Love, 1999; Manzanero S. et al., 2013), каспаза-3 и т.д. (Yakovlev A.G. and Faden A.I., 2004), предопределили основные подходы в терапии ишемических нарушений мозга с применением блокаторов кальциевых каналов, NMDA рецепторов, ГАМК-ергических средств, сквенджеров свободных радикалов, антиоксидантов (Woodruff T.M. et al., 2011; Terasaki Y. et al., 2014), направленные на восстановление и поддержание на необходимом уровне адекватного кровоснабжения мозговой ткани (Arshad M., 2014), уменьшение объема зоны инфаркта, а также коррекцию психоневрологических последствий локально-ишемических поражений мозга (Zhang L. et al., 2012).

Несмотря на довольно обширный арсенал исследованных за последние десятилетия соединений, выбор средств, применяемых для лечения и профилактики ишемических нарушений, продолжает оставаться ограниченным (Ginsberg M.D., 2009; Sandercock P. et al., 2002; Hinkle J.L. and Bowman L., 2003; Kaur H. et al, 2013), в связи с отсутствием окончательно доказанной клинической эффективности апробированных соединений (Gladstone J.D. et al., 2002; Philip M. et. al, 2009; Kahle M.P. and Bix G.J., 2012; Minnerup J. et al., 2012).

В последнее время значительно возрос интерес к эндогенным пептидам и их аналогам в качестве потенциальных терапевтических средств. Предпосылкой для изучения возможности применения нейропептидов при нейродегенеративных заболеваниях и повреждениях мозга различного генеза, включая ишемические нарушения мозга, послужила их ключевая роль в регуляции функций центральной нервной системы (Hökfelt T. et al., 2003; McGonigle P., 2012). Физиологическая активность нейропептидов довольно разнонаправлена, поскольку в виду наличия в структуре этих соединений нескольких лигандных групп связывания для них характерна афинность к различным специфическим рецепторам (Гусев Е.И., Скворцова В.И., 2001). Более того, нейропептидам свойственна биотрансформация с образованием родственных организму нетоксичных метаболитов, нередко обладающих собственной биологической активностью. Многообразие активируемых пептидами рецепторов, а также каскадных механизмов, послужили

предпосылкой для создания на их основе препаратов, применяемых в терапии различных нарушений ЦНС, в том числе и ишемических повреждений (McGonigle, 2012; Cervia, 2013).

Однако эндогенным пептидам и их аналогам присущ ряд недостатков, ограничивающих их применение в клинике (D. Hoyer, T. Bartfai, 2012). Во-первых, большинство из них имеют короткую продолжительность действия (от нескольких минут, до нескольких часов) вследствие энзиматического расщепления как специфическими, так и неспецифическими пептидазами (Kimmerlin T. and Seebach D., 2004). Во-вторых, полипептиды обладают низкой биодоступностью при пероральном применении и плохо проникают через гемато-энцефалический барьер (D. Wu, 2005). Более того, эндогенные нейропептиды и их аналоги, взаимодействуя на различных подтипы рецепторов как в ЦНС, так и периферии, могут приводить к развитию нежелательных побочных эффектов.

В свете вышеизложенного, в последнее время все большую значимость в качестве эффективных потенциальных нейропротекторов приобретают короткие ди- и три-пептиды, имитирующие концевые остатки эндогенных полипептидов: вазопресина, АКТГ, ТРГ, ИФР-1 и т.д., (Rajanikant G.K. et al., 2007; Manaeko A. et al., 2011; Hori M. et al., 2012), содержащие циклические аминокислоты пролин и пироглутаминовую кислоту, а также глицин (Samonina G., et al, 2002). Последние, наряду со свойственной для пептидов способностью метаболизироваться с образованием соединений нередко обладающих собственной фармакологической активностью, в отличие от своих более длинных аналогов характеризуются высокой биодоступностью, так как не подвергаются действию неспецифических пептидаз и хорошо проникают через ГЭБ (Guan J. and Gluckman P., 2009).

Вышеизложенное послужило основой для исследования нейропротекторной способности созданного в НИИ Фармакологии РАМН на основе дизайна коротких пептидов ноотропного препарата—ноопепта (этиловый эфир N-фенацетил-L-пролилглицина). (Островская Р.У. и соавт., 2002).

Цель и задачи исследования. Целью исследования явилось изучение влияния ноопепта на церебральную гемодинамику и его способности устранять нейроповеденческие последствия локально ишемических нарушений мозга. Поставленная цель была достигнута исследованием влияния ноопепта на:

- локальный мозговой кровоток в условиях односторонней перевязки общей сонной артерии (ОПСА),
- микроциркуляторное русло коры головного мозга при нарушениях церебральной гемодинамики, вызванных ОПСА,
- системное артериальное давление и ЧСС экспериментальных животных,
- процессы обучения и памяти при локально ишемических нарушениях мозга,
- изменения поведенческих реакций животных, вызванных окклюзией средней мозговой артерии,
- уровень липофусцина в ишемизированной мозговой ткани крыс,
- морфологические сдвиги в мозговой ткани, вызванные локальной ишемией.

Научная новизна. Выявлена способность ноопепта стимулировать нарушенное в условиях ишемии кровоснабжение мозга, путем усиления локального мозгового кровотока и улучшения состояния микроциркуляторного русла коры головного мозга, без значимых изменений со стороны системного артериального давления и частоты сердечных сокращений у экспериментальных животных.

Установлено, что введение ноопепта на фоне локально ишемических поражений мозга, устраняет нарушения памяти и процессов обучения, а также развитие тревожности, подавление локомоторной активности и координации животных, вызванных окклюзией средней мозговой артерии.

Раскрыт один из возможных механизмов нейропротекторного действия ноопепта, обусловленный способностью препарата предотвращать свойственное ишемии избыточное накопление липофусцина как в поврежденном, так и интактном полушариях головного мозга ишемизированных животных.

Научно-практическая значимость. Полученные данные относительно способности ноопепта устранять нарушения кровоснабжения мозга и улучшать микроциркуляцию в условиях ишемических поражений, открывают перспективы для разработки препарата в качестве нового средства коррекции нарушений мозгового кровообращения.

Доказанная в эксперименте эффективность ноопепта в устранении тревожности и нарушений координации, повышении общей двигательной активности и улучшении памяти животных, вызванных ишемическими нарушениями мозга, позволяют рекомендовать препарат как средства для устранения психоневрологических последствий ишемического инсульта.

Апробация материалов диссертации. Результаты работы докладывались на международном конгрессе “Международный конгресс молодых ученых” (Ереван, 2010г.), пятой международной научно-практической конференции “Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине (Санкт-Петербург, 2013г.), ежегодной отчетной научной конференции ЕГМУ (2013г). Апробация диссертации состоялась на научно-координационном совете ЕГМУ им М. Гераци (протокол заседания N4, от 01.07.2015 г).

Публикация работ. Полученные результаты отражены в 5 публикациях отечественных и зарубежных журналов и материалов конференций.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 134 страницах машинописного текста, включает 30 рисунков и 9 таблиц. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 207 источников.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленных задач были использованы методы, позволяющие оценить изменения величины мозгового кровотока, состояние микроциркуляторного русла и морфологический статус мозга крыс, количественное содержание липофусцина в мозговой ткани, а так же память и поведение животных. В связи с этим, было осуществлено:

- **моделирование нарушения мозгового кровообращения**, вызванного перманентной окклюзией правой общей сонной артерии (ОПСА) в условиях нембуталового наркоза (45 мг/кг, в/б),
- **моделирование локальной ишемии вызванной окклюзией средней мозговой артерии (ОСМА)** по A.Tamura et al. (1981), в модификации А.В. Топчяна и соавторов (1997 г) в условиях хлоралгидратного наркоза (400 мг/кг, в/б),

- **исследование локального мозгового кровотока крыс методом лазерной доплеровской флоуметрии** в теменной области коры головного мозга животных с помощью двухканального лазерного доплеровского флоуметра фирмы “Transonic System, Inc.” (США) BLF-21,
- **измерение системного артериального давления неинвазивным методом «tail-cuff»** у бодрствующих крыс в хвостовой артерии при помощи аппарата LE5001, регистрирующего также среднее артериальное давление и частоту сердечных сокращений,
- **изучение процессов обучения и формирования памяти** в тесте условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ),
- **исследование тревожности, двигательной активности и координации животных** в тестах “Открытое поле” (ОП), “Приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ) и “Вращающийся стержень”,
- **количественное определение липофусцина в мозговой ткани крыс** флуоресцентным методом на спектрофотометре MF-2A, Hitachi, Ltd. Tokyo, Japan, при возбуждающей длине волны 365 нм и излучаемой длине волны 470 нм,
- **исследование морфофункционального состояния микроциркуляторного русла головного мозга крыс** безинъекционным кальций-аденозинтрифосфатным методом А. М. Чилингаряна (1977) с измерением диаметра капилляров при помощи микрометра-МОВ-I-15^х и программы DeltaPix Insight,
- **морфологическое исследование головного мозга крыс** окрашиванием толлуидиновым синим по методу Ниссля (Демченко В.В., Артемьев В.Н., 2006).

Все эксперименты проведены на 174 белых беспородных половозрелых крысах массой 180-230 г. Животные содержались в стандартных условиях лабораторного вивария, при свободном доступе к пище и воде. Маркировка, инъекции и другие необходимые манипуляции проводились при соблюдении принятых международных стандартов по обращению с животными («The PHS Guide for the Care and Use of Laboratory Animals»). Экспериментальной группе животных внутрибрюшинно вводили ноопепт в дозах 0,5 мг/кг, 1 мг/кг и 2 мг/кг. Во всех экспериментах контрольную группу представляли животные, получавшие изотонический раствор хлорида натрия.

В исследованиях были использованы следующие вещества высокой степени очистки: ноопепт, синтезированный в НИИ Фармакологии РАМН, хлоралгидрат, нембутал («Sigma Aldrich», Germany), указанные вещества растворяли в 0,9% растворе хлорида натрия производства «Ликвор» Армения.

Данные приведены в виде $M \pm SD$ или $M \pm \sigma_m$. Достоверность различий выборок с нормальным распределением оценивалась по параметрическому t-критерию (Стьюдента), при принятом уровне значимости 5% (двухсторонний тест), для выборок с равными или неравными дисперсиями (равенство дисперсий вычислялось по критерию Фишера). Для сравнения двух зависимых выборок (с попарно связанными вариантами) использовали парный двухвыборочный t-тест для средних значений (Фисенко Ф.П. и соавт., 2000). Для выборок с ненормальным распределением достоверность отличий рассчитывалась по непараметрическим критериям (критерий Манна-Уитни, критерий Вилкоксона). Расчеты проводились при помощи программ IBM SPSS Statistic 20 и Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Влияние ноопепта на кровоснабжение мозга

Оценка влияния ноопепта на локальный мозговой кровоток (ЛМК) в условиях нарушения кровоснабжения мозга. При исследовании влияния ноопепта на ЛМК в условиях его нарушения, было установлено, что односторонняя перевязка правой общей сонной артерии сопровождается статистически достоверным уменьшением величины мозгового кровотока ипсилатерального полушария, который к 30-ой минуте после окклюзии оказывается на $24,02 \pm 1,32\%$ ниже исходного значения. Как показали результаты проведенных исследований, внутривенное введение ноопепта в дозе 1 мг/кг, на фоне пониженного мозгового кровотока сопровождалось увеличением ЛМК, максимальное значение которого было зарегистрировано к 60-ой минуте введения препарата, составляя $23,68\% \pm 2,45$ ($p < 0,05$) по сравнению с перевязкой. Восстановленный почти до исходного уровня ($98,6 \pm 3,17\%$) кровоток стабильно сохранялся вплоть до 90-ой минуты после введения препарата (рис. 1.).

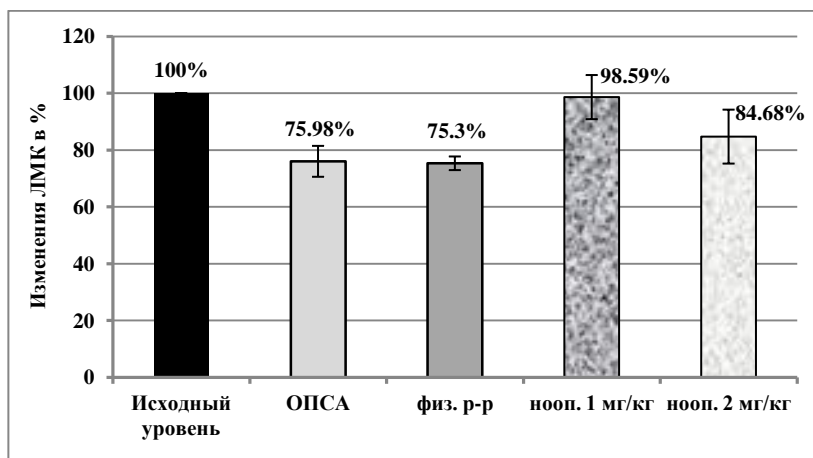


Рис. 1. Влияние ноопепта в дозе 1 мг/кг и 2 мг/кг на ЛМК в условиях окклюзии правой общей сонной артерии (в % от исходного значения, $M \pm \sigma_m$) ($n=17$)

При увеличении дозы ноопепта до 2 мг/кг на фоне сниженного в условиях перевязки на $26,54\% \pm 2,06$ ЛМК, оказалось, что мозговой кровоток увеличивается лишь на $17,07 \pm 2,57\%$ к 70-ой минуте, после чего отмечалась тенденция к понижению величины МК, изменения которого к 90-ой минуте составили $15,06 \pm 2,97\%$ ($p < 0,05$). Следует отметить, что изменения мозгового кровотока после введения ноопепта как в дозе 1 мг/кг, так и 2 мг/кг достоверно отличались от данных контрольной группы, животным которой, после перманентной окклюзии правой общей сонной артерии на фоне сниженного на $26,18 \pm 0,93\%$ кровотока, вводился в/б изотонический раствор хлорида натрия.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о способности ноопепта в дозе 1 мг/кг восстанавливать нарушенный в условиях циркуляторной ишемии церебральный кровоток. При этом эффективность препарата с увеличением дозы до 2 мг/кг не

только не увеличивалась, но и оказалась менее выраженной. Полученные результаты согласуются с литературными данными относительно куполообразной зависимости доза-эффект в диапазоне антиамнестических и анксиолитических доз ноопепта от 0,5-1,2 мг/кг до 10 мг/кг.

Исследование влияния ноопепта на системное артериальное давление и ЧСС. Принимая во внимание важность влияния соединений на системное артериальное давление при оценке эффективности вазоактивных препаратов, в следующей серии экспериментов проводилась регистрация систолического и диастолического давления и частоты сердечных сокращений у бодрствующих крыс (n=15) в течении 90 минут после однократного введения ноопепта в дозе 1 мг/кг. Мониторинг как систолического и диастолического давлений, так и частоты сердечных сокращений показал, что незначительные колебания указанных параметров на протяжении всего времени регистрации носили недостоверный характер.

Таблица 1. Влияние ноопепта в дозе 1 мг/кг на динамику изменений систолического и диастолического давлений и частоту сердечных сокращений (n=6) ($M \pm \sigma$)

Исследуемый параметр	Исх. уровень	Время (мин) после введения ноопепта в дозе 1 мг/кг			
		30	50	70	90
		САД	108,2±2,0	111,9±1,3 [#]	110,8±1,5 [#]
ДАД	68,5±5,5	72,6±7,5 [#]	70,3±7,7 [#]	67,4±6,3 [#]	72,05±4,4 [#]
ЧСС	347,2±17,2	344,1±41,7 [#]	319,4±17,1 [#]	310,5±21,1 [#]	315,0±12,9 [#]

#- $p > 0,05$ по сравнению с исходным уровнем,

САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, ЧСС – частота сердечных сокращений

Влияние ноопепта на морфофункциональное состояние капиллярной системы головного мозга крыс. Морфометрическое исследование влияния ноопепта на капилляры полушарий коры головного мозга крыс проводилось в трех группах животных. Крысам экспериментальной группы (n=9), через 30 мин после ОПСА, в/б вводили ноопепт в дозе 1 мг/кг и подвергали декапитации через 60 минут после введения препарата. Животным контрольной группы (n=9) через 30 минут после ОПСА вводился 0,9%раствор хлорида натрия. Срезы коры головного мозга интактных животных (n=8) использовались для сравнения полученных данных.

Результаты исследований показали, что большинство капилляров (89,3%) коры головного мозга интактных животных находится в функционально активном состоянии (рис. 2), а их средний диаметр колеблется в пределах 5,55±0,06 мкм. Помимо незначительного количества (10,0%) суженных капилляров, в некоторых полях зрения наблюдались единичные капилляры проницаемые только для плазмы крови (0,7% от общего количества). Примечательно, что распределение функционирующих капилляров по диаметру охватывает довольно широкий диапазон значений, от 4 до 9 мкм, где 26,3% и 16,3%, составляют капилляры диаметром 5-6 мкм и 6-7 мкм соответственно.

При исследовании состояния микроциркуляторного русла коры головного мозга крыс в условиях ишемии было установлено, что перманентная окклюзия правой сонной артерии

приводит к заметным нарушениям в капиллярном сосудистом русле как ипсилатерального, так и контралатерального полушарий головного мозга крыс. Прежде всего, отмечается статистически значимое уменьшение диаметра функционирующих капилляров на 16,4% (от $5,55 \pm 0,06$ до $4,64 \pm 0,04$ мкм) в правом и на 15% (от $5,55 \pm 0,06$ до $4,71 \pm 0,07$ мкм) в левом полушариях. Достоверное увеличение количества суженных капилляров до 33,3% в правом и до 34% в левом полушариях от общего количества так же указывает на развитие ишемических нарушений (рис. 2). Что касается относительного распределения капилляров по диаметру, то при ОПСА резко уменьшается количество функционирующих капилляров диаметром 5-6 мкм (в правом полушарии до 14,9%, в левом – до 10% от общего количества), в отличие от сосудов диаметром 4-5 мкм (в правом полушарии до 48,9%, в левом – до 50% от общего количества). Капилляры диаметром более 6 мкм в срезах ипсилатерального полушария полностью отсутствовали, а в микропрепаратах контралатерального полушария обнаруживались в незначительном количестве (4%).

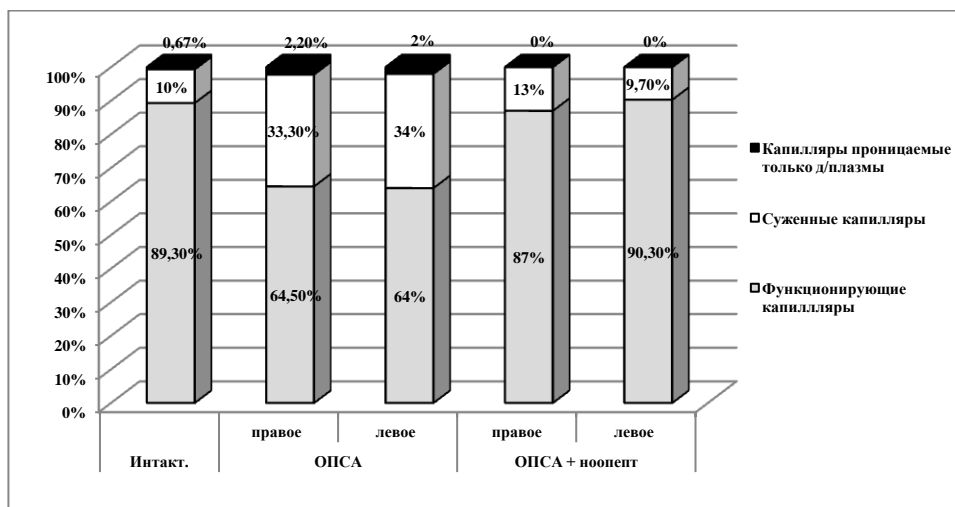


Рисунок 2. Влияние ноопепта в дозе 1 мг/кг на процентное соотношение количества функционирующих, суженных и проницаемых только для плазмы капилляров головного мозга крыс после перманентной ОПСА

Полученные в результате экспериментальных исследований данные показали, что ноопепт обладает способностью устранять нарушения в капиллярном звене микроциркуляторного русла, путем статистически достоверного по сравнению с контролем, увеличения процента функционирующих капилляров как ипсилатерального (на 87,0%), так и контралатерального (на 90,3%) полушарий практически до исходного значения, о чем свидетельствует отсутствие значимых отличий от тех же числовых показателей интактной группы животных. Положительное влияние ноопепта на микроциркуляторное русло подтверждается так же и достоверным увеличением ($p < 0,05$) диаметра функционирующих капилляров в срезах правого и левого полушарий на 7,9% и 7,6%, до значений $5,01 \pm 0,69$ и $5,07 \pm 0,65$ мкм соответственно, а так же существенным увеличением количества капилляров диаметром более 5 мкм, что более выражено в контралатеральном полушарии.

По-существу, результаты экспериментов показали, что способность ноопепта увеличивать локальный мозговой кровоток обусловлена его воздействием на микроциркуляторное русло коры головного мозга крыс.

2. Ноопепт в предотвращении нейроповеденческих последствий локально ишемических нарушений мозга

Важным индикатором защитного влияния соединений при ишемических повреждениях мозга является их способность устранять нарушения психоневрологического статуса животных. В связи с этим для оценки эффективности ноопепта в устранении ишемических нарушений было исследовано его влияние на развитие тревожности, нарушения двигательной активности и моторной координации в условиях локальной ишемии мозга, вызванной окклюзией средней мозговой артерии (ОСМА), с оценкой способности препарата предотвращать нарушения памяти и процессы обучения животных.

Влияние ноопепта на поведение крыс в тесте «открытое поле». Учитывая широкую вариабельность поведенческих характеристик у нелинейных крыс для последующих экспериментов по изучению памяти и поведения, проводилась предварительная отборка животных по уровню общей двигательной активности их в тесте «Открытое поле» (ОП). Из широкой популяции животных были отобраны крысы с высокой и средней двигательной активностью (n=98), общая двигательная активность которых оказалась выше 10-ти (n=60). У отобранных животных регистрировался уровень тревожности в том же тесте ОП (n=30), а также в тесте приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) (n=30).

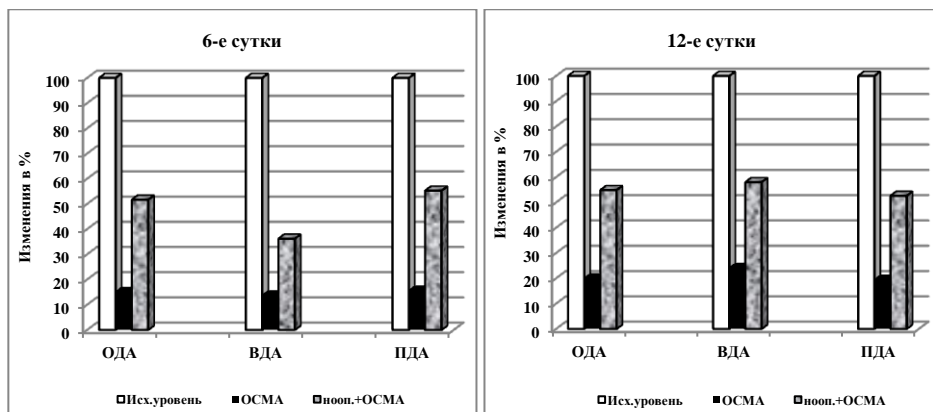


Рис. 3. Влияние ноопепта в дозе 0,5 мг/кг на степень изменений двигательной активности крыс в тесте «открытое поле» через 6 и 12 суток после ОСМА

Результаты экспериментальных исследований с применением теста ОП показали, что при ОСМА у всех животных на 6-е сутки после оперативного вмешательства наблюдалось выраженное статистически значимое снижение общей двигательной активности на 84,6% по сравнению с исходным уровнем.

Дисперсионный анализ параметров, характеризующих поведение крыс в тесте ОП, показал, что в/б введение ноопепта в дозе 0,5 мг/кг ежедневно животным

экспериментальной группы (n=18) на 6-е сутки после оперативного вмешательства сопровождается предотвращением уменьшения периферической активности (на 39,26%), а так же количества вертикальных стоек (на 22,07%) по сравнению с контрольной группой (рис. 3), что приводит к статистически значимому увеличению локомоторной активности, предотвращая изменения последней на 36,23%. Что касается изменений центральной активности, то они были статистически недостоверны.

Аналогичные по характеру изменений сдвиги в поведении животных были зарегистрированы и на 12 сутки после ОСМА: уровень общей двигательной активности был снижен на 79,6% вследствие понижения периферической активности на 80,3% и количества вертикальных стоек на 75,95% по сравнению с исходным значением. Примечательно, что на фоне введения ноопепта было отмечено увеличение всех параметров двигательной активности животных (периферической, вертикальной и общей) более чем в 2,5 раза по сравнению с перевязкой.

При детализации анализа параметров, характеризующих поведение животных в тесте ОП оказалось, что введение ноопепта хотя и не меняет существенно эмоциональность животных, о чем свидетельствуют недостоверные сдвиги количества актов дефекаций по сравнению с перевязкой, однако достоверно увеличивает количество актов груминга (особенно короткого) (таб. 2), который относится некоторыми авторами к так называемой, категории комфортного поведения.

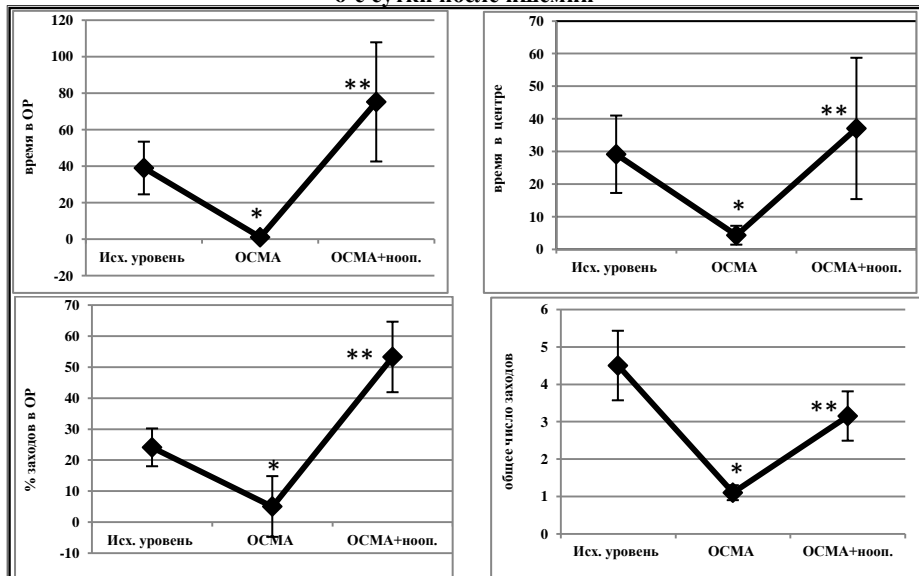
Таблица 2. Влияние ноопепта в дозе 0,5 мг/кг на эмоциональность животных в тесте открытое поле (n=30) ($M \pm \sigma_x$)

Параметры ОП	Базовый уровень	6-е сутки		12-е сутки	
		ОСМА	ОСМА+ нооп. 0,5 мг/кг	ОСМА	ОСМА+ нооп. 0,5 мг/кг
КАД	1,73±0,51	1,83±0,8	1,67±0,65	1,3±0,7	1,0±0,88
КАГ	1,37±0,53	0,25±0,4 (P ₁ *)	1,94±0,90 (P ₂ *)	0,3±0,4 (P ₁ *)	1,9±0,9 (P ₂ *)

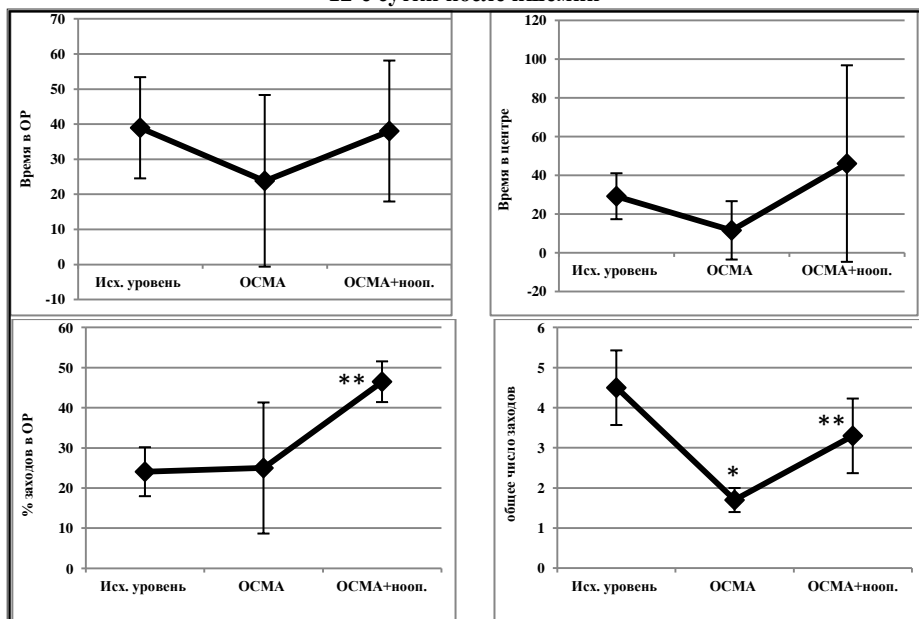
*- $p < 0,05$, P₁ – по сравнению с базовым уровнем, P₂ – по сравнению с ОСМА
КАГ- количество актов груминга, КАД- количество актов дефекации

Влияние ноопепта на поведение крыс в тесте ПКЛ. Более детально, способность ноопепта устранять тревожность, вызванную ишемическими нарушениями, была изучена в тесте ПКЛ. Как свидетельствуют полученные данные (рис. 4.), на фоне ишемии наблюдается развитие тревожности и подавление исследовательской активности животных. Причем, наблюдаемое при ОСМА развитие тревожности было наиболее выражено на 6-е сутки, и характеризовалось достоверным уменьшением всех параметров, характеризующих поведение животных в ПКЛ: времени и % заходов в ОР на 97,4% и 79,2% соответственно; общего числа заходов на 75,6% и времени проведенного в центре лабиринта на 85,2% ($p < 0,05$) по сравнению с исходным уровнем. Введение ноопепта в дозе 0,5 мг/кг ежедневно

6-е сутки после ишемии



12-е сутки после ишемии



*- $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем, **- $p < 0,05$ по сравнению с ОСМА

Рис. 4. Влияние Ноопепта в дозе 0,5 мг/кг на параметры поведения крыс в тесте ПКЛ на 6-е и 12-е сутки после ОСМА ($n=30$) ($M \pm \sigma_x$)

на фоне окклюзии предотвращало развитие тревожности увеличивая указанные параметры поведения крыс: времени и % заходов в ОР на 190,5% и 200,4% соответственно; общего числа заходов на 45,6% и времени проведенного в центре лабиринта на 112,4% ($p < 0,05$) не только по сравнению с контрольной группой но и исходным уровнем.

В более поздние сроки ишемии картина наблюдаемых при ОСМА нарушений оказалась менее выраженной, и через 12 суток после ишемии статистически достоверное уменьшение наблюдалось не для всех исследуемых параметров. Введение ноопепта характеризовалось достоверным увеличением общего числа заходов и % заходов в ОР на 35,5% и 190,1% соответственно ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Обращает на себя внимание то факт, что изменения таких важных показателей как время в открытых рукавах и центре лабиринта, хотя и оказались недостоверными по сравнению с окклюзией, однако их значения почти достигали исходного уровня.

По существу полученные данные показали, что выявленная ранее анксиолитическая активность ноопепта довольно выражено проявляется и в условиях локально ишемических нарушений мозга, особенно на 6-е сутки, на фоне более выраженной тревожности животных.

Влияния ноопепта на нарушения координации движений, вызванные локальной ишемией. Исследование моторной координации в условиях окклюзии показало, что ОСМА у крыс сопровождается нарушениями указанного параметра. Так, на 6-е сутки перевязки наблюдается достоверное уменьшение латентного времени удерживания (ЛВУ) животных ($n=9$) на стержне на $57,4 \pm 12,7\%$ ($p < 0,05$). На 12-е сутки после ОСМА, наблюдаемые изменения были более выраженными и составили $79,87 \pm 14,46\%$ ($p < 0,05$). Особого внимания заслуживает тот факт, что ишемические нарушения сопровождались не только изменениями латентного времени удерживания животных на срежке, но и отклонениями процентного соотношения животных с различными показателями ЛВУ. Так, на 6-е сутки после ОСМА, количество особей удерживающихся на стержне более 90 секунд уменьшалось вдвое, и не было крыс с показателями выше 120 секунд. На 12-е сутки ЛВУ у всех исследуемых животных было ниже отметки 90 секунд.

Введение ноопепта сопровождалось улучшением моторной координации животных ($n=14$), что проявилось в увеличении среднего значения ЛВУ до исходного уровня как на 6-е (до 105,95%), так и на 12-е сутки (в 1,6 раза) после ОСМА.

Особого внимания заслуживает тот факт после введения ноопепта в течении 6-и дней после ОСМА, количество животных (21,4% от общего количества) удерживающихся на стержне более 180 с значительно превосходило число животных (7,1% от общего количества) со временем удерживания более 90 с. На 12-е сутки после приема препарата, более 50% крыс удерживались на стержне более 90 секунд, а количество особей с латентным временем удерживания более 180 секунд увеличивалось втрое по сравнению с исходным уровнем.

Антиамнестический эффект ноопепта при ОСМА. При исследовании влияния ноопепта на сохранность памятного следа в тесте УРПИ было установлено, что препарат обладает способностью предотвращать нарушения памяти, вызванные перевязкой левой средней мозговой артерии.

В данной серии опытов у крыс ($n=28$) предварительно вырабатывали условный рефлекс пассивного избегания, проверку которого осуществляли через 24 ч. Латентное время захода до обучения составляло $17,86 \pm 8,16$ с. Рефлекс считался выработанным, если животное после обучения в течении 180 с не заходило в темную камеру, и оставалось на

освещенной платформе. Животные с меньшими показателями исключались из эксперимента. Сохранение памятного следа проверяли на 6-е и 12-е сутки после ОСМА, измеряя латентное время, проведенное на открытой платформе до захода в темный отсек.

Как показали полученные данные, в группе животных ($n=12$) с ОСМА на 6-е сутки после ишемического повреждения наблюдалось достоверное уменьшение латентного времени захода в темную камеру ($103,42 \pm 46,08$ с). К 12-ым суткам окклюзии латентный период захода уменьшился до значения $69,30 \pm 42,37$ с, что свидетельствует о более выраженном нарушении сохранности памятного следа (рис. 5). Помимо уменьшения указанного параметра, процентное соотношение животных с латентным временем менее 180 с, так же изменялось в зависимости от сроков ишемии. На 12-е сутки после перевязки подавляющее большинство крыс (83,3%) заходили в темный отсек.

Статистический анализ экспериментальных данных показал, что у животных группы, получавшей ноопепт ($n=16$) после оперативного вмешательства наблюдалось достоверное увеличение латентного времени захода в темную камеру по сравнению с контрольной группой, как на 6-е ($164,44 \pm 19,41$ с), так и на 12 сутки ($167,5 \pm 24,5$ с) после перевязки.

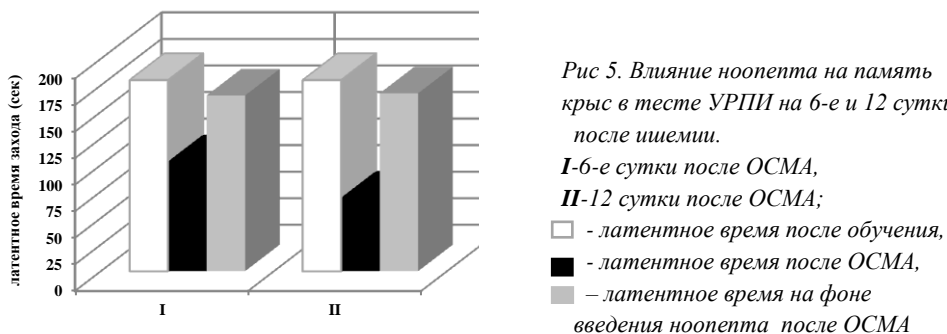


Рис 5. Влияние ноопепта на память крыс в тесте УРПИ на 6-е и 12 сутки после ишемии.

I - 6-е сутки после ОСМА,

II - 12 сутки после ОСМА;

□ - латентное время после обучения,

■ - латентное время после ОСМА,

▒ - латентное время на фоне

введения ноопепта после ОСМА

При этом, под воздействием ноопепта, как на 6-е, так и на 12-е сутки после ишемии подавляющее большинство животных не заходило в темный отсек (87,5% и 85,7% соответственно). Представленные данные свидетельствуют о способности ноопепта предотвращать нарушения памяти вызванные ОСМА.

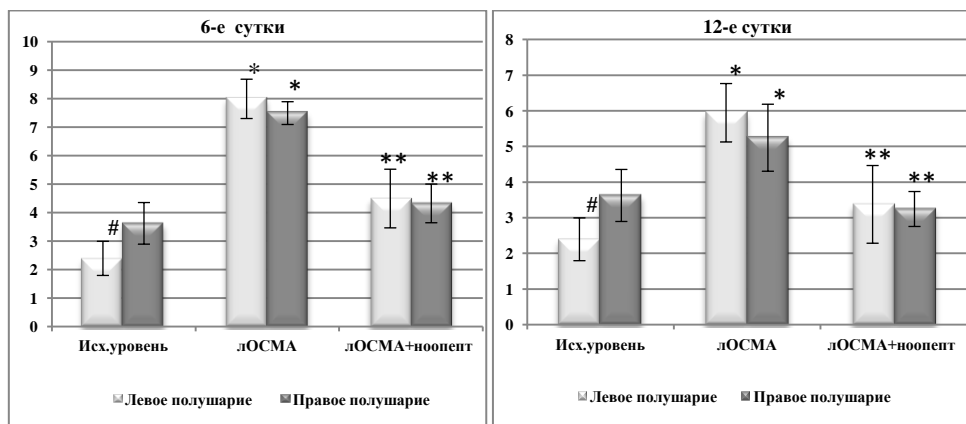
3. Количественные изменения липофусцина в условиях локально-ишемических нарушений мозга под влиянием ноопепта

Принимая во внимание выявленную ранее антиоксидантную активность ноопепта, которая, несомненно, вовлечена в реализацию его нейропротекторного действия, было предпринято исследование влияния препарата на содержание липофусцина – одного из конечных продуктов перекисного окисления липидов, к которому в последнее время возрос интерес не только как к маркеру старения и оксидативного стресса, но и в связи с его накоплением при ишемии.

При оценке количественных изменений содержания липофусцина в головном мозге на фоне локальной ишемии, вызванной ОСМА было выявлено, что после оперативного вмешательства имело место достоверное увеличение содержания пигмента как в

поврежденном, так и интактном полушариях головного мозга животных на исследуемых сроках локальной ишемии. При этом статистический анализ данных показал, что содержание пигмента старения в левом и правом полушариях у неоперированных животных отличается в 1,51 раза ($p < 0,05$), составляя $2,40 \pm 0,60$ и $3,82 \pm 0,52$ единиц интенсивности флюоресценции (ИФ) соответственно (рис. 6), что, по всей вероятности, связано с феноменом функциональной межполушарной асимметрии (ФМА).

Ишемия, вызванная перевязкой левой средней мозговой артерии, приводила к существенному увеличению количества липофусцина как в ипсилатеральном ($8,00 \pm 0,69$ ИФ), так и контралатеральном ($7,50 \pm 0,40$ ИФ) полушариях мозга на 6-е сутки после ОСМА. Аналогичные, но менее выраженные изменения наблюдались и на 12-е сутки после ишемического повреждения: в левом до значения $5,95 \pm 0,82$, в правом до $5,25 \pm 0,94$ ИФ. Обращает на себя внимание тот факт, что в поврежденном полушарии, увеличение исследуемого параметра и на 6-е (3,3 раза) и на 12-е сутки (2,5 раза) ишемии было намного выраженнее, чем в контралатеральном, с изначально высоким содержанием липофусцина.



*- $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем, **- $p < 0,05$ по сравнению с ОСМА, #-между полушариями

Рис. 6. Влияние в/б введения ноопепта в дозе $0,5$ мг/кг на количественные сдвиги содержания (в относительных единицах интенсивности флюоресценции) липофусцина в левом и правом полушариях головного мозга крыс на 6-е ($n=8$) и 12-е ($n=8$) сутки после лОСМА.

Внутрибрюшинное введение ноопепта в течение 6-ти суток после ОСМА, приводило к статистически значимому уменьшению содержания липофусцина, как в поврежденном, так и в интактном полушариях в 1,8 и 1,7 раз соответственно по сравнению с перевязкой. При увеличении продолжительности введения ноопепта до 12 суток ОСМА, содержание накопленного липофусцина было намного ниже, превосходя тот же показатель при ишемии— в 2,4 и 2,3 раза соответственно.

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить один из возможных механизмов антиоксидантного действия ноопепта, способствующего проявлению нейропротекторного эффекта препарата при локально ишемических повреждениях мозга.

4. Сдвиги морфологических изменений вызванных локально ишемическими нарушениями мозга под влиянием ноопепта.

Нейропротективные свойства ноопепта подтвердились так же и морфологическим исследованием структурных сдвигов при ОСМА. Морфологические исследования показали что после ОСМА наблюдаются патологические изменения, характеризующиеся картиной очагового лизиса тигроидного вещества, как в коре, так и гиппокампе и подкорковых структурах. Отмеченные сдвиги наблюдались на 6-е сутки ишемии, а на 12 сутки картина патологических изменений усугублялась процессом тотального тигролиза нейроцитов, в то время как в срезах мозга животных интактной группы наблюдались хорошо очерченные контуры клеточной и ядерной поверхности, а субстанция цитоплазмы была хроматофильна. При в/б введении ноопепта в дозе 0,5 мг/кг в течении 6 суток после ОСМА на фоне лизиса в цитоплазме нейронов отмечалось тенденция к восстановлению тигроидного вещества. В срезах мозга группы животных получавших ноопепт в течение 12 суток после ОСМА нейроны с распадом тигроидного вещества выявлялись в сравнительно меньшем количестве, а в сохранившихся клетках наблюдалось относительно хорошее окрашивание тигроидного вещества, ядра нейронов были более светлыми чем в срезах группы животных, не получавших препарат на данном сроке ишемии. По существу отмеченные под влиянием ноопепта признаки восстановления гистоструктуры исследуемых областей свидетельствуют о способности препарата повышать выживаемость жизнеспособных нейронов в условиях ишемии.

Таким образом, проведенный комплекс исследований по изучению влияния ноопепта на церебральную гемодинамику и нейроповеденческие последствия ишемических нарушений мозга показал способность ноопепта стимулировать ЛМК и микроциркуляцию мозга в условиях их нарушения, предотвращать накопление липофусцина и развитие морфологических сдвигов, характерных для локальной ишемии, что проявлялось в усилении общей двигательной активности, моторной координации, а так же предотвращении тревожности и потери памяти в условиях ишемии. Все это открывает перспективы для применения ноопепта как средства для улучшения кровоснабжения мозга и предотвращения психоневрологических последствий ишемии.

ВЫВОДЫ

1. Ноопепт в дозе 1 мг/кг проявляет способность стимулировать нарушенный локальный мозговой кровоток без существенных изменений со стороны системного артериального давления.
2. В условиях нарушений кровоснабжения мозга, вызванных односторонней окклюзией общей сонной артерии, ноопепт улучшает микроциркуляцию коры головного мозга путем увеличения количества и диаметра функционирующих капилляров.
3. При локально ишемических нарушениях мозга введение ноопепта предотвращает развитие тревожности, что наиболее выражено на 6-е сутки после перевязки средней мозговой артерии.
4. Ноопепт снижает выраженность неврологического дефицита, наблюдаемого в условиях локальной ишемии мозга, что проявляется улучшением локомоторной и исследовательской активности, а так же моторной координации.
5. Выявлено, что ноопепт в условиях ОСМА препятствует нарушению сохранности памятного следа, что более выражено проявляется при увеличении сроков введения препарата до 12-ти суток.
6. Установлено, что ноопепт предотвращает характерное для ишемизации мозговой ткани накопление липофусцина, что указывает на один из возможных механизмов антиоксидантного эффекта препарата.
7. Полученные данные относительно способности ноопепта стимулировать кровоснабжение мозга и предотвращать развитие в условиях локальной ишемии неврологического дефицита открывают перспективы для применения препарата, как средства для коррекции нарушений кровоснабжения мозга и вызванных ими психоневрологических последствий.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Balasanayan M.G., Afrikyan Sh.G.** Cerebrovascular effects of noopept under the conditions of cerebral blood flow ischemic damages. The New Armenian Medicinal Journal. International Congress of Young Scientists, YSMU. March **2010**. Vol. 4 N1, p. 8-9.
2. **Баласаниян М.Г., Африкян Ш.Г., Григорян Т.С.** Количественные изменения липофусцина в условиях ишемических нарушений мозга под влиянием ноопепта и цитиколина. «Physio Medi». Сборник статей V международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине». **2013 г.** Том 1. с.7-12
3. **Баласаниян М.Г., Африкян Ш.Г., Ашрафян К.Б., Ерицян Э.Л.** Влияние ноопепта на память и поведение крыс при нарушениях вызванных локально-ишемическими повреждениями мозга. ЕГМУ, Ежегодная отчетная научная конференция. Сборник научных статей, **2013 г.** Том 1. с.7-12
4. **Африкян Ш.Г.** Влияние ноопепта на кровоснабжения мозга. Медицина, наука и образование - **2013 г.** N 14, с. 86-90
5. **Баласаниян М.Г. Африкян Ш.Г. Топчян А.В.** Влияние ноопепта на морфофункциональное состояние капиллярной системы коры большого мозга крыс. Экспериментальная и клиническая фармакология **2015 г.** Том 78, N5. с. 3-7

ՆՈՈՊԵՊՏԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՂԵՂԱՅԻՆ ԱՐՅԱՆ ՇՐՋԱՆԱՌՈՒԹՅԱՆ ԵՎ
ԻՇԵՄԻԿ ԽԱՆԳԱՐՈՒՄՆԵՐԻ շԵՏԵՎԱՆՔՈՎ ԶԱՐԳԱՅՈՂ ՎԱՐՔԱՅԻՆ
ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎՐԱ

Նյարդապաշտպան ազդեցությամբ դեղերի ստեղծումը և ուսումնասիրությունը հանդիսանում են արդի բժշկագիտության կարևորագույն խնդիրներից մեկը, քանի որ ներկայումս ուղեղային արյան շրջանառության խանգարումները մահացությունների ցուցանիշով և առաջնային հաշմանդամության պատճառով աշխարհում զբաղեցնում են առաջատար դիրքերից մեկը: Ուսումնասիրված է իշեմիայի պայմաններում էնդոգեն նեյրոպեպտիդների կարճ նմանակների կառուցման եղանակով ստացված նոր նոտրոպ դիպեպտիդի՝ նոպեպտի (N-ֆենիլացետիլ-L-պրովիլլիցին) ազդեցությունը առնետների ուղեղային արյան շրջանառության և մազանոթային հունի, հիշողության և վարքային փոփոխությունների, ինչպես նաև ուղեղային հյուսվածքում լիպոֆուսցինի քանակական տեղաշարժերի և մորֆոլոգիական փոփոխությունների վրա:

Նոպեպտի ազդեցության ուսումնասիրությունը առնետների աջ ընդհանուր քնային զարկերակի կապումից խանգարված ուղեղի տեղային արյունահոսքի (ՈԻՏԱ) վրա ցույց տվեց, որ կապումից 30 ր հետո երկպեպտիդի ն/ո ներարկումը 1 մգ/կգ դեղաչափով նպաստում է վնասված կիսագնդում ՈԻՏԱ-ի վերականգնմանը մինչև ելակետային արժեքի: Հատկանշական է, որ 2 մգ/կգ դեղաչափի ներարկումից առաջացած դրական տեղաշարժերը նույն չափով արտահայտված չեն, ինչը կարելի է բացատրել պեպտիդների և պեպտիդանման նյութերի բնորոշ դեղաչափ-ազդեցություն “գմբեթաձև” կախվածությամբ: Հարկ է նշել, որ դիպեպտիդի միանվազ ներարկումը չի ուղեկցվում համակարգային զարկերակային ճնշման ցուցանիշների նկատելի փոփոխությամբ, ինչը վկայում է, որ դրական ազդեցությունը ՈԻՏԱ-ի վրա միջնորդավորված չէ համակարգային արյունամատակարարման փոփոխություններով: Նոպեպտի դրական ազդեցությունը ուղեղային արյունահոսքի վրա հաստատվեց նաև առնետների գլխուղեղի կեղևային շերտի մորֆոմետրիկ հետազոտություններում: Ապացուցվեց, որ դիպեպտիդը բարելավում է մազանոթային հունի վիճակը ինչպես ինտակտ, այնպես էլ վնասված կիսագնդում՝ աջ քնային զարկերակի կապումից հետո: Նշված ազդեցությունը արտահայտվում է կեղևային շերտում ֆունկցիոնալ մազանոթների քանակի և տրամագծի վիճակագրորեն հավաստի մեծացումով՝ ի համեմատ ստուգիչ խմբի, որտեղ փորձարարական կենդանիների շրջանում վիրահատական միջամտությունից հետո նկատվում էր նշված ցուցանիշների իջեցում: Ամփոփելով ստացվածը, կարելի է եզրակացնել, որ նոպեպտը 1 մգ/կգ դեղաչափով կարգավորում է ձախ քնային զարկերակի կապումից խանգարված ուղեղային արյունահոսքը:

Ուսումնասիրվեց նոտպեպտի ազդեցությունը ձախ միջին ուղեղային զարկերակի կապումից առաջացող կենդանիների ընդհանուր շարժողական և հետազոտական ակտիվության ընկճման, տագնապի առաջացման, կորորդինացիայի և հիշողության խանգարումների վրա: Հետազոտությունների արդյունում պարզվեց, որ վիրահատական միջամտությունից հետո նոտպեպտի 0,5 մգ/կգ դեղաչափով շարունակական /6 և 12 օր / ն/ո ներարկումը ուղեկցվում է նշված տեղաշարժերի դրական դինամիկայով: Այսպես, օրինակ պրեպարատի ազդեցությամբ նկատվում է “բաց դաշտում” առնետների ընդհանուր շարժողական ակտիվության բարձրացում, “պտտվող գլան” թեստում՝ կորորդինացիայի խանգարումների համուղղում և այս ազդեցությունները կրում են վիճակագրորեն հավաստի բնույթ, իշեմիայի բոլոր հետազոտված փուլերում: Ինչ վերաբերում է նոտպեպտի տագնապամարիչ ազդեցությանը, այս դեպքում նույնպես դիպեպտիդի ներարկումը հանգեցնում է տագնապի զարգացման մասին վկայող որոշ ցուցանիշների բարելավմանը “բաց դաշտ” և “խաչաձև լաբիրինթոս” թեստերում, սակայն նշված ազդեցությունը կրում է հավաստի բնույթ իշեմիայի այն փուլում, երբ տագնապի նշանները առավել արտահայտված են: “Պասիվ խուսափման պայմանական ռեֆլեքսի” մոդելում նոտպեպտի ազդեցության ուսումնասիրությունը պարզեց, որ պրեպարատի ներարկումից հետո փորձարարական կենդանիների շրջանում գրեթե չեն նկատվում լոկալ իշեմիայի պայմաններում զարգացող հիշողության խանգարումները: Ամփոփելով վերը նշվածը, կարելի է եզրակացնել, որ դիպեպտիդը կարգավորում է լոկալ իշեմիայի պայմաններում զարգացող վարքային և հիշողության փոփոխությունները:

Հաշվի առնելով նոտպեպտի հակաօքսիդանտայի ակտիվությունը, ուսումնասիրվեց նրա ազդեցությունը ուղեղային հյուսվածքում լիպոֆուսցինի քանակական տեղաշարժերի վրա՝ լոկալ իշեմիայի պայմաններում: Պարզվեց, որ ձախ միջին ուղեղային զարկերակի կապումը նպաստում է նշված պիզմենտի վիճակագրորեն հավաստի քանակական տեղաշարժերի ինչպես ինտակտ, այնպես էլ ավելի շատ վնասված կիսագնդում, և նշված փոփոխությունները խորանում են իշեմիայի տևողության երկարացմանը գուզընթաց: Հետազոտությունների արդյունքում հաստատվեց, որ նոտպեպտը 0,5 մգ/կգ դեղաչափով կանխում է լիպոֆուսցինի կուտակումը ուղեղային հյուսվածքում և այս ազդեցությունը առավել արտահայտված է իշեմիայի 12-րդ օրը: Լիպոֆուսցինի կուտակման կանխումը կարող է հանդիսանալ լոկալ իշեմիայի պայմաններում նոտպեպտի նյարդապաշտպան ազդեցության հնարավոր մեխանիզմներից մեկը: Ձախ միջին ուղեղային զարկերակի կապումից առաջացող մորֆոլոգիական տեղաշարժերի վրա նոտպեպտի դրական ազդեցությունը նույնպես վկայում է պրեպարատի նյարդապաշտպան հատկության մասին:

Այսպիսով, իրականացված հետազոտությունների արդյունքները լայն հեռանկարներ են բացում նոտպեպտի կիրառման համար՝ որպես ուղեղային արյան մատակարարումը բարելավող և նյարդահոգեկան տեղաշարժերը համուղղող միջոց:

INFLUENCE OF NOOPEPT ON THE CEREBRAL BLOOD FLOW AND BEHAVIOURAL CHANGES UNDER LOCAL ISCHEMIC BRAIN CONDITIONS

One of the actual goals of contemporary medicine is creation and research of neuroprotective drugs, since cerebrovascular diseases are one of the leading causes of mortality and disability worldwide. The influence of noopept (N-phenylacetyl-L-prolylglycine ethyl ester), a new cognition enhancer which has been developed on the basis of a neuropeptides short analogues design at the State Research Institute of Pharmacology of the Russian Academy of Medical Sciences, was carried out on the rat's cerebral blood flow and microcirculation, memory and behavioral changes, as well as lipofuscine quantitative and brain tissues morphological changes under ischemic brain conditions.

The research of noopept influence on the rat's local cerebral blood flow (LCBF) disturbance after right carotid artery occlusion showed, that i/p injection of noopept in a single 1 mg/kg dose, 30 minute after surgery, increases brain local blood flow rate nearly up to his initial value before ligation. Noteworthy, increasing of LCBF rate after noopept injection in a 2 mg/kg dose wasn't so significant in comparison to 1 mg/kg dose. These can be explained by dose-dependent bell-shaped like action, which is a characteristic feature for peptides and peptidomimetic drugs. Moreover, i/p injections of noopept in a dose 1 mg/kg didn't change significantly either systolic or diastolic blood pressure levels and those changes didn't have statistical confidence. Thus, the obtained data indicate that improvement of LCBF rate initiating by noopept isn't mediated by the changes of a systemic blood pressure. The morphometry of rat cerebral cortex microcirculatory network confirmed positive influence of noopept on the brain blood flow as well. Present study demonstrates that dipeptide improve both, ipsilateral and contralateral hemisphere microcirculation after right common carotid artery ligation. The influence of noopept on capillary network was mediated by statistically significant increase of functional capillary diameter and quantity compared with data obtained in control group, wherein decrease of mentioned parameters was observed after surgery. All above mentioned is shown that noopept in dose 1 mg/kg can recover blood flow disturbances in damaged hemisphere after right common carotid artery ligation.

The investigation of noopept influence on animals moving and research activity reduction, anxiety development, coordination and memory disturbance after left middle cerebral artery occlusion (MCAO) was carried out. Present study has demonstrated that continuously i/p noopept injection in a dose 0.5 mg/kg during 6 and 12 days after ischemia was characterized by positive dynamic of mentioned parameters. Thus, it was demonstrate increase of rat's general moving activity in open field and recovery of coordination disturbances in rota-road test as well. Furthermore, these changes were statistically significant in both 6 and 12 days

after local ischemia. As for anxiolytic activity, it was shown that after left middle cerebral artery permanent ligation some parameters which characterizes anxiety in open field and elevated plus-maze labyrinth were changed. Noopept reduced anxiety development, but this ability extremely depends on ischemia duration and was significant in terms then those changes were mostly observed. The study of noopept influence on memory process in passive avoidance test under local ischemic brain conditions was shown that injection of noopept lead to enhancing of memory trace keeping ability of experimental animals in both 6 and 12 days after middle cerebral artery ligation. Based on obtained results it is evident that noopept prevents behavioral and memory deficits, in 0.5 mg/kg daily dose, under the local ischemia conditions, caused by permanent occlusion of left middle cerebral artery.

The impact of noopept on lipofuscin quantity changes in rat's ischemic brain was carried out, because aging pigment is the one of the promising marker of ischemia, and noopept demonstrated an antioxidant activity at earlier experiments. It is shown that ligation of left middle cerebral artery leads to significant increase of lipofuscin quantity in both right and left hemispheres, clearly in damaged side more than in intact side, and these changes are enhanced contemporaneously to ischemia duration. Noteworthy, there was demonstrated a statistically significant difference of lipofuscin quantity between right and left hemispheres in healthy animals. Study results demonstrate that noopept in 0.5 mg/kg daily dose, prevents lipofuscin accumulation in brain tissue, both right and left hemispheres, and this ability was expressed on 12 days after occlusion. Prevention of age pigment accumulation in damaged ischemic brain can be one of the possible mechanisms of noopept neuroprotective ability. The neuroprotective activity of noopept was demonstrated in morphological studies as well. It was shown that dipeptide injection leads to some positive changes on pathological processes in brain tissues caused by ischemia after MCAO.

Thus, the obtained results provide new aspects of noopept usage for cerebral blood flow enhancement and eliminating the neuropsychic consequences of ischemic brain damages.