

**ԵՐԵՎԱՆԻ ՄԽԻԹԱՐ ՀԵՐԱՑՈՒ ԱՆՎԱՆ ՊԵՏԱԿԱՆ
ԲԺՇԿԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ**

ԵՐԻՑՅԱՆ ԷՄՄԱ ԼԵՎՈՆԻ

**ՊՐՈԼԻՆՈՎ ՀԱՐՈՒՍՏ ՊՈԼԻՊԵՊՏԻԴ-1-Ի (PRP-1) ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄՆ ՈՒՂԵՂԻ ԻՇԵՄԻԿ ԽԱՆԳԱՐՈՒՄՆԵՐԻ
ԴԵՊՔՈՒՄ**

ԺԵ. 00.01. «Դեղագիտություն»

մասնագիտությամբ դեղագործական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅՈՒՆ

Գիտական ղեկավար՝

դեղագործական գիտությունների դոկտոր,
պրոֆեսոր Բալասանյան Մ.Գ.

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Հապավումների ցանկ	4
ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ	6
ԳԼՈՒԽ 1. ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ԱԿՆԱՐԿ	10
1.1. Գլխուղեղի իշեմիկ վնասումը և նյարդապաշտպան միջամտության թիրախները	10
1.2. Պոլիպեպտիդային միացությունները՝ որպես ուղեղանոթային և նյարդապաշտպան ակտիվությամբ օժտված դեղերի աղբյուր	18
1.3. Պրոլինով Հարուստ պոլիպեպտիդ-1-ի (PRP-1) կենսաբանական դերը և ազդեցության առանձնահատկությունները	26
ԳԼՈՒԽ 2. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ՆՅՈՒԹԸ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ	40
2.1. Լոկալ իշեմիայի մոդելավորումը միջին ուղեղային զարկերակի կապումով	40
2.2. Ուղեղային արյան շրջանառության խանգարման մոդելավորումը	42
2.3. Ուղեղային արյան շրջանառության գնահատումը լազերային դոպլերային ֆլուումետրիայի օգնությամբ	42
2.4. Գլխուղեղի տեղային իշեմիայի խանգարման պայմաններում ուղեղային հյուսվածքի մորֆոլոգիական հետազոտություն	44
2.5. Առնետների վարքի ուսումնասիրումը «Բաց դաշտ» թեստում	44
2.6. Առնետների վարքի ուսումնասիրումը «Բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոս» թեստում	46
2.7. Առնետների հիշողության ուսումնասիրումը «Պասիվ խուսափման պայմանական ռեֆլեքսի» մեթոդով	48
2.8. Առնետների շարժողական կոորդինացիայի ուսումնասիրումը «Մոտոր կոորդինացիոն» թեստում	49
2.9. Առնետների զարկերակային ճնշման գրանցումը «tail-cuff» մեթոդով	50
2.10. Մարդու արյան թրոմբոցիտների ագրեգանտային ակտիվության հետազոտումը	52
2.11. Հետազոտության արդյունքների վիճակագրական մշակումը	54

ԳԼՈՒԽ 3. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ	
ԵՎ ԴՐԱՆՑ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ	56
3.1. PRP-1-ի ուղեղանոթային ակտիվության ուսումնասիրումը	56
3.1.2. PRP-1-ի ցուցաբերած ազդեցությունը զարկերակային ճնշման (ԶՃ) և սրտի կծկման հաճախության (ՍԿՀ) վրա	63
3.2. PRP-1 հակաազդեգանտային ազդեցության ուսումնասիրումը	65
3.3. Լոկալ իշեմիկ խանգարումներով պայմանավորված վարքագծային փոփոխությունների կանխումը PRP-1-ով.....	71
3.3.1. PRP-1-ի ազդեցությունը լոկալ իշեմիայով պայմանավորված շարժողական կոորդինացիայի խանգարումների ժամանակ	80
3.4. PRP-1-ի իշեմիայով պայմանավորված նյարդային բջիջների դեգեներատիվ փոփոխությունները կանխելու ունակությունը.....	83
3.4.1. PRP-1-ի լոկալ իշեմիայով մակաձված հիշողության կորուստը և ուսուցման գործընթացի թուլացումը կանխելու ունակությունը.....	89
 ԱՄՓՈՓՈՒՄ	 92
ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ	99
ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ.....	100

Հապավումների ցանկ

PRP (-1) Proline Rich Polypeptide (-1) - Պրոլինոլ հարուստ պոլիպեպտիդ-1

(Գալարմին)

NPV-*Nucleus Paraventricularis*

NSO- *Nucleus Supraopticus*

MCAO (ՄՈւՁԿ) - middle cerebral artery occlusion, միջին ուղեղային զարկերակի կապում

rCCAO (աջ ՔՁՄԿ) - right common carotid artery occlusion, աջ քնային զարկերակի միակողմանի կապում

GABA (ԳԱԿԹ) - gamma-aminobutyric acid գամմա-ամինակարապաթթու

TRH - թիրեոտրոպին արտազատող հորմոն

GPE - գլիցին պրոլին գլուտամատ

G-2mPE - գլիցին 2-մեթիլ պրոլին գլուտամատ

NMDA-N - մեթիլ D-ասպարտատ

ԱՈւՊ (ՀԷՊ) - արյուն ուղեղային պատնեշ (հեմատո-էնցեֆալիկ պատնեշ)

NADPH - նիկոտինամիդադենինդինուկլեոտիդֆոսֆատ

ՍՕԴ - սուպերօքսիդդիսմուտազ

GM-CSF - գրանուլոցիտ մակրոֆագ գաղութագրյացման խթանիչ գործոն

CFU-GM - գրանուլոցիտ մակրոֆագ գաղութագրյացման միավոր

IL - ինտերլեյկին

CD – իմունակոմպետենտ բջիջներ

TNF α - ուռուցքի նեկրոզի գործոն α

ՖԴԷ - ֆոսֆոդիէսթերազ

ցԱՄՖ - ցիկլիկ ադենոզինմոնոֆոսֆատ

ԱՀԿ - առողջապահության համաշխարհային կազմակերպություն

rTPA - ռեկոմբինանտ հյուսվածքային պլազմինոգենի խթանիչ

EPO - էրիթրոպոետին

NGF - նյարդային աճի գործոն

BDNF – ուղեղային նեյրոտրոֆիկ գործոն

VEGF - անոթային էնդոթելիալ աճի գործոն
IGF - ինսուլինանման աճի գործոն
TrkB- տրոպոմիոզին կինազ Բ
Ras-ERK- էկզոգեն կարգավորվող կինազ
PI3K- ֆոսֆատիդիլինոզիտոլ 3-կինազ
PLCγ- ֆոսֆոլինոզիտիդ ֆոսֆոլիպազ C
LNGFR- ցածր խնամակցությամբ նյարդային աճի գործոնի ընկալիչ
PIGF - ընկերքային աճի գործոն
ԿՆՀ - կենտրոնական նյարդային համակարգ
ԲԽԼ (EPM) - բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոս (Elevated Plus Maze)
ԲԴ (OF) - բաց դաշտ (open field)
ՊԽՊՌ -պասիվ խուսափման պայմանական ռեֆլեքս
PAT - Passive avoidance test
ԱԴՖ ADP- ադենոզինդիֆոսֆատ
ԱԵռՖ- ադենոզինեոֆոսֆատ
ԵՃՀ- երկարատև ճնշման համախտանիշ
ՍԶԾ - սիստոլիկ զարկերակային արյան ճնշում
ԴԶԾ - դիաստոլիկ զարկերակային արյան ճնշում
ՄԶԾ - միջին զարկերակային ճնշում
ՍԿՀ - սրտի կծկման հաճախություն
ՈւՏԱ - ուղեղի տեղային արյան շրջանառություն
GLA (կամ ԸՇԱ)- ընդհանուր շարժողական ակտիվություն
PA- ծայրամասային ակտիվություն
VA- ուղղահայաց ակտիվություն
CA- կենտրոնական ակտիվություն
E- emotion հուզականություն
bFGF- ֆիբրոբլաստների աճի գործոն
TGF-β₁- β₁փոխակերպման աճի գործոն

Թեմայի արդիականությունը

Էնդոգեն ծագման պոլիպեպտիդների բազմակողմանի և ուրույն կենսաբանական հատկությունները և դրանց հիման վրա բազմաթիվ նոր դեղերի ապացուցված արդյունավետությունը հիմք են հանդիսանում շարունակելու այսօր նյարդաբանության օրակարգի կարևորագույն խնդիր հանդիսացող՝ իշեմիզացված ուղեղը պաշտպանող միջոցների փնտրտուքն այս ուղղությամբ (Ayuso M.I., Montaner J. 2015): Այս առումով ուշագրավ են ուղեղի արյունամատակարարման և կոգնիտիվ ֆունկցիայի կարգավորման մեխանիզմներում ժամանակակից նեյրոպեպտիդների դերն արտացոլող հետազոտությունները (Song J. et. al., 2015; Erfani S. et al., 2015): Տարբեր նեյրոպեպտիդների ուսումնասիրություններն այնպիսի հիվանդությունների կարգավորման նպատակով, ինչպիսիք են ուղեղի կաթվածը, միգրենը, սուբարախնոիդալ արյունազեղումը, էնցեֆալոպաթիան, Ալցհեյմերի, Պարկինսոնի հիվանդությունները և այլն, բացահայտել են դրանց նյարդապաշտպան ազդեցությունը (Höckfelt T. et. al. 2000; Prodam F. et. al., 2012; Feng Y. et. al., 2014):

Նյարդապաշտպան ազդեցությամբ է օժտված ակադեմիկոս Ա. Գալոյանի կողմից հայտնաբերած պրոլինոլ հարուստ պոլիպեպտիդների ընտանիքի շարքին պատկանող նոր Պրոլինոլ Հարուստ Պոլիպեպտիդ 1-ը (Proline Rich Polypeptide-1 կա՛մ PRP-1 կա՛մ «Գալարմին»): Այն արտադրվում է հիպոթալամուսի N. Paraventricularis և N. Supraopticus նեյրոսերետոր հատիկներում և իրենից ներկայացնում է 15 ամինաթթուների մնացորդներից բաղկացած պոլիպեպտիդ (Ala-Gly-Ala-Pro-Gln-Pro-Phe-Gln-Pro-Ala-Gln-Pro-Asp-Ala-Tyr): PRP-1-ի նյարդապաշտպան ազդեցությունն ապացուցված է վերջինիս առնետների՝ օձի թույնով թունավորման (Galoyan A.A. et. al., 2000; Galoyan A.A et. al., 2000), ինչպես նաև ողնուղեղի հատման պայմաններում (Abrahamyan S.S. et. al., 2001)՝ վերքի գոյացման և սպիտակ նյութի աճն ընկճելու, նեյրոգլիայի պրոլիֆերացիան խթանելու և ողնուղեղի նեյրոնալ ակտիվությունը վերականգնելու հատկությամբ (Galoyan et. al., 2005):

Ուսումնասիրվող պոլիպեպտիդի բջիջների դեգեներատիվ փոփոխությունները կանխելու ունակությունը հաստատված է նաև փորձարարական երկարատև ճնշման կամ «Crush-համախտանիշի» և ալյումինային նեյրոտոքսիկոզի մոդելներում (Kevorkian G.A. et. al., 2001; Shakhlamov V.A. et. al., 2002; Galoyan A.A. et. al., 2004; Galoyan A.A. et. al., 2004): PRP-1-ի ազդեցության մեխանիզմների ուսումնասիրությունը ցույց տվեց, որ դրա նյարդապաշտպան հատկությունը պայմանավորված է ֆոսֆոլիպազ A2-ի ակտիվությունն ընկճելու ունակությամբ, ինչպես նաև հակաօքսիդանտային և սկավենջերային մեխանիզմներով: Բացի այդ, բազմաթիվ հետազոտություններ վկայում են դրա իմունակարգավորիչ, հակամանրէային, հակավիրուսային և բջջի նյութափոխանակությունը խթանող հատկությունների մասին (Aprikyan V.S., Galoyan A.A. 1999; Aprikyan V.S., Galoyan A.A. 2002; Galoyan A.A. 2004; Davtyan T.K. et. al., 2006; Tavadyan L.A. et. al., 2010):

PRP-1-ի նյարդապաշտպան հատկությունները կարևորեցին վերջինիս ուսումնասիրումն ուղեղային արյան շրջանառության խանգարումների և հատկապես ուղեղի կաթվածի ժամանակ: Չնայած այս ուղղությամբ կատարված բազմաթիվ հետազոտությունների և շատ մեծ թվով փորձարկված միացությունների՝ միայն շատ սահմանափակ թվով նյութերի համար են հաջողված ավարտվում կլինիկական փորձարկումները (Tuttolomondo A. et. al., 2015): Սա է պատճառը, որ այսօր կաթվածը շարունակվում է համարվել աշխարհում մահացության երրորդ (Mozaffarian D. et. al., 2015 Heart disease and stroke statistics-2015; Mozaffarian D. et. al., 2016; Heart disease and stroke statistics, 2016) և երկարատև անկարողունակության գլխավոր պատճառը:

Հարկ է նշել, որ բավական խոստումնալից են էնդոգեն նյութերի և դրանց շարքին պատկանող միացությունների փորձարկման արդյունքները, ներառյալ ԳԱԿԹ-ի ածանցյալները, ցիտիկոլինը և այլն, որոնց կիրառումը հետազոտողների կողմից բնութագրվում է որպես գլխուղեղի իշեմիկ խանգարումների դեղաբանական շտկման տրամաբանական մոտեցում (Green A.R. et. al., 2000; Shi P.Y. et. al., 2016):

Հաշվի առնելով վերը նշվածը և հիմնվելով ակադեմիկոս Ս. Միրզոյանի դեռ 1970-ական թվականներին առաջ քաշած գլխուղեղի արյան շրջանառության կարգավորման նեյրոքիմիական կոնցեպցիայի վրա (Mirzoian S.A. 1983)՝ ակնհայտ է դառնում, որ նյարդապաշտպան հատկություններով օժտված PRP-1-ը կարող է հիմք հանդիսանալ իշեմիկ կաթվածի բուժման և կանխարգելման արդյունավետ և անվտանգ դեղամիջոցների որոնման համար:

Հետազոտության նպատակը և խնդիրները

Հետազոտության նպատակն է՝ ուսումնասիրել PRP-1-ի ազդեցությունը փորձարարական կենդանիների գլխուղեղի արյան շրջանառության իշեմիկ խանգարումներով պայմանավորված տեղաշարժերի վրա: Նպատակի իրականացման համար ուսումնասիրվել է PRP-1-ի ազդեցությունը.

- գլխուղեղի տեղային արյան շրջանառության (ՈւՏԱ) վրա քնային զարկերակի միակողմանի կապումով (ՔԶՄԿ) պայմանավորված խանգարումների մոդելի պայմաններում,
- համակարգային զարկերակային ճնշման և սրտի կծկման հաճախության վրա,
- թրոմբոցիտների ագրեգացիայի գործընթացի վրա *in vitro* պայմաններում,
- լոկալ իշեմիկ խանգարումներով պայմանավորված գլխուղեղի կառուցվածքային տեղաշարժերի վրա,
- փորձարարական կենդանիների լոկալ իշեմիայով պայմանավորված ուսուցման գործընթացի խափանումների և հիշողության խանգարումների վրա,
- առնետների մոտ իշեմիայով մակաձված տագնապի զարգացման և մոտոր կոորդինացիայի փոփոխությունների վրա:

Գիտական նորույթը

Բացահայտված է PRP-1-ի ուղեղանոթային ակտիվությունը, որն արտահայտվում է վերջինիս գլխուղեղի տեղային արյունահոսքը խթանելու հատկությամբ և առավել ցայտուն արտահայտվում է քնային զարկերակի միակողմանի կապումով պայմանավորված խանգարումների ժամանակ:

Կատարված ուսումնասիրությունները պարզաբանեցին, որ PRP-1-ը ցուցաբերում է հակաազդեգանտային ազդեցություն: Էականորեն չփոխելով նորմալի ցուցանիշներով բնութագրվող արյան թրոմբոցիտների ազդեցացիան՝ այն ընկճում է թրոմբոցիտների բարձր ազդեցացման հատկություններ ցուցաբերող կամավորների արյան ուսումնասիրվող ցուցանիշները:

Գլխուղեղի իշեմիկ խանգարումների պայմաններում PRP-1-ի ներմուծումը կենդանիների մոտ կանխում է միջին ուղեղային զարկերակի կապումով (ՄՈւԶԿ-ով, MCAO) պայմանավորված ուսուցման գործընթացի և հիշողության վատթարացում, ինչպես նաև տագնապի զարգացումը և մոտոր կոորդինացիոն խանգարումները:

Գիտագործնական նշանակությունը

Գլխուղեղի արյան մատակարարումը լավացնելու նոր բացահայտված PRP-1-ի հատկությունը կարող է հիմք հանդիսանալ դիտարկելու ուսումնասիրված պոլիպեպտիդը որպես նոր աղբյուր ուղեղային արյան շրջանառությունը բարելավող միջոցների շարքում:

PRP-1-ի հակաազդեգանտային ազդեցությունը նոր հեռանկարներ է բացում կաթվածով հիվանդների համալիր բուժման նպատակով թրոմբոցիտների ազդեցացիան կանխող նոր միջոցների ստեղծման համար:

Իշեմիայով մակաձված նյարդավարքագծային տեղաշարժերը մեղմելու և ուսուցման գործընթացն ու հիշողությունը խթանելու PRP-1-ի ունակությունները մատնանշում են, որ նոոտրոպ միջոցների զինանոցը կարող է համալրվել նոր նեյրոպեպտիդի հիման վրա ստացված ածանցյալներով:

ԳԼՈՒԽ 1. ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ԱԿՆԱՐԿ

1.1. Գլխուղեղի իշեմիկ վնասումը և նյարդապաշտպան միջամտության թիրախները

Ուղեղանոթային հիվանդությունները և գլխուղեղի կաթվածը հանդիսանում են բժշկության կարևորագույն խնդիրներից, քանի որ չափափաս ազգաբնակչության ընդհանուր մահացության կառուցվածքում գլխուղեղի կաթվածը սկսել է գերիշխել սրտամկանի ինֆարկտին՝ զարգացած երկրներում գրավելով արդեն իսկ երկրորդ տեղը, իսկ համաձայն ԱՀԿ-ի վիճակագրական տվյալների ոչ վարակիչ հիվանդությունների շարքում (որից մահացությունը տարեկան կազմում է 38 մլն. մարդ՝ ընդհանուր մահացությունների 68%-ը) առաջին տեղը և կազմելով 37%, որը մահացության ցուցանիշով տարեկան խլում է 17.5 մլն. կյանք, որից 7 մլն. կազմում են մինչև 70 տարեկան անձինք (Mozaffarian D. et. al., 2015): Ավելին, գլխուղեղի սուր կաթվածը գերակշռում է նաև հաշմանդամության կառուցվածքում՝ կազմելով 76% և նմանատիպ հիվանդների միայն 10-15%-ին է հաջողվում վերադառնալ իրենց նախկին առօրյա կյանքին (Mozaffarian D. et. al., 2016):

Ինսուլտի տարատեսակներն են հանդիսանում իշեմիկը և հեմոռագիկը, որոնք կազմում են ինսուլտների պատճառի համապատասխանաբար 85%-ը և 15%-ը: Առանձնացնում են նաև անցողիկ կամ իշեմիկ գրոհը, որը դիտարկվում է որպես հետագա ինսուլտի զարգացման նախանշան (Raskob G.E. 2014): Իշեմիկ ինսուլտը, որը հանդիսանում է օջախային վնասման հետևանք, կարող է առաջանալ զարկերակի խցանման կամ ստենոզի (օկլյուզիայի) պատճառով (Lee Y., et. al., 2014), մինչդեռ հեմոռագիկ ինսուլտն առաջանում է գլխուղեղում անևրիզմի պատռվածքի կամ գլխուղեղում անոթի պայթելու հետևանքով, որի ժամանակ տեղի է ունենում գլխուղեղը շրջապատող հյուսվածքի արյունալցում՝ բերելով սպոնտան ներգանգային կամ սուբառախնոթիդալ արյունազեղման (Bhatti A.B. et. al., 2013):

Իշեմիկ կաթվածների 45%-ը համարվում է խոշոր կամ մանր անոթների թրոմբի զարգացման, իսկ 20%-ը՝ էմբոլիայի զարգացման հետևանք, մյուս մասն էլ լինում է անհայտ պատճառներով (Hinkle J.L., Guanci M.M. 2007):

Ուղեղանոթային թրոմբն (արյան մակարդուկ) առաջանում է խցանված անոթներում և վերաբերում է այնպիսի զարկերակներին, ինչպիսիք են՝ ներքին քնային զարկերակները, պրոքսիմալ և ներգանգային ողնաշարային զարկերակները, որոնք առաջացնում են ինֆարկտներ այնպիսի բնորոշ տեղերում, ինչպիսիք են՝ բազալ գանգլիաները, թալամուսը, ներքին պատիճը և ուղեղիկը:

Աթերոսկլերոզը, ինչպես նաև աթերոսկլերոտիկ թիթեղիկների առաջացումը ևս հանդիսանում է անոթների օբստրուկցիայի պատճառ, որը բերում է թրոմբոտիկ ինսուլտի առաջացման: Էնդոթելի քայքայումը, որը տեղի է ունենում այդ ախտաբանական փոփոխությունների ժամանակ, խթանում է տարբեր քայքայող վազոակտիվ ֆերմենտների ակտիվացումը: Թրոմբոցիտների միացմանը և անոթի պատին ագրեգացիային հաջորդում է ոչ մեծ թրոմբոցիտային օջախների և ֆիբրինի առաջացումը՝ բերելով հենց թրոմբի գոյացման (Lo E.H. et. al., 2003), որն ամենից հաճախ լինում է արտագանգային և ներգանգային զարկերակներում, երբ անոթներն անհարթ են, և թիթեղիկները սկսում են առաջանալ վնասված անոթի երկայնքով: Ներգանգային անոթի ստենոզը և թիթեղիկի պոկվելը բերում են ուղեղային թրոմբոէմբոլիայի առաջացման: Ներգանգային խոշոր կամ ավելի փոքր զարկերակների թրոմբոէմբոլիկ օկլյուզիան հանգեցնում է օջախային, դեպի ներքև արյունամատակարարման վատթարացման, ինչպես նաև գլխուղեղի կեղևի միկրոանոթներում երկրորդային թրոմբի առաջացման: Ուշագրավ է նաև այն, որ թրոմբի հետևանքով զարգացող կաթվածները 80%-ից 90% հիվանդների մոտ դրսևորվում են կլինիկական նշանների բացակայությամբ, իսկ 10%-ից 20%-ի մոտ բնութագրական է մեկ կամ մի քանի անցողիկ իշեմիկ կաթվածների առաջացումը:

Իշեմիկ կաթվածի հիմնական պաթոլոգիաներն են՝ թրոմբը, էմբոլիան և գլոբալ իշեմիան (Bhatti A.B. et. al., 2013; Raskob G.E. 2014): Իշեմիկ ուղեղանոթային հիվանդությունը հիմնականում առաջանում է թրոմբի, էմբոլիայի կամ տեղային հիպոպերֆուզիայի հետևանքով, որոնք կարող են հանգեցնել արյունամատակարարման խանգարման՝ ներգրավելով իր մեջ մի շարք փոփոխությունների համալիր (Bhatti A.B. et. al., 2013, Raskob G.E. 2014):

Այսպես, դեպի գլխուղեղ մատակարարվող արյան հոսքի երբեմն անգամ վայրկյանների և րոպեների խանգարումը մակաժում է իշեմիկ կասկադը (Dirnagi U.

et. al., 1999): Հաստատված է, որ արյան հոսքի 70%-ից 80% նվազումը (50-55 մլ՝ 100 գ ուղեղային հյուսվածքի հաշվարկով 1ր տևողությամբ) առաջ է բերում սպիտակուցային սինթեզի արգելակում և դիտարկվում է որպես առաջին կրիտիկական մակարդակ: Գլխուղեղի արյունամատակարարման հետագա իջեցումը՝ մինչև 50% նորմայի համեմատ, (35 մլ 100 գ ուղեղային հյուսվածքի հաշվարկով 1ր տևողությամբ) ուղեկցվում է անաէրոբ գլիկոլիզի ակտիվացմամբ, որը բերում է լակտատի մեծացման, լակտատ-ացիդոզի, հյուսվածքային ցիտոտոքսիկ այտուցի զարգացման և դիտարկվում է որպես երկրորդային կրիտիկական մակարդակ (Hossmann K.A., 1994): Արյան հոսքի մատակարարման ավելի խորը նվազումը (20 մլ 100 գ հյուսվածքի հաշվարկով 1ր տևողությամբ) բերում է ԱԵՌՖ սինթեզի արգելակման և դիտարկվում է որպես երրորդային կրիտիկական մակարդակ, իսկ երբ արյունամատակարարումը նորմայի հետ համեմատ կազմում է 20% (10-15 մլ 100 գ հյուսվածքի հաշվարկով 1ր տևողությամբ) տեղի է ունենում բջիջների անդարձելի վնասում, որն արդեն մատնանշում է իշեմիկ խանգարման վերջնական կրիտիկական մակարդակին (Jacewicz M. et. al., 1986): Այս պարագայում տեղ գտած փոփոխությունները հանգեցնում են գլխուղեղի նեյրոնների թթվածնի, գլյուկոզի և այլ կարևոր էներգետիկ աղբյուր հանդիսացող նյութերի մատակարարման խանգարման, որը բերում է ԱԵՌՖ-ի և էներգիայի քանակության սպառման՝ հանգեցնելով իշեմիկ օջախում բջջաթաղանթի դեզինտեգրացիայի և նեյրոնային մահի (Dirnagi U. et. al., 1999): ԱԵՌՖ-ի ցածր մակարդակը խթանում է մնացորդային գլյուկոզի և գլիկոգենի գլիկոլիտիկ տրոհումը, որը բերում է սպիտակուցների և լակտատի կուտակման՝ նպաստելով ներբջջային միջավայրի թթվեցմանը (Dirnagi U. et. al., 1999): Վերջինս հանգեցնում է միտոքոնդրիումներում իոնական պոմպի (Na^+ - K^+ -ԱԵՌՖազա, Ca^{2+} - H^+ ԱԵՌՖ-ազա) աշխատանքի խանգարման (Balkhi H.M. et. al., 2014), որի հետևանքով Na^+ և Ca^{2+} իոնների հակառակ փոխանակման արդյունքում մեծանում է ներբջջային Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- իոնների կոնցենտրացիաները և K^+ իոնի դուրսբերումը: Այս պրոցեսները հանգեցնում են նեյրոնների և աստրոցիտների ապաքնեռացման՝ նպաստելով միջնորդանյութերի ավելցուկ քանակների արտազատմանը (մասնավորապես գլյուտամատի) և որպես հետևանք բջջային էքսայտոտոքսիկությանը (էքսցիտոտոքսիկություն) (Aggarawal A. et. al., 2010):

Իշեմիկ օջախում ընթացող նկարագրված կենսաքիմիական գործընթացները ներառյալ՝ իոնական հաշվեկշռի խանգարումը (հատկապես ներբջջային կալցիումի քանակի կտրուկ աճը) և արտաբջջային տարածքում գլյուտամատի ավելցուկ քանակի ձերբազատումն էքսայտոտոքսիկության (էքսցիտոտոքսիկության) զարգացմամբ, ակտիվացնում են բազմաթիվ ներբջջային մահ առաջացնող նախադրյալներ, ինչպիսիք են՝ միտոքոնդրիումային և ԱՈՒՊ-ի դիսֆունկցիաները, օքսիդացիոն և նիտրոզածին սթրեսը, բերելով հետիշեմիկ բորբոքման, որի արդյունքում զարգանում է նեյրոնային, գլխալ և էնդոթելիալ բջիջների մահ (Balkhi H.M. et. al., 2014):

Օջախի կենտրոնը շրջապատող և որոշակի ժամանակահատվածում համեմատաբար անվնաս պահպանված տարածքի՝ «իշեմիկ կիսաստվերի» կամ «պենումբրայի» ֆունկցիայի անխափանությունը և հյուսվածքի ամբողջականության պահպանումը հանդիսանում է դեղաբանական միջամտության հիմնական թիրախը, քանի որ լինելով գերզգայուն տարբեր ազդակների նկատմամբ ընդունակ է արձագանքել արյունամատակարարման բարելավմանը նպաստող և նյարդապաշտպան հատկություններով օժտված միջոցների ազդեցությանը:

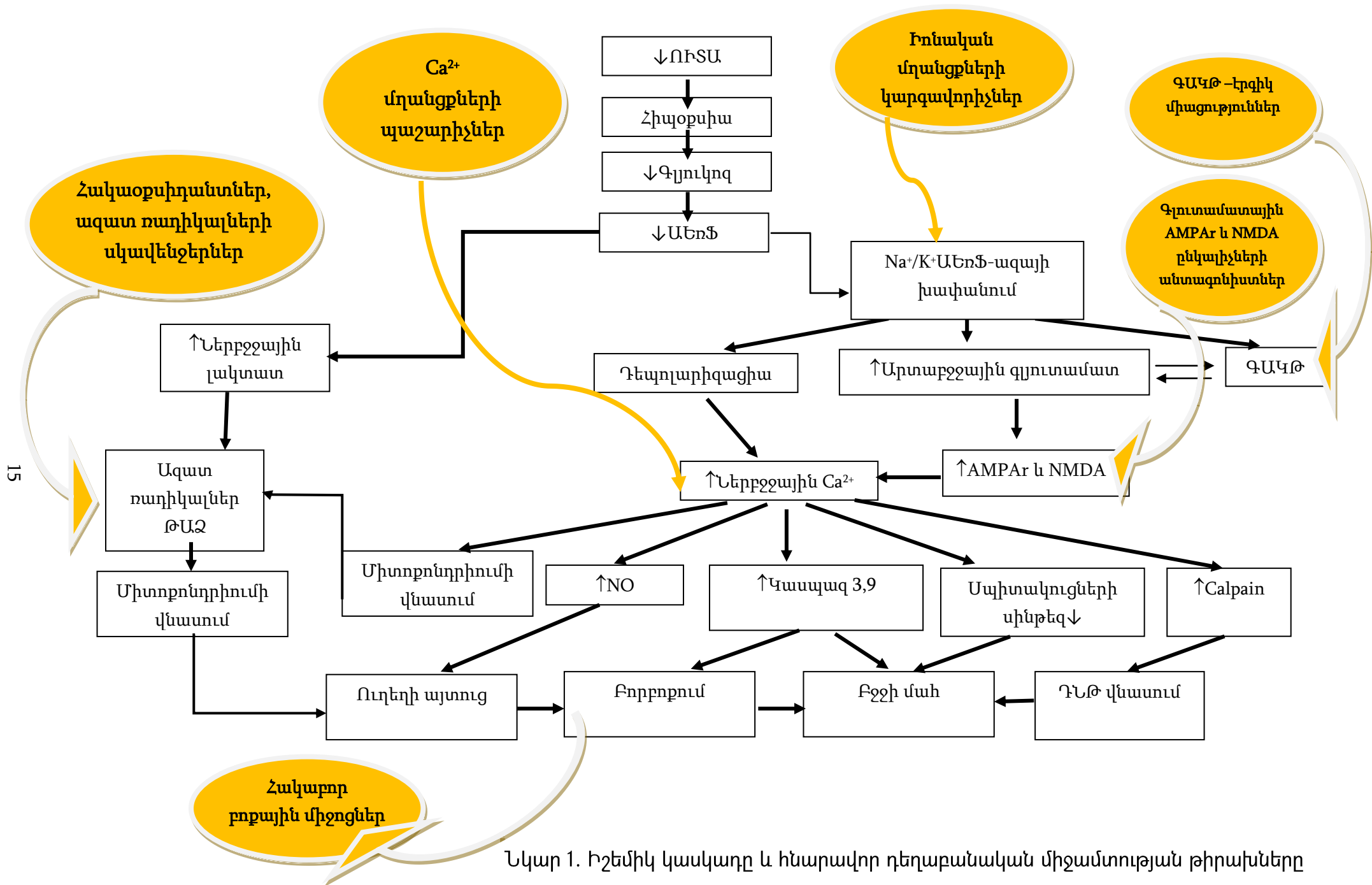
Էքսայտոտոքսիկությունը (էքսցիտոտոքսիկություն) հանդիսանում է դրդող ամինաթթու՝ գլյուտամատի ավելցուկ քանակի և նրա NMDA ենթատիպի ընկալիչների ակտիվացման արդյունք (Aggarawal A. et. al., 2010; Balkhi H.M. 2014), որն իր հերթին մեծացնելով կալցիում և նատրիում իոնների ներհոսքը բերում է հետսինապտիկ նեյրոնների ապաբևեռացմանը: Միտոքոնդրիումները կարող են կարգավորել ներբջջային կալցիումի կոնցենտրացիան, դուրս բերելով վերջինիս (Balkhi H.M. et. al., 2014) ԱԵՌՖ կախյալ մեխանիզմով, որի հետևանքով առաջանում են թթվածնի ակտիվ ձևերը՝ սուպերօքսիդ (O_2^-) և ջրածնի պերօքսիդ (H_2O_2) (Balkhi H.M. et. al., 2014; Lai T.W. 2014), ինչպես նաև ազոտի օքսիդների ակտիվ ձևերն՝ ազոտի մոնօքսիդ (NO) և պերօքսինիտրիտ ($ONOO^-$) (Lai T.W. et. al., 2014; Zaman G.S et. al., 2014):

Փաստորեն խանգարված արյունամատակարարմամբ մակածված իշեմիկ կասկադի հիմնական փուլերն են՝

1. ներբջջային կալցիումի կուտակումը,
2. գլյուտամատային նյարդաթունայնությունը,

3. ներբջջային ֆերմենտների ակտիվացումը (ֆոսֆոլիպազներ, պրոտեազներ, էնդոնուկլեազներ),
4. օքսիդատիվ սթրեսը (լիպիդների գերօքսիդացում, ազոտի օքսիդի և ազատ ռադիկալների կուտակումները խախտում են բջջաթաղանթի ամբողջականությունը),
5. միտոքոնդրիումների ֆունկցիայի ընկճումը,
6. տեղային բորբոքային պատասխանը և միկրոշրջանառության տեղաշարժերը (հեռակա հետևանքներ),
7. ապոպտոզը, հանգեցնելով բջջի մահի (նկ. 1) (Astrup J. et. al., 1977; Shalak L., Perlman J.M. 2004):

Բերված փուլերից յուրաքանչյուրը դիտարկվում է որպես դեղաբանական միջամտության պոտենցիալ թիրախ՝ համապատասխան որոնց հետազոտվել են հսկայական քանակությամբ նյարդապաշտպան միջոցներ՝ կալցիումական մղանցքների պաշարիչներ, գլյուտամատային և NMDA ընկալիչների անտագոնիստներ, ազատ ռադիկալների սկավենջերներ, հակաօքսիդանտներ և այլ:



Նկար 1. Իշեմիկ կասկադը և հնարավոր դեղաբանական միջամտության թիրախները

Կալցիումական մղանցքների պաշարիչներ: Հաշվի առնելով, որ գլխուղեղի իշեմիկ վնասման ժամանակ բջջային մահ առաջացնող մեխանիզմներում մեծ դեր է կատարում նաև ներբջջային կալցիումի քանակի կտրուկ աճը, ուստի նյարդապաշտպան միջոցների ստեղծման խնդրում տրամաբանական էր կալցիումական մղանցքների պաշարիչների կիրառումը: Բազմաթիվ հետազոտություններ հաստատեցին գլխուղեղի արյունամատակարարման վրա կալցիումական մղանցքների պաշարիչների ցուցաբերած արդյունավետությունը, որը պայմանավորված էր նրանով, որ այս դեղերն արգելակում էին կալցիումի մուտքը դեպի բջիջ՝ վերականգնելով դրա մետաբոլիզմը և նվազեցնելով հետիշեմիկ անոթակծկման շրջանում անոթասեղմիչ գործոնների ազդեցությունը: Սակայն այս դեղերի կողմնակի ազդեցությունները, կապված նրանց անոթալայնիչ և դրան հաջորդող զարկերակային թերճնշման հետ, սահմանափակում են վերջիններիս կիրառումը գլխուղեղի իշեմիկ կաթվածի ժամանակ (Hofmeijer J., van Putten M.J. 2012):

Գլյուտամատային և NMDA ընկալիչների անտագոնիստներ: Քանի որ էքսայտոտոքսիկության նախադրյալներից է նաև գլյուտամինաթթվի ավելցուկ քանակի ձերբազատումը, ուստի կարևորվում է գլյուտամատերգիկ համակարգն ընկճող միացությունների դերը, որոնց թվին են պատկանում NMDA ընկալիչների մրցակցային (սելֆոտել, պերզինֆոտել և այլն), ոչ մրցակցային (դեկստրոֆան, կետամին և այլն) և ընտրողական անտագոնիստները (գլիցին, դիզոլցիպին և այլն): Սակայն, այս միացությունների գերակշռող մասը պետք է կիրառվեր իշեմիկ կաթվածի առավել վաղ ժամանակահատվածում, որը կապված էր իշեմիայի սկզբնական փուլում գլյուտամինաթթվի ձերբազատման հետ և տեսականորեն սահմանափակում էր նշված միացությունների կիրառումը «նեղ թեարապևտիկ պատուհանով» (Chen H.S. 2006): Բացի այդ, նշված միացությունները նախակլինիկական հետազոտություններում ցուցաբերում էին բարձր թունայնություն և կլինիկական երկրորդ և երրորդ փուլերում փորձարկված ապտիգանելը միակ ներկայացուցիչն էր, որի հետագա հետազոտությունները սահմանափակվեցին՝ ելնելով դրա արդյունավետության բացակայությունից և մահացության բարձր ցուցանիշից (Lai T.W. et. al., 2014):

Գլյուտամատային ընկալիչների ներհակորդների կիրառումը բժշկության մեջ սահմանափակված էր դրանց բարձր թունայնության պատճառով և հիմք հանդիսացավ գլյուտամատի սինթեզն ընկճող և նախասինապսներում զերբազատումն արգելակող միացությունների ստեղծման համար, որոնք սակայն ևս սահմանափակվեցին նախակլինիկական հետազոտություններով, չցուցաբերելով բավականաչափ արդյունավետություն և անվտանգություն՝ հետագա կլինիկական փորձարկումների համար (Gan'shina T.S. et. al., 2016):

Ազատ ռադիկալների սկավենջերները, ապոպտոզի ինհիբիտորները և հակաօքսիդանտային հատկությամբ օժտված դեղերը, համաձայն վերջիններիս փորձարկման արդյունքների (Shirley R., et. al. 2014; Ren Y. et. al., 2015) կա՛մ արդյունավետ են, կա՛մ էլ վերջիններիս վերաբերյալ տվյալները հակասական են:

ԳԱԿԹ-երգիկ նյարդապաշտպան ազդեցություն: Իշեմիկ խանգարումների զարգացման մեխանիզմներում կարևոր նշանակություն է տրվում արգելակող միջնորդանյութ հանդիսացող ԳԱԿԹ-ի և գլյուտամատի միջև զարգացող հավասարակշռության խախտումը դեպի գլյուտամատի առաջացման գերիշխումը (Bhattacharya P. et. al., 2014): Գրականության վերլուծությունը վկայում է, որ գլխուղեղի իշեմիկ խանգարումների պայմաններում դիտարկվում են ԳԱԿԹ-ի նյութափոխանակության լուրջ տեղաշարժեր, ինչի հիման վրա փորձարարական մոդելներում ապացուցվել է ԳԱԿԹ-երգիկ միացությունների նյարդապաշտպան ազդեցությունը (Bhattacharya P. et. al., 2014; Mirzoian R.S. et. al., 2015):

Ինչպես վկայում են բազմաթիվ նախակլինիկական և կլինիկական հետազոտությունների արդյունքները ԳԱԿԹ ընկալիչների ագոնիստները (միդազոլամ, կլոմեթիազոլ) հանդիսանում են անվտանգ և արդյունավետ նյարդապաշտպան միջոցներ (Liu J., Wang L.N. 2014), որի նոր ածանցյալների որոնումը շարունակում է մնալ արդի հիմնահարցերից մեկը:

1.2. Պոլիպեպտիդային միացությունները՝ որպես ուղեղանոթային և նյարդապաշտպան ակտիվությամբ օժտված դեղերի աղբյուր

Պեպտիդային բնույթ ունեցող միացությունների մանրակրկիտ ուսումնասիրումը և նոր հատկությունների բացահայտումը ցույց տվեցին, որ դրանք մեծ հետաքրքրություն կարող են ներկայացնել՝ որպես տարբեր պաթոլոգիաների այդ թվում ուղեղային արյան շրջանառության խանգարումների և իշեմիկ վնասվածքների բուժման դեղերի ստեղծման աղբյուր:

Ներկայումս հայտնաբերված և ուսումնասիրված ավելի քան 7000 բնական ծագմամբ պեպտիդներից շատերը հանդես են գալիս որպես չափազանց կարևոր ֆիզիոլոգիական գործընթացների կարգավորիչներ՝ հանդես գալով որպես հորմոններ, միջնորդանյութեր, աճի գործոններ, իոնային անցուղիների լիգանդներ, հոմեոստազը պահպանող գործոններ (Giordano C. et. al., 2014; Robinson S.D. et al., 2014):

Հաստատված է, որ էնդոգեն պեպտիդներն օրգանիզմում առաջանում են կենսաակտիվ էնդոգեն պեպտիդային նախանյութերից կամ պրոտեոլիտիկ փոխարկման արդյունքում, կամ էլ՝ ազատ ամինաթթուների կենսասինթեզի ճանապարհով (Pert C.B. et. al., 1985; Ueda H. et. al., 1987; Prasad C., 1995): Հատկանշական է նաև այն, որ օրգանիզմում ընթացող տարբեր գործընթացներում պոլիպեպտիդներն իրենց մասնակցությունը դրսևորում են հատուկ ընկալիչների շնորհիվ, որոնք տեղակայված են բջջի պլազմատիկ թաղանթում, ընդ որում յուրաքանչյուր պեպտիդի համար կարող են համապատասխանել նույնիսկ մի քանի ընկալիչներ (Meyer R.C. et. al., 2013; Geloso M.C. et. al., 2015):

Ուշադրության է արժանի այն հանգամանքը, որ այսօր բժշկական պրակտիկայում հայտնի են ավելի քան 80 պեպտիդային բնույթի միացություններ, ընդ որում դրանցից 60-ն երաշխավորվել են FDA-ի (US Food and Drug Administration) կողմից և կիրառվում են տարբեր հիվանդությունների բուժման համար (Fosgerau K., Hoffmann T. 2015): Պեպտիդային միացություններից ավելի քան 150-ը գտնվում են կլինիկական փորձարկումների, իսկ 500-ից ավելին՝ նախակլինիկական փորձարկումների փուլում (Kaspar A.A., Reichert J.M. 2013): Հաշվի

առնելով պեպտիդային բնույթ ունեցող միացությունների գրավիչ դեղաբանական դիտարկումները և իրենց բազմաբնույթ հատկությունները՝ վերջիններս ներկայացնում են գերազանց մեկնարկ թերապևտիկ միջոցների նախագծման համար (աղ. 1):

Պեպտիդային միացություններին բնորոշ է մի շարք առանձնահատկություններ. շնորհիվ իրենց յուրահատուկ կառուցվածքի՝ ցուցաբերում են ազդեցության բարձր ընտրողականություն և մինիմալ խաչաձև ռեակտիվականություն իրենց թիրախների հանդեպ, բացի այդ նրանք արագ մետբոլիզվում են էնդոգեն պեպտիդազների մասնակցությամբ և չեն կուտակվում որևէ օրգան համակարգում, բնութագրվում են ցածր տոքսիկականությամբ և չեն առաջացնում դեղային փոխազդեցություն՝ ի տարբերություն սինթետիկ ծագման դեղերի (Cervia D., Gasini G. 2013):

Սակայն, այս ամենի հետ մեկտեղ, պեպտիդային միացություններն ունեն նաև որոշ թերություններ, որոնցից են՝ ցածր քիմիական և ֆիզիկական կայունությունը, որը մի շարք խնդիրներ է առաջացնում համապատասխան դեղաձևի ստեղծման և նրա հետագա պահպանման համար: Բացի այդ կարճ է դրանց կիսադուրսբերման ժամանակահատվածը, որը կապված է արագ երիկամային կլիրենսի կամ պեպտիդազների միջոցով արագ քայքայման հետ, ինչը խոչընդոտ է հանդիսանում վերջիններիս պերօրալ ճանապարհով ընդունելու համար (McGonigle P., 2012): Ընդհանուր առմամբ պեպտիդային միացությունների առավելությունները, թերությունները և որպես դեղամիջոցներ կիրառման հեռանկարներն ամփոփված են աղյուսակ 1-ում:

Գլխուղեղի արյունաշրջանառության կարգավորման մեխանիզմներում անհերքելի է էնդոգեն կենսաբանորեն ակտիվ միացությունների դերը (Gulbenkian S. et. al., 2001): Բացի այդ, որոշ պաթոլոգիաների ախտաճանության մեջ, ինչպիսիք են՝ միգրենը, սուբարախնոիդալ հեմոռագիկ ուղեղային վազոսպազմը և այլն (Prodan F. et. al., 2012) հաստատված է նեյրոպեպտիդների մասնակցությունը:

**Բնական ծագման պեպտիդային միացությունների
առանձնահատկությունները և կիրառման հեռանկարները**

(Fosgerau K., Hoffmann T. 2015)

Առավելություններ • Բարձր ընտրողականություն և ակտիվություն • Բարձր անվտանգություն և դյուրատարություն • Կանխատեսելի մետաբոլիզմ • Էնդոգեն միացություններին կառուցվածքային նմանություն • Կումուլյացիայի բացակայություն • Ցածր թունայնություն	Թերություններ • Քիմիական (հիդրոլիզ, օքսիդացում) և ֆիզիկական անկայունություն • Սոսնձման հավանականություն • Կարճ կիսադուրսբերման ժամանակ • Per os ընդունման սահմանափակում • Թաղանթային ցածր թափանցելիություն
Հեռանկարներ • Սպիտակուցային նոր պեպտիդների հայտնաբերում • Ազդեցության էնդոգեն թիրախի առկայություն • Բազմաֆունկցիոնալ պեպտիդների և կոնյուգատների դիզայն • Նոր անվտանգ դեղերի ստեղծման հեռանկար	Կիրառության ոլորտ • Մետաբոլիկ հիվանդություններ • Ուղեղանոթային խանգարումներ • Ուռուցքաբանություն • Շաքարային դիաբետ • Գիրություն • Բորբոքում • Բիոմարկերների ախտորոշում • Պատվաստանյութեր

Վերը բերված ուսումնասիրությունները հիմք հանդիսացան մի շարք դեղերի ստեղծման համար, որոնք, համաձայն ապացուցողական բժշկության տվյալների, ցուցաբերում են բավարար բարձր արդյունավետություն տարբեր հիվանդությունների բուժման համար: Դրանցից են.

- **Կիտորոֆինը**՝ լայնամասշտաբ ուսումնասիրված դիպեպտիդը (L-թիրոզիլ-L-արգինին), ունի կարևոր նշանակություն ցավային ազդակների կարգավորման գործում՝ նպաստելով մեթենկեֆալինների ձերբազատմանը ԿՆՀ-ում (Ueda H., Inoue M., 2000): Այն մտնում է մի շարք ցավազրկող ազդեցությամբ օժտված դեղային համակցումների կազմի մեջ:

- **Կարնոզինը և հոմոկարնոզինը** (β-ալանիլ-L-հիստիդին և հիստիդին պարունակող գծային կառուցվածքով պեպտիդներ) հանդիսանում են կարևորագույն բուֆերներ, հակաօքսիդանտներ և իոն խելատագոյացնող էնդոգեն միացություններ (Min G. et. al., 2008; Ok-Nam Bae et. al., 2013):

- **Կորտեքսինը**՝ գծային և ցիկլիկ կառուցվածքով պեպտիդների խառնուրդ է, որն անջատվել է կաթնասունների ուղեղային հյուսվածքից և ունի մեծ կիրառություն հատկապես ուղեղանոթային խանգարումների կարգավորման ժամանակ (Ryzhak A.P. et. al., 2015):

- **Օրեկսին Ա:** Այս նոր էնդոգեն ծագման նեյրոպեպտիդն իր մասակցությունն է ցուցաբերում տարբեր ֆիզիոլոգիական գործընթացների կարգավորման մեջ՝ ներառյալ գլուկոզի մետաբոլիզմը: Փորձարարական արդյունքները վկայում են այն մասին, որ այս նեյրոպեպտիդը կարող է նվազեցնել նյարդային վնասումները՝ գլյուկոզի նկատմամբ հետիշեմիկ տոլերանտությունն իջեցնելու շնորհիվ (Harada Sh. et. al., 2012):

- **Ցերեբրոլիզինը:** Այս պրեպարատն իրենից ներկայացնում է խոզերի գլխուղեղից անջատված սպիտակուցային հիդրոֆատ, որը պարունակում է 85% ամինաթթուներ և 15% պեպտիդներ: Պրեպարատի ազդեցությունը հիմնականում պայմանավորված է նրա կազմի մեջ մտնող պեպտիդներով, որոնց զանգվածը կազմում է 10000 Դա: Պեպտիդները նվազեցնում է ալերգիկ ռեակցիաների առաջացման վտանգը և ապահովում միացության լավ թափանցելությունը ՀԷՊ-ով (Հեմատոէնցեֆալիկ պատնեշ): Հիմնական ազդեցության մեխանիզմը պայմանավորված է գլխուղեղի էներգետիկ մետաբոլիզմի կարգավորմամբ, նեյրոտորֆիկ ազդեցությամբ և էնդոգեն աճի գործոնների ակտիվության խթանմամբ, համակարգային նեյրոպեպտիդների և միջնորդանյութերի հետ փոխազդեցությամբ: Փորձարարական ինսուլտի և Ալցհեյմերի հիվանդության մոդելներում հետազոտության տվյալները վկայում են այն մասին, որ ցերեբրոլիզինը խթանում է նեյրոգենեզը (Rockenstein E. et. al., 2011):

- **Կալցիտոնին գեն ասոցացնող պեպտիդը (ԿԳԱՊ):** Կազմված է 37 ամինաթթվային մնացորդներից և պեպտիդների այն ընտանիքից է, որոնց թվին են պատկանում նաև կալցիտոնինը, ադրենոմոդուլինը և ամիլինը: Այն բաշխված է

ԿՆՀ-ում, ինչպես նաև պերիֆերիկ նյարդային համակարգում (Brain S.D., Cambridge H. 1996): ԿԳԱՊ-ներ պարունակող նյարդերը նյարդավորում են օրգանիզմի տաբեր հյուսվածքների արյունատար անոթները՝ դրսևորելով իրենց որպես հզոր անոթալայնիչներ: Չնայած դեռևս լիովին բացահայտված չէ վերջիններիս դերը սիրտ-անոթային կարգավորման հարցում՝ սակայն ապացուցված է, որ ուղեղային անոթները լիովին հագեցած են ԿԳԱՊ-ներ պարունակող նյարդային հյուսվածքներով, որոնք դրսևորում են իրենց ազդեցությունը որպես ներգանգային անոթալայնիչներ (Ponyer D.R., 1992), բացի այդ մասնակցում են նաև ցավի ձևավորման մեխանիզմներում (Hill R.G., Oliver K.R. 2007): Տարբեր գիտական աղբյուրներ վկայում են այն մասին, որ նեյրոպեպտիդներն ակտիվ մասնակցություն ունեն նաև վարքագծի և հատկապես տագնապի դրսևորման մեխանիզմներում (Landgraf R., 2001):

- **Նեյրոպրոֆիկ գործոնները, աճի գործոնները:** Գլխուղեղի հյուսվածքի իշեմիկ վնասման մեխանիզմներում մեծ նշանակություն ունեն տրոֆիկ գործոնների անբավարարությունը, որի քանակը որոշիչ է ապոպտոզի և հակաապոպտոզային գործընթացների հավասարակշռության պահպանման համար՝ մասնակցելով ուղեղային հյուսվածքի ռեպարացիային: Գլխուղեղի բնական պաշտպանողական մեխանիզմներից է հանդիսանում ինսուլտի առաջիկա թրոֆիկ գործոնների սինթեզը: Սակայն, ավելի խորը օջախային վնասումների ժամանակ տրոֆիկ գործոնների բարձր քանակությունը նպաստում է նյարդային հյուսվածքի կառուցվածքի ամբողջականության պահպանմանը (Gwag B.J. et. al., 1999): Աճի գործոններն էնդոգեն պոլիպեպտիդներ են, որոնք դրսևորում են նյարդապաշտպան, ռեպարատիվ և պրոլիֆերատիվ ազդեցություններ (Solev I.N. et. al., 2013): Փորձարարական իշեմիայի պայմաններում նյարդային աճի գործոնը (NGF) բարձրացնում է նեյրոնների կենսունակությունը՝ խթանելով բջջի էներգետիկ փոխանակությունը և սպիտակուցի սինթեզը (Fantacci C. et. al., 2013): Սակայն մոլեկուլի չափազանց մեծ չափսերի հետևանքով այն չի թափանցում արյունուղեղային պատնեշը, ինչը սահմանափակում է նրա՝ որպես թերապևտիկ միջոցի կիրառումը: Ավելի ուշ հայտնաբերվեց նաև ֆիբրոբլաստների աճի գործոնի (bFGF), BDNF-ի, հակաբորբոքային ցիտոկինի TGF- β_1 -ի (β_1 -փոխակերպման աճի գործոն), ինսուլինանման աճի գործոնի

(IGF), նյարդապաշտպան ազդեցությունները կեղանինների ֆոկալ իշեմիայի մոդելում (Larphaveesarp et. al., 2015): Կատարված փորձերում ցուցադրված է վերջիններիս իշեմիակ զոնայի ծավալը 30-ից մինչև 50% կրճատելու ունակությունը, ինչպես նաև ռեպարատիվ և պրոլիֆերատիվ ազդեցությունը:

- **Էրիթրոպոետինը:** Էրիթրոպոետինը (EPO) իրենից ներկայացնում է 30.4-ԿԴա զանգվածով գլիկոպրոտեին, որը գլխավորապես առաջանում է զարգացող պտղի լյարդում, ինչպես նաև երիկամներում և նորածինների լյարդում հետծննդաբերական շրջանում (Semenza G.L. et. al., 1994): Էրիթրոպոետինների և նրանց համապատասխան ընկալիչների ձերբազատումը մեծ քանակներով իրականանում է գլխուղեղում հղիության և հետծննդաբերական շրջանում, որից հետո նրանց քանակն իջնում է մինչև նորմայի սահման (Statler P.A. et. al., 2007): Ուղեղային հյուսվածքի վնասման ժամանակ, հատկապես հիպոքսիայի և իշեմիայի վնասման տարբեր ժամանակահատվածում տեղի է ունենում էրիթրոպոետինների և նրանց համապատասխան ընկալիչների էքսպրեսիա (Wojtowicz T., Mozrzymas J.W. 2008; Xiong T. et. al., 2011): Ինչպես ցույց են տալիս *in vitro* և *in vivo* փորձարարական արդյունքները, EPO-ն կարգավորում է ապոպտոզային և հակաապոպտոզային գործոնների հարաբերակցությունը միտոքոնդրիալ սպիտակուց կախյալ մեխանիզմով: EPO-ը նպաստում է վնասված հյուսվածքի վերականգնմանը՝ մեծացնելով միկրոգլիայում Bcl/Bax (ապոպտոզի ընկճում/խթանում) հարաբերությունը, ընկճելով ապոպտոզը խթանող կասպազներ 3 և 9-ի ակտիվությունը: Բացի այդ, այն նպաստում է բջիջների կենսունակության բարձրացմանը, խթանում է նեյրոգենեզը և ցուցաբերում է հակաբորբոքային հատկություն (Gonzalez F.F. et. al., 2013): Իշեմիկ ինսուլտի փորձարարական մոդելում հաստատված է դրա իշեմիկ հատվածի ծավալը կրճատելու, մորֆոլոգիական և վարքագծային շեղումները շտկելու, ինչպես նաև կոգնիտիվ ֆունկցիան բարելավելու ունակությունը (Gonzalez F.F. et. al., 2013; Ohls R.K. et. al., 2014): Կատարվել են նաև կլինիկական հետազոտություններ՝ համեմատական անցկացնելով FDA-ի կողմից միակ երաշխավորված rTPA-ի հետ և ցույց է տրվել, որ վերջինս դրսևորում է իր ազդեցությունն իշեմիային հաջորդող 6, 24, և 48 ժամերի ընթացքում, մինչդեռ rTPA-ի մոտ թերապևտիկ պատուհանը 4.5 ժամ է (Sargin D. et. al., 2010):

- **Անոթային էնդոթելիալ աճի գործոնը:** Անոթային էնդոթելիալ աճի գործոնները (VEGFs) ցիտոկիններ են, որոնք խթանում են անգիոգենեզը: Այս ցիտոկինների թվին են պատկանում VEGF-A-ն, VEGF-B-ն, VEGF-C-ն, VEGF-D-ն և ընկերքային տիպի աճի գործոնը՝ (PlGF) իրենց համապատասխան երեք VEGF ընկալիչներով (VEGFR-1, VEGFR-2, VEGF-3): VEGF-A հանդիսանալով արտերիոգենեզի գլխավոր միջնորդանյութերից, առնետների ֆոկալ իշեմիայի մոդելում մեծացնում է հետինսուլտային անգիոգենեզը և նվազեցնում ինֆարկտի ծավալը՝ (Yang J. et. al., 2014; Quittet M.S. et. al., 2015) խթանելով իշեմիկ հատվածի սնուցման համար կարևորագույն դեր ունեցող կոլատերալ անոթների զարգացումը և արյունամատակարարման ուժեղացումը (Wu K. et. al., 2015): Այս նյութի կլինիկական հետազոտությունները շարունակվում են (Matsuo R. et. al., 2013):

- **Ուղեղային նեյրոտրոֆիկ գործոնը:** BDNF-ը 13 ԿԴա զնգվածով սպիտակուց է, որն անջատվում է ի պատասխան նյարդային գրգիռների հետսինապտիկ թաղանթներում (Waterhouse E.G., Xu B. 2009): BDNF-ը կապվում է երկու թաղանթային ընկալիչների հետ լիգանդ-սպեցիֆիկ ընկալիչի՝ տրոպոմիոզին կինազ Բ-ի (TrkB) և ընդհանուր նեյրոտրոֆիկ գործոնի ընկալիչի՝ ցածր խնամակցությամբ նյարդային աճի գործոնի ընկալիչ (LNGFR)-ի հետ (Rivera C. et. al., 2002): BDNF-ը կապվում է TrkB-ի հետ, դիմերացվում է և ֆոսֆորիլացվում՝ նպաստելով նյարդային բջիջների գոյատևմանը, և ակտիվացնելով Ras-ERK-ը (արտաբջջային ազդակներով կառավարվող պրոտեին կինազ), PI3K-ը (ֆոսֆատիդիլինոզիտոլ 3-կինազ) և PLCγ-ը (ֆոսֆոինոզիտիդ ֆոսֆոլիպազ C), մասնակցում է նյարդային բջիջների դիֆերենցմանը: BDNF-ը գլխուղեղի իշեմիկ վնասման պայմաններում համարվում է բջիջների գոյատևման և վերականգնման կարևորագույն միջնորդանյութերից (Pikula A. et. al., 2013; Ramos-Cejudo J. et. al., 2015): Բազմաթիվ հետազոտությունների արդյունքներ վկայում են այն մասին, որ սուր իշեմիկ ինսուլտի ժամանակ BDNF-ով բուժումը նվազեցնում է ինֆարկտի ծավալը և նշանակալիորեն բարելավում է վարքագծային շեղումները, այն վերականգնում է փորձարարական կենդանիների մոտ զգայական, շարժողական ակտիվությունը և կոգնիտիվ ֆունկցիան (MacLellan C.L. et. al., 2011; Kim G. 2013; El-Tamawy M.S. et. al., 2014):

- **Ինսուլինանման աճի գործոն 1-ը**: Ինսուլինանման աճի գործոն-1-ը (IGF-1) 7.64-կԴա զանգվածով պեպտիդ է, որն ապահովում է զարգացող օրգանիզմի աճն, իսկ մեծերի մոտ մասնակցում անաբոլիկ գործընթացներին (Kooijman R. 2006): Ապացուցված է IGF-1-ի նշանակությունը նյարդային հյուսվածքի զարգացման, պաշտպանման և գոյատևման համար (Lee W.H., Bondy C. 1993): In vitro փորձարարական տվյալները վկայում են այն մասին, որ IGF-1-ն ընկճում է գլուտամատով, ազոտի օքսիդով և ջրածնի պերօքսիդով հարուցված ապոպտոզը՝ պաշտպանելով ինչպես զգայական, այնպես էլ շարժողական նեյրոններն էքսայտոտոքսիկությունից և օքսիդատիվ սթրեսից: Այսպես, պեպտիդի անմիջապես ներփորձային ներմուծումը հասուն առնետների և նորածին ոչխարների նյարդային հյուսվածքի մեջ՝ իշեմիայով մակածված հիպոքսիայի պայմաններում, կանխում է նեյրոնների վնասումը: Նշված ազդեցությունը կրում է դեղաչափ-կախյալ բնույթ՝ կորի գմբեթանման արտահայտվածությամբ (Johnston B.M. et. al., 1996): IGF-1-ն իշեմիայի մոդելում նպաստում է կենդանիների շարժողական և զգայական ֆունկցիաների բարելավմանը (Chang H.C. et. al., 2013): IGF-1-ի ազդեցությունը փորձարկված է կլինիկական հետազոտություններում՝ ամիոտրոֆիկ ծայրային և տարատեսակ սկլերոզների, ինչպես նաև Ալցհեյմերի հիվանդությունների ժամանակ (Tang J.H. et. al., 2014; Okazaki H. et. al., 2014):

Բերված գրականության տվյալները վկայում են այն մասին, որ էնդոգեն նեյրոպեպտիդները, ինչպես նաև նրանց նմանակները, ԿՆՀ խանգարումների և հատկապես վնասումների ժամանակ, վերականգնում են նյարդային հյուսվածքը՝ պաշտպանելով հետագա վնասումից և նպաստում են նեյրոնների գոյատևմանը հատկապես ուղեղանոթային վնասումների ժամանակ: Հաշվի առնելով այս ամենը՝ շարունակվում է էնդոգեն ֆիզիոլոգիապես ակտիվ պեպտիդային բնույթի միացությունների փնտրտուքը՝ նոր, արդյունավետ թերապևտիկ միջոցների ստեղծման, նախագծման և կլինիկական կիրառման համար:

1.3. Պրոլինով Հարուստ պոլիպեպտիդ-1-ի (PRP-1) կենսաբանական դերը և ազդեցության առանձնահատկությունները

Ակադեմիկոս Ա.Ա. Գալոյանի և աշխատակիցների կողմից (Галоян А.А., 1962; Galoyan A.A., 1997) հիպոթալամուսի *N. Paraventricularis* (NPV) և *N. Supraopticus* (NSO) կորիզներում, որտեղ ինչպես հայտնի է սինթեզվում են մի շարք բարձր ակտիվությամբ օժտված պեպտիդներ, ինչպիսիք են՝ վազոպրեսինն ու օքսիտոցինը (Theodosius D.T. et. al., 1986; Landgraf R. 2001; Landgraf R., Neumann I.D. 2004) անջատվել և նույնականացվել են նեյրոհորմոնային և իմունոմոդուլատոր ազդեցություն ցուցաբերող միացությունների շարք (Galoyan A.A., 1997), որոնք բաժանվեցին հետևյալ խմբերի.

Կարդիոակտիվ միացություններ՝

ա) պսակային անոթալայնիչ նեյրոհորմոններ (K, C, G ու նրանց բազմազան ձևերը),

բ) պսակային անոթասեղմիչ պեպտիդներ և սպիտակուցներ, որոնք հանդիսանում են արյան շրջանառության և սիրտ-անոթային համակարգի յուրահատուկ կարգավորիչներ,

գ) պեպտիդային հորմոններ՝ լիբերիններ:

Իմունոմոդուլատոր հատկություն ցուցաբերող միացություններ՝ (Gurvits B.Ya., Galoyan A.A. 2001), թիմոզին β_1 -ը (ուբիկվիտին), թիմոզին β_4 -ը (1-39), ինտերլեյկինները (IL-1a, IL-1b, IL-2, IL-6, TNF և այլն), միելին սպիտակուցի մասնիկները (Galoyan A.A. et. al., 1992; Galoyan A.A., 1997; Abrahamyan S.S. et. al., 1998): Ընդ որում նշված միացություններն անջատելուց և դասակարգելուց հետո առանձնացվել են հետևյալ խմբերը.

ա) կալմադուլին կախյալ ֆերմենտի ակտիվության խթանիչներ (ՖԴԷ, ցԱՄՖ և այլն), որոնք դրսևորում են իրենց ազդեցությունն առանց կալցիումի իոնների և կալմադուլինի մասնակցության: Հատկանշական է նաև այն, որ իրականացվել է այսպես կոչված C-մոդուլինների (C-մոդուլիններ 1, 2 և 3-ի), մասնավորապես C-մոդուլին 3-ի (նույն թիմոզին β_4 (1-39)) առաջնային կառուցվածքի հայտաձուլ (Galoyan A.A. et. al., 1992),

բ) կալմադուլին կապող կալցիում անկախ միաժամանակ կալմադուլին կախյալ ֆերմենտների խթանիչներ (ՖԴԷ, ցԱՄՖ, կալցինեյրին և այլն), որոնք իրենցից ներկայացնում են հեմոգլոբինի մասնիկներ (Abrahamyan S.S. et. al., 1998),

գ) կալմադուլին կապող սպիտակուց՝ թիմոզին β1 (ուբիկվինտին) (1-74) և (1-76)-ը, որը դրսևորում է իր ազդեցությունը 0,2 մմոլ կալցիումի առկայության պայմաններում (Gurvits B.Ya., Galoyan A.A. 2001):

Ուսումնասիրությունների հետագա զարգացումն Ա.Ա. Գալոյանին և համաշխատակիցներին (Beckman Research of the City of Hope, USA) հնարավորություն ընձեռեց խոշոր եղջերավոր անասունների հիպոթալամուսից հայտնաբերված C-մոդուլիններից՝ C-մոդուլին 1-ից, առանձնացնել նոր դիպեպտիդ՝ L-արգինիլ-L-ֆենիլալանինը (Arg-Phe) (Galoyan A.A. et. al., 1992): Բացի վերը նշված միացությունների առաջնային կառուցվածքների հայտածումը և վերջիններիս դերի ուսումնասիրումը հեղինակներն առաջին անգամ խոշոր եղջերավոր անասունների նեյրոհիպոֆիզի և հիպոթալամուսի *N. Paraventricularis* և *N. Supraopticus* նեյրոսեկրետոր հատիկներից անջատեցին, բացահայտեցին և ուսումնասիրեցին նեյրոհորմոն պեպտիդների նոր խումբ՝ «նոր ընտանիք», պրոլինոլ հարուստ պոլիպեպտիդներ, որոնք օժտված էին իմունոտրոպ և արտահայտված ցիտոկինային հատկություններով (Галоян А.А., Гурвич Б.Я. 1992; Маркосян К.А., и др. 1999; Galoyan A.A. 2004; Galoyan A.A. 2008): 10-15 ամինաթթվային մնացորդներից բաղկացած այդ պոլիպեպտիդների «նոր ընտանիք»-ի կազմի մեջ մտնում են 4 պրոլինային ամինաթթվային մնացորդներ (որտեղից էլ առաջացել էր անունը՝ պրոլինոլ հարուստ պոլիպեպտեդ), որոնց N-ծայրային ամինաթթուն ազատ է, իսկ C-ծայրային ամինաթթուն՝ թիրոզինն է:

Հայտնաբերված է նաև այն, որ ինչպես PRP-ն (Proline Rich Polypeptide), այնպես էլ հիպոթալամուսի նույն նեյրոսեկրետոր հատիկներում՝ NPV և NSO-ում պարունակող օքսիտոցինը և վազոպրեսինն առաջանում են ժառանգական նախագրծված ընդհանուր նախանյութ՝ նեյրոֆիզին-վազոպրեսին ասոցացված սպիտակուցից (ՆՎԱՍ): PRP-ների առաջացումը ՆՎԱՍ-ից տեղի է ունենում C-ծայրային գլիկոպրոտեինի պրոտեոլիզի ճանապարհով, որի ժամանակ 39 ամինաթթվային մնացորդից կազմված հատվածն արքունալ փոխադրման ճանապարհով՝ NSO և NPV

նեյրոնների մարմնից անցնում է նեյրոհիպոֆիզ, իսկ այնտեղից էլ՝ ընդհանուր արյան շրջանառություն:

Հայտնաբերված PRP-ների ընտանիքի մեջ մտնող նոր ամինաթթվային միացությունը՝ PRP-1-ը (Proline Rich Polypeptide-1), կազմված է հետևյալ հաջորդական առաջնային կազմով ամինաթթվային մնացորդներից (Galoyan A.A., 2000; Galoyan A.A. 2004).

Հետազայում բացահայտվեց նաև կենդանիների հիպոթալամուսում արտադրվող նոր Gx-NH₂-ի նմանակը, որը բաղկացած էր 10 ամինաթթվային մնացորդներից և ուներ հետևյալ ամինաթթվային հաջորդականությունը *APEPAEPAQP*, որտեղ վերջին պրովինն ամիդացված էր (*Патент А. Галояна N. 1951 А2, № АМ 20060142, РА*):

Հետագա աշխատանքներում նոր հայտնաբերված PRP-1-ը նույնականացվել է նաև մարդու հիպոթալամուսում, որի կառուցվածքը տարբերվում էր խոշոր եղջերավոր անասունների գլխուղեղից անջատված պոլիպեպտիդի կազմից, մասնավորապես երեք ամինաթթվային մնացորդներով և ուներ հետևյալ առաջնային կառուցվածքը՝

Ala-Gly-Ala-Pro-Gln-Pro-Phe-Gln-Pro-Ala-Gln-Pro-Asp-Ala-Tyr:

Այնուհետև օգտագործելով պոլի- և մոնոկլոնալ հակամարմինների իմունոհիստոքիմիական մեթոդը՝ հնարավոր դարձավ ցույց տալ PRP-1-ի տեղաբաշխումն ինչպես գլխուղեղի միկրոկառուցվածքներում (հիմնականում NSO և NPV հատիկներում), այնպես էլ մարդու և խոշոր եղջերավոր անասունների ոսկրածուծի հատիկավոր բջիջների ցիտոպլազմայում (Абрамян С.С. и др., 2003): Բացի դրանից՝ PRP-1-ը բացահայտվել է նաև թիմուսում, լիմֆատիկ հանգույցների բջիջներում: Բերված փաստերի հիման վրա ենթադրվեց, որ հենց հատիկավոր բջիջներն են հանդիսանում PRP-1-ի հիմնական կրողները և աղբյուրը (Галоян А.А. и др., 2001):

Մեծ նվաճում հանդիսացավ PRP-1-ի վերարտադրումը լաբորատոր պայմաններում, դրա հստակ հաստատված ամինաթթվային կազմի և հաջորդականության հիման վրա (Galoyan A.A. 2003): Հետազայում կատարված տարբեր փորձերի արդյունքները ցույց են տվել, որ PRP-1-ի սինթետիկ նմանակներն իրենց կենսաբանական հատկություններով և ֆիզիկոքիմիական բնութագրերով ոչնչով չեն զիջում

օրգանիզմում առկա PRP-1-ին: Տարբեր փորձերում, լաբորատոր կենդանիների մոտ, ցուցադրվել է նաև, որ վերջինս գրեթե զուրկ է թունայնությունից (Alexanyan M.K. et. al., 2010): Այս ամենը հիմք հանդիսացան ուսումնասիրելու PRP-1-ի հատկությունները և կիրառման հեռանկարները:

Բազմաթիվ հետազոտությունների արդյունքներ վկայում են այն մասին, որ PRP-1-ը և նրա նմանակներն օժտված են հզոր իմունախթանիչ ազդեցությամբ և հանդիսանում են իմունային համակարգի յուրահատուկ կարգավորիչներ: Ի տարբերություն գլխուղեղի իմունակոմպետենտ բջիջների (աստրոցիտներ, միկրոգլիա և այլն) կողմից արտադրվող հայտնի ցիտոկինների, որոնք հիմնականում ազդում են պարակրին մեխանիզմով, PRP-1-ը և նրա նմանակներն ըստ ազդեցության բնույթի նման են ինչպես գլխուղեղի տեղային իմունային համակարգի կարգավորիչներին, այնպես էլ նեյրոհորմոններին՝ ազդելով ինտերլեյկինների, հորմոնների և նեյրոտրանսմիտերային համակարգի վրա (Galoyan A.A. 1997; Galoyan A.A. 2004):

Ցույց է տրված, որ PRP-1-ն իր ցիտոկինային ակտիվությամբ բջջային ու հումորալ իմունիտետի վրա ունի կարգավորիչ ազդեցություն, այսպես օրինակ խթանում է տարբեր պոլիկլոնալ, T-կախյալ և T-ոչ կախյալ հակաժինների հանդեպ յուրահատուկ հակամարմինների արտադրությունը բարձրացնում է T-լիմֆոցիտների, մակրոֆագերի, մոնոցիտների, նեյտրոֆիլների, գլխուղեղի աստրոցիտների բնական «քիլեր» (սպանող) բջիջների իմունային համակարգի ակտիվությունը և հակաժինային ֆունկցիան, կարգավորում է թիմուսի լիմֆոիդ բջիջների տարբերակման և զարգացման գործընթացը: Միաժամանակ բարձրացնում է արյան մեջ լեյկոցիտների ակտիվությունը, ինչպես նաև կարգավորում է այնպիսի ցիտոկինների սինթեզը և արտադրությունն, ինչպիսիք են՝ IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF α (Galoyan A.A. 2004; Galoyan A.A. 2008):

PRP-1-ը բարձրացնում է նաև գլխուղեղի իմունային պաշտպանական ֆունկցիան, խթանում է աստրոգլիալ բջիջների բազմացումը, և այնպիսի նախաբորբոքային ցիտոկինների էքսպրեսիան, ինչպիսիք են՝ TNF α , IL-1 և IL-6: Մկների վրա AlCl₃-ով մակաձված ալյումինային նեյրոթունավորման պայմաններում իրականացված իմունաֆերմենտային անալիզի արդյունքները վկայում են այն մասին, որ PRP-1-ը ցուցաբերում է յուրահատուկ մոդուլացնող ազդեցություն կա՛մ ցիտոկինների

խթանման, կա՛մ հատուկ ցիտոկինների արգելակման ճանապարհով (Galoyan A.A. et. al., 2004): Տարբեր ուղղություններով կատարված ուսումնասիրությունները պարզաբանեցին, որ հիպոթալամուսում հայտնաբերված պոլիպեպտիդների «նոր ընտանիքը»՝ պրոլինով հարուստ ցիտոկինները, հանդիսանում են գլխուղեղի և ոսկրածուծի միջև ինքնատիպ միջնորդանյութ: Ոսկրածուծի ցողունային բջիջների խթանման գործընթացն ուսումնասիրելիս ցույց է տրվել PRP-1-ի դերն ոսկրածուծում արյունաստեղծման կարգավորման վրա, որը հիմք հանդիսացավ Ա.Ա. Գալոյանի կողմից առաջարկելու կոնցեպցիա առ այն, որ գոյություն ունի նյարդազատիչ հիպոթալամուս-ոսկրածուծ նյարդահումորալ ուղի (Galoyan A.A. 1997; Galoyan A.A. 2004; Galoyan A.A. 2008):

PRP-1-ի կարգավորիչ դերը հաստատվել է նաև հետազա ուսումնասիրություններում, որոնցում *in vitro* և *in vivo* պայմաններում ցույց է տրված, որ այն հանդիսանում է միելոլիմֆոպոեզի, և T-լիմֆոցիտների զարգացման յուրահատուկ կարգավորիչ (Galoyan A.A., Davtyan T.K. 1998; Galoyan A.A., Korochkin L.I. et. al., 2008; Bezirganyan K.B. et. al., 2010): PRP-1-ը *in vivo* պայմաններում խթանում է ոսկրածուծի և ծայրամասային արյան միջև մոնոցիտների, գրանուլոցիտների և լիմֆոցիտների վերաբաշխումը նպաստելով ոսկրածուծից դեպի արյուն գրանուլոցիտների, մոնոցիտների և մակրոֆագերի ձերբազատմանը: PRP-1-ի յոթ օր տևողությամբ հաջորդական ներարկման պայմաններում դիտվում է ծայրամասային արյան և ոսկրածուծի մեջ լիմֆոցիտների քանակի նվազում, միևնույն ժամանակ գրանցվում է մոնոցիտների և գրանուլոցիտների քանակության աճ: Այսպիսով, ընդամենը յոթ օր տևողությամբ PRP-1-ի (1 մկգ/մկանը) մ/մ ներարկման դեպքում փորձարարական կենդանիների մոտ դիտվում է ցիկլոֆոսֆամիդով մակածված խորը լեյկոպենիայի նշանների անհետացում: Հետազա ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ դիտվում է արյան բջիջների շարունակական աճ՝ մինչև մեկ ամիս տևողությամբ (Galoyan A.A., Aprikyan, V.S. 2002):

Ներկայացված տվյալները մեկնաբանելու նպատակով հեղինակներն ենթադրեցին, որ ցիկլոֆոսֆամիդով մակածված լիմֆոցիտոպենիայի վրա PRP-1-ի դրսևորած ազդեցությունը հավանաբար հանդիսանում է կա՛մ ցողունային բջիջների, կա՛մ էլ հեմատոպոեզի նախաբջիջների վրա ունեցած ազդեցություն, որն իր հերթին

ևս վկայում է նյարդահումորալ, նյարդագատիչ հիպոթալամու-ոսկրածուծ ուղու գոյության մասին: Այս կոնցեպցիայի ապացույցներից է նաև այն, որ PRP-1-ը *in vitro* փորձարարական պայմաններում հանդիսանում է մարդու ոսկրածուծի մեզենթիմային կամ ստրոմալ բջիջների խթանիչ գործոն: Այսպես, երեքից չորս օր տևողությամբ և 2-10 մկգ/մլ խտությամբ հետազոտվող պրեպարատի ինկուբացումը հասուն մարդու սաղմնային և ոսկրածուծի ստրոմալ բջիջների կուլտուրայի հետ բերում է CD-14 մակերեսային հակածինի էքսպրեսիայի մեծացմանը, որն առավել արտահայտվում է պրեպարատի 10 մկգ/մլ դեղաչափի դեպքում: Բնութագրական է նաև այն, որ նշված հակածինի էքսպրեսիայի մեծացման հետ մեկտեղ չի դիտարկվում CD15, CD10, CD11a, CD11b, CD3, CD4, և CD16 հակածինների քանակության փոփոխություն, ինչը վկայում է PRP-1-ի ազդեցության ընտրողականության մասին (Galoyan A.A., Korochkin L.I. et. al., 2008):

Մեկ այլ ստացված փորձարարական տվյալների օգնությամբ ցույց է տրվել, որ *in vivo* պայմաններում PRP-1-ը (10 մկգ/100գ) 2-3 անգամ խթանում է ոսկրածուծի ստրոմալ բջիջների գաղութագոյացումը, մինչդեռ *in vitro* պայմաններում չի ցուցաբերում որևէ ազդեցություն նշված բջիջների բազմացման վրա (Galoyan A.A., Korochkin L.I. et. al., 2008):

PRP-1-ը 1 մկգ/մլ կոնցենտրացիայով մարդու պորտալարի արյան բջջային կուլտուրայում աճի տարբեր գործոնների առկայությամբ խթանում է էրիթրոիդային և միելոիդային գաղութներում CD34+ պրոգենիտոր բջիջների զարգացումը: Այն նպաստում է միելոիդային գաղութների (CFU-GM) ձևավորմանը, խթանում է էրիթրոիդային բջիջների տարբերակման CD71 և CD111 մակերեսային նշանակիրների և միելոիդային նշանակիրներ՝ CD33, CD36 և CD45 էքսպրեսիան: Միևնույն ժամանակ դիտարկվում է T-բջիջների զարգացման և գաղութագոյացման նվազում (Bezirganyan K.B. et. al., 2010):

Փաստորեն PRP-1-ը *in vivo* փորձարարական պայմաններում խթանում է գրանուլոցիտների և մոնոցիտների զարգացումը և հանդիսանում է ցիտոկինների նման էնդոգեն գրանուլոցիտ գաղութագոյացման խթանիչ գործոն (GM-CSF), որը կարգավորում է ոսկրածուծում մոնոցիտների և գրանուլոցիտների տարբերակումը (Chailakhian R.K. et. al., 2010): Ստացված փաստերը հիմք են հանդիսանում

ենթադրելու, որ PRP-1-ը կլինիկական պրակտիկայում կարող է լինել հեռանկարային ոսկրածուծի փոխպատվաստումների համար:

Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ PRP-1-ը ոսկրածուծի հեմատոպոեզի և միելոպոեզի կարգավորմանը մասնակցող հիպոթալամուսի նյարդազատիչ մյուս ցիտոկինների նման հանդիսանում է հիպոթալամուս-ոսկրածուծ ուղու միջնորդանյութերից մեկը: Այս մասին են վկայում նաև ավելի վաղ ստացված հիստոքիմիական հետազոտության արդյունքներն ոսկրածուծում PRP-1-ի բարձր պարունակության մասին (Абрамян С.С. и др., 2003), որն աստրոցիտների նկատմար ցուցաբերում է աճի հորմոնին նմանատիպ հատկություն, այնպիսին ինչպիսին է G-CSF-ը (Чехонин В. и др., 2003):

PRP-1-ի ուսումնասիրման մեկ այլ հետաքրքիր ուղղություն հանդիսացավ դրա հակամանրէային ազդեցության բացահայտումը: Կենդանիների վրա *in vivo* պայմաններում բազմաթիվ մանրէների՝ *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi*, *Salmonella cholerae suis*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* մահացու չափաբաժիններով հարուցված վարակների ժամանակ ցուցադրվել է PRP-1-ի կենդանիների կենսունակությունը բարձրացնելու հատկությունը (Априкян В.С., Галоян А.А., 1999; Априкян В.С., Галоян А.А., 2000; Galoyan A.A., 2004; Galoyan A.A., 2008): Նույնիսկ բացարձակ մահացու (LD_{100}) չափաբաժինների ժամանակ կենդանու վարակումից 24 ժամ առաջ PRP-1-ի ներարկումը 12.5%-ով պահպանում էր կենդանիներին անկումից, իսկ վարակումից 14 օր առաջ նշված պոլիպեպտիդի ներարկման պայմաններում նկատվում էր 25%-ով անկման ցուցանիշի բարձրացում:

Տարբեր հետազոտություններում ցույց է տրված, որ PRP-1-ը և Gx-NH₂-ը հանդիսանում են հզոր միջոցներ առավել վտանգավոր վարակների դեմ պայքարելու համար, ինչպիսիք են՝ սիբիրյան խոցը, տուբերկուլյոզը, գազային գանգրենան և այլն: Հետազոտությունների արդյունքները վկայում են այն մասին, որ փորձարարական կենդանիներին սիբիրյան խոցի շտամով վարակելու և միաժամանակյա PRP-1-ի ներարկման պայմաններում դիտվում է վարակված օրգաններից *Bacillus anthracis*-ի արագ էլիմինացում, որը հավանաբար պայմանավորված է նշված պոլիպեպտիդի կիրառմամբ (Galoyan A.A. et al., 2006):

Հետագա ուսումնասիրություններում տարբեր բակտերիալ խանգարումների ժամանակ, բացահայտվել է նշված պոլիպեպտիդի արտահայտված իմունակարգավորիչ հատկությունը: Այս առումով հետաքրքիր են մակրոֆագերի իմունային ֆունկցիայի վրա ցուցաբերած PRP-1-ի ազդեցության տվյալները: Բացահայտվել է, որ PRP-1-ը սալմոնել-հարուցված մակրոֆագային անբավարարության ժամանակ բարձրացնում է IL-1-ի սինթեզը, միաժամանակ մեծացնելով հակաճնային ֆունկցիան: Նշված պայմաններում դիտվում է նաև բորբոքային օջախում մակրոֆագերի արտահայտված կուտակում և մանրէասպան ակտիվության բարձրացում (Априкян В.С., Галоян А.А. 1999; Априкян В.С., Галоян А.А., 2000):

Մկների վրա ցույց է տրված, որ վերջիններիս *S. Typhimurium* ենթամահացու չափաբաժիններով վարակից մեկ ժամ առաջ PRP-1-ի 10^{-8} գ/մուկ չափաբաժնով ներարկումները նպաստում են մանրէների ներբջջային ոչնչացմանը: Ընդ որում PRP-1-ի ազդեցության ներքո հակամանրէային հակաճինների արտադրության ամենաբարձր խթանումը համընկնում է ինդուկտիվ իմունային մաքսիմալ պատասխանի հետ: Հետաքրքրական է այն, որ դիտարկումների 21-րդ օրը կենդանիների մոտ PRP-1-ի ազդեցության ներքո հակամարմինների տիտրը մոտ երկու անգամ գերազանցում է հսկիչ ցուցանիշը (Априкян В.С., Галоян А.А., 1999; Априкян В.С., Галоян А.А., 2000):

Բերված փաստերի հիման վրա հեղինակներն եկել են այն եզրահանգման, որ PRP-1-ի պաշտպանիչ ազդեցությունն ուղեկցվում է հակամանրէային հակամարմինների արտադրությամբ և մակրոֆագերի մանրէասպան ակտիվության խթանմամբ: Որպես հետևանք նկատվում է վարակված կենդանիների ներքին օրգան համակարգերի մանրէային կազմի նվազում և վարակված օրգան համակարգերից արագանում է հարուցիչների դուրս բերումը: Այս ամենը բնութագրում է PRP-1-ն որպես յուրահատուկ իմունային կարգավորող մեխանիզմներով պայմանավորված պաշտպանիչ հատկություններով օժտված միացություն:

PRP-1-ի կենսաբանական հատկությունների ուսումնասիրման հաջորդ կարևոր ուղղությունն արյան համակարգի պաթոլոգիաների ժամանակ կատարված հետազոտություններն են: Այս ուղղությամբ լեյկոզով հիվանդ փորձարարական կենդանիների ծայրամասային արյան վրա ստացված արդյունքները ցույց տվեցին,

որ PRP-1-ն ընկճում է չարորակ ձևափոխված լիմֆոցիտների պրոլիֆերացիան և կարգավորում է ախտաբանորեն փոփոխված արյունաստեղծ օրգանների ֆունկցիան (Galoyan A.A., Shirvanyan A.A., Patent No. P20050113):

Վերջին տարիներին կատարված հետազոտությունները վկայում են այն մասին, որ PRP-1-ն օժտված է հզոր հակաուռուցքային ակտիվությամբ և հանդիսանում է չարորակ բջիջների պրոլիֆերացիայի արգելակիչ (Симоная Г.М. и др., 2005; Galoian K.A. et. al., 2009; Galoian K.A. et. al., 2011): Նշված պոլիպեպտիդը դեղաչափ-կախյալ մեխանիզմով զգալիորեն ընկճում է մարդու լիմֆոցիտար ուռուցքային բջիջների (Jurkat cell) պրոլիֆերատիվ ակտիվությունը *in vitro* պայմաններում: Բարձր դեղաչափերով PRP-1-ը դրսևորում է քայքայիչ ազդեցություն L929 ֆիբրոբլաստների ուռուցքային, C-45 սարկոմային բջիջների, ինչպես նաև առնետների Հասսերյան հանգույցի ներինոմային բջիջների վրա՝ ինչպես ապոպտոզի, այնպես էլ մեռուկացման ձևով (Галоян А.А. и др., 2001):

Փոքր դեղաչափերով (0.5-1 մկգ) *in vitro* պայմաններում ցույց է տրվել PRP-1-ի արգելակիչ ազդեցությունը (80%-ով) մարդու խոնդրոսարկոմայի JJ012 տեսակի ուռուցքային բջիջների վրա: Ցուցադրվել է նաև PRP-1-ի՝ չարորակ բջիջներում Մուս-օնկոգեն (1 մկգ) և ներբջջային սերին/թրեոնին պրոտեինկինազայի (mTOR) վրա դրսևորած ինակտիվացնող ազդեցությունը: Իսկ ինչպես հայտնի է, վերջիններս հանդիսանում են ներբջջային ազդակների հաղորդման և պրոլիֆերացիայի կարգավորիչներ (Галоян А.А. и др. 2001; Galoian K.A. et. al., 2009; Galoian K.A. et. al., 2011):

Չափազանց կարևոր է PRP-1-ի բջջային մետաբոլիզմը կարգավորելու հատկությունը: Այն խթանում է աճի հորմոնի սինթեզը, որն ապացուցվել է BALB/c գծային մկների փոխարկված ֆիբրոբլաստոմների օգնությամբ: Սթրեսային ռեակցիաներում PRP-1-ը կարգավորում է կատեխոլամինների կենսասինթեզը (Ghazaryan P.A. et. al., 2001): Այսպես, ցույց է տրված, որ Երկարատև Ճնշման Համախտանիշի (ԵՃՀ) (crash syndrom) դեպքերում ճնշման փուլում և հատկապես ապաճնշումից հետո, երբ խիստ կերպով նվազում է ԱԵՌՖ-կախյալ էներգագոյացումը և տեղի է ունենում սպիտակուցի կենսասինթեզի խափանում, PRP-1-ը կտրուկ կերպով արագացնում է գլխուղեղի սպիտակուցների կենսասինթեզը և գրեթե տասն անգամ

ուժեղացնում բոլոր հյուսվածքներում և հատկապես գլխուղեղում ^{14}C -գլյուկոզի զավթումը և յուրացումը (Kevorkian G.A. et. al., 2000; Kevorkian G.A. et. al., 2001):

PRP-1-ը մի շարք նեյրոպեպտիդների նման օժտված է արտահայտված հակաօքսիդանտային հատկությամբ: Ընդ որում PRP-1-ի և նրա նմանակների հակաօքսիդանտային հատկությունը բազմաֆունկցիոնալ բնույթ է կրում, որն արտահայտվում է ինչպես մետաղների իոնների խելատագոյացման և էլեկտրոններ տրամադրելու հատկությամբ, այնպես էլ ազատ ռադիկալների «սկավենջեր» (հավաքողներ) հանդիսանալու շնորհիվ՝ վերահսկելով օրգանիզմում ազատ ռադիկալների քանակությունը (Knaryan V.H. et. al., 2006; Симонян Г.М. и др., 2007; Алексанян М.К. и др. 2010; Simonyan G.M. et. al., 2011): Ավելին, *in vitro* փորձարարական պայաններում PRP-1-ի ինչպես հակաօքսիդանտային, այնպես էլ հակառադիկալային հատկությունների ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ PRP-1-ը և նրա Gx-NH_2 -ի նմանակը պղնձի (II) իոնների խելատագոյացման ընդունակության շնորհիվ արդյունավետ արգելակում են ջրածնի պերօքսիդի կատալիտիկ քայքայման ռեակցիան, ինչի շնորհիվ հանդիսանում են արդյունավետ հակաօքսիդանտ-խելատորներ: Ամենայն հավանականությամբ PRP-1-ի պոլիպեպտիդային շղթայի կազմի մեջ մտնող էլեկտրոդոնոր ազոտի (N) և թթվածնի (O) ատոմները կորդինացիոն կապեր են ստեղծում պղնձի (II) իոնների հետ՝ իջեցնելով վերջիններիս ջրածնի պերօքսիդի նկատմամբ ունեցած կատալիտիկ ակտիվությունը (Tavadyan L.A. et. al., 2010):

PRP-1-ի հակաօքսիդանտային հատկությունները հատկապես արտահայտված են սթրեսի պայմաններում, երբ PRP-1-ը նպաստում է սթրեսի պայմաններում հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինների ֆրակցիայի (Cu, Zn-UO γ և էրիթրոցիտների ցիտոլիզի կատալազ) իջած մակարդակի բարձրացմանը՝ մոտեցնելով այն հսկիչ խմբի ցուցանիշներին: Նմանատիպ ազդեցություն է գրանցվում նաև պրոօքսիդանտային մետաղապրոտեինների ֆրակցիայի ակտիվության (b_{558} իզոձևի ֆրակցիա) և արյան շիճուկի սուպերօքսիդ գոյացնող լիպոպրոտեինի՝ սուպրոլի նկատմամբ (Симонян Г.М. и др. 2007):

PRP-1-ի հակասթրեսային ազդեցության մեխանիզմը պայմանավորված է OH^- և O_2^- ռադիկալների ինտենսիվ հեռացումով և էրիթրոցիտար) իմունակումպետենտ

բջիջների թաղանթների ցիտոքրոմ b_{558} իզոմների մեթ-Hb վերականգնիչ ակտիվության վրա ունեցած կարգավորիչ ազդեցությամբ: Մասնավորապես ցույց է տրված, որ մարդու էրիթրոցիտար թաղանթներում PRP-1-ը նվազեցնում է մեթ-հեմոգլոբինի քանակությունը և NADPH-կախյալ O_2^- առաջացնող ցիտոքրոմ b_{558} III իզոմների և սուպրոլի ակտիվությունն արյան շիճուկում (Симонян Г.М. и др. 2007): Ենթադրվեց, որ PRP-1-ը կապելով հիդրոքսիլ խմբերը կանխարգելում է թաղանթային լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացը (Cu, Zn-ՍՕԴ և գուանիլատ-ցիկլազա) և կենսաթաղանթների մի շարք ֆերմենտների ինակտիվացմամբ պայմանավորված կառուցվածքային փոփոխությունները:

Ցույց է տրվել նաև, որ *in vitro* փորձարարական պայմաններում PRP-1-ը մարդու լիմֆոսարկոմայի և ուռուցքային հյուսվածքների բջիջներում բարձրացնում է NADPH-կախյալ O_2^- -ի առաջացման արագությունն երկաթհեմոգլոբինային ցիտոքրոմ b_{558} ակտիվության ընկճման պայմաններում: Հեղինակներն ենթադրում են, որ նշված հատկությունը PRP-1-ի և ցիտոքրոմ b_{558} հնարավոր փոխազդեցության և համապատասխան ընկալիչների առկայության արդյունք է (Алексанян М.К. и др., 2010): Փաստորեն, ուսումնասիրվող պոլիպեպտիդի հակաուռուցքային հատկությունների հիմքում ընկած են ուռուցքային հյուսվածքներում օքսիդավերականգնիչ և թթվածնային հոմեոստազի փոփոխությունները (Симонян Г.М. и др., 2007; Алексанян М.К. и др., 2010):

Հետաքրքրական է նաև այն, որ PRP-1-ը (ինչպես խոշոր եղջերավոր անասունների Gx-NH₂-ը, այնպես էլ մարդու PRP-1-ը) *in vivo* փորձարարական պայմաններում Balb/c մկների ստրիատումի դոֆամինէրգիկ նեյրոններում 1-մեթիլ-4-ֆենիլ-1,2,3,6-տետրահիդրոպիրիդինով (ՄՖՏՊ) մակածված Պարկինսոնի հիվանդության մոդելում փոքր դեղաչափերով (0.1 մկՄ) ցուցաբերում է հակաօքսիդանտային, իսկ համեմատաբար բարձր դեղաչափերով (1.6 մգ/կգ)՝ պրոօքսիդանտային հատկություններ:

PRP-1-ի դեղաչափ-կախյալ ազդեցության բնույթը հաստատվել է նաև վերջինիս սկավենջերային հատկությունների ուսումնասիրման ժամանակ *in vitro* փորձարարական պայմաններում միտոքոնդրիումներում առաջացող հիդրոքսիլ ռադիկալի (HO[•]) որոշմամբ՝ բարձր զգայունությամբ սալիցիլատի հիդրոքսիլացման

մեթոդով: Հետազոտության արդյունքները վկայում են այն մասին, որ PRP-1-ը համեմատաբար բարձր դեղաչափերով (10 մկՄ) խթանում է հիդրոքսիլ ռադիկալների ($\text{HO}^\bullet$) առաջացումը, մինչդեռ առավել փոքր (0.1 մկՄ) դեղաչափերի դեպքում զգալիորեն նվազեցնում է վերջիններիս քանակը: Հետազոտությունները վկայում են, որ PRP-1-ի հիդրոքսիլ ռադիկալների ($\text{HO}^\bullet$) նկատմամբ սկավենջերային ունակությունը դրսևորվում է առավել ցածր (նանոմոլ) քանակների դեպքում (Knaryan V.H. et. al., 2006):

Միևնույն ժամանակ բազմաթիվ հետազոտությունների արդյունքներում ցույց է տրված, որ PRP-1-ն նեյտրոֆիլներում և մոնոցիտներում նպաստում է թթվածնային պայթյունին և ազատ ռադիկալների արտահայտված ավելացմանը, ինչպես նաև *S. aureus*-ի ներքջջային «քիլինգին» (սպանությանը) (Davtyan T.K. et. al., 2006):

PRP-1-ի ապացուցված հակառադիկալային, հակաօքսիդանտային և հյուվածքների մետաբոլիկ ցուցանիշները կարգավորելու հատկությունները հիմք հանդիսացան դրա նյարդապաշտպան ազդեցության ուսումնասիրման համար:

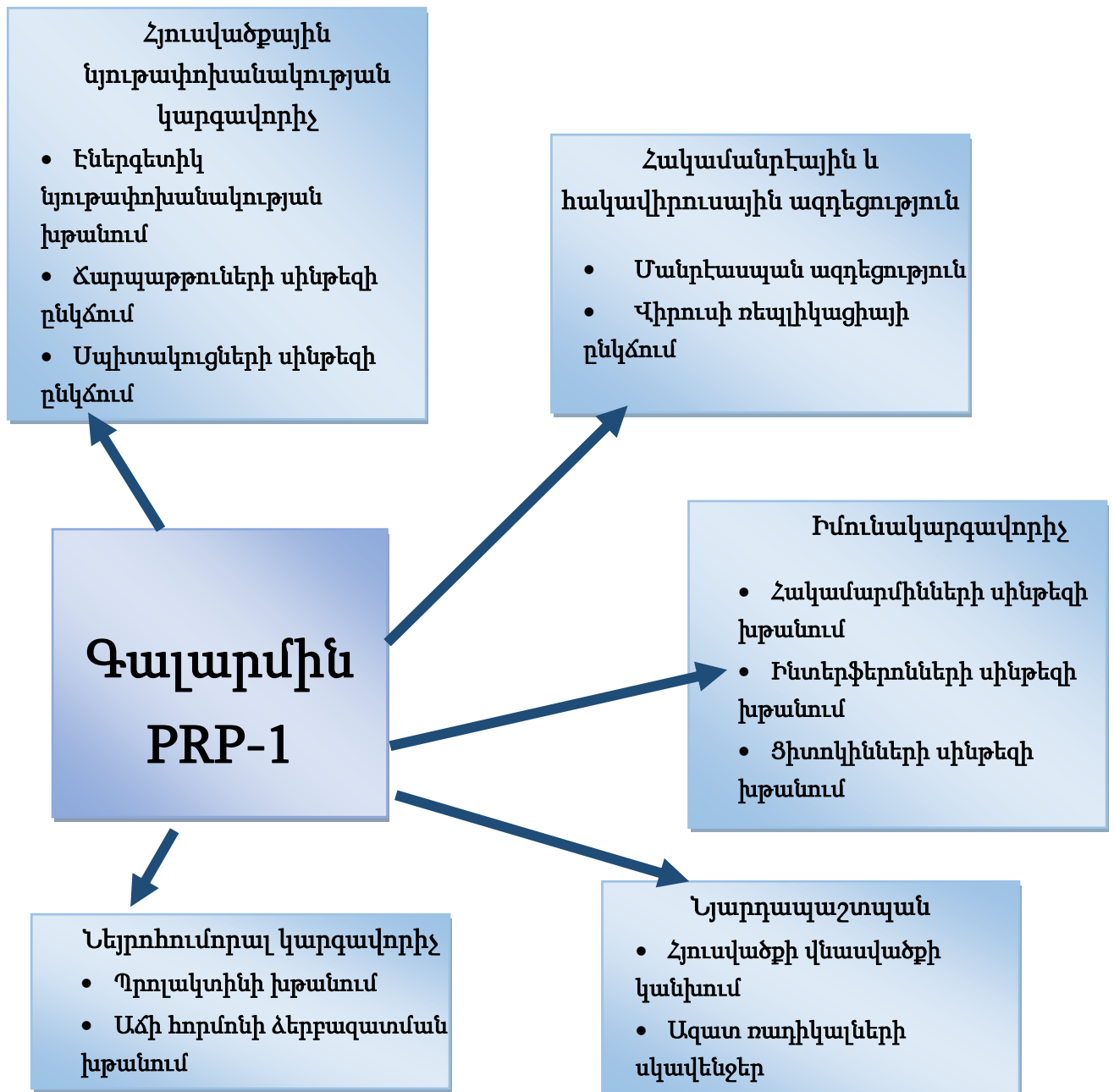
Այսպես, PRP-1-ի արտահայտված նյարդապաշտպան ազդեցությունը ցույց է տրվել առնետներին օժի թույնով թունավորման, ողնուղեղի նեյրոնների վնասման (առնետների ողնուղեղի զուգակցված հատում), ալյումինային նյարդաթունավորման և Ալցհեյմերի հիվանդության փորձարարական պայմաններում (Galoyan A.A. et. al., 2004; Саркисян Дж.С. и др., 2006): Այսպես, ամիլոիդային պեպտիդով (ամիլոիդ սպիտակուցի A β 25-35 և A β 1-40 հատվածների նախանյութեր) հարուցված Ալցհեյմերի հիվանդության փորձարարական մոդելում, առնետներին 10-15 մկգ/կգ դեղաչափով PRP-1-ի ներորովայնային կամ միջմկանային ներարկումը կանխում է նեյրոդեգեներատիվ գործընթացին բնորոշ տեղաշարժերի զարգացումը (Galoyan A.A. et. al., 2008):

PRP-1-ի նյարդապաշտպան հատկության մասին են վկայում *in vitro* փորձարարական պայմաններում N2A մկների նեյրոբլաստոմային բջիջների տարբեր կասպազների (-2, -3, -6, -9) վրա ունեցած վերջինիս ազդեցությունը: Հետազոտության արդյունքները ցույց են տվել, որ PRP-1-ը ցայտուն կերպով ակտիվացնում է -2 և -6 կասպազների ակտիվությունը, միաժամանակ ընկճելով -3 և -9 կասպազները համապատասխանաբար 24%-ով և 43%-ով (Galoyan A.A. et. al., 2000): Իսկ ինչպես

հայտնի է, հենց այդ սպիտակուցներն են հիմնականում քայքայում մի շարք բջջային սպիտակուցների, այդ թվում նաև ամիլոիդ պեպտիդների նախանյութ հանդիսացող սպիտակուցները:

Այսպիսով, ընդհանրացնելով PRP-1-ին վերաբերող բազմաբնույթ փորձարարական հետազոտությունները, կարելի է եզրահանգել, որ հանդիսանալով ցիտոկին այն օժտված է բազմակողմանի հատկություններով, ինչպիսիք են՝ հյուսվածքային նյութափոխությունը կարգավորող, իմունախթանիչ, հակամանրէային, հակավիրուսային, հակառուռուցքային, նյարդապաշտպան ազդեցությունները (նկ. 2): Այս ամենը մատնանշում են, որ Գալարմինը հզոր պոտենցիալ է հանդիսանում նոր դեղերի ստեղծման համար, որոնք ուղղված կլինեն մի շարք հիվանդությունների բուժմանը, ներառյալ արյան և իմունային համակարգերի հիվանդությունները, ինֆեկցիոն վարակները և նեյրոդեգեներատիվ փոփոխություններով ընթացող պաթոլոգիաները:

PRP-1-ի կենսաբանական դերը և ազդեցության առանձնահատկությունները բնութագրող հետազոտությունների գրականական վերլուծությունը հիմք հանդիսացավ ուսումնասիրելու լոկալ իշեմիկ խանգարումներով պայմանավորված տեղաշարժերի հնարավոր կանխումը Գալարմինով:



Նկար 2. Գալարմինի բացահայտված դեղաբանական հատկությունները

ԳԼՈՒԽ 2. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ՆՅՈՒԹԸ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

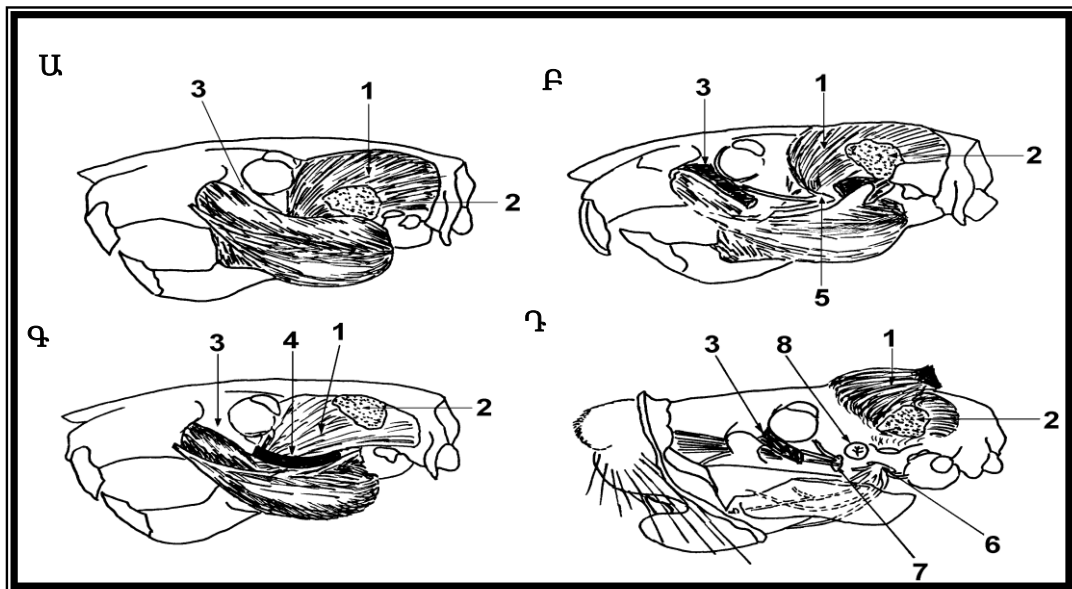
PRP-1-ի ազդեցությունն ուղեղային արյան շրջանառության, ինչպես նաև իշեմիայով մակաձված մորֆոլոգիական փոփոխությունների և կենդանիների վարքի վրա գնահատելու համար օգտագործվել են մեթոդական մոտեցումների համալիր՝ ներառյալ լաբերային Դոպլեր ֆլուումետրիան, «Բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոս» (EPM-elevated plus maze), «Բաց դաշտ» (OF-open field), «Պասիվ խուսափման պայմանական ռեֆլեքս» (PAT-Passive avoidance test) և «Պտտածող» (Rota-Rod) թեստերն, ինչպես նաև Նիսսլի ներկման մեթոդը:

2.1. Լոկալ իշեմիայի մոդելավորումը միջին ուղեղային զարկերակի կապումով

Գլխուղեղի լոկալ իշեմիայի մոդելավորումն առնետների մոտ իրականացվել է միջին ուղեղային զարկերակի կապման (ՄՈւԶԿ-ան) միջոցով ըստ Ա. Թամուրայի (Tamura A. et. al., 1981) եղանակի մոդիֆիկցված ըստ՝ Հ.Վ. Թոփչյանի (Topchian H. et. al., 1996): Հետազոտությունն իրականացվել է քլորալիդրատով ընդհանուր անզգայացման պայմաններում (400 մգ/կգ, ն/ո):

Միջին ուղեղային զարկերակի կապման միջամտությունն իրականացվել է նյարդավիրաբուժական երկդիտակ խոշորացույցով՝ (ЛОМО, Санкт-Петербург) զինված ապակե օպտիկամանրաթելային լուսավորիչով: Մազաձածկը հեռացնելուց և վիրահատական դաշտը մշակելուց հետո, այտոսկրի երկայնքով կատարվել է մաշկի կտրում (մոտ 2 սմ): Վիրահատական մակերեսը վերքալայնիչի օգնությամբ բացվել է՝ մինչև թքագեղձի նկատվելը (նկ. 3 Ա):

Օգտագործելով միկրովիրաբուժական գործիքներ՝ թքագեղձը և անոթային հյուսակը զգուշությամբ առանձնացվել են շրջակա հյուսվածքներից և տեղափոխվել դեպի վերին հատված՝ հետագա անշարժացումն ապահովելու համար (նկ. 3 Բ): Այտոսկրի հեռացումից հետո, երբ երևում էր քունքային մկանի ստորին ծնոտին ամրանալու եզրերը, բոր մեքենայի օգնությամբ կատարվել է ոսկրին ամրացված մկանի ջլի երկայնքով նուրբ կտրվածք (նկ. 3 Գ):



Նկար 3. Առնետների գլխուղեղի միջին զարկերակի կապման վիրահատական փուլերի հերթականությունը (Ա, Բ, Գ, Դ)

- 1 – քունքային մկան, 2 – թքագեղձ, 3 – այտոսկր, 4 – այտոսկրի մասնահատման շրջան, 5 – ստործնոտային նյարդ, 6 – օվալաձև հատված, 7 – տեսողական նյարդի անցք, 8 – գանգի գանգաբացման հատված, որտեղ գտնվում է գլխուղեղի միջին զարկերակը

Որից հետո, կապանքների օգնությամբ, քունքային մկանի ստորին եզրը բարձրացվել է վերև և բացվել է քունքային փոսիկը, որի հատակը ձևավորում են թևաձև մկանը և մի շարք ստործնոտային նյարդաթելերը (նկ. 3 Գ): Այնուհետև հատուկ նախագծված վերքալանիչի օգնությամբ, առանձնացնելով թևաձև մկանը, բացվում է գանգի մակերևույթը (նկ. 3 Դ): Բացված մակերեսի քունքածնոտային հոդի ստորին եզրում բացվում է մոտ 2 մմ տրամագծով ակոս և միջին ուղեղային զարկերակը դառնում է տեսանելի (նկ. 3 Դ):

Միջին ուղեղային զարկերակի հետագա կապումն իրականացվել է մանրադիտակի օգնությամբ (ՕԴՄՅ-ՈՒՅ) երկար կիզակետային հեռավորության ($f=190$ մմ) և մեծ խոշորացման (14.0×3.3) պայմաններում: Ծակելով գլխուղեղի թաղանթը՝ միջին ուղեղային զարկերակի ստորին մասով անցկացվել է 10/0 հաստությամբ էթիկոնային (Ethicon Ltd.) թելով ասեղը: Հարկ է նշել, որ ի տարբերություն Ա. Թամուրայի մեթոդի, գլխուղեղի թաղանթը տվյալ դեքում չի հեռացվել, այլ այն կապվել է միջին ուղեղային զարկերակի հետ: Ինչպես նաև ըստ Ա. Թամուրայի մեթոդի՝ գլխուղեղի միջին զարկերակը կապվել է միջին ուղեղային զարկերակից առանձնացող առաջին

ծյուղի դիստալ հատվածում, սակայն, որպեսզի ավելի մեծացվի գլխուղեղի իշեմիկ վնասման մակերեսը, մեր փորձերում այն կապվել է գլխուղեղի միջին զարկերակի հիմքի մոտ՝ ըստ Հ.Վ. Թոփչյանի մոդիֆիկացված մեթոդի (նկ. 3Դ):

Միջին ուղեղային զարկերակը կապելուց հետո վերականգնվել են վիրահատական դաշտի մկանները և փափուկ հյուսվածքները՝ մասնավորապես ծամելու գործընթացը պահպանելու համար ամրացվել են ստորին ծնոտի քունքային մկանի ջլերը: Այսպիսի փորձարարական պայմանները հնարավորություն են ընձեռում վիրահատված կենդանիների մոտ կատարել հետազոտությունները մեկ ամիս կամ ավելի ժամանակահատվածում:

2.2. Ուղեղային արյան շրջանառության խանգարման մոդելավորումը

Գլխուղեղի արյան շրջանառության խանգարման մոդելավորումն իրականացվել է աջ քնային զարկերակի միակողմանի կապման (ՔՁՄԿ քնային զարկերակի միակողմանի կապում) (rCCAO-right common carotid artery occlusion) շնորհիվ (Rice J.E. et. al., 1981; Tanaka H. et. al., 2013): Հետազոտությունն իրականացվել է նեմբուտալով ընդհանուր անզգայացման պայմաններում (40 մգ/կգ, ն/ո):

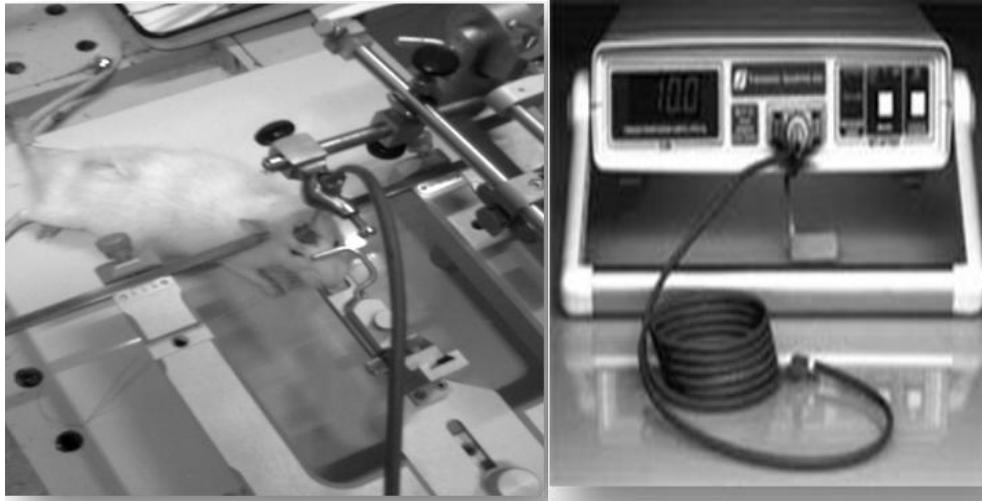
rCCAO-ի համար կատարվել է երկայնակի կտրվածք՝ (մոտավորապես 1.5 սմ) կրծքավանդակի անմիջապես վերադաս և կողային հատվածում, ապա աջ ընդհանուր քնային զարկերակն առանձնացվել է n.vagus-ից և ներքին սիներակից: Այնուհետև աջ ընդհանուր քնային զարկերակը կապվել է՝ օգտագործելով 6-0 համարի նեյլոնային վիրաբուժական թելը (Surgical Specialties Co., Reading, PA, USA): Ձախ ընդհանուր քնային զարկերակը անվնաս է մնացել ամբողջ փորձի ընթացքում:

2.3. Ուղեղային արյան շրջանառության գնահատումը լազերային դոպլերային ֆլուումետրիայի օգնությամբ

Ուղեղային հյուսվածքի միկրոարյունաշրջանառության շարունակական մոնիտորինգը իրականացվել է լազերային դոպլերային հոսքաչափի օգնությամբ (BLF-21, Transonic Systems Inc., ԱՄՆ): rCCAO-ից հետո յուրաքանչյուր առնետ տեղադրվել է

ստերեոտաքսիկ սարքի վրա (Stereotaxis, Stoelting Wood Dale, IL, ԱՄՆ), որտեղ կենդանու գլուխը ֆիքսելուց հետո հեռացվել է մազաձածկը և մշակվել վիրահատական դաշտը: Ապա կատարվել է 1.5 սմ երկայնքով բացվածք, գլխուղեղի միջին գծից դեպի աջ հատվածում, և վիրահատական մանրադիտակի (OP-Microscope, Zeiss, Wetzlar, Germany) տակ բարձր արագություն ունեցող բոր մեքենայի օգնությամբ բացվել է գանգոսկրը՝ (4.5 x 6 մմ), աջ ճակատային՝ ճակատ-գագաթային շրջանում (2 մմ լայնակի և 1 մմ կաուդալ՝ ըստ Բրեգմայի): Գանգոսկրի հեռացումն իրականացվել է բոր մեքենայի ծայրը ֆիզիոլոգիական լուծույթով անընդհատ սառեցման պայմաններում՝ գլխուղեղի կեղևը ջերմային վնասումից պաշտպանելու նպատակով: Գլխուղեղի թաղանթը պահպանվել է անվնաս: Գլխուղեղի տեղային արյան շրջանառության գնահատումը լազեր դոպլերային հոսքաչափի օգնությամբ (նկ. 4) (Riva C. et. al., 1972; Stern M.D. et. al., 1977; Tonnesen J. et. al., 2005; Sutherland B.A. 2014) հիմնված է դոպլերի էֆեկտի վրա: Մոնոքրոմատիկ կարմիր լազերային լույսը ֆիբրոսկոպի ուղիով փոխանցվում է գլխուղեղի մակերեսին, որտեղ այն անդրադառնում է հյուսվածքներից և արյան ձևավոր տարրերից: Այնուհետև ֆիբրոսկոպի այլ ուղիով անդրադարձած լույսը փոխանցվում է ֆոտոդիոդին և վերադարձած ազդակի փոփոխված սպեկտրով էլ որոշվում է արյունահոսքի բնույթը: Ուղեղային հյուսվածքում լազերային լույսի թափանցման խորությունը կազմում է 0.6-1.5 մմ, որը բավարար է ինչպես ուղեղային հյուսվածքի մակերեսից, այնպես էլ գլխուղեղի կեղևի խորքային անոթային հյուսվածքից ինֆորմացիա ստանալու համար: Այնուհետև լազեր դոպլերային արյունահոսքի 0.8 մմ տրամագծով ասեղնաձև զգայաչափն ամրացվում է հատուկ նախագծված լծակին՝ զգայաչափի շարժումները նվազեցնելու համար: Բացի այդ, զգայաչափն ամրացվում է այնպես, որ գլխուղեղի թաղանթին հպվելով՝ չառաջացնի ճնշում և անոթների օկլուզիա, ինչպես նաև չփոքրացնի համապատասխան հատվածի պերֆուզիան:

Լազեր դոպլերի միջոցով ստացված տեղային արյունահոսքի տվյալներն արտահայտված են մլ/100գ/ր-ով:



**Նկար 4. Ուղեղային արյան շրջանառության գնահատման
լազերային դոպլերային հոսքաչափ**

2.4. Գլխուղեղի տեղային իշեմիայի խանգարման ժամանակ ուղեղային հյուսվածքի մորֆոլոգիական հետազոտություն

Մորֆոլոգիական հետազոտության իրականացման համար բոլոր խմբերի կենդանիների գլխուղեղները գանգատուներից հանելուց անմիջապես հետո տեղադրվել են 10%-անոց ֆորմալինի բուֆերային լուծույթի մեջ՝ ըստ Լիլիի: Այնուհետև ֆիքսված նյութից ֆրոնտալ հարթության վրա կտրվել է հյուսվածքային բլոկ՝ ընդգրկելով երկու կիսագնդերը՝ Բրեգմայի մակարդակից 0.92 մմ x 5 մկմ չափով, որոնք ընկղմվել են պարաֆինի մեջ: Պատրաստի, 10 մկմ հաստությամբ, պարաֆինային կտրվածքները ներկվել են ըստ Նիսսլի մեթոդի (Merkulov G.A. 1969; Демченко В.В., Артемьева В.Н., 2006):

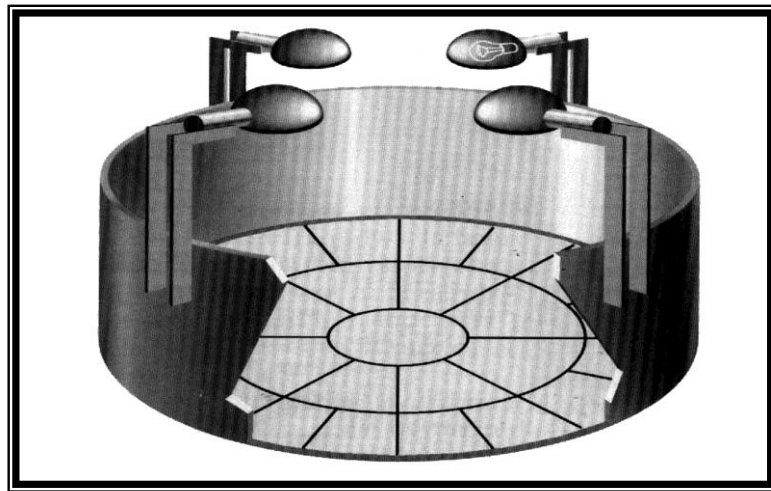
2.5. Առնետների վարքի ուսումնասիրումը «Բաց դաշտ» թեստում

«Բաց դաշտ» թեստը (OF) կիրառվել է առնետներին ըստ շարժողական ակտիվության բաժանելու նպատակով: Բոլոր առնետները մեկ շաբաթ ադապտացվելուց հետո՝ նախքան փորձարկումների սկսվելը, բաժանվել են երկու խմբերի՝ բարձր և միջին շարժողական ակտիվության և ցածր շարժողական ակտիվության առնետների (Walsh R.N., Cummin Rk. 1976; Seredenin S.B. et. al., 2002; Ge J.F. et. al., 2016):

OF թեստի սարքավորումը (նկ. 5) իրենից ներկայացնում է սպիտակ շրջանաձև՝ 50 սմ պատերի բարձրությամբ և 200 սմ տրամագծով շրջան, որը տեղակայված է գետնից 100 սմ բարձրության վրա: Շրջանը հավասարաչափ լուսավորված է չորս լամպերով՝ յուրաքանչյուրը 100 Վտ հզորությամբ, որոնք տեղադրված են դաշտից 1մ բարձրության վրա: Դաշտի հատակը բաժանված է երեք շրջանների, որոնք իրենց հերթին ուղղահայաց բաժանված են գծերի այնպես, որ առաջացնում են 16 հավասարաչափ ծայրամասային և ութ կենտրոնական հատվածներ:

Յուրաքանչյուր առնետ մեկ րոպե մութ խցում պահելուց հետո անմիջապես տեղադրվել է OF-ի ծայրամասային հատվածից որևէ մեկի վրա (այդ հատվածն եղել է նույնը, և յուրաքանչյուր փորձարկումից առաջ OF-ը մաքրվել է 96%-անոց բժշկական սպիրտի լուծույթով):

Կենդանու վարքը բնութագրելու համար 5 րոպեների ընթացքում գրանցվել են հետևյալ ցուցանիշները.



Նկար 5. «Բաց դաշտ» թեստի սարքավորումը

- հատված ծայրամասային սեգմենտների քանակը, որը դիտվում է որպես պերիֆերիկ ակտիվություն /ՊԱ/ (PA - periferic activity),
- հատված կենտրոնական սեգմենտների քանակը, որը դիտվում է որպես կենտրոնական ակտիվություն /ԿԱ/ (CA-central activity),

- կենդանու ոտքերի վրա բարձրանալու (ուղղահայաց դիրքով կանգնելու) քանակը, որը դիտվում է որպես ուղղահայաց ակտիվություն /ՈւԱ/ (VA-vertical activity),

- դեֆեկացիաների քանակը, որը դիտվում է որպես հուզականության ցուցանիշ /Հ/ (E – emotion),

- կենդանու ընդհանուր շարժողական (լոկոմոտոր) ակտիվությունը /ԸՇԱ/ (GLA – general locomotor activity) որոշվում է որպես կենդանու PA, CA, VA ցուցանիշների գումար:

Առնետները համարվում են բարձր ակտիվություն ունեցող կենդանիներ, եթե GLA-ն կազմում է 35 միավոր և ավելի: Ցածր ակտիվություն ունեցող կենդանիների դեպքում՝ GLA-ն կազմում է մինչև 15 միավոր, իսկ միջին ակտիվությամբ կենդանիների GLA-ն ընկած էր 15-35 միավորների սահմանում: ՕՖ թեստում ցածր ակտիվություն ցուցաբերած կենդանիները հետագա փորձերի իրականացման համար չեն ընտրվում:

2.6. Առնետների վարքի ուսումնասիրումը

«Բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոս» թեստում

«Բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոս» (ԲԽԼ, Elevated Plus Maze, EPM) թեստը (նկ. 4) հնարավորություն է տալիս բնութագրելու կենդանիների տագնապը (Pellow S. et. al., 1985, Carobrez A.P. et. al., 2005, Komaki A. et. al., 2015):

EPM-ը պատրաստված է սև գույնով ներկված փայտից և ունի խաչի տեսք: Այն ունի կենտրոնական հարթակ (10 x 10 սմ), երկու հակադիր տեղադրված բաց ու (50 սմ x 10 սմ չափերով) փակ թևեր (50 սմ x 10 սմ x 40 սմ չափերով) և գտնվում է հատակից 50 սմ բարձրության վրա: Բաց թևերը շրջափակված են 1 սմ բարձրությամբ սպիտակ շրջանակով՝ կենդանիների ընկնելուց խուսափելու համար:

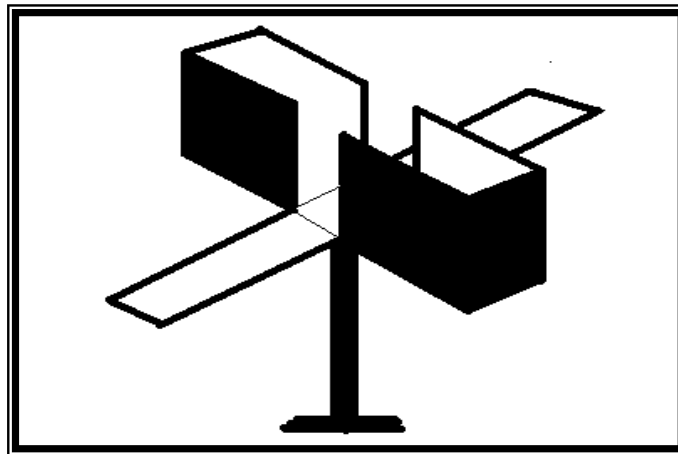
Հետազոտություններն իրականացվել են լուսավոր սենյակում՝ բնական լուսավորության պայմաններում 10⁰⁰-ից 14⁰⁰-ն ընկած ժամանակահատվածում: Յուրաքանչյուր առնետ մեկ րոպե մութ խցում պահելուց անմիջապես հետո դրվել է խաչի

կենտրոնում՝ դեմքով դեպի բաց թև և դիտվել է կենդանու վարքը 5 րոպեների ընթացքում:

Հետազոտության ընթացքում գրանցվել են ստորև թվարկված ցուցանիշները՝

- կենդանու բաց թևերի մուտքերի քանակը,
- կենդանու փակ թևերի մուտքերի քանակը,
- կենդանու բաց թևում անցկացրած ժամանակահատվածը (ր/վ),
- կենդանու կենտրոնում անցկացրած ժամանակահատվածը:

Ցուցանիշների գրանցումն իրականացվել է վայրկյանաչափով՝ լաբիրինթից մոտավորապես 1մ հեռավորության վրա: Փորձերի համար ընտրվել են OF թեստում բարձր և միջին ակտիվություն ցուցաբերած կենդանիները: Տազնապի գնահատումն իրականացվել է մինչև ձախ միջին ուղեղային զարկերակի կապումը, վիրահատությունից հետո՝ համապատասխանաբար 3-րդ, 6-րդ և 12-րդ օրերին:



Նկար 6. «Բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոս» թեստի սարքավորումը

Տազնապի զարգացումը բնութագրելու համար, գրանցված ցուցանիշների հիման վրա, հաշվարկվել են բաց թևերի մուտքերի տոկոսը, ընդհանուր մուտքերի թիվը, փակ թևում անցկացրած ժամանակահատվածը, որոնք կենտրոնում և բաց թևերում անցկացրած ժամանակահատվածների հետ մեկտեղ լիարժեք գնահատում են կենդանիների վարքը EPM թեստում:

2.7. Առնետների հիշողության ուսումնասիրումը «Պասիվ խուսափման պայմանական ռեֆլեքսի» մեթոդով

Առնետների հիշողության և ուսուցման գործընթացի ուսումնասիրման համար բավական լայնորեն կիրառվող թեստերից է «Պասիվ խուսափման պայմանական ռեֆլեքսի» (ՊԽՊԴ) (PAT-Passive avoidance test) մոդելը (Бурева Я., Бурева О. 1991): Այս մեթոդի հիմնական առավելությունը ռեֆլեքսի մշակման արագությունն է (սովորեցումը մեկ փորձից հետո) և նյութերի հիշողության տարբեր ֆազերի վրա ազդեցության դիֆերենցման հնարավորությունը:

PAT թեստի սարքը կազմված է 10 սմ լայնություն և 40 սմ երկարություն ունեցող հարթակից և նրան փոքրիկ դռնով միացված մուֆ խցից 400 x 400 x 300 մմ, որի ամբողջ հատակով անցնում են էլեկտրականությանը հաղորդակցված մետաղյա ձողերը: Հարթակի վերևում ամրացված է 100 Վտ հզորությամբ լուսավորող լամպը, իսկ հարթակը և խուցը միացված են փոքրիկ դռնով: Սարքավարումը գտնվում է գետնից 0.6 մ բարձրության վրա:

PAT թեստի սարքն ամբողջ հետազոտության ընթացքում տեղադրվել է լուսավոր սենյակում՝ բնական լուսավորության պայմաններում, իսկ հետազոտության ժամանակահատվածը բոլոր կենդանիների համար եղել է 10⁰⁰ից-14⁰⁰ն: ՕԲ թեստում ըստ ակտիվության խմբերի բաժանված յուրաքանչյուր առնետ ընդգրկվել է այս փորձարկման մեջ:

Փորձի իրականացման համար կենդանին տեղադրվել է նախապես լուսավորված հարթակի վրա՝ պոչով դեպի մուֆ խցի դուռը: Փորձի ընթացքում, կենդանին բավականին արագ, հարթակով հասնում էր մուֆ խուց և մտնում ներս: Կենդանու ամբողջությամբ ներս մտնելուց հետո (թաթեր և պոչ) դուռը փակվում էր, և հատակի միջոցով կենդանին ստանում էր 10 վրկ. տևողությամբ 40 վոլտ և 1 mA հոսանքի ուժգնությամբ էլեկտրական գրգիռ: Այս գրգիռը բավական էր կենդանիների մոտ պասիվ խուսափման պայմանական ռեֆլեքսի ձևավորման համար: Կենդանիների մոտ ռեֆլեքսի ձևավորման ստուգումն (վերարտադրելիությունն) իրականացվել է ուսուցումից 24 ժամ անց: Ուսուցման աստիճանը գնահատելու նպատակով արձանագրվել է լատենտային ժամանակահատվածը՝ 300 վրկ., որի ընթացքում կենդանին մնում էր լուսավոր հարթակի վրա: Գրանցվել է նաև մուֆ խցում կենդանու

անցկացրած ժամանակը: Յուրաքանչյուր կենդանուն հարթակի վրա դնելուց առաջ այն մաքրվել է 96%-անոց բժշկական սպիրտի լուծույթով:

Պասիվ խուսափման պայմանական ռեֆլեքսը համարվում էր ձևավորված, եթե կենդանին 300 վրկ.-ի ընթացքում մութ խուց չէր մտնում: Այն կենդանիները, որոնք փորձարկումից 24 ժամ հետո մտնում էին մութ խուց, հեռացվում էին հետագա փորձերից: Ռեֆլեքսի ձևավորումը ստուգելուց հետո կենդանին ենթարկվել է ձախ գլխուղեղի միջին զարկերակի կապման, որից հետո 3-րդ, 6-րդ և 12-րդ օրերին ստուգվել է ձևավորված հիշողական հետքի առկայությունը:

2.8. Առնետների շարժողական կոորդինացիայի ուսումնասիրումը

«Մոտոր կոորդինացիոն» թեստում

«Մոտոր կոորդինացիոն» թեստը (Dunham N.W. et. al., 1957; Pritchett K., Mulder G.B. 2003; Tata D.A. et. al., 2015) իրականացվել է «պտտածող» (Rota-Rod) սարքավորման վրա (Rota-Rod Treadmills for rats 7700, “Ugo Basile”, Varese, Italy): Rota-Rod թեստն օգտագործվել է կենդանիների մոտ շարժողական դեֆիցիտը և կոորդինացիան գնահատելու համար (Rogers D.C. et. al., 1997; Schaar K.L. et. al., 2010):

Rota-Rod թեստի սարքը (նկ. 5) կազմված է 7 սմ տրամագիծ ունեցող հորիզոնական պտտածողից, որը կլոր շրջանակով բաժանված է չորս հավասար մասերի և հնարավորություն է ընձեռում փորձարկումները կատարել միաժամանակ չորս կենդանիների մոտ: Ձողի պտույտների թիվը կարելի է փոփոխել՝ ցածր արագությունից աստիճանաբար մեծացնելով կամ օգտագործելով հաստատուն արագություն՝ 10 պտույտ մեկ րոպեում: Ամբողջ փորձարկումը տևում է առավելագույնը 300 վրկ.: Կենդանու պտտածողից ընկնելու ժամանակահատվածը (0.1 վրկ. ճշտությամբ) ֆիքսվում է ավտոմատ կերպով՝ ձողի ներքևում տեղադրված հատուկ հաշվիչի օգնությամբ:

Մինչև Rota-Rod թեստի իրականացումը կենդանիներն անցել են «ուսուցման» փուլը, որի ընթացքում առնետները 2-3 անգամ՝ 1-2 րոպե տևողությամբ, յուրաքանչյուր 2-3 ժամը մեկ տեղադրվել են պտտածողի վրա, որի պտտման արա-

գությունն աստիճանաբար մեծացվել է 8 պ/ր-ից մինչև առավելագույնը 16 պ/ր: Կենդանին համարվում է վարժեցված, եթե ձողի պտտման հաստատուն արագության պայմաններում, կրկնակի փորձարկման ժամանակ, կենդանու ձողի վրա մնալու ժամանակահատվածն եղել է հաստատուն (Sinoriya P. et. al., 2011): Ձողի վրա վարժեցված կենդանիները Rota-Rod թեստում փորձարկվել են ձախ միջին ուղեղային զարկերակի կապելուց առաջ և հաջորդող 3-րդ, 6-րդ և 12-րդ օրերին:



Նկար 7. «Մոտոր կոորդինացիոն» թեստի Rota-Rod սարքավորումը

2.9. Առնետների զարկերակային ճնշման գրանցումը «tail-cuff» մեթոդով

Առնետների զարկերակային ճնշման որոշումն իրականացվել է ոչ ինվազիվ մեթոդով (Buñag R.D., Butterfield J. 1982; Fritz M., Rinaldi G. 2008; Li H.B. et. al., 2016), որը թույլ է տալիս կրծողների պոչի վրա գրանցել համակարգային զարկերակային ճնշումը (Kurtz T.W. et. al., 2005; Kurtz T.W. et. al., 2005) tail-cuff սարքավորման միջոցով (LE5001; Letica, Hospitalet, Barcelona, Spain) (նկ. 8):

Այս մեթոդն այլ մեթոդներից տարբերվում է առնետի պոչին անմիջապես տեղադրված մանժետից ստացված ազդակների ընկալման բարձր զգայունությամբ՝ հատուկ ծրագրավորված միկրոպրոցեսորի շնորհիվ:

Լաբորատոր կենդանիների մոտ, պոչի միջոցով զարկերակային արյան ճնշման չափումը կատարվում է կենդանու պոչի կաուդալ զարկերակի օկլուզիայի հիման վրա:



Նկար 8. Համակարգային զարկերակային ճնշման որոշման “tail-cuff” սարքավորում

Հաշվի առնելով, որ առնետներն իրենց պոչն օգտագործում են նաև մարմնի ջերմաստիճանը կարգավորելու համար (27°C -ից մինչև 30°C), փորձի ընթացքում ստացված արդյունքների մեծ տատանումներից խուսափելու նպատակով՝ մինչև հիմնական չափումների գրանցելը, խցիկում տեղադրված կենդանիները 10 րոպեի ընթացքում տաքացվում էին հատուկ կարգավորիչով խցիկում 35°C -ի ջերմաստիճանային պայմաններում, որը հնարավորություն էր ընձեռում կատարել երկարատև չափումներ (Kubota Y. et. al., 2006): Բացի այդ, կենդանիներին փորձի պայմաններին ընտելացնելու նպատակով, առաջին օրը վարժեցվում էին ուղղակի խցիկում թողնելով՝ մոտավորապես 30 րոպե, երկրորդ օրը պոչին էր դրվում մանժետը, որի միջոցով իրականացվում էր չափումը մոտավորապես 3 անգամ՝ յուրաքանչյուր 30 վայրկյանը մեկ, երրորդ օրը կենդանին տեղադրվում էր տաք խցիկի մեջ և կայուն ջերմաստիճանային պայմաններում պահվում կես ժամ, հաջորդ օրը կենդանին մնում էր նույն պայմաններում մեկ ժամ: Այս ամենն իրականացնելուց հետո հնարավոր էր դառնում մեկ ժամվա ընթացքում իրագործել չափումներ: Կատարված փորձերի պայմաններում՝ 60 րոպեի ընթացքում, կենդանիների մոտ գրանցվել է.

- սիստոլիկ զարկերակային ճնշումը (ՄՋՃ),
- դիաստոլիկ զարկերակային ճնշումը (ԴՋՃ),
- միջին զարկերակային ճնշումը (ՄՋՃ), որը որոշվում էր $\text{ՄՋՃ} = \text{ԴՋՃ} + 0.33 (\text{ՄՋՃ} - \text{ԴՋՃ})$ բանաձևով,

- սրտի կծկման հաճախությունը (ՄԿՀ):

Կենդանիների ելակետային ճնշումը գրանցելուց հետո 5 հաջորդական օրերի ընթացքում նրանց ներարկվել է PRP-1 և ամեն օր կատարվել նույն չափումները:

2.10. Մարդու արյան թրոմբոցիտների ագրեգանտային ակտիվության հետազոտումը

Մարդու արյան թրոմբոցիտների ագրեգանտային ակտիվության հետազոտումը կատարվել է ROTEM® ագրեգոմետրի օգնությամբ, որը չափում է թրոմբոցիտների ագրեգացիան ամբողջական արյան մեջ՝ օգտագործելով հակազդող ագրեգաչափումը (Impedence Aggregometry) (Theusinger O.M. et. al., 2010; Haas T. et. al., 2012): Մեթոդով նախատեսված միանգամյա օգտագործման ազդանյութերը, ինչպես նաև էլեկտրոդներով և մագնիսական խառնիչով ապահովված կյուվետային համակարգը, ստանդարտացված ծավալները և կատարվող գործողությունների հերթականության քայլ առ քայլ կարգավորման ազդանշանային համակարգը հեշտացնում են աշխատանքը և հնարավորինս կանխում սխալվելու հավանականությունը:

Փորձերը կատարվել են «Rotem» թրոմբոցիտային համակարգի «adp-tem®» ռեագենտով, որը կիրառում են ամբողջական արյան մեջ թրոմբոցիտների ֆունկցիայի գնահատման համար՝ ակտիվացնելով ԱԴՖ ընկալիչներով մակաձված ուղին (Petricevic M. et. al., 2016):

ROTEM® ագրեգոմետրը հնարավորություն է ընձեռում իրականացնել կրկնակի չափում երկխցային համակարգի շնորհիվ և արդյունքը գրանցվում է 6 ռոպե հետո 3 տարբեր ցուցանիշների ձևով (A6, MS և AUC)՝ բնութագրելով թրոմբոցիտների ագրեգացիայի արագությունը և աստիճանը, ինչպես նաև ագրեգացված թրոմբոցիտների քանակը՝ թրոմբոցիտների ԱԴՖ ընկալիչների խթանիչների ավելացումից հետո:

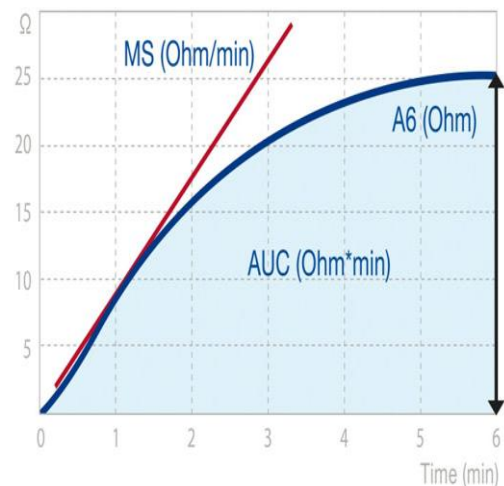
- A6 - ամպլիտուդը, որն արտացոլում և ագրեգացված թրոմբոցիտների քանակական բնութագիրը, քանի որ թրոմբոցիտները, պատելով փոքրիկ էլեկտրոդների մակերեսը, մեծացնում են էլեկտրոդների միջև եղած դիմադրությունը որը

չափվում է $O\angle U$ -երով և գրաֆիկորեն պատկերվում է չափման ժամանակի (6ր) ընթացքում:

- MS (ագրեգացման կորի առավելագույն թեքությունը՝ արտահայտված $O\angle U/ր$): Այն բնութագրում է թրոմբոցիտների ագրեգացիայի արագությունը:

- AUC (կորի տակ ընկած մակերեսը՝ արտահայտված $O\angle U^*ր$): Այն տալիս է տեղեկություն ընդհանուր թրոմբոցիտների ագրեգացիայի մասին՝ չափման առաջին րոպեից մինչև 6ր ընկած ժամանակահատվածում:

Թեստի ընթացակարգը: Հետազոտությունն իրականացվել է առողջ, իգական սեռի, 20-35 տարեկան կամավորների մասնակցությամբ: Հետազոտվող արյունը զգուշությամբ հավաքվել և մշակվել է՝ համաձայն համապատասխան նախատեսված կանոնների՝ (Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service 5th Edition 2009) ցիտրատային սրվակում: Մինչև վերլուծության իրականացումն ոչ ուշ, քան մեկ ժամվա ընթացքում, արյան նմուշները պահվել են սենյակային ջերմաստիճանում:



Նկար 9. Մարդու արյան թրոմբոցիտների ագրեգանտային ակտիվության հետազոտման ROTEM® ագրեգոմետր սարքը և թրոմբոցիտների ագրեգացիայի գրաֆիկական կորը

Թրոմբոցիտների ագրեգացիայի բուն գործընթացը սկսելուց և այն բնութագրող ցուցանիշները գրանցելուց առաջ և՛ արյունը, և՛ նոսրացուցիչը (NaCl-ի 0.9%-

անոց լուծույթ) նախապես տաքացվել են ROTEM մոդուլի հատուկ նախատեսված խցերում: Թրոմբոցիտների ագրեգացիան իրականացնելու նպատակով ROTEM մոդուլի հատուկ մագնիսական խառնիչով և էլեկտրոդներով ապահովված կյուվետների մեջ տեղադրվել են 150 μ լ ծավալով արյուն, նույնքան նոսրացուցիչ և վերջինիս մեջ լուծված ԱԴՖ (1 մկգ ազդանուօրը սենյակային ջերմաստիճանում նախապես 5 րոպե պահելուց հետո լուծվել է նոսրացուցիչի 20 μ լ-ում 3 րոպեի ընթացքում): Հետազոտվող պոլիպեպտիդի ազդեցությունը ուսումնասիրելու համար ավելացվել է նույն ծավալով (150 μ լ) PRP-1, որն ինկուբացիայի է ենթարկվել արյան մեջ: PRP-1-ն ավելացվել է 400 μ գ-ը և 165 μ գ-ը 20 μ լ-ում հաշվարկով:

2.11. Հետազոտության արդյունքների վիճակագրական մշակումը

Հետազոտության տվյալները ցուցադրված են խմբային միջին արժեքի $\pm$ ստանդարտ շեղման ($M \pm SD$) տեսքով: Բաշխման նորմալությունը Կոլմոգորովի-Սմիրնովի թեստով ստուգելուց հետո կիրառվել են համապատասխան պարամետրիկ թեստեր՝ գնահատվել է Ստյուդենտի անկախ ընտրանքների համար t - թեստի երկկողմանի տարբերակը: Կրկնակի չափումների ժամանակ կիրառվել է Ստյուդենտի զույգ խմբերի t - թեստի տարբերակը: Երկուսից ավելի խմբերի ժամանակ դիսպերսիաների հավասարության դեպքում կիրառվել է միաչափ դիսպերսիոն եղանակը (ANOVA): Բոլոր դեպքերում տվյալները համարվել են վիճակագրորեն հավաստի առաջին տիպի (α) սխալի 0.05-ից փոքր հավանականության դեպքում: Ստացված տվյալների հաշվարկները կատարվել են IBM SPSS Statistic 16 և Microsoft Excel 2007 ծրագրերով:

Թրոմբոցիտների ագրեգացիայի հետազոտության մեջ ընդգրկվել են առողջ, իգական սեռի, 20-35 տարեկան կամավորներ: Փորձերն իրականացվել են սպիտակ, ալբինոս, անցեղ, արու, թվով 156 և 180-240 գ կշռով առնետների մոտ, որոնք գտնվել են ստանդարտ լաբորատոր վիվարիումի պայմաններում (ոչ շատ,

քան վեց առնետ մեկ վանդակում), $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ սենյակային ջերմաստիճանի և 40%-70% խոնավության պայմաններում: Սենյակի լուսավորման ցիկլը եղել է ստանդարտ՝ 12 ժամ լույս և 12 ժամ մութ: Խմելու ջուրը և կենդանիների կերը (Teklad rat chow) եղել են անսահամանփակ *ad libitum*: Կենդանիների խնամքը և լաբորատոր հետազոտություններն իրականացվել են ըստ *The PHS Guide for the Care and Use of laboratory Animals* (1996թ.) ուղեցույցի պահանջների:

Կենդանիները մինչ հետազոտությունը ադապտացվել են մեկ շաբաթ, իսկ հետազոտություններից 24 ժամ առաջ զրկվել են սննդից և ջրից: Կենդանիների բոլոր փորձարկումներն իրականացվել են 10^{00} -ից- 14^{00} -ն ընկած ժամանակահատվածում:

Հետազոտության ընթացքում կիրառվել են՝ NaCl-ի (0.9%-անոց) իզոտոնիկ լուծույթ, ֆորմալինի 10%-անոց բուֆերային լուծույթ, 96%-անոց բժշկական սպիրտ («Լիկվոր, ՀՀ» ընկերության) քլորալիդրատ, նեմբուտալ և ADP («Sigma Aldrich, Germany» ընկերության), ինչպես նաև PRP-1՝ սինթեզված ՌԴ-ն ԲԳԱ-ի ԳՀ ինստիտուտում, 6-0 համարի նեյլոնային («Surgical Specialties Co., Reading, PA, USA» ընկերության) և 10-0 համարի էթիկոնային միկրովիրաբուժական թելեր («Johnson & Johnson» ընկերության):

3.1. PRP-1-ի ուղեղանոթային ակտիվության ուսումնասիրումը

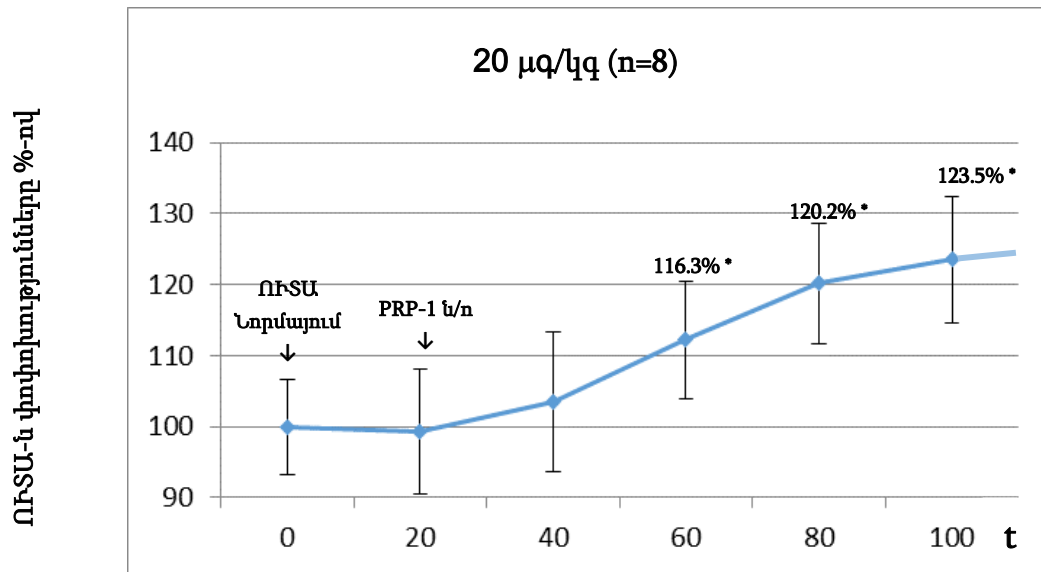
Ուղեղային արյան շրջանառության վրա PRP-1-ի ազդեցությունն ուսումնասիրելու համար հիմք հանդիսացան մի շարք նյարդապաշտպան նյութերի համար հաստատված կապը վերջիններիս ցուցաբերած ուղեղանոթային էֆեկտների և նյարդապաշտպան ազդեցության միջև (Chen S.T et. al., 1986; Feuerstein G.Z., Chavez J. 2008): Բացի այդ, հայտնի է, որ գլխուղեղի արյան շրջանառության կարգավորման մեխանիզմներում մասնակցում են գլխուղեղի նեյրոքիմիական կոմպոնենտները, ինչպիսիք են՝ GABA-ն, TRH-ը, IGF-1-ը, GPE- ը, G-2mPE-ն և այլն:

PRP-1-ի ազդեցության ուսումնասիրումն ուղեղային արյան շրջանառության վրա, առնետների մոտ, կատարվել է լազեր դոպլերային եղանակով, ինչպես նարմայի, այնպես էլ ուղեղային արյունամատակարարման խանգարումների պայմաններում:

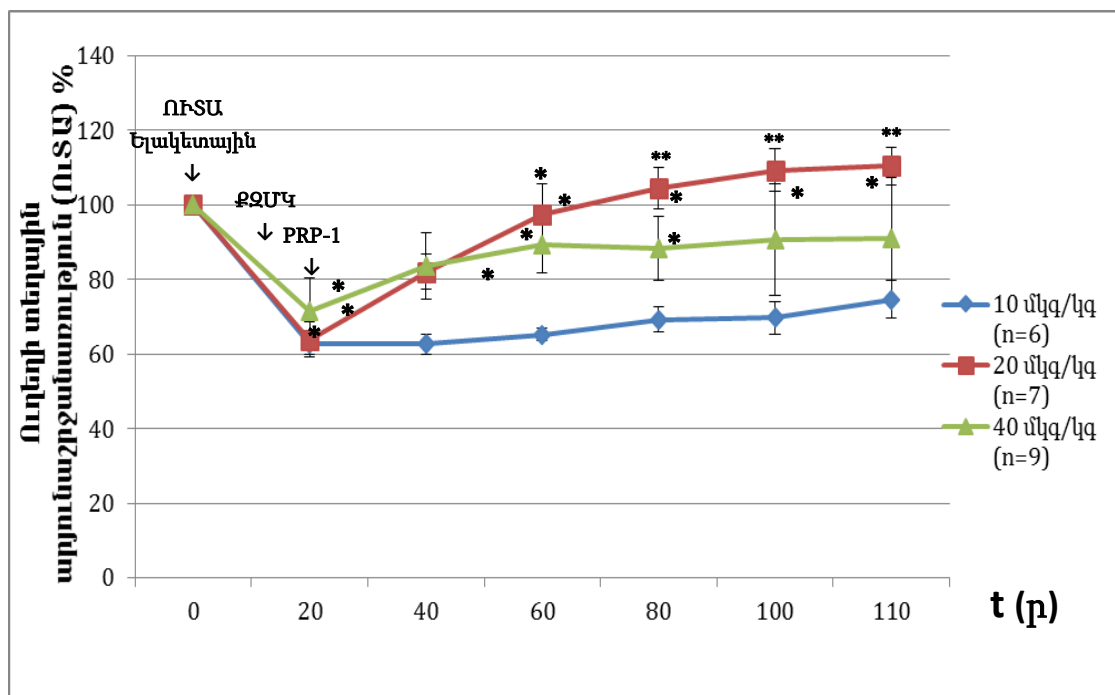
Կենդանիների գլխուղեղի արյունաշրջանառության խանգարումը մոդելավորվել է աջ քնային զարկերակի միակողմանի կապման եղանակով (Sengupta D. et. al., 1974; Mendelow A.D. et. al., 1984): Նշված մոդելը լայնորեն կիրառվում է ուղեղային արյան շրջանառության խանգարումների մոդելավորման նպատակով, քանի որ մի շարք կենդանիների, այդ թվում և առնետների միակողմանի քնային զարկերակի կապումը բերում է գլխուղեղի տեղային արյունաշրջանառության զգալի նվազման՝ ավելի քան մեկ երրորդի չափով (Ley G.D. et. al., 1985):

Ուսումնասիրությունները սկսել ենք փորձարարական կենդանիների առողջ գլխուղեղի վրա PRP-1-ի ազդեցության ուսումնասիրմամբ: Ինչպես վկայում են կատարված փորձերի արդյունքները (նկ. 10) PRP-1-ը բերում է գլխուղեղի տեղային արյունաշրջանառության բարելավման: Այսպես, պրեպարատի 20 մկգ/կգ դեղաչափով ներորովայնային ներարկումից 20 րոպե անց՝ նեմբուտալով անզգայացված կենդանիների տեղային ուղեղային արյունահոսքը սկսում է աճել, և 60-րդ րոպեին գրանցված փոփոխությունները կրում են հավաստի բնույթ՝ հասնելով առավելագույն

արժեքի երկու ժամ անց՝ գերազանցելով իր սկզբնական ցուցանիշը մոտավորապես 23.5%±2.6-ով ($p < 0.01$):



Նկար 10. PRP-1-ի ազդեցությունն ՈւՏԱ-ն վրա արտահայտված փոփոխություններով ելակետային (100%) համեմար: Տվյալները բերված են $M \pm SD$ արժեքների ձևով
 * - $p < 0.01$, ելակետային ցուցանիշի համեմար, (n=8):



Նկար 11. ՈւՏԱ-ն փոփոխությունները (%-ով նորմայի համեմար) ՔՉՄԿ-ան և PRP-1-ի ն/ո ներմուծման պայմաններում: Տվյալները բերված են $M \pm SD$ արժեքների ձևով:

* $p < 0.01$, ելակետային ցուցանիշի համեմար,

** $p < 0.01$, ՔՉՄԿ-ան ցուցանիշի համեմար:

Այսպիսով, կատարված փորձերի արդյունքները վկայում են PRP-1-ի ուղեղային արյան շրջանառությունը լավացնելու ընդունակության մասին: Նշվածը հիմք հանդիսացավ ուսումնասիրելու պրեպարատի ազդեցությունն ուղեղային արյան շրջանառության խանգարումների պայմաններում:

Ինչպես վկայում են փորձերի արդյունքները, (աղ. 2, 3 և 4) rCCAO-ն ուղեկցվում է տեղային արյունահոսքի խանգարմամբ, որը կապումից 20 րոպե հետո կազմում է $36\% \pm 1.5'$ սկզբնական արժեքի համեմատ: Նշված պայմաններում PRP-1-ի ազդեցությունն ուսումնասիրվել է տարբեր դեղաչափերով: Փորձարկվել է նորմայի պայմաններում ուսումնասիրված դեղաչափը՝ 20 մկգ/կգ, ինչպես նաև նշվածից մեծ՝ 40 մկգ/կգ և փոքր՝ 10 մկգ/կգ դեղաչափերը (նկ. 11):

Այսպես, ՔԶՄԿ-ան պայմաններում, երբ ՈւՏԱ-ը, համաձայն բերված տվյալների, մոտ մեկ երրորդի չափով ($37.4 \pm 1.6\%$) նվազած է, PRP-1-ի 10 մկգ/կգ դեղաչափով ներորովայնային ներարկումը (աղ. 2, նկ. 11) բերում է գլխուղեղի արյունաշրջանառության որոշակի բարելավման, որը պրեպարատի ներմուծումից 90 րոպե անց կազմում է $12.1\% \pm 1.9'$ համեմատած քնային զարկերակի միակողմանի կապման հետ:

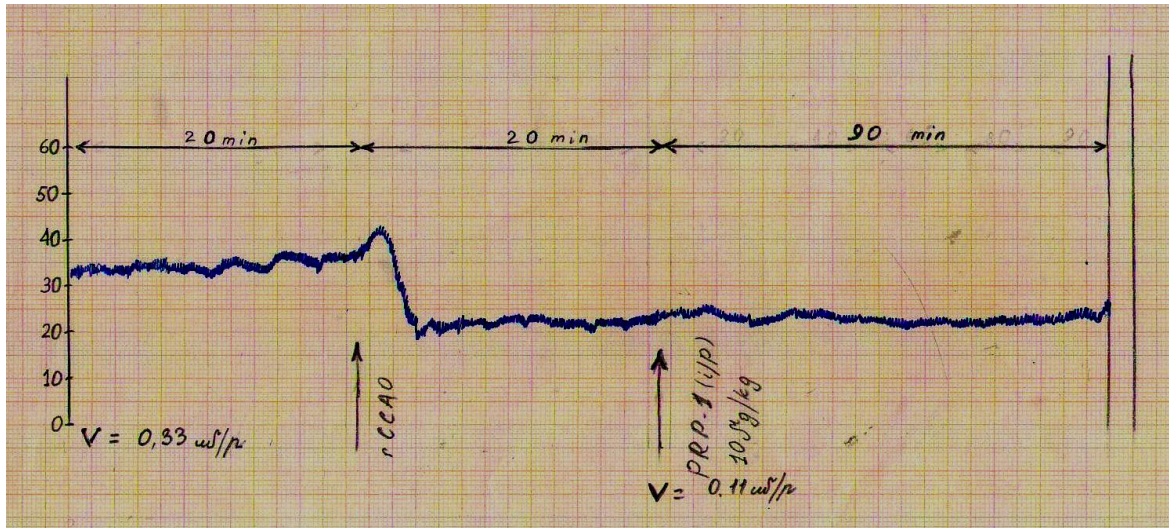
Աղյուսակ 2.

PRP-1-ի 10 մկգ/կգ դեղաչափով ազդեցությունն ՈւՏԱ-ն փոփոխության վրա:

Տվյալները բերված են $M \pm SD$ արժեքների ձևով:

Փորձի պայմանները (n=6)		ՈւՏԱ %-ով $M \pm SD$	p
Ելակետային		100%	-
ՔԶՄԿ-ից 20ր հետո		$62.6 \pm 2.7^*$	$*p < 0.01$
PRP-1 10մկգ/կգ ն/ն ներարկում	20ր	62.7 ± 1.7	$p > 0.05$
	40ր	65.2 ± 3.4	$p > 0.05$
	60ր	69.2 ± 4.4	$p > 0.05$
	80ր	69.8 ± 5.0	$p > 0.05$
	90ր	74.7 ± 12.1	$p > 0.05$

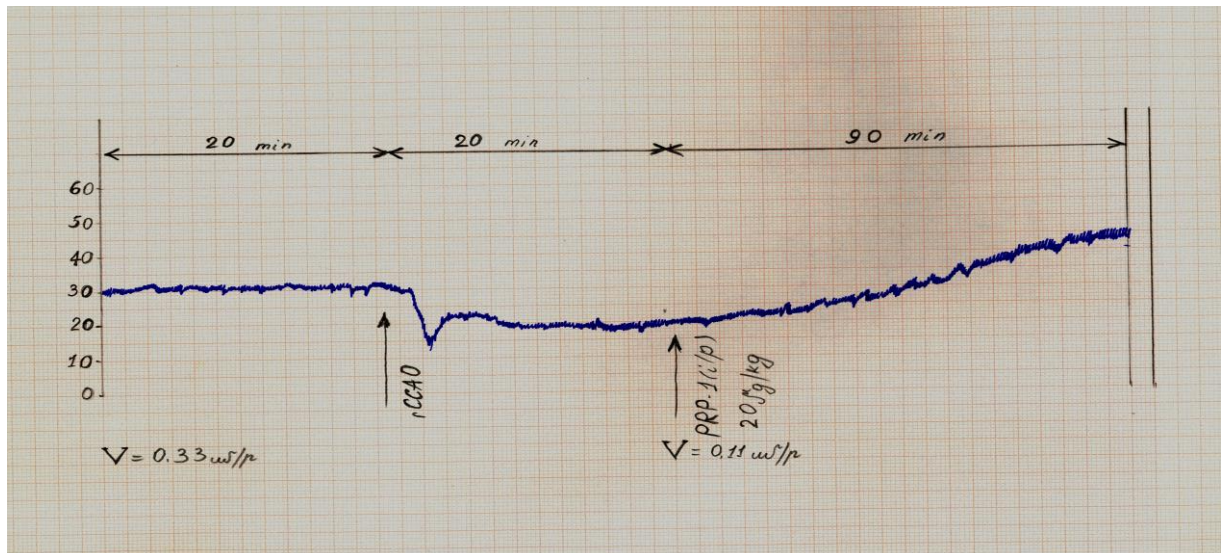
$*p < 0.01$, ելակետային ցուցանիշի համեմատ:



Նկար 12. Առնետի ՈւՏԱ-ն փոփոխությունները լազերային դոպլերային հոսքաչափի (Ֆլուումետրի) տվյալներով (փորձի պայմաններում արտացոլվող կորը), Control-աջ քնային զարկերակի կապումից առաջ, rCCAO-աջ քնային զարկերակի կապումից հետո, PRP-1-ի 10 մկգ/կգ դեղաչափով ներորովայնային ներարկումից հետո:

Ուսումնասիրվող պոլիպետիդի դեղաչափը մինչև 20 մկգ/կգ մեծացնելիս պարզվեց (նկ. 11), որ աջ քնային զարկերակի կապման հետևանքով մինչև $36.1\% \pm 2.6$ ($p < 0.01$, $n = 7$) արյունաշրջանառության իջեցման պայմաններում, PRP-1-ի ն/ո ներարկումն ուղեկցվում է ՈւՏԱ-ի նորմայից զգալիորեն արտահայտված խթանմամբ, ինչի մասին է վկայում 20-րդ րոպեին նկատվող վիճակագրորեն հավաստի բնույթի տեղային արյունաշրջանառության բարելավումը, որը շարունակում է աճել՝ հաջորդող 40-րդ և 90-րդ րոպեներին ընդունելով, համապատասխանաբար $33.5\% \pm 1.8$ ($p < 0.01$, $n = 7$) և $46.5\% \pm 3.1$ ($p < 0.01$, $n = 7$) արժեքները:

Փաստորեն, PRP-ի 20 մկգ/կգ դեղաչափը ցուցաբերում է բավականին բարձր արդյունավետություն՝ վերականգնելով խանգարված արյունահոսքը և գերազանցելով նույնիսկ ելակետային արյունամատակարարման մակարդակը $23.5\% \pm 2.6$ -ի ($p < 0.01$, $n = 7$) չափով (աղ. 3):



Նկար 13. Առնետի ՈւՏԱ-ն փոփոխությունները լազերային դոպլերային հոսքաչափի (Ֆլոումետրի) տվյալներով (փորձի պայմաններում արտացոլվող կորը), Control-աջ քնային զարկերակի կապումից առաջ, rCCAO-աջ քնային զարկերակի կապումից հետո, PRP-1-ի 20 մկգ/կգ դեղաչափով ներորովայնային ներարկումից հետո:

Աղյուսակ 3.

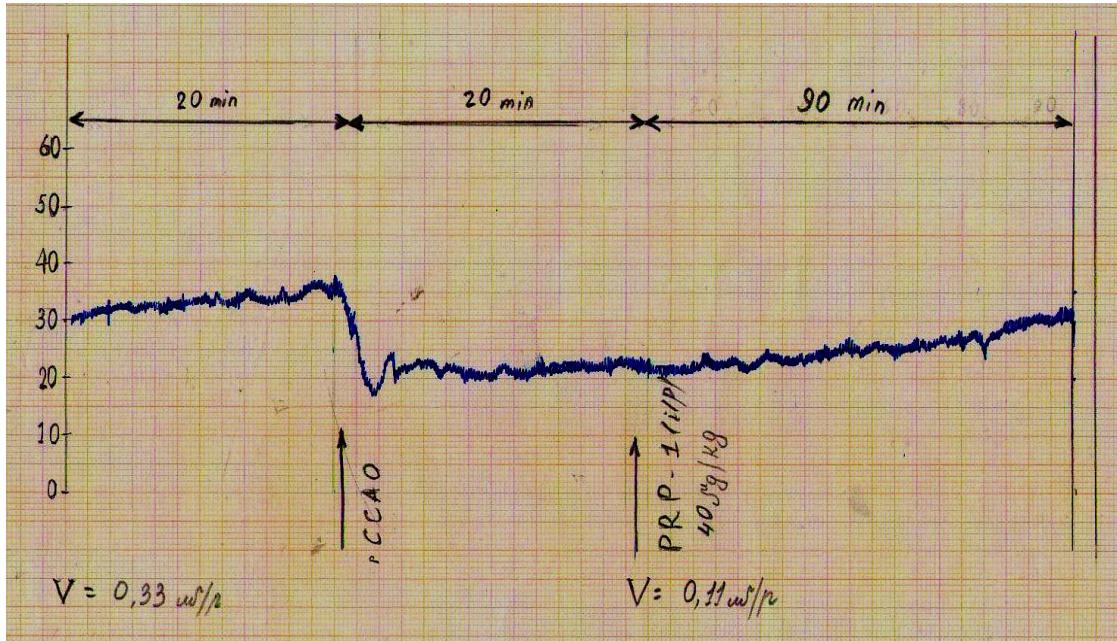
PRP-1-ի 20 մկգ/կգ դեղաչափով ազդեցությունն ՈւՏԱ-ն փոփոխության վրա: Տվյալները բերված են $M \pm SD$ արժեքների ձևով:

Փորձի պայմանները (n=7)		ՈւՏԱ %-ով $M \pm SD$	p
Ելակետային		100%	-
ՔԶՄԿ-ից 20ր հետո		$63.9 \pm 4.7^*$	$*p < 0.01$
PRP-1 20մկգ/կգ ն/ն ներարկում	20ր	$82.0 \pm 8.3^*$	$*p < 0.01$
	40ր	$97.4 \pm 5.5^* (**)$	$*p < 0.01$ $**p < 0.01$
	60ր	$104.6 \pm 5.7^* (**)$	$*p < 0.01$ $**p < 0.01$
	80ր	$109.3 \pm 7.2^* (**)$	$*p < 0.01$ $**p < 0.01$
	90ր	$110.4 \pm 7.5^* (**)$	$*p < 0.01$ $**p < 0.01$

$*p < 0.01$, ելակետային ցուցանիշի համեմատ,

$**p < 0.01$, ՔԶՄԿ-ան ցուցանիշի համեմատ:

Փորձարկումների հաջորդ փուլում, երբ PRP-1-ն ուսումնասիրվել էր 40 մկգ/կգ դեղաչափով (նկ. 12), պարզվեց, որ աջ քնային զարկերակի կապումից 20 րոպե անց գրանցվում է $28.4\% \pm 3.5$ -ով ($p < 0.01$, $n = 9$) նվազած տեղային արյունամատակարարման բարելավում $17.8\% \pm 1.7$ -ով ($p < 0.01$, $n = 9$) պրեպարատի ներմուծման 40-րդ րոպեին, որն այդպես էլ չի վերականգնվում՝ մինչև ելակետային մակարդակը, փորձից անգամ երկու ժամ հետո (աղ. 3):



Նկար 14. Առնելի ՈւՏԱ-ն փոփոխությունները լազերային դոպլերային հոսքաչափի (Ֆլուումետրի) տվյալներով (փորձի պայմաններում արտացոլվող կորը), Control-աջ քնային զարկերակի կապումից առաջ, rCCAO-աջ քնային զարկերակի կապումից հետո, PRP-1-ի 40 մկգ/կգ դեղաչափով ներորովայնային ներարկումից հետո:

Այսպիսով, կատարված հետազոտության արդյունքները վկայում են, որ PRP-1-ի ազդեցությունն ՈւՏԱ-ն վրա կրում է դեղաչափ-կախյալ բնույթ, ընդ որում այդ կախյալությունն ունի գմբեթաձև տեսք (նկ. 15): Փաստորեն, PRP-1-ի ուղեղանոթային ազդեցությունն առավելապես արտահայտված է 20 մկգ/կգ դեղաչափի կիրառման դեպքում (նկ. 13):

Ստացված տվյալները համահունչ են նախկինում գրականության մեջ նկարագրված պոլիպեպտիդներին բնորոշ դեղաչափ-ազդեցություն կախյալության առանձնահատկությունների հետ: Հարկ է նշել նաև, որ բազմաթիվ էնդոգեն նյութե-

րի համար, որոնց ազդեցության թիրախն են հանդիսանում պեպտիդները, ևս բնութագրվում են դեղաչափ-կախյալ ազդեցության Գաուսյան բաշխմամբ:

Աղյուսակ 4.

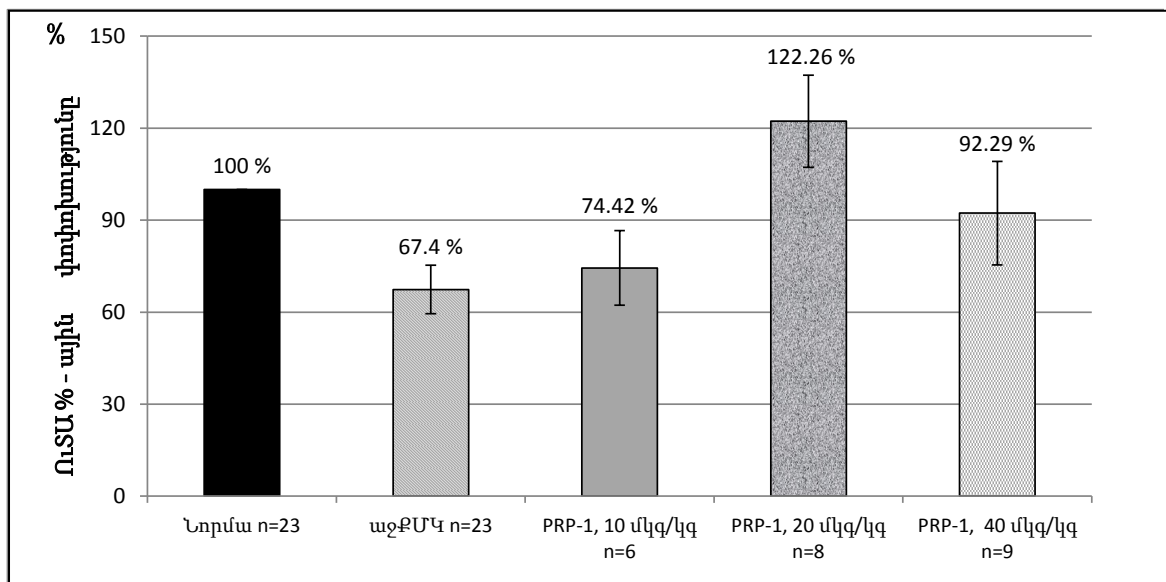
PRP-1-ի 40 մկգ/կգ դեղաչափով ազդեցությունն ՈւՏԱ-ն փոփոխության

վրա: Տվյալները բերված են $M \pm SD$ արժեքների ձևով:

Փորձի պայմանները (n=9)		ՈւՏԱ %-ով $M \pm SD$	p
Ելակետային		100%	-
ՔԶՄԿ-ից 20ր հետո		$71.6 \pm 8.9^*$	$*p < 0.01$
PRP-1 40մկգ/կգ ն/ն ներարկում	20ր	83.7 ± 7.6	$p > 0.05$
	40ր	$89.4 \pm 8.5^*$	$*p < 0.01$
	60ր	88.3 ± 14.9	$p > 0.05$
	80ր	90.7 ± 16.6	$p > 0.05$
	90ր	90.9 ± 17.5	$p > 0.05$

$*p < 0.01$, ելակետային ցուցանիշի համեմատ,

$**p < 0.01$, ՔԶՄԿ-ան ցուցանիշի համեմատ:



Նկար 15. Ներորովայնային ներարկման պայմաններում փորբեր դեղաչափերով

(10 մկգ/կգ, 20 մկգ/կգ, 40 մկգ/կգ) PRP-1-ի ազդեցությունն ՈւՏԱ-ն վրա

տոկոսներով արտահայտված ՔԶՄԿ մոդելում: Տվյալները բերված են

միջին±ստանդարտ շեղում արժեքների ձևով:

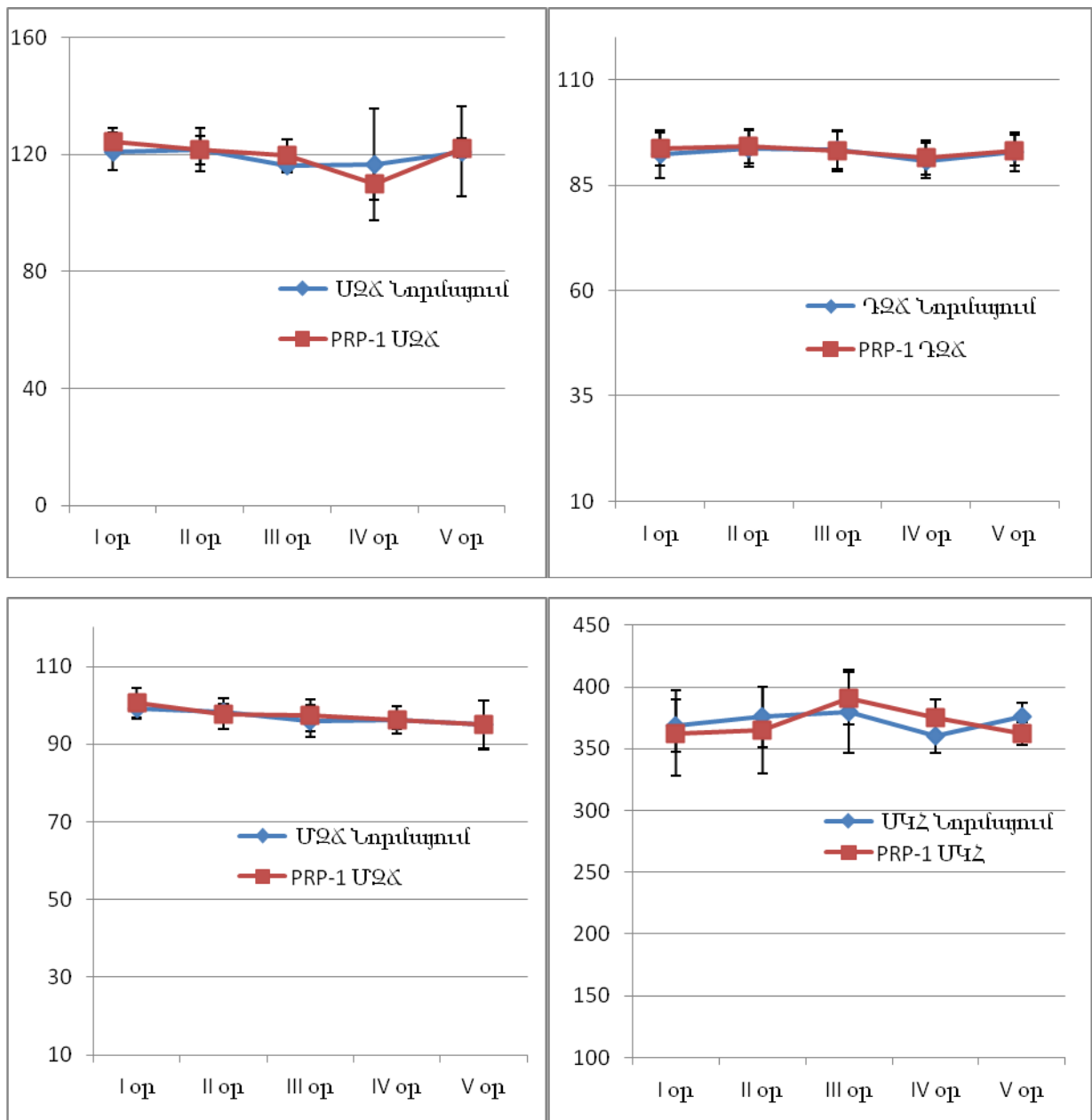
3.1.2. PRP-1-ի ցուցաբերած ազդեցությունը զարկերակային ճնշման (ՁՃ) և սրտի կծկման հաճախության (ՍԿՀ) վրա

Էնդոգեն վազոակտիվ միացությունների համար շատ կարևոր բնութագիր է հանդիսանում համակարգային զարկերակային ճնշման վրա դրանց ցուցաբերած ազդեցությունը:

PRP-1-ի կողմից ուղեղային արյան շրջանառությունը բարելավելու հատկությունն ինչպես նորմալի պայմաններում, այնպես էլ հատկապես վերջինիս խանգարման ժամանակ, հիմք հանդիսացան առնետների համակարգային զարկերակային ճնշման (ՁՃ) և սրտի կծկման հաճախության (ՍԿՀ) վրա դրա առավել արդյունավետ՝ 20 մկգ/կգ դեղաչափով ազդեցության ուսումնասիրության համար: Նշված էֆեկտներն ուսումնասիրվել են հինգ հաջորդական օրերի ընթացքում, պոլիպեպտիդի ներորովայնային ներարկման պայմաններում, օրեկան մեկ ժամ տևողությամբ:

Կատարված փորձերի արդյունքներն ամփոփված են նկար 16-ում, որից ակնհայտ երևում է, որ պրեպարատի 20 մկգ/կգ դեղաչափով հնգօրյա ներորովայնային ներարկումը ($n=5$) փորձարարական կենդանիների մոտ չի ուղեկցվում ո՛չ սիստոլիկ (ՍՁՃ), ո՛չ դիաստոլիկ (ԴՁՃ), ո՛չ միջին զարկերակային ճնշումների (ՄՁՃ) և ո՛չ էլ սրտի կծկման հաճախության (ՍԿՀ) որևէ հավաստի փոփոխություններով:

Հիմնվելով ստացված արդյունքների վրա՝ կարելի է եզրակացնել, որ ԲՁՄԿ-ան հետևանքով առաջացրած գլխուղեղի խանգարված արյունաշրջանառությունը վերականգնելու PRP-1-ի հատկությունը պայմանավորված չէ համակարգային զարկերակային ճնշման փոփոխությամբ:



Նկար 16. PRP-1-ի 20 մկգ/կգ դեղաչափով ($n=5$) հնգօրյա ներարկման ազդեցությունը սիստոլիկ (UQX), դիաստոլիկ (QXN), միջին (UQX) զարկերակային ճնշումների և սրտի կծկման հաճախության (UYZ) վրա: Տվյալները բերված են միջին $\pm$ ստանդարտ շեղում արժեքների ձևով:

Այսպիսով PRP-1-ի ուղեղային այրունամատակարարման վրա ունեցած ազդեցության վերլուծությունը թույլ է տալիս եզրակացնել, որ PRP-1-ն օժտված է ուղեղային արյան շրջանառությունը խթանելու հատկությամբ, որն ավելի արտահայտված է վերջինիս խանգարումների պայմաններում: Բացահայտված ազդեցությունը կրում է դեղաչափ-կախյալ բնույթ և առավել արտահայտված է 20 մկգ/կգ դեղաչափով ն/ո ներարկման դեպքում: Հատկանշական է, որ պրեպարատի ազդեցությունը ուղեղային արյան շրջանառության վրա բնութագրվում է ընտրողականությամբ, որի մասին վկայում է համակարգային զարկերակային ճնշման վրա որևէ ազդեցության բացակայությունը:

3.2. PRP-1-ի հակաազրեգանտային ազդեցության ուսումնասիրումը

Գրականության տվյալները վկայում են, որ չնայած իշեմիկ ինսուլտի պայմաններում գրանցվող խանգարումների ախտաբանական և կլինիկական պոլիմորֆիզմի, վերջինիս զարգացման կարևոր գործոններից է արյան ռեոլոգիական հատկություններն իր ֆունկցիոնալ և ձևաբանական բնութագրերով (Ажермачева М.Н. и др. 2013): Կլինիկական հետազոտությունները վկայում են, որ սուր ինսուլտի խորության աստիճանն ուղղակիորեն կախված է հեմոստազի խանգարումների (Feinberg W.M. et. al., 1996; Barber M. et. al., 2006) և հատկապես թրոմբոցիտների բարձր ազրեգացիոն ունակության հետ (Tang Y.H et. al., 2014), որով և հիմնավորվում է հիվանդների բուժման մեջ հակաազրեգանտային թերապիայի առաջնահերթությունը (Zhou Zhong-He, Chen Hui-Sheng. 2013): Կաթվածի բուժման վերջնարդյունքների վիճակագրական տվյալները վկայում են, որ հակաազրեգանտային թերապիան հանդիսանում է կաթվածի երկրորդային կանխարգելման կարևոր բաղադրիչ (Heptinstall S., Bath P.M. 2004; Balucani C. et. al., 2010): Կաթվածի բուժման ներկայիս ուղեցույցերի համաձայն՝ երկարատև հակաազրեգանտային բուժումը նշանակվում է գրեթե բոլոր հիվանդներին (The ESPRIT study group 2006; Paciaroni M., Bogousslavsky J. 2010):

Հաշվի առնելով նշվածը և PRP-1-ի ուղեղային արյան շրջանառությունը խթանելու ունակությունը, ինչպես նաև արյան համակարգի վրա պոլիպեպտիդի նախկինում ապացուցված ազդեցությունը (Coggin M.H. et. al., 2008), ուսումնասիրվել է նաև PRP-1-ի թրոմբոցիտների ագրեգացիան կանխելու հատկությունը:

Հետազոտողների խումբն ակադեմիկոս Ա.Ա. Գալոյանի և պրոֆ. Ա.Ս. Բրեչերի գլխավորությամբ մոնոկլոնալ հակամարմինների օգնությամբ պարզաբանել է, որ PRP-1-ը, նեյրոհիպոֆիզից ձերբագատվելով, անցնում է ընդհանուր արյան շրջանառություն և կուտակվում է լիմֆոցիտներում և էրիթրոցիտների թաղանթներում (Galoyan A.A. 1997; Galoyan A.A. 2000): Պարզաբանվել է, որ PRP-1-ի ազդեցությունն արյան մակարդման գործընթացի վրա միանշանակ չէ: Բարձր կոնցենտրացիաներով այն խթանում է Xa (FXa) գործոնի և վերջինիս բնական ինհիբիտոր ATIII-ի կոմպլեքսացոյացումը, ազատ $FXa\alpha$ -ի ձևափոխումն ազատ $FXa\beta$, ինչպես նաև $1^{\circ}FXa\beta$ -ATIII-ից $3^{\circ}FXa\beta$ -ATIII-ի առաջացումը, մինչդեռ ցածր կոնցենտրացիաների դեպքում PRP-1-ն ընկճում է նշված փոփոխությունները: Փաստորեն PRP-1-ը պիկոմոլ և նանոմոլ կոնցենտրացիաներով ցուցաբերում է յուրահատուկ հեպարինանման ազդեցություն (Galoyan A.A. 2008):

PRP-1-ի հակաագրեգացիոն ունակությունն ուսումնասիրվել է թրոմբոցիտների ԱԴՖ-ով մակաձված ագրեգացիայի մոդելում: Նշված մոդելի ընտրության համար հիմք հանդիսացավ կիրառվող հակաագրեգանտների ազդեցության մեխանիզմների համեմատական բնութագիրը: Կլինիկայում կիրառվող հակաագրեգանտների թիրախներն են՝ ցիկլօքսիգենազը, որի պաշարումը կանխում է թրոմբոքսան $A2$ -ի առաջացումը (ացետիլսալիցիլաթթու) (Tailor A. et. al., 2007), ֆոսֆոդիէսթերազը (դիպիրիդամոլ) (Kim H.H. et. al., 2008): Բավական բարձր արդյունավետությամբ են օժտված թրոմբոցիտների գլիկոպրոտեինային ընկալիչների [GP] IIb/IIIa ներհակորդները (աբսիքսիմաբ) (Суслина З.А. и др. 2009) և թրոմբոցիտների ԱԴՖ ընկալիչների պաշարիչները, որոնք անդարձելի և ընտրողաբար արգելակում են թրոմբոցիտների ագրեգացիան (կլոպիդոգրել, թիկլոպիդին) (Bird J.E. et. al., 2012; Xie W. et. al., 2015):

Այսպիսով բերված տվյալներն ակնհայտորեն վկայում են, որ ԱԴՖ-ով մակաձված թրոմբագոյացման արգելակիչները և թրոմբոցիտների ԱԴՖ-ընկալիչների պաշարիչները կլինիկայում ցուցաբերում են բավական բարձր արդյունավետություն:

Հիմնվելով նշվածի վրա, PRP-1-ի հակաագրեգացիոն հատկությունն ուսումնասիրվեց ԱԴՖ-ով մակաձված թրոմբոցիտների ագրեգացիայի մոդելում:

Թրոմբոցիտների ագրեգացիայի մակաձումն իրականացվել է «ADP-tem» ազդանյութով, և գրանցվել են ուսումնասիրվող գործընթացը բնութագրող հետևյալ ցուցանիշները՝ A6-ը (ամպլիտուդը 6ր-ի ընթացքում ՕՀՄ-երով), MS-ը (ագրեգացման գրաֆիկի առավելագույն թեքությունն՝ արտահայտված ՕՀՄ/ր) և AUC-ը (կորի տակ ընկած մակերեսն՝ արտահայտված ՕՀՄ*ր):

Աղյուսակ 5.

PRP-1-ի (0.024 μ գ/ μ լ) ազդեցությունն ԱԴՖ-ով մակաձված թրոմբոցիտների ագրեգացիայի վրա: Տվյալները բերված են $M \pm SD$ արժեքների ձևով:

ADP-tem (n=6)	Ընդունված նորմայի սահման	ԱԴՖ	PRP-1
A6 (ամպլիտուդը 6ր ընթացքում ՕՀՄ-երով)	12-29	19.6 $\pm$ 4.0	21.8 $\pm$ 1.8
MS (ագրեգացման գրաֆիկի առավելագույն թեքությունն՝ արտահայտված ՕՀՄ/ր)	3-10	6.0 $\pm$ 1.4	6.0 $\pm$ 0.6
AUC (կորի տակ ընկած մակերեսն՝ արտահայտված ՕՀՄ*ր)	40-112	74.4 $\pm$ 15.5	78.2 $\pm$ 6.9

Հետազոտության արդյունքում պարզվեց, որ PRP-1-ի ազդեցությունը թրոմբոցիտների ագրեգացիայի վրա միանշանակ չէ և պայմանավորված է թրոմբոցիտների ագրեգացման ունակությունը բնութագրող մեծությունների ելակետային արժեքներից: Ինչպես վկայում են աղյուսակ 5-ում բերված տվյալները, երբ նշված ցուցանիշները նորմայի սահմաններում են, ապա արյան նմուշների ինկուբացումը PRP-1-ի առկայությամբ չի ուղեկցվում որևէ էական փոփոխություններով և ագրեգացիան բնութագրող ցուցանիշները պահպանվում են նորմայի սահմաններում:

Միանգամայն այլ է պատկերը, երբ ուսումնասիրվող արյունը բնութագրվում է ագրեգացիայի գործընթացը բնութագրող ցուցանիշների՝ նորմայից ակնհայտորեն տարբերվող մեծություններով: Աղյուսակ 6-ում ընդհանրացված են կատարված փորձերի այն շարքի արդյունքները, որոնք բնութագրվում են արյան թրոմբոցիտների ագրեգացիոն գործընթացը պատկերող ցուցանիշների բարձր արժեքներով:

Աղյուսակ 6.

PRP-1-ի (0.024 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ և 0.01 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) ազդեցությունն ԱԴՖ-ով մակածված թրոմբոցիտների ագրեգացիայի վրա: Տվյալները բերված են $M \pm SD$ արժեքների ձևով:

ADP-tem	Նորմայի ցուցանիշ ներ	ADP (n=6)	PRP-1 0.01 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (n=8)	PRP-1 0.024 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (n=6)
A6 (ամպլիտուդը 6ր ընթացքում ՕՀՄ-երով)	12-29	37.6 $\pm$ 0.98	25 $\pm$ 1*	17.9 $\pm$ 2.5* (**)
MS (ագրեգացման գրաֆիկի առավելագույն թեքությունն՝ արտահայտված ՕՀՄ/ր)	3-10	12.7 $\pm$ 0.8	8.0 $\pm$ 0.8*	4.8 $\pm$ 1.0* (**)
AUC (կորի տակ ընկած մակերեսն՝ արտահայտված ՕՀՄ*ր)	40-112	145.0 $\pm$ 3.0	91.8 $\pm$ 4.1*	64.3 $\pm$ 10.7* (**)

* $p < 0.01$, ԱԴՖ-ի ցուցանիշի համեմատ,

** $p < 0.01$, PRP-1-ի 0,01 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ցուցանիշի համեմատ:

Բերված թվերը վկայում են, որ նշված բնութագրերով արյան ինկուբացումը PRP-1-ի (0.01 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ կոնցենտրացիայով) առկայությամբ ուղեկցվում է A6-ի, MS-ի և AUC-ի նվազեցմամբ՝ համապատասխանաբար 33.6%-ով, 37%-ով և 36.7%-ով, ելակետային արժեքների համեմատ: Ընդ որում PRP-1-ի նկարագրված հատկությունն ավելի արտահայտված է դեղաչափի մինչև 0.024 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ավելացման պայմաններում, երբ A6-ի, MS-ի և AUC-ի արժեքները փոքրանում են համա-

պատասխանաբար 52%-ով, 62%-ով և 55.6%-ով՝ մոտեցնելով ԱԴՖ-ով մակաձված թրոմբոցիտների ագրեգացիոն ունակությունը բնութագրող ցուցանիշների մակարդակը նորմա ընդունված արժեքներին:

Ինչ վերաբերում է PRP-1-ի ցուցաբերած ազդեցությանը թրոմբոցիտների ագրեգացման արագությունը բնութագրող ցուցանիշների ցածր արժեքներով արյան վրա, ապա այս դեպքում ուսումնասիրվող պոլիպեպտիդի առկայությամբ նախապես ինկուբացված արյան նշված ցուցանիշներն ելակետայինի համեմատ բարձրացած էին:

Վերը նշվածի մասին են հավաստում աղյուսակ 7-ում ներկայացրած արդյունքները, որոնք մատնանշում են A6-ի, MS-ի և AUC-ի բարձրացումը համապատասխանաբար 58.5%-ով, 85.1%-ով և 93.9%-ով: PRP-1-ի 0.01 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ կոնցենտրացիայով կիրառման դեպքում՝ բոլոր ցուցանիշները գտնվում են նորմայի սահմաններում: Ընդ որում, դիտվող տեղաշարժերը՝ Գալարմինի դեղաչափը մինչև 0.024 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ մեծացնելիս, էականորեն չի ազդում գրանցվող ցուցանիշների վրա:

Աղյուսակ 7.

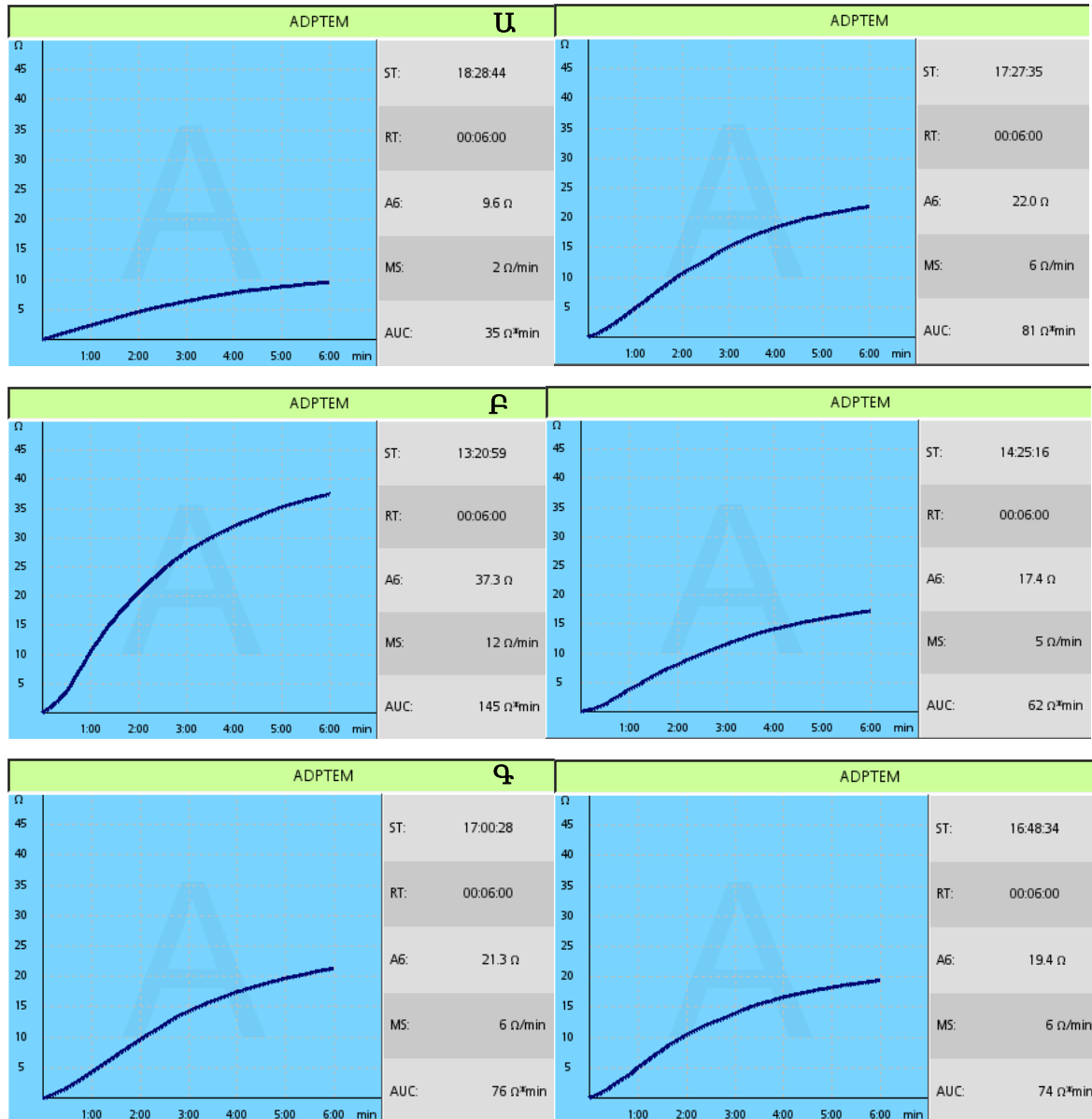
**PRP-1-ի (0.024 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ և 0.01 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) ազդեցությունն ԱԴՖ-ով մակաձված թրոմբոցիտների ագրեգացիայի վրա:
Տվյալները բերված են $M \pm SD$ արժեքների ձևով:**

ADP-tem (n=6)	Նորմայի ցուցանիշներ	ADP (n=6)	PRP-1 0.01 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (n=8)	PRP-1 0.024 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (n=6)
A6 (ամպլիտուդը 6ր ընթացքում $O < U$ -երով)	12-29	9.4 $\pm$ 0.3	14.9 $\pm$ 1 *	18.2 $\pm$ 2.0* (**)
MS (ագրեգացման գրաֆիկի առավելագույն թեքությունն՝ արտահայտված $O < U/r$)	3-10	2.7 $\pm$ 0.5	5.0 $\pm$ 0.76*	5.2 $\pm$ 0.75*
AUC (կորի տակ ընկած մակերեսն՝ արտահայտված $O < U^*r$)	40-112	34.8 $\pm$ 0.8	67.5 $\pm$ 14.2*	66.8 $\pm$ 8.4*

* $p < 0.01$, ԱԴՖ-ի ցուցանիշի համեմատ,

** $p < 0.01$, PRP-1-ի 0.01 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ցուցանիշի համեմատ:

Այսպիսով, կատարված հետազոտությունների արդյունքների հիման վրա կարելի է ենթադրել, որ թրոմբոցիտների ագրեգացիոն ունակության վրա PRP-1-ի թողած ազդեցությունը կրում է կարգավորիչ բնույթ, ինչը բնութագրական է նաև մի շարք էնդոգեն միացությունների համար (Woitowich N.C et. al., 2016) (նկ. 17):



Նկար 17. PRP-1-ի ($0.024 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) ազդեցությունն ԱԴՖ-ով մակածված թրոմբոցիտների ագրեգացիոն բնութագրող ցուցանիշների վրա՝ նորմայի (Գ), ինչպես նաև բարձր (Բ) և ցածր (Ա) արժեքների դեպքում (գրաֆիկական արտահայտում):
A6-ը (ամպլիտյուդը 6ր-ի ընթացքում ՕՀՄ-երով), MS-ը (ագրեգացման գրաֆիկի առավելագույն թեքությունն՝ արտահայտված ՕՀՄ/ր)
AUC-ը (կորի տակ ընկած մակերեսն՝ արտահայտված ՕՀՄ*ր)

3.3. Լոկալ իշեմիկ խանգարումներով պայմանավորված վարքագծային փոփոխությունների կանխումը PRP-1-ով

Հիմնվելով կատարված հետազոտությունների արդյունքների վրա, որոնք ակնհայտորեն վկայում են PRP-1-ի ուղեղային արյան շրջանառությունը խթանելու հատկության մասին, հետագա ուսումնասիրությունների նպատակն էր գնահատել վերջինիս լոկալ իշեմիկ խանգարումները շտկելու ունակությունը: Հաշվի առնելով, որ դեղերի նյարդապաշտպան հատկությունները գնահատելու ընդունված մոտեցում է հանդիսանում իշեմիայով մակաձված վարքագծային փոփոխությունները կանխելու դրանց ունակությունը, նշված պայմաններում ուսումնասիրվեց PRP-1-ի ցուցաբերած ազդեցությունը կենդանիների վարքագծային փոփոխությունների վրա:

Ինչպես ցույց են տվել բազմաթիվ հետազոտություններ գլխուղեղի արյան շրջանառության խանգարումների հոգենյարդաբանական հետևանքները չափազանց կարևոր են ինսուլտի բուժման արդյունքների կլինիկական գնահատման համար (Parikh P. et. al., 1990; Phipps M.A. 1991): Իշեմիկ ինսուլտին հաջորդող վարքագծային փոփոխությունների փորձարարական ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ հետազոտություններից ընդամենը մի քանիսն են կլինիկական պրակտիկայում իրենց արդարացրել ինսուլտի նյարդահոգեբանական հետևանքների վերացման համար (STAIR, 1999): Փորձարարական և կլինիկական ուսումնասիրությունների նշված հակասության գրականական վերլուծությունը (Zhou J. et. al., 2013) ցույց է տալիս, որ փորձարկվող միացությունների արդյունավետության մասին դատելու համար կարևորվում է իշեմիկ խանգարումների այնպիսի մոդելի ընտրությունը, որը հնարավորինս մոտ է կլինիկայում առավել հաճախ հանդիպող ինսուլտի պատկերին: Այսպիսին է միջին ուղեղային զարկերակի կապման (MCAO) մոդելը (Wang X.Y et. al., 2016):

Վերը նշվածի հիման վրա կենդանիների մոտ ծախ միջին ուղեղային զարկերակի կապումով մակաձված գլխուղեղի լոկալ իշեմիայի մոդելավորման պայմաններում ուսումնասիրվել է տագնապի զարգացումը և դրա հնարավոր կանխումը PRP-1-ով:

ՄՈՒԶԿ-ան մոդելում կենդանիների վարքի գնահատման նպատակով, տազ-նապի զարգացման դինամիկայի ուսումնասիրումը հիմնված է Կ.Ս. Կաստիլյո և համահեղինակների (Castillo C.S. et. al., 1993) ստացված տվյալների հիման վրա, որոնք ցույց են տվել, որ ձախակողմյան արյունաշրջանառության խանգարմանը բնորոշ է կա՛մ համակցված տազնապի և դեպրեսիայի զարգացումը, կա՛մ էլ առանձին տազնապի զարգացումը, ի տարբերություն աջակողմյան կիսագնդի ենթակեղևային խանգարումների, որոնք ավելի հաճախ բնութագրվում են դեպրեսիայի զարգացմամբ՝ առանց տազնապի դրսևորման (Starkstein S.E. et. al., 1990):

Կենդանիների վարքը գնահատելու համար համեմատությունը կատարվել է շարժողական ակտիվությամբ նման բնութագիր ունեցող կենդանիների միջև: Այս նպատակով, համաձայն ընդունված մոտեցման, գնահատվել է առնետների ընդհանուր շարժողական ակտիվությունը «Բաց դաշտ» (OF) թեստում (աղ. 8): Կենդանիների մեծ ընտրանքից (121 առնետ) առանձնացվել են բարձր (ԸՇԱ ավելի քան 35 միավոր) և միջին ակտիվությամբ (ԲԱ և ՄԱ) (ԸՇԱ 15-35 միավոր) կենդանիներ: Ցածր ակտիվությամբ (ՑԱ) (ԸՇԱ մինչև 15 միավոր) կենդանիները հետագա հետազոտությունների մեջ չեն ընդգրկվել:

Աղյուսակ 8

Առնետների վարքագծային ակտիվությունը «Բաց դաշտ» թեստում:

Տվյալները բերված են $M \pm SD$ արժեքների ձևով:

«Բաց դաշտ»-ի ցուցանիշները	ԲԱ առնետներ (n=60)	ՄԱ առնետներ (n=39)	ՑԱ առնետներ (n=25)
Ընդհանուր շարժողական ակտիվություն (ԸՇԱ)	44.6 ± 6.3	25.1 ± 3.5	13.1 ± 2.0
Պերիֆերիկ ակտիվություն (ՊԱ)	33.5 ± 8.1	15.8 ± 3.5	9 ± 1.7
Կենտրոնական ակտիվություն (ԿԱ)	4.6 ± 4.2	3.5 ± 1.8	0.2 ± 0.1
Ուղղահայաց ակտիվություն (ՈԱ)	5.3 ± 4.3	4.1 ± 1.0	1.4 ± 0.9
Էմոցիոնալ վիճակ (ԷՎ) դեֆեկացիաներ	1.6 ± 1.4	1.6 ± 0.9	2.4 ± 1.0

Ընտրված կենդանիների մոտ, լոկալ իշեմիայի պայմաններում, գնահատվել է տազնապի զարգացումը, որի ուսումնասիրության համար ընտրվել է ներկայումս լայնորեն կիրառվող «Բարձրացված խաչաձև լաբիրինթոս» (EPM) թեստը (Handley S.L. et. al., 1993; Hogg S., 1996; Wall P.M., Messier C. 2000).

Կենդանիների վարքը EPM թեստում, ինչպես և տազնապի այլ մոդելներում, ձևավորվում է նոր միջավայրում կրծողների մոտ երկու վարքային հակադարձ միտումների զարգացման փոխհարաբերակցվածությամբ: Մի կողմից կենդանին ձգտում է ուսումնասիրել նոր միջավայրը, իսկ մյուս կողմից՝ խուսափել նոր սթրեսածին ազդակից: Նման կոնֆլիկտի (հակադրման) մոդելը «նորարարություն-/հետազոտություն» հիմնված է կրծողների «զգուշացում» էնդոգեն զգացողության վրա, որն առանձնահատուկ դրսևորվում է անպաշտպան բաց տարածություններում:

ԲԽԼ թեստն առաջին անգամ առաջարկվել է Վ.Վ. Մոնթգոմերի կողմից (Montgomery W.W. 1958), որի հետազոտությունները ցույց են տրվել, որ հետազոտության և խուսափման կոնֆլիկտն առավել ուժեղ դրսևորվում է լաբիրինթոսի բաց թևերում գտնվող կենդանիների մոտ՝ համեմատած փակ թևերում գտնվող կենդանիների: Կիրառելով Կ-աձև լաբիրինթոսը և հնարավորինս փոփոխելով բաց/փակ հարաբերությունը, Վ.Վ. Մոնթգոմերը ցույց տվեց, որ այնուամենայնիվ կրծողները գերադասում են փակ թևերը: Հեղինակի նմանատիպ մոտեցումն առաջացել էր նոր ազդակների բազմաթիվ փոփոխություններով, որոնք կարող էին առաջացնել ինչպես հետազոտական, այնպես էլ վախի զգացողություն՝ դրանով իսկ դրդելով կոնֆլիկտի առաջացմանը: Այդուհանդերձ լաբիրինթոսի բաց թևերն առաջացնում են վախի առավել մեծ զգացողություն և դրանով իսկ բերում են դրանցից խուսափման, քան փակ տարածությունները, որոնցում կենդանու գտնվելու հավանականությունն ավելի շատ է և այնտեղի ապահովության զգացողությունը բերում է այնտեղ գտնվելու ժամանակահատվածի երկարացման:

Այսպիսով, հետագա կատարված հետազոտության արդյունքները ևս վկայում են բաց թևերից կենդանու խուսափելու մասին: Ցույց է տրված, որ բաց թևերում առավելապես գրանցվում է տազնապի հետևանքով դրսևորված վարքագիծը («ֆրիզինգ, քարացում», անշարժություն, դեֆեկացիա) (Pellow S. et. al., 1985; Handley S.L. et. al., 1993; Dawson G.R., Tricklebank M.D, 1995):

Բազմաթիվ դեղերի փորձարկումը նշված թեստում և ստացված տվյալների վերլուծությունը ցույց է տվել (Pellow S. 1985; Pellow S. et. al., 1985), որ կենդանիների մոտ բաց թևերի մուտքերի աճ է գրանցվում տազնապամարիչ ազդեցությամբ (քլորդիագետաօքսիդ, դիագետամ, որոշ բարապիտուրատներ) դեղերի կիրառման դեպքում: Հակառակ պատկերը՝ բաց թևերում հետազոտական վարքի ընկճում, բնորոշ է տազնապամին հատկություններով օժտված հոգեխթանիչներին (կոֆեին, ամֆետամին և այլն): Սակայն, ինչպես ցույց են տվել հետազոտությունները, տազնապամարիչ ազդեցության առավել ճշգրիտ բնութագիր է հանդիսանում բաց թևերում կենդանու անցկացրած ժամանակահատվածը և բաց մուտքերի այցելության տոկոսը, քան կատարած մուտքերի ընդհանուր թիվը, քանի որ վերջինս արտացոլում է ինչպես կենդանու հետազոտական վարքը, այնպես էլ ընդհանուր շարժողական ակտիվությունը, մինչդեռ բաց թևերում անցկացրած ժամանակը և մուտքերի տոկոսը ներկայացնում է հենց տազնապը բնութագրող ադեկվատ ցուցանիշ:

Այսպիսով, բերված գրականության տվյալները փաստում են այն մասին, որ ի տարբերություն այլ տազնապի ուսումնասիրման թեստերի՝ EPM-ը հանդիսանում է փորձարարական կենդանիների (առնետներ, մկներ) տազնապի գնահատման պարզ և հստակ մոդել, որը կենդանիներին ֆիզիկական ցավ չի պատճառում, բացառում է վախի առաջացմանը նպաստող այնպիսի անցանկալի գործոնների ազդեցությունը, ինչպիսիք են էլեկտրաշոկը, և վերջապես չի պահանջում կենդանիների սննդի կամ ջրի սահմանափակում: Փաստորեն EPM թեստը կենդանիների մոտ արտահայտում է տազնապի սոսկ հոգեֆիզիոլոգիական դրսևորումներ:

ԲԽԼ-ի օգնությամբ, մի շարք հետազոտողների կողմից բացահայտվել է, որ փորձարարական առնետների մոտ գլխուղեղի լոկալ իշեմիան ուղեկցվում է տազնապի զարգացմամբ, ընդ որում, իշեմիկ խանգարումներով պայմանավորված վարքագծային ցուցանիշների շեղման արտահայտվածությունը կախված է առաջացած խանգարումների աստիճանից:

Բերված տվյալները հաստատվեցին նաև MCAO-ի իշեմիայի մոդելում: Նկարներ 16-ում, ներկայացված են լոկալ իշեմիայի հետևանքով EPM թեստում կեն-

դանիների վարքը բնութագրող ցուցանիշների փոփոխման դինամիկան իշեմիայի տարբեր ժամանակահատվածներում՝ PRP-1-ի ազդեցությամբ:

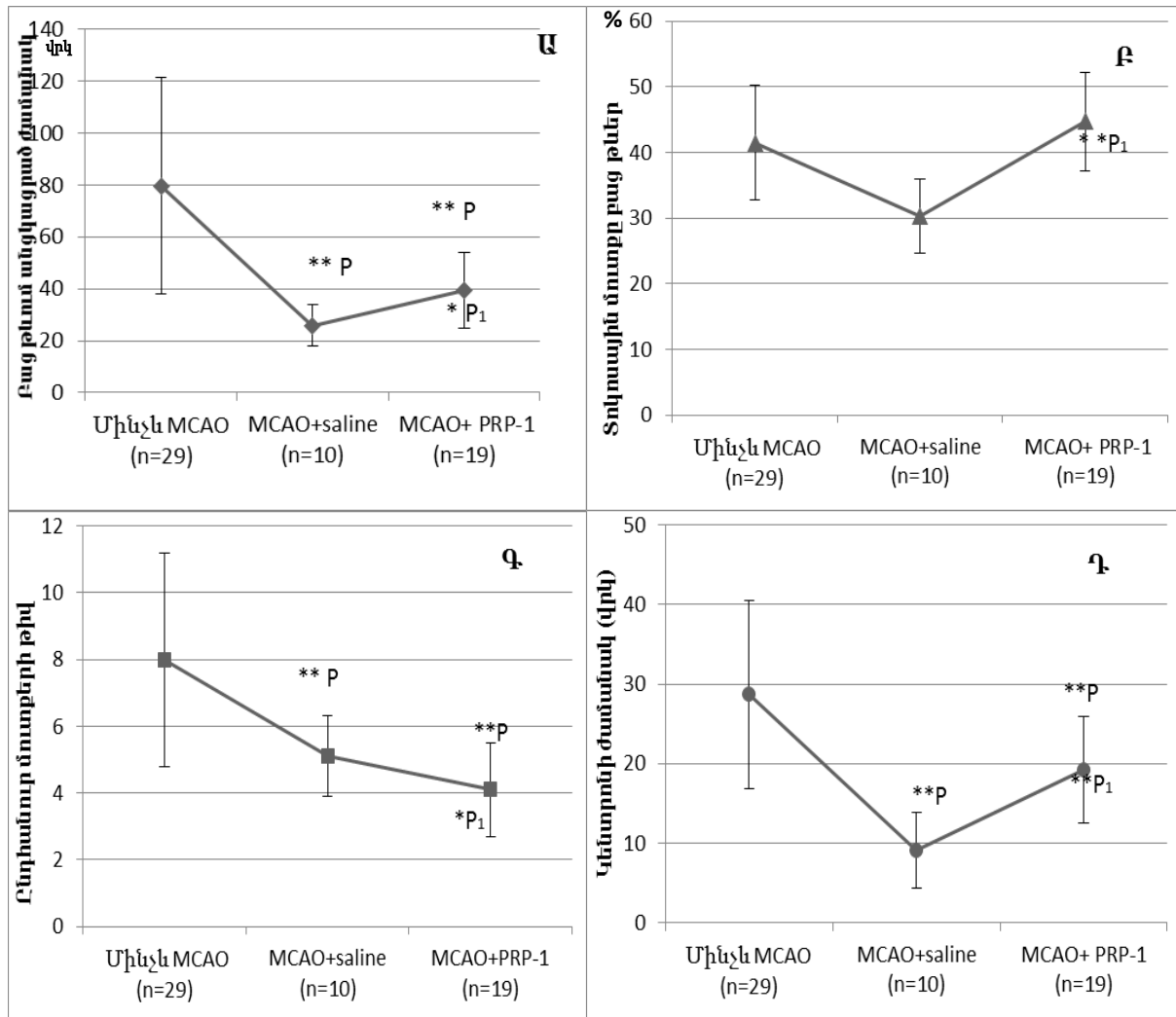
Տվյալների դիսպերսիոն վիճակագրական վերլուծությունը վկայում է ՄՈւԶԿ-ան հետևանքով առաջացած այնպիսի ցուցանիշների փոփոխության մասին, ինչպիսիք են՝ կենդանիների բաց թևերում և կենտրոնում անցկացրած ժամանակները, բաց թևեր կատարած մուտքերի թվի տոկոսը և ընդհանուր մուտքերի թիվը:

EPM թեստի արդյունքները ցուցադրված են 18, 19 և 20 նկարներում: Կատարված հետազոտությունը վկայում է այն մասին, որ ՄՈւԶԿ-ն առնետների մոտ ուղեկցվում է տագնապի զարգացմամբ, ինչը հիմնավորվում է ԲԽԼ-ում կենդանիների վարքը բնութագրող գրեթե բոլոր ցուցանիշների փոփոխմամբ: Ինչպես երևում է նկար 18-ից՝ իշեմիայի 3-րդ օրը հսկիչ խմբի կենդանիների մոտ (որոնց ՄՁՈԻԿ-ից անմիջապես հետո ն/ո ներարկվել է նատրիումի քլորիդի իզոտոնիկ լուծույթ օրեկան երկու անգամ) նկատվում է վերը նշված ցուցանիշների հավաստի իջեցում՝ բաց թևերում անցկացրած ժամանակի, բաց թևերի մուտքի տոկոսի, ընդհանուր մուտքերի թվի և կենտրոնում անցկացրած ժամանակի համապատասխանաբար 67.5%-ով (Ա) ($F_{(1;38)}=16.2$ ($p<0.01$)), 27%-ով (Բ) ($F_{(1;38)}=3.4$ ($p>0.05$)), 36.2%-ով (Գ) ($F_{(1;38)}=21.7$ ($p<0.01$)) և 68.2%-ով (Դ) ($F_{(1;38)}=25.7$ ($p<0.01$)) չվիրահատված առնետների հետ համեմատ:

Ինչպես ցույց են տալիս հետազոտության արդյունքները, PRP-1-ի ն/ո ներարկումը 20 մկգ/կգ դեղաչափով օրեկան երկու անգամ, անմիջապես անոթի կապումից հետո կանխում է տագնապի զարգացումը, որն արտահայտվում է այնպիսի կարևոր ցուցանիշների արժեքների հավաստի բարձրացմամբ, ինչպիսիք են բաց թևերում անցկացրած ժամանակը 51.7%-ով (Ա) ($F_{(1;28)}=7.3$ ($p_1<0.05$)), բաց թևեր կատարած մուտքերի տոկոսը 47.5%-ով (Բ) ($F_{(1;28)}=10.6$ ($p_1<0.01$)), և կենտրոնում անցկացրած ժամանակը կրկանի անգամ (Դ) ($F_{(1;28)}=18$ ($p_1<0.01$)) հսկիչ խմբի առնետների ցուցանիշների հետ համեմատ: Ինչ վերաբերվում է ընդհանուր մուտքերի թվի ցուցանիշին, այն նվազում է (Գ) 19.6%-ով ($F_{(1;28)}=3.2$ ($p_1>0.05$)):

PRP-1-ի ազդեցությունն իշեմիայի 6-րդ օրը գնահատելու նպատակով, առնետների վարքը MCAO-ի նշված ժամանակահատվածում մշտադիտարկելիս պարզվել է,

որ հսկիչ խմբում ընդգրկված առնետների մոտ գրանցվում է EPM թեստում կենդանիների վարքը բնութագրող բոլոր ցուցանիշների վատթարացում:



Նկար 18. (Ա, Բ, Գ, Դ), Առնետների վարքի փոփոխությունները ԲԽԼ թեստում ՄՈՒՋԿ-ան 3-րդ օրը ($M \pm SD$): Ա-բաց թևերում անցկացրած ժամանակը (վրկ.), Բ-բաց թևեր կատարած մուտքերի տոկոսը, Գ-ընդհանուր մուտքերի թիվը, Դ-կենտրոնում անցկացրած ժամանակը (վրկ.):

***p*-ն՝ ինդիկատոր խմբի համեմատ, *p*₁-ը հսկիչ խմբի արժեքի համեմատ:**

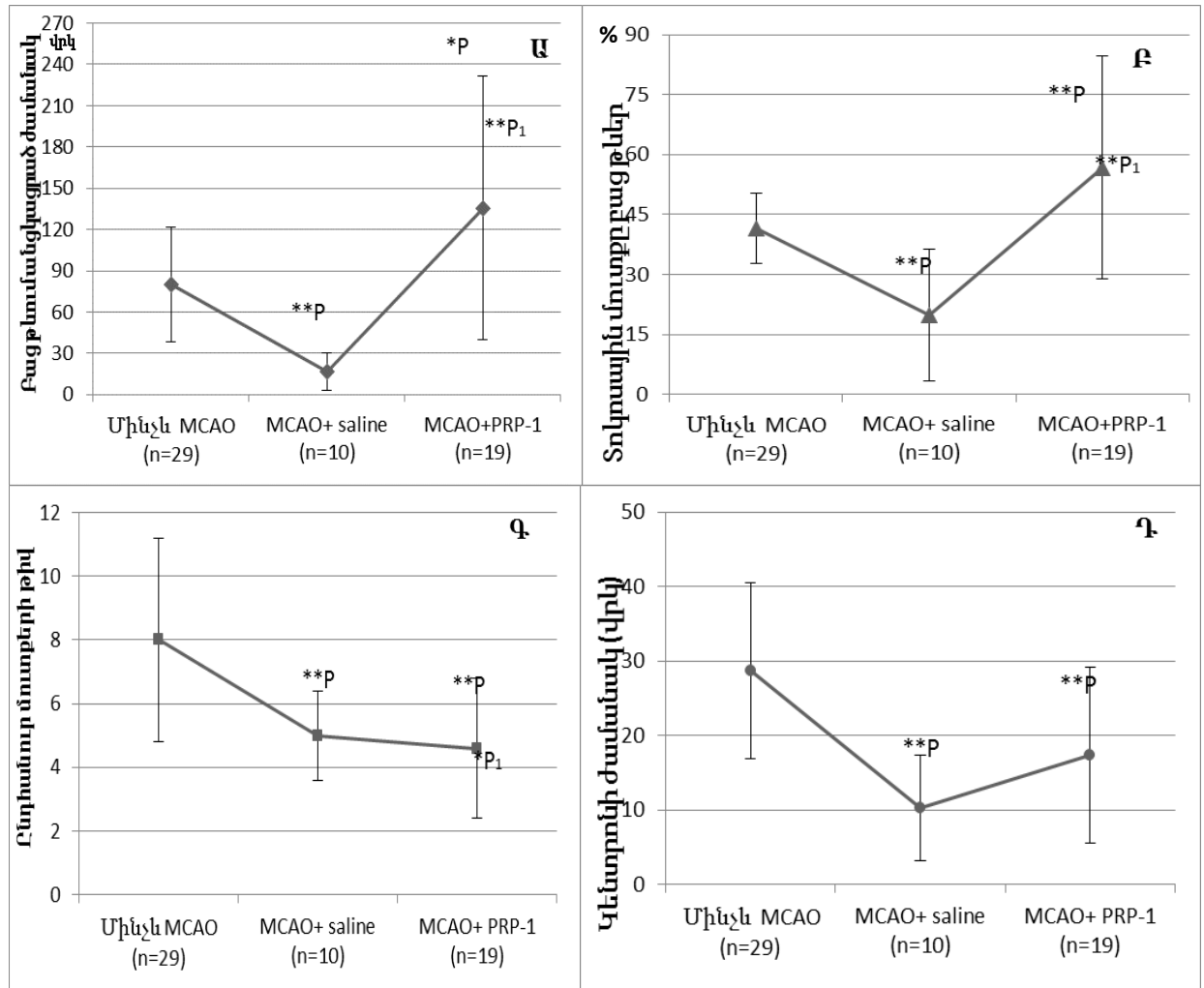
*** -*p*, *p*₁ < 0.05; ** - *p*, *p*₁ < 0.01:**

Այսպես, նկար 19-ում ներկայացված տվյալները վկայում են, որ իշեմիային հաջորդող 6-րդ օրն իզոտոնիկ լուծույթ ներարկված առնետների մոտ նկատվում է բաց թևերում անցկացրած ժամանակի, բաց թևերի մուտքի տոկոսի, ընդհանուր մուտ-

քերի թվի և կենտրոնում անցկացրած ժամանակի նվազում համապատասխանաբար 79.5%-ով (Ա) ($F_{(1;38)}=21.9$ ($p<0.01$)), 52%-ով (Բ) ($F_{(1;38)}=3.4$ ($p>0.05$)), 37.5%-ով (Գ) ($F_{(1;38)}=23.3$ ($p<0.01$)) և 64.1%-ով (Դ) ($F_{(1;38)}=21.5$ ($p<0.01$)): Նույն պայմաններում, 20 մկգ/կգ օրեկան 2 անգամ PRP-1 ստացած կենդանիների վարքի գնահատումը ցույց տվեց, որ նշված ժամանակահատվածում ուսումնասիրվող պոլիպեպտիդի տազնապամարիչ ազդեցությունն ավելի ցայտուն է: Փորձի ընթացքում ուսումնասիրվող ցուցանիշների վիճակագրական մշակումը հաստատեց, որ նկատվում է գրանցված տվյալների հավաստի բարձրացում, բաց թևերում անցկացրած ժամանակահատվածի երկարացում՝ ավելի քան 7 անգամ, ($F_{(1;28)}=12.5$ ($p_1<0.01$)) (Ա) և բաց թևերի մուքի տոկոսի աճ գրեթե երկու անգամ (Բ) ($F_{(1;28)}=12.3$ ($p_1<0.01$))՝ գերազանցելով անգամ ինտակտ կենդանիների վարքը բնութագրող նույն ցուցանիշները: Փաստորեն, 6 օրյա ժամանակահատվածում PRP-1-ի ներմուծումը՝ համեմատ նրա ազդեցությանը 3 օրերի ընթացքում, բերում է առնետների կենտրոնում անցկացրած ժամանակի մեծացմանը 69%-ով ($F_{(1;28)}=3.0$ ($p_1>0.05$)) (Դ), ինչը գերազանցում է 3 օրերի ընթացքում MCAO-ի ենթարկված հսկիչ խմբի կենդանիների ցուցանիշը: Նկարագրված փոփոխությունները չեն ուղեկցվում ընդհանուր մուտքերի թվի առանձնապես մեծ շեղումով, որոնց նվազումը հսկիչ խմբի համեմատ չի գերազանցում (Գ) 8%-ը ($F_{(1;28)}=4.8$ ($p_1<0.05$)):

Վիճակագրական վերլուծության արդյունքները վկայում են, որ MCAO-ին հաջորդող 12-րդ օրը կենդանիների վարքը բնութագրող բոլոր ցուցանիշների փոփոխությունները նմանատիպ են 6-օրյա իշեմիայի ենթարկված առնետների բնութագրերին, սակայն առավել արտահայտված և հավաստի են: Այսպես, հսկիչ խմբի կենդանիների մոտ այս ժամանակահատվածում նկատվում է բաց թևերում անցկացրած ժամանակի կրճատում 73.9%-ով (Ա) ($F_{(1;38)}=18.8$ ($p<0.01$)), բաց թևերի մուքի տոկոսի թվի նվազեցում 40.9%-ով (Բ) ($F_{(1;38)}=9.0$ ($p<0.01$)), ընդհանուր մուտքերի թվի իջեցում 26.25%-ով (Գ) ($F_{(1;38)}=20.2$ ($p<0.01$)), կենտրոնում անցկացրած ժամանակահատվածի նվազում 59.2%-ով (Դ) ($F_{(1;38)}=19.2$ ($p<0.01$)) ինտակտ առնետների ցուցանիշների համեմատ: Փաստորեն, բերված տվյալները վկայում են, որ երկարատև (12 օր տևողությամբ) իշեմիայի ենթարկված առնետների մոտ, ընդհա-

նուր շարժողական ակտիվության իջեցման հետ մեկտեղ, ավելի նկատելիորեն կրճատվում է բաց թևերում և կենտրոնում անցկացրած ժամանակը:

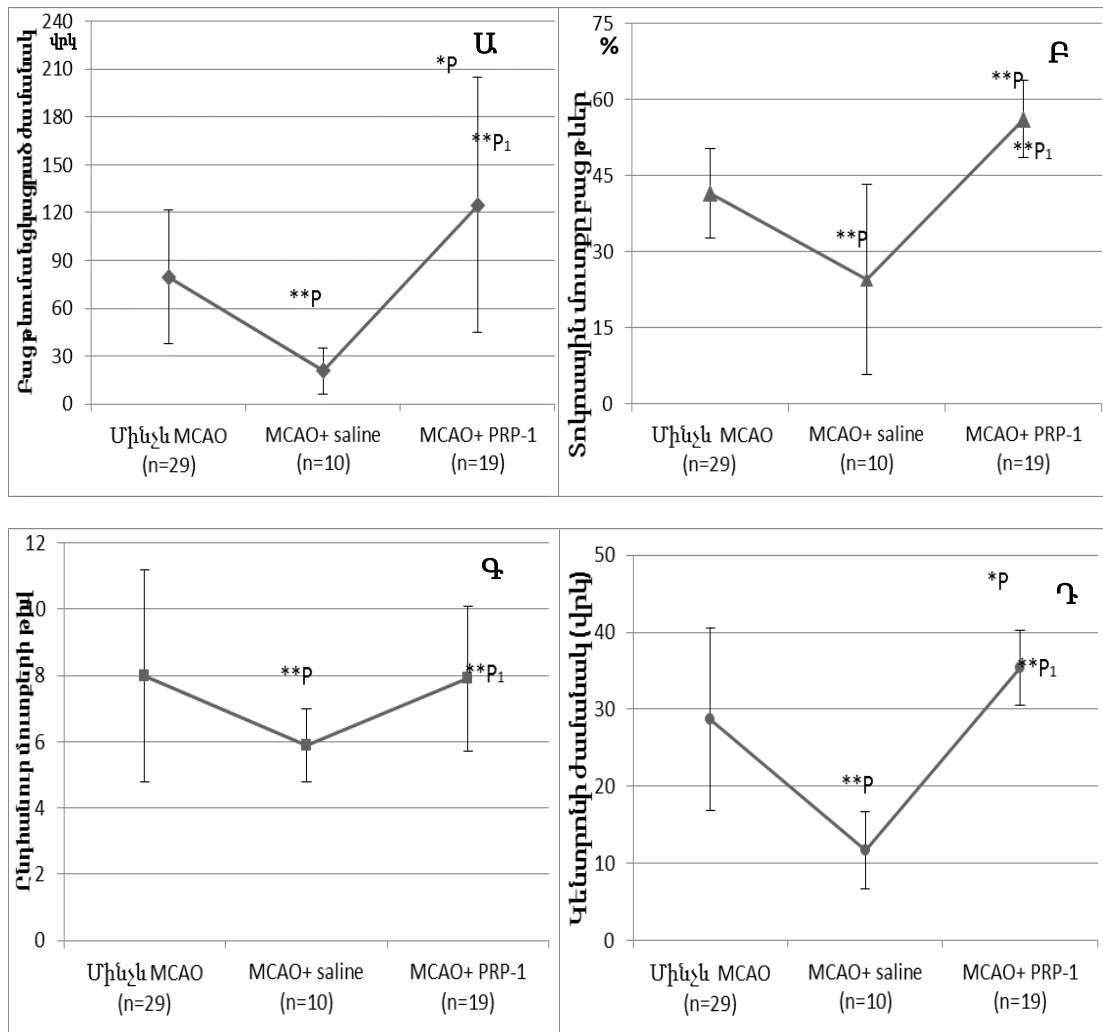


Նկար 19. (Ա, Բ, Գ, Դ), Առնետների վարքի փոփոխությունները EPM թեստում MCAO-ի 6-րդ օրը ($M \pm SD$): Ա-բաց թևերում անցկացրած ժամանակը (վրկ.), Բ-բաց թևեր կատարած մուտքերի տոկոսը, Գ-ընդհանուր մուտքերի թիվը, Դ-կենտրոնում անցկացրած ժամանակը (վրկ.):
***p*-ն՝ ինտակտ խմբի համեմատ, *p*₁-ը հսկիչ խմբի արժեքի համեմատ:**
*** - *p*, *p*₁ < 0.05; ** - *p*, *p*₁ < 0.01:**

Նկար 20-ից ակնհայտ երևում է, որ PRP-1-ի 12 օր տևողությամբ ներմուծումը կանխում է վերը նկարագրված վարքագծային շեղումները և դեռ ավելին՝ գրանցված ցուցանիշների բարելավման շնորհիվ դրանք գերազանցում են ինտակտ խմբի կենդանիների բնութագրերին: Այսպիսով, ներկայացված փորձի արդյունքները փաստում են, որ PRP-1-ի 12 օր տևողությամբ ն/ո ներարկումն իշեմիա հարուցած

կենդանիների մոտ բերում է բաց թևում անցկացրած ժամանակահատվածի քառապատիկ երկարացման (Ա) ($F_{(1;28)}=14.4$ ($p_1<0.01$)) հսկիչ խմբի կենդանիների համեմատ և 52.4%-ով աճի ($F_{(1;47)}=5.4$ ($p<0.05$)) ինտակտ առնետների վարքը բնութագրող ցուցանիշի համեմատ: Միաժամանակ գրանցվում է նաև բաց թևերի մուտքի տոկոսի աճ հսկիչ և ինտակտ խմբի կենդանիների ցուցանիշների համեմատ՝ համապատասխանաբար 129%-ով (Բ) ($F_{(1;28)}=32.7$ ($p_1<0.01$)) և 35.4%-ով ($F_{(1;47)}=35.7$ ($p>0.01$)): Բնութագրական է նաև կենդանու կենտրոնում անցկացրած ժամանակի երկարացում համապատասխանաբար՝ (Դ) 202%-ով ($F_{(1;28)}=149.7$ ($p_1<0.01$)) և 23.3%-ով ($F_{(1;47)}=5.5$ ($p<0.05$)) հսկիչ և ինտակտ խմբի կենդանիների ցուցանիշների հետ համեմատ: Գրանցվում է նաև ընդհանուր մուտքերի թվի աճ 33%-ով (Գ) ($F_{(1;28)}=39.4$ ($p_1<0.01$)) հսկիչ խմբի կենդանիների համեմատ, սակայն նշված ցուցանիշն այդպես էլ չի գերազանցում մեկնարկային արժեքը ($F_{(1;47)}=0.01$ ($p>0.05$)):

Այսպիսով, PRP-1-ի արդյունավետության ուսումնասիրումը լոկալ իշեմիկ խանգարումներով պայմանավորված նյարդավարքագծային հետևանքների վերացման մեջ, ցույց տվեց, որ հետազոտվող պոլիպեպտիդը կանխում է կենդանիների մոտ ՄՈւԶԿ-ով մակածված տագնապի զարգացումը: Ընդ որում, դրա տագնապամարիչ ազդեցության արտահայտվածությունը մեծանում է՝ ներմուծման ժամանակահատվածի երկարացմանը զուգընթաց: Բացահայտված ունակությունը մատնանշում է, որ իշեմիկ խանգարումների դեպքում PRP-1-ի կիրառումը՝ որպես նյարդապաշտպան միջոց, միաժամանակ կշտկի նաև լոկալ իշեմիայի հոգենյարդաբանական հետևանքները:



Նկար 20 (Ա, Բ, Գ, Դ), Առնետների վարքի փոփոխությունները EPM թեստում ՄՈւԶԿ-ան 12-րդ օրը ($M \pm SD$): Ա-բաց թևերում անցկացրած ժամանակը (վրկ.), Բ-բաց թևեր կատարած մուտքերի տոկոսը, Գ-ընդհանուր մուտքերի թիվը, Դ-կենտրոնում անցկացրած ժամանակը (վրկ.):
 p -ն՝ ինդիկատոր խմբի համեմատ, p_1 ՝ հսկիչ խմբի արժեքի համեմատ:
*** - $p, p_1 < 0.05$; ** - $p, p_1 < 0.01$:**

3.3.1. PRP-1-ի ազդեցությունը լոկալ իշեմիայով պայմանավորված շարժողական կոորդինացիայի խանգարումների ժամանակ

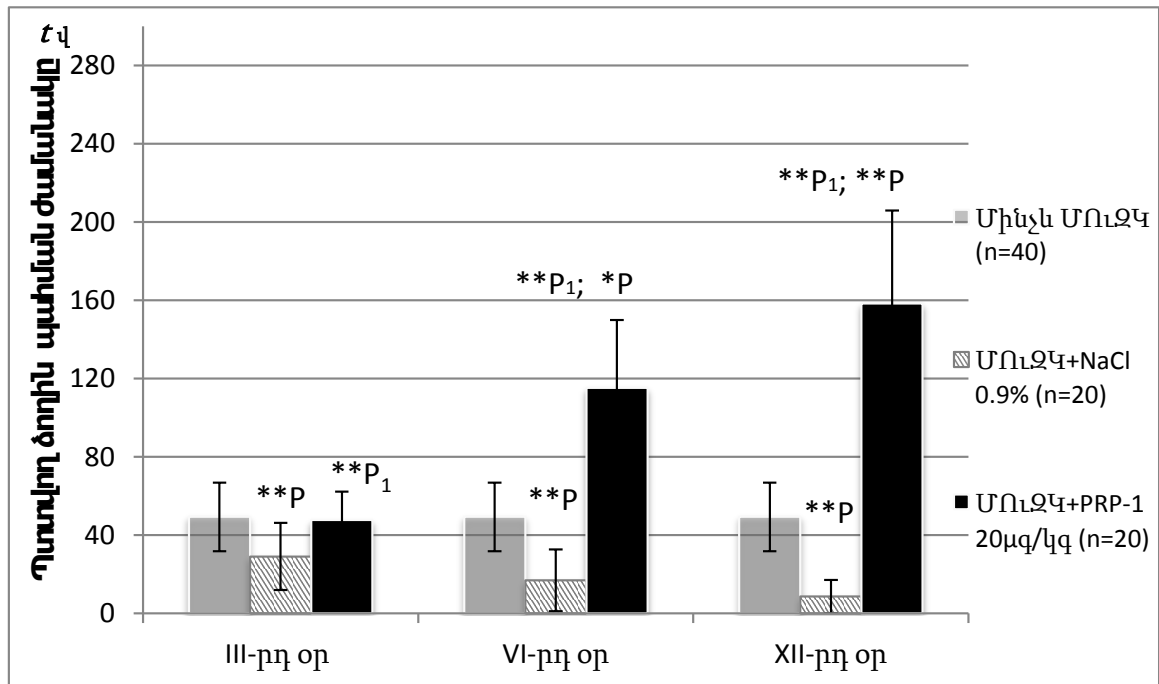
Իշեմիկ խանգարումների համուղղմանն ուղղված դեղերի արդյունավետության գնահատման համար կարևոր ցուցանիշ է հանդիսանում նաև դրանց կողմից կոորդինացիոն շեղումները կանխելու ունակությունը, քանի որ համաձայն մի շարք

հեղինակների ուսումնասիրության արդյունքների՝ կրծողների մոտ ՄՈւՋԿ-ան հետևանքով զարգացող կոորդինացիոն խանգարումներն ոչ միայն պահպանվում են երկարատև ժամանակահատվածում (մեկ ամսից մինչև երեք ամիս), այլ ունեն նաև ավելի խորանալու միտում (Borlongan C.V. et. al., 1995): Ուստի ակնհայտ է, որ լուրջ իշեմիայով պայմանավորված մոտոր ֆունկցիայի խանգարումների գնահատումը PRP-1-ի կիրառման պայմաններում կարող է հանդիսանալ վերջինիս նյարդապաշտպան հատկությունների գնահատման կարևոր ցուցանիշ: Այդ նպատակով հետազոտվել է կենդանիների մոտոր կոորդինացիայի փոփոխությունները PRP-1-ի ազդեցությամբ ՄՈւՋԿ-ան պայմաններում «Պտտաձող» թեստում:

Շարժողական կոորդինացիայի խանգարումները բնութագրող ցուցանիշները, որոնցից կարևորագույնը ձողի վրա պահվելու ժամանակահատվածն է, գրանցվել են մինչև վիրահատական միջամտությունը և միջին ուղեղային զարկերակը կապելուց հետո՝ 3-րդ, 6-րդ և 12-րդ օրերին: Հետազոտության տվյալները վկայում են, որ մինչև ՄՈւՋԿ-ը կենդանիների պտտաձողից ընկնելու միջին ժամանակահատվածը հավասար է 44.6 ± 17.6 վրկ.-ի ($n=40$, նկ. 21): ՄՈւՋԿ-ից հետո կենդանիների մոտ ակնհայտ թուլանում է շարժողական կոորդինացիան, որն իշեմիայի տևողության աճին զուգընթաց ավելի է խորանում: Այսպես, եթե գլխուղեղի իշեմիային հաջորդող 3-րդ օրն առնետների մոտոր կոորդինացիան նվազում է 33.7%-ով և կենդանիները պահվում են ձողի վրա 29.1 ± 17.1 վրկ. ($F_{(1;59)}=10.5$ ($p<0.01$)), ապա միջին ուղեղային զարկերակը կապելուց 6 և 12 օր հետո վիրատուության ենթարկված կենդանիների ձողի վրա պահվելու ունակությունը նվազում է համապատասխանաբար 61.5%-ով և 80.4%-ով՝ կազմելով 16.9 ± 15.8 վրկ. ($F_{(1;59)}=31.28$ ($p<0.01$)) և 8.6 ± 8.5 վրկ. ($F_{(1;59)}=65.8$ ($p<0.01$)):

Փորձարարական կենդանիների վիրահատությունից հետո, PRP-1 ներարկելու պայմաններում, պարզվեց, որ ուսումնասիրվող պոլիպեպտիդը կանխում է իշեմիայով պայմանավորված մոտոր կոորդինացիայի խախտումը: Ավելին, պրեպարատի ներմուծումը մինչև 6 և 12 օր շարունակելիս պարզվեց, որ այն ունակ է ոչ միայն կանխել նկատվող տեղաշարժերը, այլև բարելավել կենդանու շարժողական կողմնորոշման ունակությունը նորմայի համեմատ: Նկար 21-ում բերված տվյալների համաձայն՝ ՄՈւՋԿ-ից հետո PRP-1-ի ներարկումը 3 օրերի ընթացքում կանխում է

մոտոր կորորդինացիայի խախտումը 64.2%-ով, ինչի մասին վկայում է այն, որ առնետների ձողի վրա պահվելու ժամանակահատվածը չներարկված կենդանիների համեմատ մեծանում է և կազմում 47.8 ± 18.5 վրկ. ($(F_{(1;39)}=11.0$ ($p<0.01$)):



Նկար 21. Առնետների շարժողական կորորդինացիան պարզաձող թեստում:

Տվյալները բերված են $M \pm SD$ արժեքների ձևով:

p -ն՝ ինտակտ խմբի համեմատ, p_1 -ը հսկիչ խմբի արժեքի համեմատ:

*** - $p, p_1 < 0.05$; ** - $p, p_1 < 0.01$:**

PRP-1-ի ներարկումների տևողությունը մինչև 6 և 12 օր երկարաձգելիս առնետների ձողի վրա պահվելու ժամանակահատվածն ոչ միայն գերազանցում է վիրահատված կենդանիների ցուցանիշը մի քանի անգամ (6 օր ներարկման դեպքում՝ 5 անգամ ($F_{(1;39)}=23.2$; $p_1<0.01$), իսկ 12 օր տևողության դեպքում՝ 18 անգամ ($F_{(1;39)}=63.4$; $p_1<0.01$)), այլև ընդունում է նորմայից կրկնակի և գրեթե եռակի անգամ ավելի բարձր արժեք, հասնելով համապատասխանաբար մինչև 115.3 ± 90.0 վրկ. ($F_{(1;39)}=23.3$; $p_1<0.01$) և 158.4 ± 83.6 վրկ. ($F_{(1;59)}=69.0$; $p_1<0.01$):

Այսպիսով, հետազոտության արդյունքները վկայում են, որ ՄՈԼԶԿ-ը բերում է կենդանիների շարժողական կորորդինացիայի խանգարման: Նկատվող տեղաշարժերը հնարավոր է դառնում կանխել և անգամ բարելավել Գալարմինի կիրառման պայմաններում:

3.4. PRP-1-ի իշեմիայով պայմանավորված նյարդային բջիջների դեգեներատիվ փոփոխությունները կանխելու ունակությունը

PRP-1-ի նյարդապաշտպան հատկությունների լիարժեք ապացույցի նպատակով ուսումնասիրվել է պատրաստուկի իշեմիայով պայմանավորված նյարդային բջիջների դեգեներատիվ փոփոխությունները կանխելու ունակությունը: ՄՈւԶԿ-ան պայմաններում, կատարված մորֆոլոգիական հետազոտությունների արդյունքներն ի հայտ բերեցին առնետների գլխուղեղի կեղևից ստացված կտրվածքներում նյարդային հյուսվածքի մի շարք վնասումներ, որոնք առաջին հերթին վերաբերվում են նյարդային բջիջներին, նրանց ելուստներին, ինչպես նաև շրջապատող գլիալ էլեմենտներին:

Հետազոտության տվյալները վկայում են այն մասին, որ միջին ուղեղային զարկերակի կապումից 6 օր անց չի նկատվում բջջակերտվածքի հստակ սահմանազատում: Դիտվում է նեյրոնների խտության նվազում, նրանց մեծ մասի մոտ ելուստները չեն նշմարվում, նյարդաբջիջներն ընդունում են կլորացած տեսք (նկ. 22 Ա, ա, Գ, Դ): Նյարդաբջիջների վնասումներն արտահայտվում են կենտրոնացված քրոմատոլիզի (տիգրոլիզի) տեսքով: Ուռճացած նյարդաբջիջների բջջապլազմայում տեղի է ունենում տիգրոլիզ նյութի (քրոմատոգեն նյութի) մասնակի անհետացում: Արդյունքում ստեղծվում է կա՛մ բջջային ստվերի պատկեր, կա՛մ էլ պատկերի ամբողջական անհետացում, որը բերում է բջջային շերտերի դիֆուզ կամ սահմանափակ նոսրացման՝ գլիալ բջիջների ռեակցիայի բացակայության հետևանքով:

Քրոմատոլիզի (տիգրոլիզի) փուլում գտնվող ուռճացած բջիջների կորիզները նույնպես լինում են ուռճեցված, շրջապատված նստվածքային հատիկների մուգ օղակով, որոնք առավել ինտենսիվ կուտակվում են դենտրիտների առաջացման հատվածներում: Սակայն, նկարագրված քրոմատոլիզի (տիգրոլիզի) պատկերը համատարած չէ և չի գերիշխում, քանի որ քրոմատոլիզի (տիգրոլիզի) ինտենսիվության բջիջներից բացի, հայտնաբերվում են նաև պահպանված կառուցվածքով նյարդաբջիջներ, ինչը հավանաբար վկայում է նյարդային բջջի կայունության մասին:

Բրգաձև բջիջների մեծամասնության մոտ բաց գունավորությամբ կորիզներն ունեն կենտրոնական դիրք, հստակ դիտարկվում են գազաթային դենտրիտներ:

Վերը նկարագրվածի համանման պատկերը բնութագրական է նաև ՄՈւԶԿ-անը կապմանը հաջորդող 12 օրյա ժամանակահատվածում անջատված գլխուղեղի կտրվածքներին: Այս դեպքում նույնպես դիտարկվում է «բջիջների անհետացման» գործընթաց, սակայն այստեղ նյարդային բջիջների կորուստն ավելի նկատելի է 6 օրյա պատկերի համեմատ (նկ. 22 Բ, Ե): Մորֆոլոգիական պատկերն արտահայտվում է նյարդային բջիջների ակնհայտ ուռճեցմամբ, որն իրենից ներկայացնում է բավական տարածված բջջային ախտահարում: Բերված մորֆոլոգիական պատկերն արտահայտում է պատասխան ռեակցիա՝ տարբեր էկզոգեն և էնդոգեն ծագման ախտաբանական ազդակների հանդեպ և բնորոշ է ոչ սպեցիֆիկ նյարդային վնասմանը:

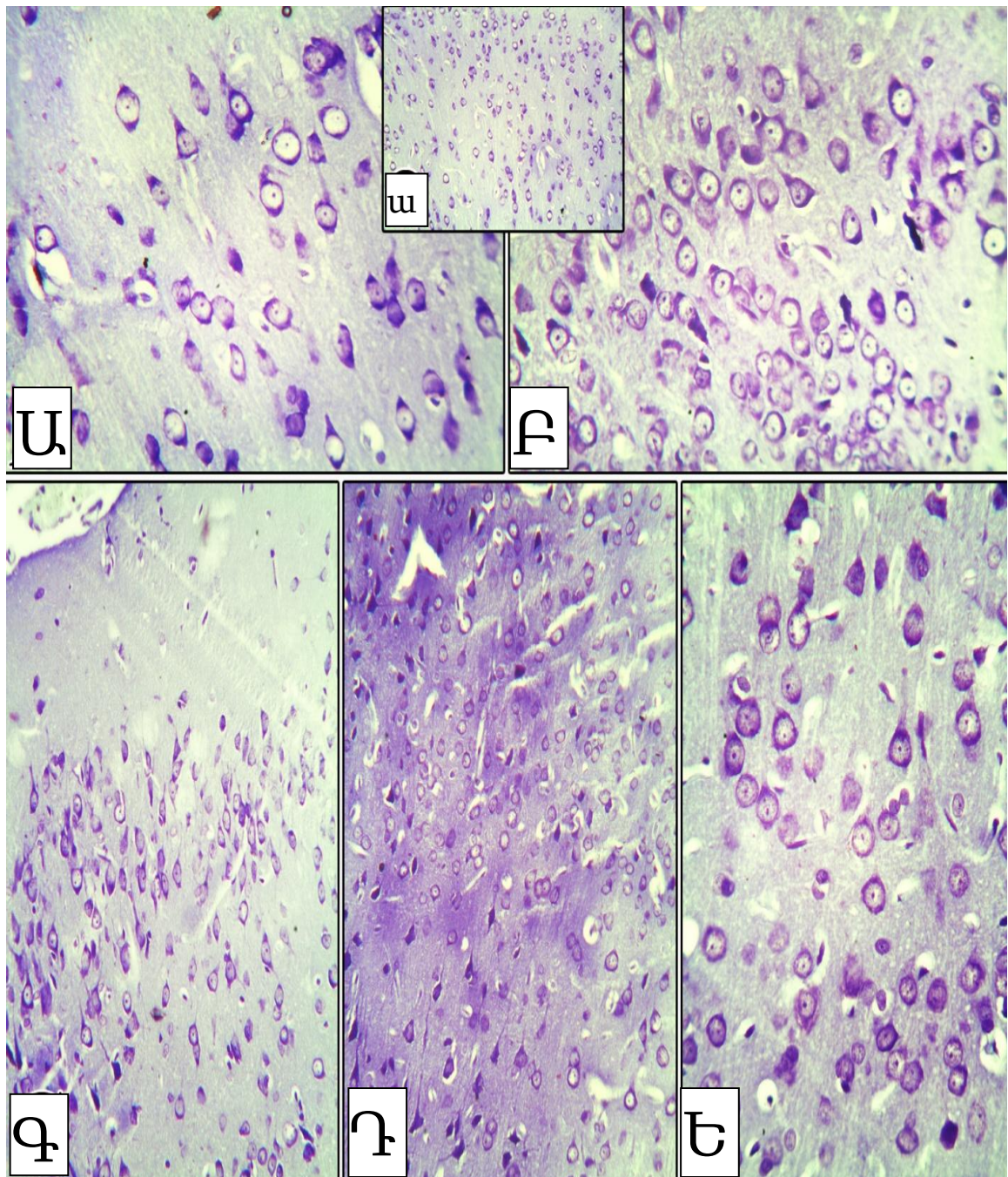
Առնետների մոտ, որոնք ՄՈւԶԿ-ից հետո 6 օրյա տևողությամբ ստացել են PRP-1, նյարդային բջիջների դեգեներատիվ փոփոխություններ՝ որպես գլխուղեղի մեծ կիսագնդերի կեղևային բջիջների պատասխան ռեակցիա, չի դիտվում (նկ. 23 Ա): Այս խմբի կենդանիների մոտ, բնութագրական է նաև նեյրոնների տեղակայման խտության մեծացում (նկ. 23):

PRP-1-ի ն/ո ներարկումից հետո, գլխուղեղի կեղևում բոլոր բրգաձև նյարդային բջիջների մոտ, դենտրիտների կազմում սկսում են նկատվել մորֆոլոգիական փոփոխություններ (նկ. 23 Դ, Ե): Կտրվածքների վրա դիտարկվում է բջիջների գունավորման ինտենսիվության տարբերություն, հատկապես հանդիպում են մուգ գունավորվածությամբ բջիջներ, ինչպես նաև քրոմատոլիզի (տիգրոլիզի) երևույթներով նեյրոններ (նկ. 23 Ա, Բ, Գ):

Նմանատիպ, բայց ավելի արտահայտված ազդեցություն է ցուցաբերում PRP-1-ը 12-օրյա տևողությամբ ն/ո ներարկման պայմաններում: Այսպես, պրեպարատների մորֆոլոգիական պատկերները վկայում են քրոմատոլիզի (տիգրոլիզի) արտահայտված նվազման մասին: Հատկանշական է նաև այն, որ բրգաձև բջիջների մեծամասնության մոտ վերականգնվում են չափսերն ու ձևերը (նկ. 24. Ա, Բ, Գ, Դ, Ե,

Զ, Է, Ը), դիտարկվում է նաև արտահայտված, որոշ տեղերում նույնիսկ՝ ամբողջությամբ ներցիտոպլազմային պիգմենտի վերականգնում: Հետագայում, վերականգնողական գործընթացի զարգացման հետ մեկտեղ, նեյրոնների չափերը փոքրանում են, կորիզները տեղափոխվում են բջջի կենտրոն և ցիտոպլազման լցվում է տիգրոփո նյութի (քրոմատոգեն նյութի) հատիկներով: Բջջիները նշմարվում են ավելի մուգ գունավորմամբ, որը հատկապես բնութագրական է այն նյարդային բջջիներին, որոնք գտնվում են վերականգնողական փուլում:

Այսպիսով, բերված արդյունքները բացահայտում են PRP-1-ի լոկալ իշեմիայով մակաձված նեյրոնների կառուցվածքային փոփոխությունները կանխելու ունակությունը և բջջի գոյատևմանը նպաստելու հատկությունը, որոնք ապացուցում են պրեպարատի նյարդապաշտպան ազդեցությունը:

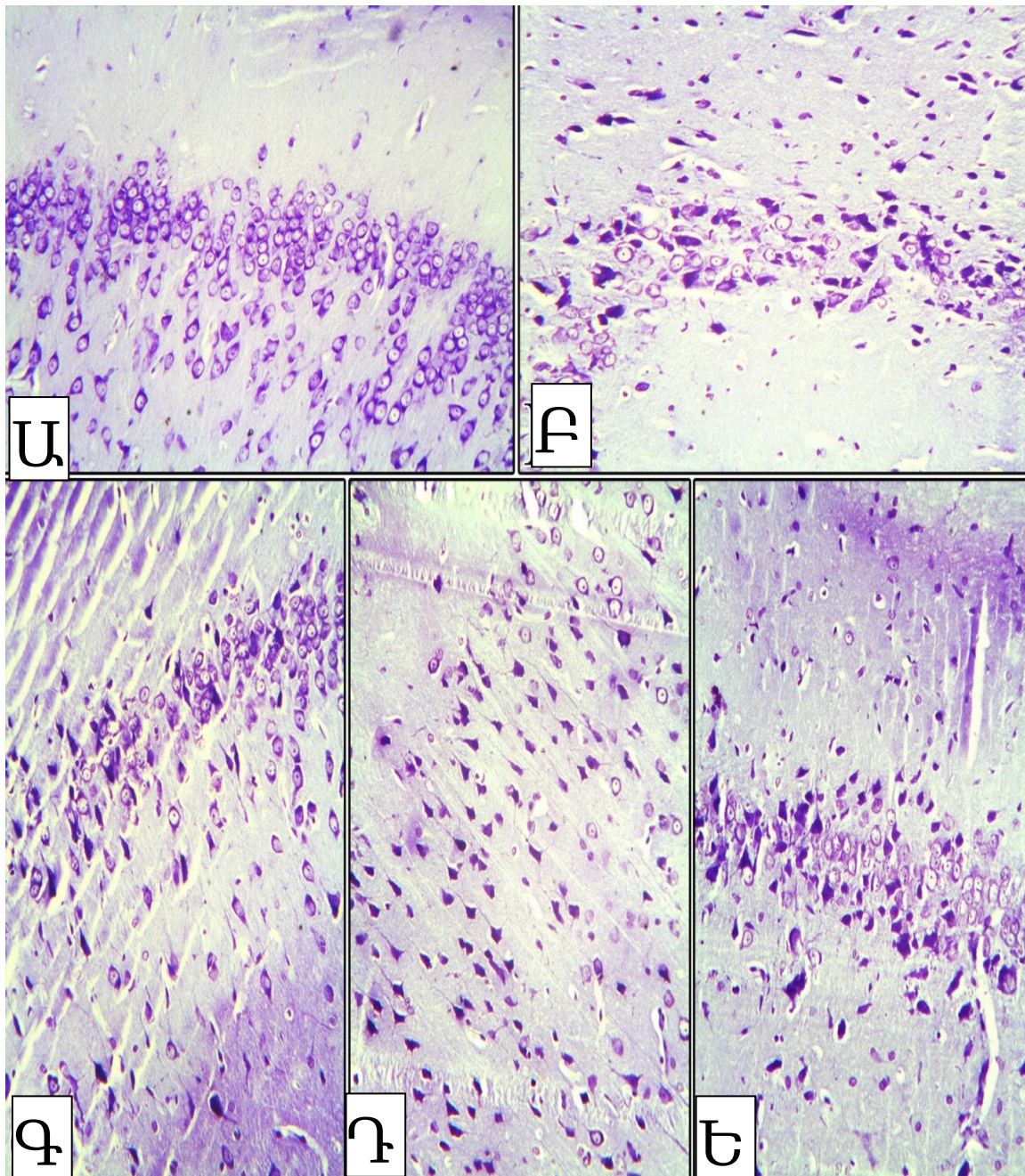


Նկար 22. Առնետների գլխուղեղի կեղևի նեյրոնները

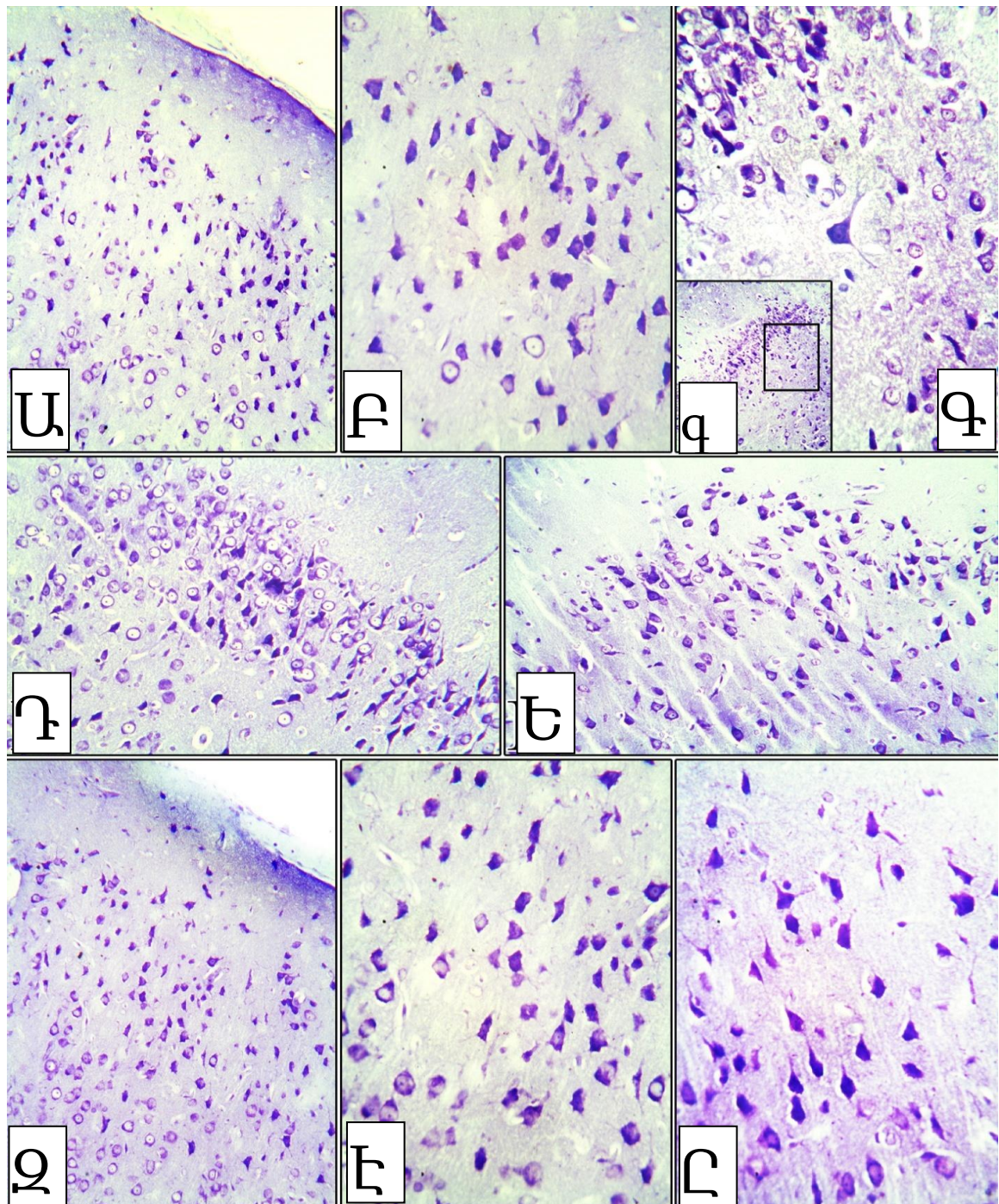
ՄՈւՋԿ-անը հաջորդող

6-րդ և 12-րդ օրերին 0.9%-անոց NaCl-ի ն/ո ներարկման պայմաններում (հսկիչ խումբ), 6-օրը (Ա, ա, Գ, Դ) և 12-րդ օրը (Բ, Ե): Կտրվածքները ներկվել են Նիսսլի մեթոդով: Կենտրոնական քրոմատոլիզ՝ մեկ կենտրոնական դասավորվածությամբ կորիզով (Interaural 6.7 մմ: Bregma 2.3 մմ: Հափված S₁):

Խոշորացում: x40 (a), x200 (C, D); x400 (Ա, Բ, Ե)



Նկար 23. Առնետների գլխուղեղի կեղևի նեյրոնները ՄՈւՋԿ-անը հաջորդող 6-րդ օրը 20 մկգ/կգ դեղաչափով, օրը 2 անգամ PRP-1-ի ն/ո ներարկման պայմաններում: Կտրվածքները ներկվել են Նիսսլի մեթոդով:
Նկարագրվում է ներցիտոպլազմային պիգմենտի վերականգնում: Երևում են մուգ ցիտոպլազմայով և լավ առանձնացող աքսոնով նեյրոններ:
Interaural 6,7 մմ: Bregma 2,3 մմ: Հատված S₁ խոշորացում: x 200 (Ա, Բ, Գ, Դ, Ե):



Նկար 24. Առնետների գլխուղեղի կեղևի նեյրոնները ՄՈւԶԿ-անը հաջորդող 12-րդ օրը 20 մկգ/կգ դեղաչափով, օրը 2 անգամ PRP-1-ի ն/ո ներարկման պայմաններում: Կտրվածքները ներկվել են Նիսսլի մեթոդով: Նկարագրվում է արտահայտված, որոշ հատվածներում նաև ամբողջական ներցիտոպլազմային պիզմենտի վերականգնում: Interaural 6,7 մմ: Bregma 2,3 մմ:
Հատված S₁ խոշորացում: x 40 (գ), x 200 (Ա, Դ, Ե, Զ), x 400 (Բ, Գ, Է, Ը):

3.4.1. PRP-1-ի լոկալ իշեմիայով մակածված հիշողության կորուստը և ուսուցման գործընթացի թուլացումը կանխելու ունակությունը

Գլխուղեղի լոկալ իշեմիկ խանգարումների կարևորագույն հետևանքներից են հիշողության կորուստը և ուսուցման գործընթացի թուլացումը (Kuo C.T. et. al., 2016), որոնց ուսումնասիրումն անկասկած հնարավորություն է տալիս գնահատելու այս կամ այն բուժամիջոցի արդյունավետությունը (Ögren S.O. et. al., 2010; Semple B.D. et. al., 2015): Այդ առումով, կրծողները ծառայում են գերազանց մոդել տարբեր ախտաճնությամբ նյարդային վնասվածքների հետևանքով զարգացող (Schaar K.L. et. al., 2010) ուսուցման գործընթացը և հիշողության վատթարացումն ուսումնասիրելու համար:

Ա. Թամուրայի կողմից ՄՈւԶԿ-ան եղանակով առաջարկած լոկալ իշեմիայի մոդելում, համաձայն տարբեր փորձարարական ուսումնասիրությունների, վնասման մեջ ներգրավվում են գլխուղեղի կիսագնդերի միջանկյալ հատվածի երկու երրորդը (Kiernan J.A. 1998; Scremin O.U. 2004)՝ ճակատային և գագաթային բլթերի միջային մասը, ներքին պատիճի առաջային կեսը, պոչավոր կորիզի գլխի առաջային ստորին հատվածը և բրտամարմնի առաջային 4/5-րդ հատվածը: Նշված հատվածների վնասման հետևանքով տուժում են այնպիսի կառույցներ, ինչպիսիք են՝ շարժիչ տարածքը և հակառակ կողմի ստորին վերջույթի առաջնային շարժիչ և զգացող տարածքները, որոնք անմիջականորեն կապված են հիշողական հետքի ձևավորման և ուսուցման գործընթացների հետ:

Արդեն իսկ հայտնի է, որ հիշողության համար կարևոր է միջակա քունքային բիլթը, որում առկա են հետևյալ կառույցները՝ ծովաձիուկի շրջանը (ատամնավոր գալարը, ծովաձիուկը և իր ստորին հատվածը (Squire L.R., Zola-Morgan S. 1991; Schallert T., 2006), ինչպես նաև շուրջհոտառական, ներհոտառական, հարծովաձիուկային և կեղևային հատվածը: Մինչդեռ ավելի խորը հիշողության խանգարումներն ինչպես կենդանիների, այնպես էլ մարդու մոտ հանդիպում են այնպիսի վնասվածքների ժամանակ, որն ընդգրկում է կեղևը և ծովաձին (Zola-Morgan S. et. al., 1993):

Հաշվի առնելով PRP-1-ի կողմից իշեմիայի պայմաններում կառուցվածքային շեղումները կանխելու ունակությունը, ներառյալ կեղևային հատվածը՝ մեծ

հետաքրքրություն էր ներկայացնում ուսումնասիրել PRP-1-ի ազդեցությունը լոկալ իշեմիայով մակածված հիշողության և ուսուցման գործընթացների խանգարում-ներով առնետների մոտ:

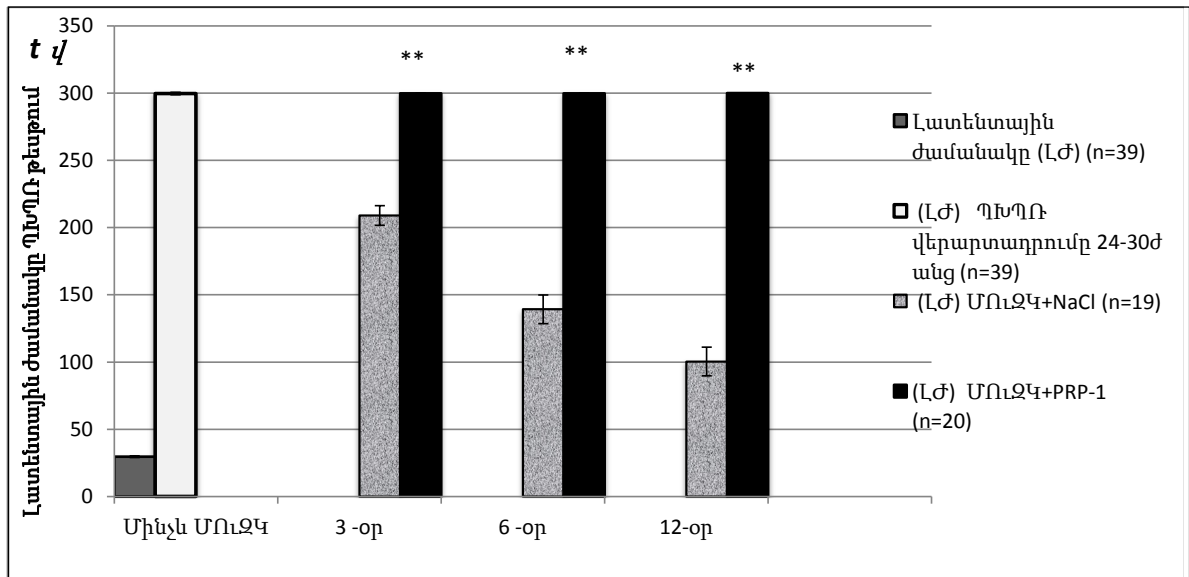
Ինչպես ցույց են տվել հետազոտությունները, որոնց ընթացքում ՄՈւԶԿ-ից մեկ օր առաջ իրականացվել և 24-30 ժամ անց վերարտադրվել է ՊԽՊՌ-ը, ուսուցման արդյունքում կենդանիների մոտ հիշողական հետքի ձևով կայուն ֆիքսվել են կատարված գործողությունները: Նշվածը հաստատվում է այն փաստով, որ կենդանիները լուսավորված հարթակին կրկնակի անգամ տեղադրելիս, հիշում էին էլեկտրական հոսանքի հարվածը և այլևս մուտք չէին գործում սարքավորման մուֆ հատվածը: Ֆիքսված ռեֆլեքսով առնետների մոտ, որոնք մեկ օր անց վիրահատվում էին, միջամտությունից 3, 6, և 12 օր հետո ստուգվում էր հիշողությունը՝ ձևավորված ռեֆլեքսի վերարտադրման օգնությամբ: Նկար 25-ից երևում է, որ մինչև էլեկտրական գրգռի ազդեցությունը ՊԽՊՌ-ի թեստում կենդանիների մուֆ հատված մտնելու լատենտ ժամանակը հավասար է 29.6 ± 0.7 վայրկյանի, մինչդեռ ուսուցումից հետո գրանցվում է լատենտ ժամանակի երկարացում մինչև 299.6 ± 0.7 վրկ. ($F_{(1;77)} = 2704412$ ($p < 0.01$)), ինչը միանգամայն հաստատում է ռեֆլեքսի ձևավորումը:

Կատարված փորձերը վկայում են, որ ՄՈւԶԿ-ան ենթարկված կենդանիները, որոնք օրեկան երկու անգամ ն/ո ստանում էին միայն իզոտոնիկ լուծույթ, վիրահատությունից հետո ավելի կարճ ժամանակահատվածում էին որոշում կայացնում մուֆ հատվածը մտնելու մասին: Բերված պնդումը հաստատում է գրանցված տվյալները, համաձայն որոնց՝ լատենտ ժամանակահատվածը իշեմիայի 3-րդ, 6-րդ և 12-րդ օրերին համապատասխանաբար նվազում է մինչև 208.3 ± 48.3 վրկ. ($F_{(1;59)} = 145$ ($p < 0.01$)), 137.2 ± 40.9 վրկ. ($F_{(1;59)} = 642$ ($p < 0.01$)) և 100.5 ± 23.6 վրկ. ($F_{(1;59)} = 2903$ ($p < 0.01$)):

Վիրահատված կենդանիներին PRP-1-ի ն/ո ներարկման պայմաններում պարզվեց, որ ՊԽՊՌ-ի վերարտադրողականությունը պրեպարատի ազդեցության հետևանքով բավականին բարձր է պրեպարատ չստացած կենդանիների խմբի համեմատ: Ինչպես վկայում են հետազոտության արդյունքները թեստի դիտարկման ամբողջ ժամանակահատվածում (300 վայրկյանների ընթացքում), փորձարկմանը

մասնակցած կենդանիներից և ոչ մեկը մուֆ խուցը չեն մտնում փորձի ո՛չ 3-րդ, ո՛չ 6-րդ և ո՛չ էլ 12-րդ օրերին ($F_{(1;77)}=2704412$ ($p<0.01$)):

Այսպիսով, հետազոտության արդյունքները վկայում են, որ ՊԽՊՌ թեստում PRP-1-ի ն/ո ներարկումն ամբողջությամբ կանխում է իշեմիայով պայամանավորված հիշողության կորուստը և ուսուցման խանգարումներն առնետների մոտ:



Նկար 25. ՊԽՊՌ թեստում հսկիչ խմբի (իզոպոնիկ լուծույթ 0.9%-անոց ն/ո օրեկան երկու անգամ) և PRP-1 ստացած առնետների լարենտ ժամանակը ՄՈւԶԿ-անը հաջորդող 3-րդ 6-րդ և 12-րդ օրերին: Տվյալները բերված են միջին $\pm$ ստանդարտ շեղում արժեքների ձևով:

*** $p < 0.01$ ՝ ՄՈւԶԿ + 0.9%-անոց NaCl-ի համեմատ:**

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Կաթվածը՝ զարգացած երկրներում հանդիսանալով բնակչության ընդհանուր մահացության այսօր արդեն երկրորդ պատճառը, այնուամենայնիվ, ավելի շատ բերում է հաշմանդամության, քան մահի (Mozaffarian D. et. al., 2016; Riley L. et. al., 2016): Այս առումով կաթվածի համալիր բուժման կառուցվածքում նյարդապաշտպան միջոցների նշանակությունն անհնար է գերազնահատել (Parihar L. et. al., 2014):

Կլինիկայում կիրառվող նյարդապաշտպան դեղերի համեմատական վերլուծությունը վկայում է, որ բավական բարձր արդյունավետությամբ են օժտված էնդոգեն ծագման միացությունները (Lalkovičová M. et. al., 2015; Yabuki Y. et. al., 2015): Դրանց թվին են պատկանում նեյրոպեպտիդները, որոնց ուղեղանոթային ազդեցության առանձնահատկությունները (Negraes P.D. et. al., 2015) և նյարդապաշտպան հատկությունները (Mirante O. et. al., 2013) հիմք են հանդիսանում ուղեղային արյան շրջանառության խանգարումների բուժման նոր մոտեցումների և աղբյուրների ստեղծման համար (Chao J., Chao L. 2006; Gudlavalleti A.S.V., Moonis M. 2015):

Նյարդապաշտպան նոր դեղերի և դրանց հնարավոր աղբյուրների որոնման հարցում մեր ընտրությունը կանգ առավ ակադեմիկոս Ա.Գալոյանի և համահեղինակների կողմից հիպոթալամուսի NSO և NPV նեյրոսեկրետոր հատիկներում հայտնաբերված PRP-1-ի (Գալարմինի) ուսումնասիրության վրա: Գալարմինը թափանցում է ԱՈՒՊ-ը և օժտված է բազմակողմանի դեղաբանական ազդեցություններով՝ ներառյալ իմունամոդուլացնող, հակավիրուսային, հակամանրէային, նյարդահորմոնալ, բջջի մետաբոլիզմը խթանող, նյարդապաշտպան և մի շարք այլ հատկություններով (Galoyan A.A. 1997; Galoyan A.A. 2004; Galoyan A.A. et. al., 2006; Galoyan A.A. et. al., 2008):

Այս ամենը հիմք հանդիսացան ուսումնասիրելու PRP-1-ի ազդեցությունն ուղեղանոթային և լոկալ իշեմիկ խանգարումների ժամանակ: Նշված նպատակի իրականացման համար պարզաբանվել է Գալարմինի ազդեցությունը գլխուղեղի տեղային արյան շրջանառության, զարկերակային ճնշման, թրոմբոցիտների ագրե-

գացիայի, լոկալ իշեմիկ խանգարումներով պայմանավորված գլխուղեղի կառուցվածքային տեղաշարժերի և դրանցով պայմանավորված վարքագծային և ֆունկցիոնալ փոփոխությունների վրա:

Գլխուղեղի տեղային արյան շրջանառության փոփոխությունների ուսումնասիրումը PRP-1-ի ազդեցությամբ ինչպես նորմայի, այնպես էլ ուղեղային արյունամատակարարման խանգարումների պայմաններում՝ իրականացվել է քնային զարկերակի միակողմանի կապման պայմաններում: Գլխուղեղի տեղային արյան շրջանառության գրանցումն իպսիլատերալ կիսագնդի ճակատագագաթային հատվածում լազեր դոպլեր հոսքաչափի միջոցով ցույց է տրվել, որ PRP-1-ը 20 մկգ/կգ դեղաչափով ն/ո ներարկումից 20 րոպե անց լավացնում է գլխուղեղի տեղային արյունամատակարարումը, որի փոփոխությունները պրեպարատի ներարկումից 60ր անց կրում են հավաստի բնույթ՝ 120-րդ րոպեին կազմելով $23.5\% \pm 2.6$ ($p < 0.01$): Ընդ որում PRP-1-ի գլխուղեղի տեղային արյան շրջանառությունը բարելավելու հատկությունն ավելի արտահայտված է աջ քնային զարկերակի միակողմանի կապումով պայմանավորված խանգարման պայմաններում: Ինչպես ցույց են տալիս հետազոտության արդյունքները, քնային զարկերակի միակողմանի կապումը բերում է տեղային արյան շրջանառության հավաստի իջեցման $36\% \pm 1.5$ -ով սկզբնական ցուցանիշի համեմատ: Նշված պայմաններում պրեպարատի ն/ո ներարկումից 20ր անց նկատվում է կեղևի արյունամատակարարման բարելավում, ինչը շարունակում է աճել և հետազոտության նույնիսկ 90-րդ րոպեին $23.5\% \pm 2.6$ -ով գերազանցում է իր ելակետային ցուցանիշը: PRP-1-ի ուղեղարյունային դեղաչափ-կախյալ ազդեցության պարզաբանումը, դրա ավելի ցածր՝ 10 մկգ/կգ և ավելի բարձր՝ 40 մկգ/կգ դեղաչափերը փորձարկելիս բացահայտվեց, որ թե՛ մեկ, թե՛ մյուս դեղաչափն իրենց ազդեցության արտահայտվածությամբ զիջում են ուսումնասիրված՝ 20 մկգ/կգ դեղաչափով գլխուղեղի արյան շրջանառությունը խթանելու ունակությանը, սակայն երկու դեպքում էլ գրանցվում է արյան հոսքի վերականգնման միտում մինչև ելակետային արժեքներ: Փաստորեն PRP-1-ին բնորոշ է գմբեթանման դեղաչափ-կախյալ Գաուսյան բաշխումը: Նման օրինաչափությունը նկարագրված է նաև PRP-1-

ի հակաուռուցքային ազդեցության վերաբերյալ (Galoian K.A. et. al., 2009; Galoian K.A. et. al., 2011) և բնորոշ է մի շարք այլ պոլիպեպտիդների (Park J.H. et. al., 2015; Saha L. et. al., 2016):

Հատկանշական է, որ PRP-1-ի նկարագրված ազդեցությունը կախված չէ համակարգային զարկերակային ճնշման տատանումներից, ինչի մասին են վկայում «tail-cuf» մեթոդով գրանցված թե՛ սիստոլիկ, թե՛ դիաստոլիկ, թե՛ միջին զարկերակային ճնշումների և թե՛ սրտի կծկման հաճախության արժեքները, որոնք Գալարմինի 5 օր տևողությամբ 20 մկգ/կգ դեղաչափով կիրառման պայմաններում չեն ենթարկվում որևէ նշանակալի փոփոխությունների:

Հաշվի առնելով թրոմբոցիտների ագրեգացման ունակության անհերքելի մեծ դերը (Sirotkina O.V. et. al., 2015; Gosk-Bierska I. et. al., 2016) ուղեղային արյան մատակարարման համար և հայտնի հակաագրեգանտների բարձր կլինիկական արդյունավետությունն ուղեղային արյան շրջանառության խանգարումների բուժման մեջ (Hilkens N.A. et. al., 2016), ուսումնասիրվել է PRP-1-ի՝ թրոմբոցիտների ագրեգացիան կանխելու հատկությունը: ԱԴՖ-ով մակաձված թրոմբոցիտների ագրեգացիայի հետազոտման ընթացքում գրանցվեց մի շատ հետաքրքիր փաստ, որը բնութագրեց PRP-1-ին, որպես կարգավորիչ բնույթ ունեցող պոլիպեպտիդ: Պարզվեց, որ նրա ազդեցությունը կախված է թրոմբոցիտների ագրեգացիան բնութագրող մեծությունների ելակետային արժեքից: Այսպես, երբ ամբողջական արյան ագրեգացիոն բնութագրերի արժեքները գտնվում են սահմանված նորմայի տիրույթում, ապա PRP-1-ն առանձնապես չի փոխում թրոմբոցիտների ԱԴՖ-ով խթանված ագրեգացիան: Նույն պայմաններում, բարձր ագրեգացիոն ունակությամբ արյան հետ ինկուբացնելիս, PRP-1-ն ընկճում է այդ գործընթացը, ինչի մասին են վկայում ագրեգացիան բնութագրող գործոնների աճի նվազեցումը (A6-33.6%-ով, MS-37%-ով և AUC-36.7%-ով): Իսկ երբ հետազոտվող արյան թրոմբոցիտները բնութագրվում են ցածր ագրեգացիոն ունակությամբ, Գալարմինն օժանդակում է ԱԴՖ-ի ազդեցությունը՝ մեծացնելով A6-ը 58.5%-ով, իսկ MS-ը և AUC-ը գրեթե կրկնակի անգամ: Ընդ որում՝ ուշադրության է արժանի այն փաստը, որ երկու

դեպքում էլ PRP-1-ի ազդեցությամբ գրանցվող փոփոխությունները միտում ունեն ուսումնասիրվող ցուցանիշներն ուղղելու դեպի նորմա ընդունված արժեքներ:

PRP-1-ի ուղեղային արյան շրջանառությունը խթանելու և թրոմբոցիտների ագրեգացիան կարգավորելու բացահայտված հատկությունները հուշում են վերջինիս հնարավոր նյարդապաշտպան ազդեցության մասին: Նշվածը հիմնավորվում է նրանով, որ կաթվածով հիվանդների մոտ գրանցվող արյան ռեոլոգիական հատկությունների և հեմոստազի շեղումները բնութագրվում են միևնույն ուղղվածությամբ և հիմնականում արտահայտվում են թրոմբոցիտների ագրեգացիոն ունակության բարձրացմամբ: Ուստի պատահական չէ, որ այժմ հակաագրեգանտային բուժումը, որը 25%-ով կրճատում է ոչ մահացու ինսուլտների քանակը և 20%-ով անոթային մահացությունը, համարվում է երկրորդային կաթվածի կանխարգելման պարտադիր միջոցառում (Li X. et. al., 2013; Rothlisberger J.M., Ovbiagele B. 2015): Ժամանակակից հակաագրեգանտների ազդեցության անհերքելի առավելությունն է համարվում վերջիններիս նյարդապաշտպան ազդեցության բացահայտումը (d'Esterre C.D., Lee T.Y. 2010, Zhou Zhong-He, Chen Hui-Sheng. 2013):

Այս ամենը հիմք հանդիսացավ ուսումնասիրելու Գալարմինի լոկալ իշեմիկ խանգարումներով պայմանավորված կառուցվածքային տեղաշարժերը և դրանց հետևանքով զարգացող հիշողության և ուսուցման գործընթացների թուլացումը, ինչպես նաև վարքագծային խանգարումները կանխելու հատկությունը:

Հաշվի առնելով տարբեր գործոններով պայմանավորված կենդանիների վարքի փոփոխությունների կախվածությունը դրանց սկզբնական շարժողական ակտիվությունից՝ հետագա բոլոր փորձերից առաջ կենդանիները բաժանվեցին «Բաց դաշտ» թեստում՝ ըստ իրենց ընդհանուր շարժողական ակտիվության: Ուսումնասիրությունների համար ընտրվել են բարձր և միջին ակտիվությամբ բնութագրվող առնետները, որոնց ընդհանուր շարժողական ակտիվությունն եղել է 15 միավորից բարձր (Seredenin S.B. et. al., 2002):

Կենդանիների գլխուղեղի կտրվածքների մորֆոլոգիական հետազոտության արդյունքները ցույց տվեցին, որ ՄՈւԶԿ-ով մակաձված լոկալ իշեմիկ խանգա-

րումները բնութագրվում են նյարդային հյուսվածքի՝ ներառյալ նյարդային բջիջների, նրանց ելուստների, ինչպես նաև շրջապատող գլխալ էլեմենտների մի շարք վնասումներով: Իշեմիային հաջորդող 6-րդ օրը հսկիչ խմբի կենդանիների մոտ դիտվում է նեյրոնների տեղակայման խտության նվազում, ելուստների անհետացում և կենտրոնացված քրոմատոլիզի (տիգրոլիզի) պատկեր: Արդյունքում ստեղծվում է կա՛մ բջջային ստվերի պատկեր, կա՛մ էլ պատկերի ամբողջական անհետացում, որն առավել արտահայտվում է իշեմիային հաջորդող 12-րդ օրը: PRP-1-ի շարունակական ներարկումը՝ հատկապես 12 օր տևողությամբ, բերում է քրոմատոլիզի (տիգրոլիզի) արտահայտված նվազման, բջիջների չափսերի, ձևերի, ներցիտոպլազմային պիգմենտի վերականգնման՝ նպաստելով բջիջների գոյատևմանը:

Ստացված արդյունքները վկայում են, որ PRP-1-ի նախկինում հայտնաբերված (Galoyan A.A. et. al., 2005; Galoyan, A.A. et. al., 2000; Galoyan A.A. et. al., 2004; Galoyan A.A. et. al., 2008) նյարդապաշտպան ազդեցությունը հայտնաբերվում է նաև գլխուղեղի լոկալ իշեմիկ խանգարումների պայմաններում, ինչը հավելում է նրա պոտենցիալ կիրառման բնագավառը:

Իշեմիզացված ուղեղային հյուսվածքը պաշտպանելու նպատակով, պրեպարատի արդյունավետությունը գնահատվեց դրա օջախային արյան մատակարարման խանգարումով մակաձված (Bothe H.W. et. al., 1986; Sheng T. et. al., 2015) հիշողության կորուստը և ուսուցման գործընթացի թուլացումը կանխելու ունակությունը:

Գալարմինի ազդեցությունն առնետների ուսուցման գործընթացի և հիշողական հետքի ձևավորման վրա ուսումնասիրվեց «Պասիվ խուսափման պայմանական ռեֆլեքս» թեստում: Կենդանիների մոտ պայմանական ռեֆլեքսի ձևավորումը ստուգվեց էլեկտրական հարվածից 24 ժամ անց, կենդանու փակ տարածություն մուտք գործելու լատենտ ժամանակի գնահատմամբ, ինչպես ՄՈւԶԿ-ից առաջ, այնպես էլ իշեմիային հաջորդող 3-րդ, 6-րդ և 12-րդ օրերին 300 վրկ. ընթացքում: Ինչպես վկայում են հետազոտության արդյունքները, PRP-1-ի ն/ո ներարկումն

ամբողջությամբ կանխում է իշեմիայով մակածված հիշողության կորուստը և ուսուցման գործընթացի խանգարումները, որը հաստատվում է առնետների մութ խուց չմտնելու փաստով՝ դիտարկման բոլոր ժամանակահատվածներում:

Լոկալ իշեմիկ խանգարումների հետևանքները կանխելու PRP-1-ի ունակությունը հաստատվեց նաև նշված մոդելում զարգացող տագնապի գնահատմամբ՝ EPM թեստում: Ինչպես և սպասվում էր, ՄՈւԶԿ-ը նպաստում է տագնապի զարգացմանը, ինչի մասին են վկայում նշված թեստում կենդանիների վարքը բնութագրող բոլոր ցուցանիշների՝ բաց թևերում և կենտրոնում անցկացրած ժամանակների, բաց թևեր կատարած մուտքերի թվի տոկոսի և ընդհանուր մուտքերի թվի ակնհայտ նվազումը վիրահատությունից 3, 6, և 12 օր հետո՝ ինտակտ խմբի արդյունքների համեմատ: PRP-1-ի 20 մկգ/կգ դեղաչափով օրեկան 2 անգամ ն/ո ներարկումները, ՄՈւԶԿ-ից անմիջապես հետո ուղեկցվում են վերոնշյալ բոլոր ցուցանիշների տագնապամարիչ ազդեցություն բնութագրող փոփոխությունների՝ կանխելով իշեմիայով մակածված տագնապի զարգացումը: Ընդ որում՝ ստացված արդյունքները վկայում են այն մասին, որ ցուցանիշներն աճում են պոլիպեպտիդի ներարկման տևողության մեծացման հետ մեկտեղ, և հետազոտության 12-րդ օրերը գրանցված արժեքները հասնում և նույնիսկ գերազանցում են ինտակտ խմբի կենդանիների ցուցանիշները:

Կաթվածով պայմանավորված գլխուղեղի արյունաշրջանառության խանգարումները վերացնելու PRP-1-ի ունակությունը գնահատվել է նաև ՄՈւԶԿ-ից հետո կենդանիների մոտոր կոորդինացիայի գնահատմամբ՝ հաշվի առնելով, ինչպես մի շարք հեղինակների փորձարարական հետազոտությունները (Zvejniece L. et. al., 2012; Hattori Y. et. al., 2014), այնպես էլ կլինիկայում՝ որպես իշեմիկ ինսուլտի բուժման կարևոր ցուցանիշ ընդունված շարժողական և տարածական կողմորոշման վերականգնումը (Malm J. et. al., 1998; Mizrahi E.H. et. al., 2012): Փորձարարական կենդանիների մոտոր կոորդինացիոն շեղումները լոկալ իշեմիայի պայմաններում ուսումնասիրվել է «Rota rod» թեստում: Իշեմիզացված կենդանիների մոտ, ինչպես և ակնկալվում էր, նկատվեց կոորդինացիայի արտահայտված թուլացում, ինչը փաստվել է կենդանիների ձողի վրա մնալու ժամանակահատվածի կրճատումով՝

գրեթե 2 անգամ (վիրահատության 12-րդ օրը) ինտակտ խմբի համեմատ: PRP-1 ներարկված կենդանիները՝ չնայած ՄՈւԶԿ-ան, ունակ են եղել բավական երկար ժամանակ ընդհուպ մինչև նորմայի տևողությանը համարժեք և նույնիսկ մի փոքր էլ գերազանցող տևողությամբ պահվել ձողի վրա:

Այսպիսով, կատարված հետազոտությունները, որոնք վկայում են PRP-1-ի ուղեղային արյունահոսքը խթանելու, թրոմբոցիտների ագրեգացիան կանխելու, իշեմիզացված գլխուղեղի մորֆոլոգիական տեղաշարժերը շտկելու և դրա նյարդավարքագծային հետևանքները կանխելու ունակության մասին, հաստատեցին մեր դիրքորոշումն իշեմիզացված գլխուղեղի գործունեության շտկման համար նոր միջոցների որոնումն իրականացնել ուղեղային հյուսվածքի մետաբոլիզմի հետևանքով առաջացող նեյրոքիմիական կոմպոնենտների շարքում և ապացուցեցին, որ PRP-1-ը կարող է հանդիսանալ պոտենցիալ աղբյուր նոր նյարդապաշտպան միջոցների նախագծման և զարգացման համար:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Պրոլինոլ Հարուստ Պոլիպեպտիդ-1-ը (PRP-1-ը) 20 $\mu\text{g}/\text{կգ}$ դեղաչափով խթանում է գլխուղեղի տեղային արյան շրջանառությունը՝ վերականգնելով քնային զարկերակի միակողմանի կապումով պայմանավորված տեղային արյունահոսքի խափանումը:
2. Բացահայտված է PRP-1-ի հակաագրեգանտային ազդեցությունը՝ կամավորների արյան ADP-ով մակածված թրոմբոցիտների ագրեգացիայի պայմաններում:
3. Միջին ուղեղային զարկերակի կապման (ՄՈւԶԿ-ան) մոդելում PRP-1-ը կանխում է գլխուղեղի լոկալ իշեմիկ խանգարումներով պայմանավորված տագնապի և մոտոր կորդինացիոն շեղումների զարգացումը, որն առավել ակնհայտ է ուսումնասիրվող պոլիպեպտիդի 12 օր տևողությամբ կիրառման դեպքում:
4. Պարզաբանված է PRP-1-ի գլխուղեղի լոկալ իշեմիկ խանգարումներին բնորոշ հիշողության թուլացումը կանխելու ունակությունը «Պասիվ խուսափման պայմանական ռեֆլեքս» թեստի մոդելում:
5. PRP-1-ը նվազեցնում է ՄՈւԶԿ-ով մակածված քրոմատոլիզը, վերականգնում է բջիջների փոփոխված չափսերը, ձևը և ներցիտոպլազմային պիգմենտը:
6. Ստացված արդյունքները բացահայտում են PRP-1-ի հնարավոր մասնակցությունն իշեմիզացված ուղեղի պաշտպանողական մեխանիզմներում և ստեղծում հեռանկարներ էնդոգեն ծագման նոր նյարդապաշտպան միջոցների ստեղծման համար:

1. Абрамян С.С., Меликсетян И.Б., Галоян А.А. Иммуногистохимический анализ локализации иммуномодуляторов мозга (обогащенного пролином полипептида и иммунофилина) в норме и патологии // Нейрохимия, 2003, Т. 20, № 1, С. 42-50.
2. Ажермачева М.Н., Плотников Д.М., Алиев О.И., Алифирова В.М., Плотников М.Б., Буркова К.И. Реологические свойства крови в острейший период ишемического инсульта и их взаимосвязь со степенью тяжести неврологических нарушений // Бюллетень сибирской медицины, 2013, Т. 12, № 5, С. 5-12.
3. Алексанян М.К., Симонян Г.М., Хачатрян А.Р., Симонян Р.М., Бабаян М.А., Ширинян В.С., Галоян К.А., Алексанян С.С., Симонян М.А., Галоян А.А. Ассоциирование богатого пролиним пептида с двумя изоформами цитохрома В558 из клеток опухолевой ткани лимфосаркомы человека // Вопросы теоретической и клинической медицины, 2010, Т. 13, № 3 (59), С. 8-11.
4. Априкян В.С., Галоян А.А. Антибактериальная активность нового гипоталамического полипептида // Докл. НАН РА. 1999, Т. 99, № 4, С. 367-371.
5. Априкян В.С., Галоян А.А. Гипоталамический полипептид предохраняет от гибели мышей при их заражении грам-отрицательными бактериями // Нейрохимия, 2000, Т. 17, № 1, С. 60-63.
6. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения // 1991, Москва, С. 177-179.
7. Галоян А.А., Шахламов В.А., Малайцев В.В. Изменение ультраструктуры опухолевых клеток L₉₂₉ под воздействием ПБП in vitro // Медицинская Наука Армении, 2001, Т. XLI, № 1, С. 25-29.
8. Галоян А.А. О двух гормонах гипоталамуса, оказывающих действие на коронарное кровообращение // Докл. АН АрмССР, 1962, Т. 34, № 3, С. 109-111.
9. Галоян А.А., Бедян В., Меликян Н., Вартазарян Н.Д. Иммуногистохимическое изучение локализации гипоталамического цитоксина – PRP в лимфатическом узле, тимусе и сердце // Нейрохимия, 2001, Т. 18, № 2, С. 147-152.

10. Галоян А.А., Гурвиц Б.Я. Открытие пептидил-цис транс-изомеразы в гипоталамусе (новые его функции) // Нейрохимия, 1992, Т. 11, № 1, С. 89-92.
11. Демченко В.В., Артемьев В.Н. Гистологическая техника. Омск. Омская медицинская академия. 2006.
12. Маркосян К.А., Гурвиц Б.Я., Галоян А.А. Выделение и идентификация новых пептидов из секреторных гранул нейрогипофиза // Нейрохимия, 1999, Т. 16, № 1, С. 22-25.
13. Патент А. Галояна N. 1951 A2, № AM 20060142, РА.
14. Саркисян Дж.С., Галоян А.А., Чавушян В.А., Меликсетян И.Б., Абрамян С.С., Авакян З.Э., Алоян М.Л., Восканян А.В., Мкртчян О.А. Морфофункциональное исследование протекторного действия змеиного яда *Naja Naja Oxiana* при латеральной гемисекции спинного мозга // Нейрохимия. 2006, Т. 23, № 4, С. 362-376.
15. Симонян Г.М., Симонян Р.М., Агамян Г.Р., Симонян М.А., Галоян А.А. Влияние обогащенного пролином полипептида на восстановление метгемоглобина и образование супероксида под действием металлопротеинов – цит b558III и супрола *in vitro* // Нейрохимия, 2007, Т. 24 № 1, С. 37-40.
16. Суслина З.А., Танашян М.М., Домашенко М.А. Антитромботическая терапия ишемических нарушений мозгового кровообращения // 2009, М. ООО «МИА»
17. Чехонин В., Гурина О., Рябухин И., Савченко Е., Галоян А. Иммунохимический анализ действия нейротрофинов на синтез глиофибрилярного кислого белка (Glial fibrillar and protein, GFAP) в культуре астроцитов // Нейрохимия, 2003, Т. 20, № 3, С. 179-182.
18. Abrahamyan S.S., Gusakova N.F., Barkhudaryan N.A., Pogossian V.O., Arutyunyan Ts.L., Galoyan A.A. Immunohistochemical analysis of hypothalamic hemorphin-like peptide factor localization in several tissues // *Neurokhimiya*, 1998, Vol. 15, № 1, 76 p.
19. Abrahamyan S.S., Meliksetyan I.B., Sulkhanyan R.M., Sarkissian J.S, Galoyan A.A. Immunohistochemical study of immunophilin 1-15 fragment in intact frog brain, and

- in the brain and spinal cord of intact and spinal cord hemisectioned rats // *Neurochem. Res.*, 2001, Vol. 26. № 11, P. 1225-1230.
20. Aggarawal A., Aggarwal P., Khatak M., Khatak S. Cerebral Ischemic Stroke: Sequels Of Cascade // *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2010, Vol. 1, № 3, P. 1-24.
 21. Alexanyan M.K., Galoian K.A., Simonyan G.M., Stepanyan G.M., Simonyan R.M., Muradyan R.E., Alexanyan S.S., Simonyan M.A., Galoyan A.A. The increase of the NADPH depending superoxide-producing and ferrihemoglobin-reducing activities of acidic nature isoform of cytochrome b558 from mouse sarcomas -37 tumor tissue cells under the influence of Proline-Rich Polypeptide (PRP-1) in vitro // *Issues of Teoretical Klin.Med.*, 2010, Vol. 13, № 2, P. 54-57.
 22. Aprikyan V.S., Galoyan A.A. New hypothalamic peptides in regulation of thymocytes differentiation // *Neurokhimiya RAS & NAS RA*, 2002, Vol. V, № 19, P. 227-231.
 23. Aprikyan V.S., Galoyan A.A. Immune-protective properties of a new hypothalamic polypeptide in bacterial pathologies // *Med.Sci. Armenia*, 1999, Vol. 39, P. 23-30.
 24. Astrup J., Symon L., Branston N.M., Lassen N.A. Cortical evoked potential and extracellular K⁺ and H⁺ at critical levels of brain ischemia // *Stroke*, 1977, Vol. 8, № 1, P. 51-57.
 25. Ayuso M.I., Montaner J. Advanced neuroprotection for brain ischemia: an alternative approach to minimize stroke damage // *Expert Opin. Investig. Drugs.*, 2015, Vol. 24, № 9, P. 1137-1142.
 26. Balkhi H.M., Bandey M.Z., Haq E. Glutamate Excitotoxicity: An Insight into the Mechanism // *International Journal of Advanced Research*, 2014, Vol. 2, № 7, P. 361-373.
 27. Balucani C., Barlinn K., Zivanovic Z., Parnetti L., Silvestrini M., Alexandrov A.V. Dual Antiplatelet Therapy in Secondary Prevention of Ischemic Stroke: A Ghost from the Past or a New Frontier? // *Stroke Research and Treatment*, 2010, Vol. 2010, p. 8.
 28. Barber M., Langhorne P., Rumley A., Lowe G.D., Stott D.J. D-dimer predicts early clinical progression in ischemic stroke // *Stroke*, 2006, Vol. 37, № 4, P. 113-1115.

29. Bezirganyan K.B., Davtyan T.K., Galoyan A.A. Hypothalamic Proline Rich Polypeptide Regulates Hematopoiesis // *Neurochem. Res.*, 2010, Vol. 35, № 6, P. 917-924.
30. Bhattacharya P., Pandey A.K., Paul S., Patnaik R. Alleviation of glutamate mediated neuronal insult by piroxicam in rodent model of focal cerebral ischemia: a possible mechanism of GABA agonism // *J. Physiol Biochem.*, 2014, Vol. 70, № 4, P. 901-913.
31. Bhatti A.B., Ali F., Satti S.A. Association Of Obesity With Stroke // *International journal of biomedical research*, 2013, Vol. 4, № 8, P. 422-426.
32. Bird J.E., Wang X., Smith P.L., Barbera F., Huang C., Schumacher W.A. A platelet target for venous thrombosis? P2Y1 deletion or antagonism protects mice from vena cava thrombosis // *J. Thromb Thrombolysis*, 2012, Vol. 34, № 2, P. 199-207.
33. Borlongan C.V., Cahill D.W., Sanberg P.R. Locomotor and passive avoidance deficits following occlusion of the middle cerebral artery // *Physiol Behav.*, 1995, Vol. 58, № 5, P. 909-917.
34. Bothe H.W., Bosma H.J., Hofer H., Hossmann K.A., Angermeier W.F. Selective vulnerability of hippocampus and disturbances of memory storage after mild unilateral ischemia of gerbil brain // *Stroke*, 1986, Vol. 17, № 6, P. 1160-1163.
35. Brain S.D., Cambridge H. Calcitonin gene-related peptide: vasoactive effects and potential therapeutic role // *Gen Pharmacol.*, 1996, Vol. 27, P. 607-611.
36. Buñag R.D., Butterfield J. Tail-cuff blood pressure measurement without external preheating in awake rats // *Hypertension*, 1982, Vol. 4, № 6, P. 898-903.
37. Carobrez A.P., Bertoglio L.J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on // *Neurosci Biobehav Rev.*, 2005, Vol. 29, № 8, P. 1193-1205.
38. Castillo C.S., Starkstein S.E., Fedoroff J.P., Price T.R., Robinson R.G. Generalized anxiety disorder after stroke // *J. Nerv Ment Dis.*, 1993, Vol. 181, № 2, P. 100-106.
39. Cervia D., Gasini G. The neuropeptide system and their potential role in the treatment of mammalian retinal ischemia: a developing story // *Current neuropharmacology*, 2013, Vol. 11, № 1, P. 95-101.

40. Chailakhian R.K., Gerasimov, Yu.V., Chailakian M.R., Galoyan A.A. Proline-rich hypothalamic polypeptide has opposite effects on the proliferation of human normal bone marrow stromal cells and human giant-cell tumour stromal cells // *Neurochem. Res.*, 2010, Vol. 35, № 6, P. 934-939.
41. Chang H.C., Yang Y.R., Wang P.S., Kuo C.H., Wang R.Y. The neuroprotective effects of intramuscular insulin-like growth factor-I treatment in brain ischemic rats // *PLoS ONE*, 2013, Vol. 8, P. e64015.
42. Chao J., Chao L. Experimental therapy with tissue kallikrein against cerebral ischemia // *Front Biosci.*, 2006, Vol. 11, P. 1323-1327.
43. Chen H.S. The chemical biology of clinically tolerated NMDA receptor antagonists // *Journal of Neurochemistry*, 2006, Vol. 97, № 6, P. 1611-1626.
44. Chen S.T., Hsu C.Y., Hogan E.L., Maricq H., Balentine J.D. A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extensive cortical infarction // *Stroke*, 1986, Vol. 17, № 4, P. 738-743.
45. Coggin M.H., Srapionian R.M., Brecher A.S., Galoyan A.A. Comparative effects of atrial polypeptide and neurohormone C on the interaction of factor Xa with antithrombin III // *Blood Coagulation and Fibrinolysis*, 2008, Vol. 19, № 7, P. 645-651.
46. Davtyan T.K., Avetisyan S.A., Hakopyan G.S., Galoyan A.A. Hypothalamic proline-rich polypeptide down-regulates LFA-1(CD11a/CD18) integrin expression on human neutrophils // *Neurokhimya*, 2006, Vol. 23, P. 77-81.
47. Dawson G.R., Tricklebank M.D. Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents // *Trends Pharmacol Sci.*, 1995, Vol. 16, № 2, P. 33-36.
48. d'Esterre C.D., Lee T.Y. Effect of dipyridamole during acute stroke: exploring antithrombosis and neuroprotective benefits // *Ann N. Y. Acad Sci.*, 2010, Vol. 1207, P. 71-75.
49. Dirnagi U., Iadecola C., Moskowitz M.A. Pathobiology of Ischemic Stroke: An Integrated View // *Trends Neuroscience*, 1999, Vol. 22, P. 391-397.

50. Dunham N.W., Miya Ts. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice // J. Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc., 1957, Vol. 46, № 3, P. 208-9.
51. El-Tamawy M.S., Abd-Allah F., Ahmed S.M., Darwish M.H., Khalifa H.A. Aerobic exercises enhance cognitive functions and brain derived neurotrophic factor in ischemic stroke patients // Neuro. Rehabilitation, 2014, Vol. 34, P. 209–213.
52. Erfani S., Khaksari M., Oryan S., Shamsaei N., Aboutaleb N., Nikbakht F., Jamali-Raeufy N., Gorjipour F. Visfatin reduces hippocampal CA1 cells death and improves learning and memory deficits after transient global ischemia/reperfusion // Neuropeptides, 2015, Vol. 49, P. 63-68.
53. Fantacci C., Capozzi D., Ferrara P., Chiaretti A. Neuroprotective role of nerve growth factor in hypoxic-ischemic brain injury // Brain Sci., 2013, Vol. 3, P. 1013–1022.
54. Feinberg W.M., Erickson L.P., Bruck D., Kittelson J. Hemostatic markers in acute ischemic stroke association with stroke type, severity and outcome // MS Stroke, 1996, Vol. 27, P. 1296–1300.
55. Feng Y., Liu T., Li X.Q., Liu Y., Zhu X.Y., Jankovic J., Pan T.H., Wu Y.C. Neuroprotection by Orexin-A via HIF-1 α induction in a cellular model of Parkinson's disease // Neurosci Lett., 2014, Vol. 5, № 579, P. 35-40.
56. Feuerstein G.Z., Chavez J. Translational medicine for stroke drug discovery: the pharmaceutical industry perspective // Stroke, 2009, Vol. 40 (3 Suppl.), P. S121-125.
57. Fosgerau K., Hoffmann T. Peptide therapeutics: current status and future directions // Drug Discovery Today, 2015, Vol. 20, № 1, P. 122-128.
58. Fritz M., Rinaldi G. Blood pressure measurement with the tail-cuff method in Wistar and spontaneously hypertensive rats: influence of adrenergic- and nitric oxide-mediated vasomotion // J. Pharmacol Toxicol Methods, 2008, Vol. 58, № 3, P. 215-221.
59. Galoian K.A., Scully S.P., Galoyan A.A. Myc-Oncogene inactivating effect by Proline Rich Polypeptide (PRP-1) in Chondrosarcoma JJ012 cells // Neurochem. Res., 2009, Vol. 34, № 2, P. 379-385.

60. Galoian K.A., Temple T.H., Galoyan A.A.. Cytostatic Effect of the Hypothalamic Cytokine PRP-1 is Mediated by mTOR and cMyc Inhibition in High Grade Chondrosarcoma // *Neurochem. Res.*, 2011, Vol. 36, № 5, P. 812-818.
61. Galoyan A.A., Davtyan T.K. The influence of new biologically active hypothalamic polypeptides on human B- and T-lymphocytes functional activity in culture // 29th ASN Meeting, Denver, Colorado, J. Neurochemistry, 1998, Vol. 70, Suppl., S31B.
62. Galoyan A.A., Shirvanyan A.A. A method for treatment and/or prevention of leucosis at the cattle // Patent prelim. N.1696 A2, Patent No.P20050113. The Republic of Armenia. Issued on 15.03.2006.
63. Galoyan A., Grigoryan A., Badalyan K. Treatment and Prophylaxis of Anthrax by New Neurosecretory Cytokines // *Neurochem. Res.*, 2006, Vol. 31, № 6, P. 795-803.
64. Galoyan A.A. Biochemistry of Novel Cardioactive Hormones and Immunomodulators of the Functional System Neurosecretory Hypothalamus - Endocrine Heart // Nauka Publishers (in English), 1997, Moscow, p. 240.
65. Galoyan A.A. Brain Neurosecretory Cytokines: Immune Response and Neuronal Survival // Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2004, p. 188.
66. Galoyan A.A. Neurochemistry of Brain Neuroendocrine Immune System: Signal Molecules // *Neurochemical Research*, 2000, Vol. 25, № 9, P. 1343-1355.
67. Galoyan A.A. The brain immune system: Chemistry and biology of the signal molecules. // *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology*, 3rd ed., (Editor in chief –Professor Abel Lajtha) V. Neuroimmunology (eds. A. Galoyan, and H. Besedovsky), 2008, P. 155-195.
68. Galoyan A.A., Chailian S.G., Gurvits B.Ya., Abrahamian G.E., Alexanian A.R., Parsadarian A.Sh., Lottspeich F. Ubiquitin from hypothalamus, chemical structure and functions // *Abstr. of the IXth General Meeting of ESN*, Dublin, 1992.
69. Galoyan A.A., Gurvits B.Ya., Shuvalova L.A., Davis M.T., Shively J.E., Lee T.D. Hypothalamic activator of calmodulin-dependent enzymes is thymosin β 4 (1-39) // *Neurochemical Research*, 1992, Vol. 17, № 8, P. 773-777.
70. Galoyan A.A., Korochkin L.I., Rybalkina E.J., Pavlova G.V., Saburina I.N., Zarski E.I., Galoyan N.A., Davtyan T.K., Bezirganyan K.B., Revishchin A.V. Hypothalamic

proline-rich polypeptide enhances bone marrow colony-forming cell proliferation and stromal progenitor cell differentiation // Cell Transplantation, 2008, Vol. 17, № 9, P. 1061-1066.

71. Galoyan A.A., Sarkissian J.S., Chavushyan V.A., Meliksetyan I.B., Avakyan Z.E., Pogossyan M.V., Vahradyan H.G., Mkrtchian H.H., Abrahamyan D.O. Protective effects of novel hypothalamic neuropeptide proline-rich peptide-1 on the hippocampus in a rat model of Alzheimer's disease induced by β -amyloid A β 25-35 // Alzheimer & Dementia, 2008, Vol. 4, P. 332-334.
72. Galoyan A.A., Sarkissian J.S., Sulkhanyan R.M., Chavusyan V.A. , Avetisyan Z.A., Avakyan Z.E., Gevorgyan A.J., Abrahamyan D.O., Grigorian Y.Kh. PRP-1 protective effect against central and peripheral neurodegeneration following N.ischiadicus transection // Neurochem Res., 2005, Vol. 30, № 4, P. 487-505.
73. Galoyan A.A., Shakhlamov V.A., Aghajanov M.I., Zilfyan A.V., Vahradyan H.G. Hypothalamic proline-rich polypeptide protects brain neurons at aluminous neurotoxicosis // Neurochem. Res., 2004, Vol. 29, № 7, P. 1349-1357.
74. Galoyan A.A., Terio N., Berg M.J., Marks N. Effects of proline-rich peptide (PRP) derived from neurophysin-II on caspases of murine neuroblastoma: Evidence for caspase -2 and -6 activation // Neurochemistry, 2000, Vol. 17, № 3, P. 185-188.
75. Galoyan A.A., Sarkissian J.S., Chavushyan V.A., Sulkhanyan R.M., Avakyan Z.E., Avetisyan Z.A., Grigoryan Yu.Kh., Abrahamyan O.D. Neuroprotective action of hypothalamic peptide PRP-1 at various time survival following spinal cord hemisection // Neurochem. Res., 2005, Vol. 30, P. 507-525.
76. Galoyan A., Sarkissian J.S., Chavushyan V.A., Abrahamyan S.S., Avakyan Z.E., Vagradyan H.G., Poghosyan M.V., Grigoryan Yu.Kh. Study of the new hypothalamic proline-rich peptide (PRP-1) protective effect on morphofunctional changes in rat hippocampus using a model of Alzheimer's Disease Induced by intracerebroventricular injection of beta-Amyloid Peptide A β (25-35) // Neurokhimya, 2004, Vol. 21, № 4, P. 265-288.
77. Galoyan A.A., Aprikyan V.S. A new hypothalamic polypeptide is a regulator of myelopoiesis // Neurochem. Res., 2002, Vol. 27, № 4, P. 305-312.

78. Galoyan A.A., Kipriyan T.K., Sarkissian J.S., Sarkissian E.J., Grigorian Y.Kh., Andreasian A.S., Chavushian V.A. Protection against snake venom-induced neuronal injury by the new hypothalamic neurohormone // *Neurochemical Research*, 2000, Vol. 25, № 6, P. 791-800.
79. Gan'shina T.S., Kurza E.V., Kurdyumov I.N., Maslennikov D.V., Mirzoyan R.S. Peculiarities of the cerebrovascular effects of glutamic acid // *Eksp. Klin. Farmakol.*, 2016, Vol. 79, № 3, P. 9-12.
80. Ge J.F., Xu Y.Y., Qin G., Cheng J.Q., Chen F.H. Resveratrol Ameliorates the Anxiety- and Depression-Like Behavior of Subclinical Hypothyroidism Rat: Possible Involvement of the HPT Axis, HPA Axis, and Wnt/ β -Catenin Pathway // *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2016, Vol. 24, P. 7-44.
81. Geloso M.C., Corvino V., Di Maria V., Marchese E., Michetti F. Cellular targets for neuropeptide Y-mediated control of adult neurogenesis // *Front Cell Neurosci.*, 2015, Vol 9, № 85, P. 1-11.
82. Ghazaryan P.A., Ghazaryan A.P., Galoyan A.A. Regulation of membrane phospholipids metabolism by hypothalamic proline-rich peptide at cardiopulmonary insufficiency. *Biochemical and Molecular–Biological Aspects of the Brain Immune System*. Galoyan A.A, editor // Yerevan, Encyclopedia Armenica Publishing House, 2001, P. 115-126.
83. Giordano C., Marchiò M., Timofeeva E., Biagini G. Neuroactive peptides as putative mediators of antiepileptic ketogenic diets // *Front. Neurol.*, 2014, Vol. 5, № 63.
84. Gonzalez F.F., Larphaveesarp A., McQuillen P., Derugin N., Wendland M., Spadafora R., Ferriero D.M. Erythropoietin increases neurogenesis and oligodendroglia of subventricular zone precursor cells after neonatal stroke // *Stroke J. Cerebr. Circ.*, 2013, Vol. 44, P. 753–758.
85. Gosk-Bierska I., Wasilewska M., Wysokiński W. Role of Platelets in Thromboembolism in Patients with Atrial Fibrillation // *Adv Clin Exp Med.*, 2016, Vol. 25, № 1, P. 163-171.

86. Green A.R., Hainsworth A.H., Jackson D.M. GABA potentiation: a logical pharmacological approach for the treatment of acute ischaemic stroke // *Neuropharmacology*, 2000, Vol. 39, № 9, P. 1483-1494.
87. Gudlavalleti A.S.V., Moonis M. A Review of Intra-arterial and Intravenous Therapies for Acute Ischemic Stroke: Relevance, Challenges and Developments // *Journal of Neurology & Stroke*, 2015, Vol. 2, № 2, P. 1-5.
88. Gulbenkian S., Uddman R., Edvinsson L. Neuronal messengers in the human cerebral circulation // *Peptides*, 2001, Vol. 22, № 6, P. 995-1007.
89. Gurvits B.Ya., Galoyan A.A. Immunophillins: A ubiquitous distribution and functions: Biochemical and Molecular-Biological Aspects of the Brain Immune System, edited by Armen Galoyan // *Encyclopedia Armenica Publishing House*, Yerevan, 2001, P. 159-182.
90. Gwag B.J., Canzoniero L.M., Sensi S.L., Demaro J.A., Koh J.Y., Goldberg M.P., Jacquin M., Choi D.W. Calcium ionophores can induce either apoptosis or necrosis in cultured cortical neurons // *Neuroscience*, 1999, Vol. 90, № 4, P. 1339-1348.
91. Haas T., Spielmann N., Mauch J., Speer O., Schmugge M., Weiss M. Reproducibility of thromboelastometry (ROTEM): Point-of-care versus hospital laboratory performance // *Scand J Clin Lab Invest.*, 2012, Vol. 72, № 4, P. 313-317.
92. Handley S.L., McBlane J.W. An assessment of the elevated X-maze for studying anxiety and anxiety-modulating drugs // *J. Pharmacol Toxicol Methods*, 1993, Vol. 29, № 3, P. 129-138.
93. Harada Sh., Fujita-Hamabe W., Tokuyama Sh. Ischemic stroke and glucose intolerance: a review of the evidence and exploration of novel therapeutics targets // *Journal of pharmacological Science*, 2012, Vol. 118, P. 1-13.
94. Hattori Y., Kitamura A., Tsuji M., Nagatsuka K., Ihara M. Motor and cognitive impairment in a mouse model of ischemic carotid artery disease // *Neurosci Lett.*, 2014, Vol. 581, P. 1-6.
95. Heptinstall S., Bath P.M. Triple antiplatelet therapy for secondary prevention of recurrent ischemic stroke // *Journal Of Stroke And Cerebrovascular Diseases*, 2004, Vol. 13, № 3, P. 138-140.

96. Hilkens N.A., Algra A., Greving J.P. Prediction models for intracranial hemorrhage or major bleeding in patients on antiplatelet therapy: a systematic review and external validation study // *J. Thromb Haemost.*, 2016, Vol. 14, № 1, P. 167-174.
97. Hill R.G., Oliver K.R. Neuropeptide and kinin antagonists // *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2007, Vol. 177, P. 181–216.
98. Hinkle J.L., Guanci M.M. Acute Ischemic Stroke Review // *Journal Of Neuroscience Nursing*, 2007, Vol. 39, № 5, P. 285-310.
99. Hofmeijer J., van Putten M.J. Ischemic cerebral damage: an appraisal of synaptic failure // *Stroke*, 2012, Vol. 43, № 2, P. 607-615.
100. Hogg S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety // *Pharmacol Biochem Behav.*, 1996, Vol. 54, № 1, P. 21-30.
101. Hökfelt T., Broberger C. Xu Zh. D., Sergeyev V., Ubink R., Diez M. Neuropeptides- an overview // *Neuropharmacology*, 2000, Vol. 39, P. 1337-1356.
102. Hossmann K.A. Glutamate-mediated injury in focal cerebral ischemia: the excitotoxin hypothesis revised // *Brain Pathol.*, 1994, Vol. 4, № 1, P. 23-36.
103. Jacewicz M., Kiessling M., Pulsinelli W.A. Selective gene expression in focal cerebral ischemia // *J. Cereb Blood Flow Metab.*, 1986, Vol. 6, № 3, P. 263-272.
104. Johnston B.M., Mallard E.C., Williams C.E., Gluckman P.D. Insulin-like growth factor-1 is a potent neuronal rescue agent after hypoxic-ischemic injury in fetal lambs // *J. Clin. Investig.*, 1996, Vol. 97, P. 300–308.
105. Kaspar A.A., Reichert J.M. Future directions for peptide therapeutics development // *Drug Discov. Today*, 2013, Vol. 18. P. 807–817.
106. Kevorkian G.A., Marukhyan G.L., Arakelyan L.N., Guevorkian A.G., Galoyan A.A. Influence of the hypothalamic proline rich peptide on the level of ¹⁴C-glucose utilization during crush syndrome // *Neurochem. Res.*, 2001, Vol. 7, № 26, P. 829-832.
107. Kevorkian G.A., Kanayan A.S., Hayrapetyan H.L. et al. Metabolic activity of proline rich peptide (PRP) on brain injury in crush syndrome // *Biochemical and Molecular*

- Biological Aspects of the Brain ImmuneSystem. Galoyan A. A, editor. Yerevan, Encyclopedia Armenica Publishing House, 2000, P. 86–94.
108. Kiernan J.A. Blood Supply of the Central Nervous System. In: Kiernan J.A, editor. Barr's The human nervous system: an anatomical viewpoint // Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998, P. 439-455.
 109. Kim G., Kim E. The effects of antecedent exercise on motor function recovery and brain-derived neurotrophic factor expression after focal cerebral ischemia in rats // J. Phys. Ther. Sci., 2013, Vol. 25, P. 553–556.
 110. Kim H.H., Sawada N., Soydan G., Lee H.S., Zhou Z., Hwang S.K., Waeber C., Moskowitz M.A., Liao J.K. Additive effects of statin and dipyridamole on cerebral blood flow and stroke protection // J. Cereb Blood Flow Metab., 2008, Vol. 28, № 7, P. 1285-1293.
 111. Knaryan V.H., Samantaray S., Varghase Verina., Srinivasan A., Galoyan A. A., Mohanakumar K.P. Synthetic bovine proline-rich polypeptides generate hydroxyl radicals and fail to protect dopaminergic neurons against 1-methyl-4-phenyl 1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-induced dopaminergic neurotoxicity in mice // Neuropeptides, 2006, Vol. 40, P. 291–298.
 112. Komaki A., Hashemi-Firouzi N., Shojaei S., Sourì Z., Heidari S., Shahidi S. Study the Effect of Endocannabinoid System on Rat Behavior in Elevated Plus-Maze // Basic Clin Neurosci., 2015, Vol. 6, № 3, P. 147-153.
 113. Kooijman R. Regulation of apoptosis by insulin-like growth factor (IGF)-I // Cytokine Growth Fact. Rev., 2006, Vol. 17, P. 305–323.
 114. Kubota Y., Umegaki K., Kagota S., Tanaka N., Nakamura K., Kunitomo M., Shinozuka K. Evaluation of blood pressure measured by tail-cuff methods (without heating) in spontaneously hypertensive rats // Biol Pharm Bull., 2006, Vol. 29, № 8, P. 1756-1758.
 115. Kuo C.T., Lin Y.W., Tang N.Y., Cheng C.Y., Hsieh C.L. Electric stimulation of the ears ameliorated learning and memory impairment in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury // Sci. Rep., 2016, Vol. 5, № 6, P. 20381.

116. Kurtz T.W., Griffin K.A., Bidani A.K., Davisson R.L., Hall J.E. AHA Council on High Blood Pressure Research, Professional and Public Education Subcommittee. Recommendations for blood pressure measurement in animals: summary of an AHA scientific statement from the Council on High Blood Pressure Research, Professional and Public Education Subcommittee // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 2005, Vol. 25, № 3, P. 478-479.
117. Kurtz T.W., Griffin K.A., Bidani A.K., Davisson R.L., Hall J.E. Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: part 2: blood pressure measurement in experimental animals: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 2005, Vol. 25, № 3, P. e22-33.
118. Lai T.W., Zhang S., Wang Y.T. Excitotoxicity and stroke: Identifying novel targets for neuroprotection // *Progress in neurobiology*, 2014, Vol. 115, P. 157-188.
119. Lalkovičová M., Bonová P., Burda J., Danielisová V. Effect of Bradykinin Postconditioning on Ischemic and Toxic Brain Damage // *Neurochem Res.*, 2015, Vol. 40, № 8, P. 1728-1738.
120. Landgraf R. Neuropeptides and anxiety-related behavior // *Endocr J.*, 2001, Vol. 48, № 5, P. 517-533.
121. Landgraf R., Neumann I.D. Vasopressin and oxytocin release within the brain: a dynamic concept of multiple and variable modes of neuropeptide communication // *Frontiers in Neuroendocrinology*, 2004, Vol. 25, № 3-4, P. 150-176.
122. Larphaveesarp A., Donna M. Ferriero D.M., Gonzalez F.F. Growth Factors for the Treatment of Ischemic Brain Injury (Growth Factor Treatment) // *Brain Sci.*, 2015, Vol. 5, P. 165-177.
123. Lee W.H., Bondy C. Insulin-like growth factors and cerebral ischemia // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1993, Vol. 679, P. 418-422.

124. Lee Y., Lee S.R., Choi S.S., Yeo H.G., Chang K.T., Lee H.J. Therapeutically Targeting Neuroinflammation and Microglia after Acute Ischemic Stroke // BioMed Research International, 2014, Vol. 2014, P. 1-9.
125. Ley G. D., Nshimyumuremyi J.B., Leusen I. Hemispheric blood flow in the rat after unilateral common carotid occlusion: evolution with time // Stroke, 1985, Vol. 16, № 1, P. 69-73.
126. Li H.B., Li X., Huo C.J., Su Q., Guo J., Yuan Z.Y., Zhu G.Q., Shi X.L., Liu J.J., Kang Y.M. TLR4/MyD88/NF- κ B signaling and PPAR- γ within the paraventricular nucleus are involved in the effects of telmisartan in hypertension // Toxicol Appl Pharmacol., 2016, Vol. 305, P. 93-102.
127. Li X., Zhou G., Zhou X., Zhou S. The efficacy and safety of aspirin plus dipyridamole versus aspirin in secondary prevention following TIA or stroke: a meta-analysis of randomized controlled trials // J. Neurol Sci., 2013, Vol. 332, № (1-2), P. 92-96.
128. Liu J., Wang L.N. Gamma aminobutyric acid (GABA) receptor agonists for acute stroke // Cochrane Database Syst Rev., 2014, Vol. 6, № 8. P. CD009622.
129. Lo E.H., Dalkara T., Moskowitz M. A. Mechanism, Challenges and opportunities in stroke. Nature Reviews // Neuroscience, 2003, Vol. 4, P. 399-414.
130. MacLellan C.L., Keough M.B., Granter-Button S., Chernenko G.A., Butt S., Corbett D. A. critical threshold of rehabilitation involving brain-derived neurotrophic factor is required for poststroke recovery // Neurorehabil. Neur. Repair, 2011, Vol. 25, P. 740-748.
131. Malm J., Kristensen B., Karlsson T., Carlberg B., Fagerlund M., Olsson T. Cognitive impairment in young adults with infratentorial infarcts // Neurology, 1998, Vol. 51, № 2, P. 433-440.
132. Matsuo R., Ago T., Kamouchi M., Kuroda J., Kuwashiro T., Hata J., Sugimori H., Fukuda K., Gotoh S., Makihara N., Fukuhara M., Awano H., Isomura T., Suzuki K., Yasaka M., Okada Y., Kiyohara Y., Kitazono T. Clinical significance of plasma VEGF value in ischemic stroke-research for biomarkers in ischemic stroke (REBIOS) study // BMC Neurol., 2013, Vol. 13.

133. McGonigle P. Peptide therapeutics for CNS indications // *Biochem. Pharmacol.*, 2012, Vol. 83, № 5, P. 559–566.
134. Mendelow A.D., Graham D.I., McCulloch J., Mohamed A.A. The distribution of ischaemic damage and cerebral blood flow after unilateral carotid occlusion and hypotension in the rat // *Stroke*, 1984, Vol. 15, № 4, P. 704-710.
135. Merkulov G.A. A Course in Pathohistological Techniques // *Meditcina*, 1969, Leningrad.
136. Meyer R.C., Giddens M.M., Schaefer S.A., Hall R. A. GPR37 and GPR37L1 are receptors for the neuroprotective and glioprotective factors prosaptide and prosaposin // *PNAS*, 2013, Vol. 110, № 23, P. 9529–9534.
137. Min G., Senut M., Rajanikant G.K., Greenberg E., Bandaji R., Zemke ., Mousa A., Kassab M., Farooq M., Gupta R., Majid A. Differential neuroprotective effects of carnosine, anserine and N-acetyl carnosine against permanent focal ischemia // *Journal of Neuroscience Research*, 2008, Vol. 86, № 13, P. 2984-2991.
138. Mirante O., Price M., Puentes W., Castillo X., Benakis C., Thevenet J., Monard D., Hirt L. Endogenous protease nexin-1 protects against cerebral ischemia // *Int J. Mol Sci.*, 2013, Vol. 14, № 8, P. 16719-16731.
139. Mirzoian R.S., Gan'shina T.S., Gnezdilova A.V., Kovalev G.I., Firstova L., Bezuglov V.V., Gretskaia N.M. GABA-ergic mechanism of cerebrovascular and antiischemic effects of docosahexaenoic acid // *Eksp. Klin. Farmakol.*, 2015, Vol. 78, № 1, P. 16-20.
140. Mirzoian S.A. Neurochemical control of cerebral blood circulation // *Farmakol Toksikol.*, 1983, Vol. 46, № 4, P. 5-15.
141. Mizrahi E.H., Waitzman A., Arad M., Adunsky A. Gender and the functional outcome of elderly ischemic stroke patients // *Arch Gerontol Geriatr.*, 2012, Vol. 55, № 2, P. 438-441.
142. Montgomery W.W. Cerebrospinal fluid rhinorrhea in an accident-prone individual // *AMA Arch Otolaryngol.*, 1958, Vol. 68, № 4, P. 493-496.
143. Mozaffarian D., Benjamin E.J., Go A.S., Arnett D.K., Blaha M.J., Cushman M., de Ferranti S., Després J.P., Fullerton H.J., Howard V.J., Huffman

M.D., Judd S.E., Kissela B.M., Lackland D.T., Lichtman J.H., Lisabeth L.D., Liu S., Mackey R.H., Matchar D.B., McGuire D.K., Mohler E.R., Moy C.S., Muntner P., Mussolino M.E., Nasir K., Neumar R.W., Nichol G., Palaniappan L., Pandey D.K., Reeves M.J., Rodriguez C.J., Sorlie P.D., Stein J., Towfighi A., Turan T.N., Virani S.S., Willey J.Z., Woo D., Yeh R.W., Turner M.B. Heart disease and stroke statistics--2015 update: a report from the American Heart Association. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee // *Circulation* 27., 2015, Vol. 131, № 4, P. e29-322.

144. Mozaffarian D., Benjamin E.J., Go A.S., Arnett D.K., Blaha M.J., Cushman M., de Ferranti S., Després J.P., Fullerton H.J., Howard V.J., Huffman M.D., Judd S.E., Kissela B.M., Lackland D.T., Lichtman J.H., Lisabeth L.D., Liu S., Mackey R.H., Matchar D.B., McGuire D.K., Mohler E.R. 3rd, Moy C.S., Muntner P., Mussolino M.E., Nasir K., Neumar R.W., Nichol G., Palaniappan L., Pandey D.K., Reeves M.J., Rodriguez C.J., Sorlie P.D., Stein J., Towfighi A., Turan T.N., Virani S.S., Willey J.Z., Woo D., Yeh R.W., Turner M.B.; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics--2015 update: a report from the American Heart Association // *Circulation*., 2015, Vol. 131, № 4, P. e29-322.
145. Mozaffarian D., Benjamin E.J., Go A.S., Arnett D.K., Blaha M.J., Cushman M., Das S.R., de Ferranti S., Després J.P., Fullerton H.J., Howard V.J., Huffman M.D., Isasi C.R., Jiménez M.C., Judd S.E., Kissela B.M., Lichtman J.H., Lisabeth L.D., Liu S., Mackey R.H., Magid D.J., McGuire D.K., Mohler E.R. 3rd, Moy C.S., Muntner P., Mussolino M.E., Nasir K., Neumar R.W., Nichol G., Palaniappan L., Pandey D.K., Reeves M.J., Rodriguez C.J., Rosamond W., Sorlie P.D., Stein J., Towfighi A., Turan T.N., Virani S.S., Woo D., Yeh R.W., Turner M.B.; American Heart Association Statistics Committee Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update:

A Report From the American Heart Association // Circulation, 2016, Vol. 133, № 4, P. e38-60.

146. Negraes P.D., Trujillo C.A., Pillat M.M., Teng Y.D., Ulrich H. Roles of kinins in the nervous system // Cell Transplant., 2015, Vol. 24, № 4, P. 613-623.
147. Ögren S.O., Kuteeva E., Elvander-Tottie E., Hökfelt T. Neuropeptides in learning and memory processes with focus on galanin // European Journal of Pharmacology, 2010, Vol. 626, P. 9-17.
148. Ohls R.K., Kamath-Rayne B.D., Christensen R.D., Wiedmeier S.E., Rosenberg A., Fuller J., Lacy C.B., Roohi M., Lambert D.K., Burnett J.J., Pruckler B., Peceny H., Cannon D.C., Lowe J.R. Cognitive outcomes of preterm infants randomized to darbepoetin, erythropoietin, or placebo // Pediatrics, 2014, Vol. 133, P. 1023-1030.
149. Okazaki H., Beppu H., Mizutani K., Okamoto S., Sonoda S. Changes in serum growth factors in stroke rehabilitation patients and their relation to hemiparesis improvement // J. Stroke Cerebrovasc. Dis., 2014, Vol. 23, P. 1703-1708.
150. Ok-Nam Bae, Serfozo K., Baek S.-H., Lee K.Y., Dorrance A., Rumbelha W., Fitzgarald S.D., Farooq U.M., Naravelta Bh., Bhatt A. safety and efficacy evaluation of carnosine, an endogenous neuroprotective agent for ischemic stroke // Journal of the AH Stroke, 2013, Vol. 44, № 1, P. 205-212.
151. Paciaroni M., Bogousslavsky J. Primary and Secondary Prevention of Ischemic Stroke // European Neurology, 2010, Vol. 63, P. 267-278.
152. Parihar L., Kumar S., Gupta R. Pharmacological approaches and management of brain stroke // International Journal of Research In Pharmacology And Pharmacotherapeutics, 2014, Vol. 3, № 4, P. 335-348.
153. Parikh P., Powles R., Treleaven J., Helenglass G., Gore M., Rose M., Talbot D., Milan S., Smith C., Pinkerton R., Aboud H., Cavenagh J., Rowley M., McElwain T., Hewetson M.. High-dose cytosine arabinoside plus etoposide as initial treatment for acute myeloid leukaemia: a single centre study // Br J. Cancer, 1990, Vol. 62, № 5, P. 830-833.

154. Park J.H., Choi J.W., Ju E.J., Pae A.N., Park K.D. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of a Natural Compound, Shizukahenriol, through Nrf2 Activation // *Molecules*, 2015, Vol. 20, № 9, P. 15989-6003.
155. Pellow S. Can drug effects on anxiety and convulsions be separated? // *Neurosci Biobehav Rev.*, 1985, Vol. 9, № 1, P. 55-73.
156. Pellow S., Chopin P., File S.E., Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat // *J. Neurosci. Methods.*, 1985, Vol. 14, № 3, P. 149-167.
157. Pert C.B., Ruff M.R., Weber R.J., Herkenham M. Neuropeptides and their receptors: a psychosomatic network // *J. Immunol.*, 1985, Vol. 135, № 2, P. 820s-826s.
158. Petricevic M., Konosic S., Biocina B., Dirkmann D., White A., Mihaljevic M.Z., Ivancan V., Konosic L., Svetina L., Görlinger K. Bleeding risk assessment in patients undergoing elective cardiac surgery using ROTEM(®) platelet and Multiplate(®) impedance aggregometry // *Anaesthesia*, 2016, Vol. 71, № 6, P. 636-647.
159. Phipps M.A. Assessment of neurologic deficits in stroke. Acute-care and rehabilitation implications // *Nurs Clin North Am.*, 1991, Vol. 26, № 4, P. 957-970.
160. Pikula A., Beiser A.S., Chen T.C., Preis S.R., Vorgias D., DeCarli C., Au R., Kelly-Hayes M., Kase C.S., Wolf P.A., Vasan R.S., Seshadri S. Serum brain-derived neurotrophic factor and vascular endothelial growth factor levels are associated with risk of stroke and vascular brain injury: Framingham study // *Stroke J. Cerebr. Circ.*, 2013, Vol. 44, P. 2768-2775.
161. Poyner D.R. Calcitonin gene-related peptide: multiple actions, multiple receptors // *Pharmacol Ther.*, 1992, Vol. 56, P. 23-51.
162. Prasad C., Mizuma H., Brock J.W., Porter J.R., Svec F., Hilton C. A paradoxical elevation of brain cyclo(His-Pro) levels in hyperphagic obese Zucker rats // *J. Brain Res.*, 1995, Vol. 13, № 699 (1), P. 149-153.
163. Pritchett K., Mulder G.B. The rotarod // *Contemp Top Lab Anim Sci.*, 2003, Vol. 42, № 6, p. 49.

164. Prodam F., Caputo M., Belcastro S., Garbaccio V., Zavattaro M., Samà M.T., Bellone S., Pagano L., Bona G., Aimaretti G. "Quality of life, mood disturbances and psychological parameters in adult patients with GH deficiency"// *Panminerva Medica*, 2012, Vol. 54, № 4, P. 323–331.
165. Quittet M.S., Touzani O., Sindji L., Cayon J., Fillesoye F., Toutain J., Divoux D., Marteau L., Lecocq M., Roussel S., Montero-Menei C.N, Bernaudin M. Effects of mesenchymal stem cell therapy, in association with pharmacologically active microcarriers releasing VEGF, in an ischaemic stroke model in the rat // *Acta Biomater.*, 2015, Vol. 15, P. 77-88.
166. Ramos-Cejudo J., Gutierrez-Fernandez M., Otero-Ortega L., Rodriguez-Frutos B., Fuentes B., Vallejo-Cremades M.T., Hernanz T.N., Cerdan S., Diez-Tejedor E. Brain-derived neurotrophic factor administration mediated oligodendrocyte differentiation and myelin formation in subcortical ischemic stroke // *Stroke J. Cerebr. Circ.*, 2015, Vol. 46, P. 221–228.
167. Raskob G.E. Thrombosis: A Major Contributor To The Global Disease Burden // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2014, Vol. 12, P. 1580-1590.
168. Ren Y., Wei B., Song X., An N., Zhou Y., Jin X., Zhang Y. Edaravone's free radical scavenging mechanisms of neuroprotection against cerebral ischemia: review of the literature // *Int. J. Neurosci.*, 2015, Vol. 125, № 8, P. 555-565.
169. Rice J.E. 3rd, Vannucci R.C., Brierley J.B. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat // *Ann Neurol.*, 1981, Vol. 9, № 2, P. 131-141.
170. Riley L., Guthold R., Cowan M., Savin S., Bhatti L., Armstrong T., Bonita R. The World Health Organization STEPwise Approach to Noncommunicable Disease Risk-Factor Surveillance: Methods, Challenges, and Opportunities // *Am. J. Public Health.*, 2016, Vol. 106, № 1, P. 74–78.
171. Riva C., Ross B, Benedek G.B. Laser Doppler measurements of blood flow in capillary tubes and retinal arteries // *Invest Ophthalmol.*, 1972, Vol. 11, P. 936–944.

172. Rivera C., Li H., Thomas-Crusells J.; Lahtinen H., Viitanen T., Nanobashvili A., Kokaia Z., Airaksinen M.S., Voipio J., Kaila K., Saarma M. Bdnf-induced TrkB activation down-regulates the K⁺-Cl⁻ cotransporter KCC2 and impairs neuronal Cl⁻-extrusion // *J. Cell Biol.*, 2002, Vol. 159, P. 747–752.
173. Robinson S.D., Safavi-Hemami H., McIntosh L.D., Purcell A.W., Norton R.S., Papenfuss A.T. Diversity of conotoxin gene superfamilies in the venomous snail, *Conus victoriae* // *PLOS ONE*, 2014, Vol. 9, P. e87648.
174. Rockenstein E., Ubhi K., Pham E., Michael S., Doppler E., Novak P., Inglis C., Mante M., Adame A., Alvarez X.A., Moessler H., Masliah E. Beneficial effects of a neurotrophic peptidergic mixture persist for a prolonged period following treatment interruption in a transgenic model of Alzheimer's disease // *J. Neurosci Res.*, 2011, Vol. 89, № 11, P. 1812-1821.
175. Rogers D.C., Campbell C.A., Stretton J.L., Mackay K.B. Correlation between motor impairment and infarct volume after permanent and transient middle cerebral artery occlusion in the rat // *Stroke*, 1997, Vol. 28, № 10, P. 2060-2065.
176. Rothlisberger J.M., Ovbiagele B. Antiplatelet therapies for secondary stroke prevention: an update on clinical and cost-effectiveness // *J. Comp Eff Res.*, 2015, Vol. 4, № 4, P. 377-384.
177. Ryzhak A.P., Chalisova N.I., Lin'kova N.S., Khalimov R.I., Ryzhak G.A., Zhekalov A.N. Polypeptides influence on tissue cell cultures regeneration of various age rats // *Adv Gerontol.*, 2015, Vol. 28, № 1, P. 97-103.
178. Saha L., Chakrabarti A., Kumari S., Bhatia A., Banerjee D. Antiapoptotic and neuroprotective role of Curcumin in Pentylene-tetrazole (PTZ) induced kindling model in rat // *Indian J. Exp Biol.*, 2016, Vol. 54, № 2, P. 133-41.
179. Sargin D., Friedrichs H., El-Kordi A., Ehrenreich H. Erythropoietin as neuroprotective and neuroregenerative treatment strategy: comprehensive overview of 12 years of preclinical and clinical research // *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 2010, Vol. 24, P. 573–594.
180. Schaar K.L, Brenneman M.M, Savitz S.I. Functional assessments in the rodent stroke model // *Exp. Transl Stroke Med.*, 2010, Vol. 2, № 1, P. 1-13.

181. Schallert T. Behavioral tests for preclinical intervention assessment // The Journal of the American Society for Experimental Neuro Therapies, 2006, Vol. 3, P. 447–504.
182. Scremin O.U. Cerebral Vascular System. In: Paxinos G., Mai J.K., editors. The Human Nervous System // San Diego: Elsevier Academic Press, 2004, P. 1325–1348.
183. Semenza G.L. Regulation of erythropoietin production. New insights into molecular mechanisms of oxygen homeostasis // Hematol. Oncol. Clin. N. Am., 1994, Vol. 8, P. 863–884.
184. Semple B.D., Trivedi A., Gimlin K., Noble-Haeusslein L.J. Neutrophil elastase mediates acute pathogenesis and is a determinant of long-term behavioral recovery after traumatic injury to the immature brain // Neurobiol Dis., 2015, Vol. 74, P. 263–280.
185. Sengupta D., Harper M., Jennett B. Effect of carotid ligation on cerebral blood flow in baboons. 2. Response to hypoxia and haemorrhagic hypertension // J. Neurol Neurosurg Psychiatry, 1974, Vol. 37, № 5, P. 578–584.
186. Seredenin S.B., Gudasheva T.A., Boiko S.S., Kovalev G.I., Voronin M.V., Yarkova M.A. Endogenous dipeptide cycloprolylglycine shows selective anxiolytic activity in animals with manifest fear reaction // Bull Exp. Biol. Med., 2002, Vol. 133, № 4, P. 360–362.
187. Shakhlamov V.A., Galoyan A.A., Polyakova G.N., Vahradyan H.G., Simonian M.A., Aghadjanov M.I., Bogdanova J.M., Altuchova V.J., Kondakova L.J. Biochemical and ultrastructural equivalents of aluminum toxicosis and effect of proline-rich peptide of hypothalamus // Proc NAS RA, 2002, Vol. 102, № 2, P. 166–172.
188. Shalak L., Perlman J.M. Hypoxic-ischemic brain injury in the term infant-current concepts // Early Hum Dev., 2004, Vol. 80, № 2, P. 125–141.
189. Sheng T., Zhang X., Wang S., Zhang J., Lu W., Dai Y. Endothelin-1-induced mini-stroke in the dorsal hippocampus or lateral amygdala results in deficits in learning and memory // J. Biomed Res., 2015, Vol. 29, № 5, P. 362–369.

190. Shi P.Y., Zhou X.C., Yin X.X., Xu L.L., Zhang X.M., Bai H.Y. Early application of citicoline in the treatment of acute stroke: A meta-analysis of randomized controlled trials // J. Huazhong. Univ. Sci. Technolog. Med Sci., 2016, Vol. 36, № 2, P. 270-277.
191. Shirley R., Ord E.N., Work L.M. Oxidative stress and the use of antioxidants in stroke // Antioxidants, 2014, Vol. 3, № 3, P. 472-501.
192. Simonyan G.M., Galoian K.A., Simonyan R.M., Simonyan M.A., Galoyan A.A. Proline Rich Polypeptide (PRP-1) increases the Superoxide-Producing and Ferrihemoglobin Reducing Activities of Cytochrome B558 Isoforms from Human Lymphosarcoma Tissue Cells // Neurochem. Res., 2011, Vol. 36, № 5, P. 739-745.
193. Sinoriya P., Irchhaiya R., Sharma B., Sahu G., Kumar S. Anticonvulsant and muscle relaxant activity of the ethanolic extract of stems of *Dendrophthoe falcata* (Linn. F.) in mice // Indian J. Pharmacol., 2011, Vol. 43, № 6, P. 710-713.
194. Sirotkina O.V., Laskovets A.B., Goldobin V.V., Topanova A.A., Karelov D.V., Vavilova T.V. [The molecular mechanisms of platelets activation in patients with cerebrovascular disease] // Biomed Khim., 2015, Vol. 61, № 5, P. 606-612.
195. Solev I.N., Balabanyan, V.Y., Volchek, I.A., Elizarova, O.S., Litvinova, S.A., Garibova, T.L., Voronina, T.A. Involvement of bdnf and ngf in the mechanism of neuroprotective effect of human recombinant erythropoietin nanoforms // Bull. Exp. Biol. Med., 2013, Vol. 155, P. 242-244.
196. Song J., Kim E., Kim C.H., Song H.T., Lee J.E. The role of orexin in post-stroke inflammation, cognitive decline, and depression // Mol. Brain., 2015, Vol. 11, P. 8-16.
197. Squire L.R., Zola-Morgan S. The medial temporal lobe memory system // Science, 1991, Vol. 253, P. 1380-1386.
198. STAIR: Stroke Therapy Academic Industry Roundtable (STAIR). Recommendations for standards regarding preclinical neuroprotective and restorative drug development // Stroke, 1999, Vol. 30, № 12, P. 2752-2758.

199. Starkstein S.E., Cohen B.S., Fedoroff P., Parikh R.M., Price T.R., Robinson R.G.
Relationship between anxiety disorders and depressive disorders in patients with cerebrovascular injury // Arch Gen Psychiatry, 1990, Vol. 47, № 3, P. 246-251.
200. Statler P.A., McPherson R.J., Bauer L.A., Kellert B.A., Juul S.E.
Pharmacokinetics of high-dose recombinant erythropoietin in plasma and brain of neonatal rats // Pediatr. Res., 2007, Vol. 61, P. 671-675.
201. Stern M.D., Lappe D.L., Bowen P.D., Chimosky J.E., Holloway G.A. Jr., Keiser H.R., Bowman R.L. Continuous measurement of tissue blood flow by laser-Doppler spectroscopy // Am. J. Physiol., 1977, Vol. 232, P. H441-H448.
202. Sutherland B.A., Rabie T., Buchan A.M. Laser Doppler flowmetry to measure changes in cerebral blood flow // Methods Mol Biol., 2014, Vol. 1135, P. 237-248.
203. Tailor A., Wood K.C., Wallace J.L., Specian R.D., Granger D.N. Roles of platelet and endothelial cell COX-1 in hypercholesterolemia-induced microvascular dysfunction // Am J. Physiol Heart Circ Physiol., 2007, Vol. 293, № 6, P. 3636-3642.
204. Tamura A., Graham D.I., McCulloch J., Teasdale G.M. Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion // J. Cereb. Blood. Flow. Metab., 1981, Vol. 1, № 1, P. 53-60.
205. Tanaka H., Zaima N., Ito H., Hattori K., Yamamoto N., Konno H., Setou M., Unno N. Cilostazol inhibits accumulation of triglycerides in a rat model of carotid artery ligation // J. Vasc Surg., 2013, Vol. 58, № 5, P. 1366-1374.
206. Tang J.H., Ma L.L., Yu T.X., Zheng J., Zhang H.J., Liang H., Shao P. Insulin-like growth factor-1 as a prognostic marker in patients with acute ischemic stroke // PLoS ONE, 2014, Vol. 9, P. e99186.
207. Tang Y.H., Vital S., Russell J., Seifert H., Senchenkova E., Granger DN. Transient ischemia elicits a sustained enhancement of thrombus development in the cerebral microvasculature: effects of anti-thrombotic therapy // Exp Neurol., 2014, Vol. 261, P. 417-423.

208. Tata D.A., Markostamou I., Ioannidis A., Gkioka M., Simeonidou C., Anogianakis G., Spandou E. Effects of maternal separation on behavior and brain damage in adult rats exposed to neonatal hypoxia-ischemia // *Behav Brain Res.*, 2015, Vol. 280, P. 51-61.
209. Tavadyan L.A., Galoian K.A., Harutunyan L.A., Tonikyan H.G., Galoyan A.A. Antioxidant and Electron Donating Function of Hypothalamic Polypeptides: Galarmin and Gx-NH₂ // *Neurochem. Res.*, 2010, Vol. 35, № 6, P. 947-952.
210. The ESPRIT study group, Halkes P.H., van Gijn J., Kappelle L.J., Koudstaal P.J., Algra A. Aspirin plus dipyridamole versus aspirin alone after cerebral ischaemia of arterial origin (ESPRIT): randomised controlled trial // *Lancet.*, 2006, Vol. 367, P. 1665-1673.
211. Theodosis D.T., Chapman D.B., Montagnese C., Poulain D.A., Morris., J.F. Structural plasticity in the hypothalamic supraoptic nucleus at lactation affects oxytocin-, but not vasopressin-secreting neurons // *Neuroscience*, 1986, Vol. 17, № 3, P. 661-678.
212. Theusinger O.M., Nürnberg J., Asmis L.M., Seifert B., Spahn D.R. Rotation thromboelastometry (ROTEM) stability and reproducibility over time // *Eur. J. Cardiothorac Surg.*, 2010, Vol. 37, № 3, P. 677-683.
213. Tonnesen J., Pryds A., Larsen E.H., Paulson O.B., Hauerberg J., Knudsen G.M. Laser Doppler flowmetry is valid for measurement of cerebral blood flow autoregulation lower limit in rats // *Exp. Physiol.*, 2005, Vol. 90, № 3, P. 349-355.
214. Topchian A.V., Mirzoian R.S., Balasanian M.G. Local cerebral ischemia in rats induced by ligation of the middle cerebral artery // *Exper.Clin.Pharm.* (in Russian), 1996, Vol. 59, № 5, P. 62-64.
215. Tuttolomondo A., Pecoraro R., Arnao V., Maugeri R., Iacopino D.G., Pinto A. Developing drug strategies for the neuroprotective treatment of acute ischemic stroke // *Expert Rev Neurother.*, 2015, Vol. 15, № 11, P. 1271-1284.

216. Ueda H., Inoue M., Weltrowska G., Schiller PW. An enzymatically stable kyotorphin analog induces pain in subattomol doses // *Peptides*, 2000, Vol. 21, № 5, P. 717-722.
217. Ueda H., Ge M., Satoh M., Takagi H. Non-opioid analgesia of the neuropeptide, neo-kyotorphin and possible mediation by inhibition of GABA release in the mouse brain // *J. Peptides*, 1987, Vol. 8, № 5, P. 905-909.
218. Wall P.M., Messier C. Ethological confirmatory factor analysis of anxiety-like behaviour in the murine elevated plus-maze // *Behav. Brain Res.*, 2000, Vol. 114, № 1-2, P. 199-212.
219. Walsh R.N., Cummins Rk. The open-field test A critical review // *Psychological Bulletin*, 1976, Vol. 83, P. 482-504.
220. Wang X.Y., Song M.M., Bi S.X., Shen Y.J., Shen Y.X., Yu Y.Q. MRI Dynamically Evaluates the Therapeutic Effect of Recombinant Human MANF on Ischemia/Reperfusion Injury in Rats // *Int. J. Mol Sci.*, 2016, Vol. 5, № 17, p. 9.
221. Waterhouse E.G., Xu B. New insights into the role of brain-derived neurotrophic factor in synaptic plasticity // *Mol. Cell. Neurosci.*, 2009, Vol. 42, P. 81–89.
222. Woitowich N.C., Philibert K.D., Leitermann R.J., Wungjiranirun M., Urban J.H., Glucksman M.J. EP24.15 as a Potential Regulator of Kisspeptin Within the Neuroendocrine Hypothalamus // *Endocrinology*, 2016, Vol. 157, № 2, P. 820-830.
223. Wojtowicz T., Mozrzymas J.W. Erythropoietin affects GABAergic transmission in hippocampal neurons in vitro // *Cell Mol Biol Lett.*, 2008, Vol. 13, P. 649–655.
224. Wu K. W., Yang P., Li S. S., Liu C. W., Sun, F. Y. VEGF attenuated increase of outward delayed-rectifier potassium currents in hippocampal neurons induced by focal ischemia via PI3-K pathway // *Neuroscience*, 2015, Vol. 298, P. 94–101.
225. Xie W., Zheng F., Zhong B., Song X. Long-Term Antiplatelet Mono- and Dual Therapies After Ischemic Stroke or Transient Ischemic Attack: Network Meta-Analysis // *J. Am. Heart Assoc.*, 2015, Vol. 24, № 4, P. (8):e002259.
226. Xiong T., Qu Y., Mu D., Ferriero D. Erythropoietin for neonatal brain injury: Opportunity and challenge // *Int. J. Dev. Neurosci.*, 2011, Vol. 29, P. 583–591.

227. Yabuki Y., Shinoda Y., Izumi H., Ikuno T., Shioda N., Fukunaga K. Dehydroepiandrosterone administration improves memory deficits following transient brain ischemia through sigma-1 receptor stimulation // *Brain Res.*, 2015, Vol. 1622, P. 102-113.
228. Yang J., Yao Y., Chen T., Zhang T. VEGF ameliorates cognitive impairment in in vivo and in vitro ischemia via improving neuronal viability and function // *Neuromol. Med.*, 2014, Vol. 16, P. 376–388.
229. Zaman G.S., Mohammed A., Begun N. Antioxidants and Serum Uric Acid levels in Post-Stroke Cases // *International Journal Of Medical And Health Science*, 2014, Vol. 3, № 4, P. 296-300.
230. Zhou J., Zhuang J., Li J., Ooi E., Bloom J., Poon C., Lax D., Rosenbaum D.M., Barone F.C. Long-term post-stroke changes include myelin loss, specific deficits in sensory and motor behaviors and complex cognitive impairment detected using active place avoidance // *PLoS One.*, 2013, Vol. 8, № 3, P. e57503.
231. Zhou Zhong-He, Chen Hui-Sheng. Antiplatelet strategy for acute ischemic stroke: A mini review // *World Journal of Neurology*, 2013, Vol. 3, № 4, P. 144-147.
232. Zola-Morgan S., Squire L.R., Clewer R.P., Rempel N.L. Damage to the perirhinal cortex exacerbates memory impairment following lesions to the hippocampal formation // *J. Neurosci.*, 1993, Vol. 13, № 25, P. 1-265.
233. Zvejniece L., Svalbe B., Liepinsh E., Pulks E., Dambrova M. The sensorimotor and cognitive deficits in rats following 90- and 120-min transient occlusion of the middle cerebral artery // *J. Neurosci Methods.*, 2012, Vol. 208, № 2, P. 197-204.